

**Anadolu'daki Çeşitli Arkeolojik Kazılardan Çıkarılmış
Koyun Örneklerinden Antik DNA (aDNA) İzole Etmek ve
aDNA'ya Dayalı mtDNA Haplogrup Tayini Yapmak**

Program Kodu: 1001

Proje No: 111T464

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. İnci Z. TOGAN

Araştırmacılar:

Yrd. Doç. Dr. Evangelia PiŞKİN

Yrd. Doç. Dr. Can Yumni GÜNDEM

Bursiyer:

Reyhan YAKA

ARALIK 2014
ANKARA

ÖNSÖZ

Final raporu sunulmakta olan bu projede Anadolu'daki farklı arkeolojik kazılardan toplanmış koyun örneklerinden antik DNA elde edilmiş; elde edilen bu DNA'lardan mitokondriyal DNA kontrol bölgesinin kısmi dizi analizi yapılarak mitokondriyal DNA haplogrup tayini yapılmış ve Anadolu'da farklı tarihsel dönemlerde, farklı coğrafyalarda yaşamış koyunların annesel genetik soyları analiz edilmiştir. Bu çalışma, Anadolu'daki arkeolojik kazılardan çıkarılmış antik koyun örneklerinin genetik yapısını anlamaya yönelik gerçekleştirilmiş ilk çalışmadır.

Türkiye için ekonomik değeri yüksek olan koyunda, bu çalışmanın sağladığı antik DNA izolasyonu imkan ve becerisiyle genom evrimi çalışmalarına başlanabilecek, örneğin parazit/hastalık direnç genlerinin nasıl geliştiği anlaşılacaktır; bu bilgi diğer modern koyun ırklarında aynı özelliğin edinilmesinde kullanılabilir. Çalışma, evcil hayvan gen kaynaklarının korunma stratejisi oluşturulmasında ırkların (burada İvesi ırkı için) hangi aşamalardan geçtiği yönünde bilgi vermektedir. Aynı zamanda, bu çalışma kapsamında kurulan antik DNA laboratuvarı sayesinde çok önemli yerel gen kaynaklarımızdan antik DNA içeren materyaller bundan sonra eskisi kadar yoğun şekilde yurt dışına çıkarılmayacak ve evrensel bilim literatürüne Türkiye'den antik DNA analizlerini içeren çalışmalarla özgün katkılar yapılabilir.

Proje, TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı kapsamında Orta Doğu Teknik Üniversitesi bünyesinde yürütülmüş ve 36 ayda tamamlanmıştır. Farklı disiplin ve ülkelerden araştırmacılarla işbirliği yapma olanağını bize sağlayan bu proje kapsamında, yayınlanan makalemizin devamı olarak kısa sürede özgün içerikli başka yayınlar da çıkarmayı umuyoruz. Yine bu proje aracılığı ile başlayan işbirliklerinin yeni projelerle devam etmesini planlamaktayız.

Bu proje TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı çerçevesinde desteklediği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na ve dikkatli ve yapıcı yönlendirmeleri için hakemlere teşekkür etmek isteriz.

Prof. Dr. İnci Togan

TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı Projesi
Proje Yürütücüsü

ARALIK 2014

İÇİNDEKİLER

ŞEKİL DİZİNİ.....	v
TABLO DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	4
2.1 Proje Süresince Ziyaret Edilen Kazı Alanları ve Alınan Örnekler	4
2.1.1 Oylum Höyük.....	4
2.1.2 Tepecik-Çiftlik	5
2.1.3 Arslantepe	5
2.1.4 Hallan Çemi.....	5
2.1.5 Hasankeyf Höyük.....	6
2.1.6 Salattepe.....	6
2.1.7 Aktopraklık.....	6
2.1.8 Barcın Höyük.....	6
2.1.9 Başur Höyük.....	6
2.1.10 Çayönü.....	7
2.1.11 Çemialo Sırtı	7
2.1.12 Komana.....	7
2.1.13 Küllüoba.....	7
2.1.14 Maydos Kilisetepe Höyüğü	7
2.1.15 Yeşilova Höyüğü	7
2.1.16 Acem Höyük.....	8
2.1.17 Boncuklu Höyük.....	8
2.1.18 Sumaki	8
2.1.19 Gre Amer Höyüğü.....	8
2.1.20 Karkamış	8
2.1.21 Demirköy Höyüğü.....	8
2.2 Toplanan Örneklerin Sınıflandırılması	8
2.3 Laboratuvar Kurulması ve Kullanılacak Yöntemin Öğrenilmesi.....	12
2.3.1 aDNA Çalışmaları İçin Kullanılacak Laboratuvarın Hazırlanması.....	12
2.3.2 aDNA Çalışmaları İçin Deneyim Kazanma.....	14

2.4 Yöntem	14
2.4.1 DNA İzolasyonu ve PZR Eldesi.....	14
2.4.2 DNA Dizisinin Analizi.....	19
2.4.2.1 Elde Edilen İlk Dizinin Koyun Örneği Olduğunun Sınanması.....	19
2.4.2.2 Aynı Bireyden Elde Edilen Dizinin Tekrarlanabilirliğinin ve aDNA Örneği Olduğunun Sınanması.....	21
3. BULGULAR.....	24
3.1 aDNA Sonuçları.....	24
3.1.1 Oylum Höyük Sonuçları	24
3.1.2 Tepecik-Çiftlik Sonuçları	27
3.1.3. Arslantepe Sonuçları.....	30
3.1.4 Hallan Çemi Sonuçları.....	32
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
4.1 Çalışmanın Önemi.....	34
4.2 aDNA Laboratuvarı, Örnek Toplanması ve Prosedürün Uygulanması.....	35
4.3 Seçilen DNA Bölgesi	36
4.4 aDNA Eldesi ve DNA'nın Otantikliği.....	37
4.5 HPG Dağılımları Üzerine	38
4.6 Gelecekteki Çalışmalar	40
KAYNAKÇA	41

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. İlk koyun evcilleştirme merkezini gösteren harita	1
Şekil 2. Metakarpal kemiğinin orta yuvarlak eklem çıkıntısı verisi için oluşturulmuş dağılım .	11
Şekil 3. Metakarpal kemiğinin yan yuvarlak eklem çıkıntısı verisi için oluşturulmuş dağılım..	12
Şekil 4. aDNA laboratuvarımızın bölmelerini gösteren bir görüntü	13
Şekil 5. DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) hazırlık aşamalarının yapıldığı kısmı gösteren bir fotoğraf.	13
Şekil 6. Örneği toz haline getirmek için kullanılan düzenin gösterimi.....	14
Şekil 7. İleri ve geri primerlerin (L15391-H15534) dizileri.	17
Şekil 8. UV ışık altında görüntülenen agaroz jelden bir örnek.....	18
Şekil 9. Elde edilen DNA dizisinin baş ve son kısımlarında primerin bağlanmasından dolayı hep kötü çıkan primer bölgelerinin ChromasPro programı ile kesilmesi.....	19
Şekil 10. Elde edilen dizinin ChromasPro programı içindeki BLAST yardımcı programı ile veri tabanında aratılması.	20
Şekil 11. Yapılan bir BLAST aramasının ardından elde edilen sonucun gösterimi	20
Şekil 12. Bakteri kontaminasyonunun BLAST ile kanıtlanması.....	21
Şekil 13. Tekrarları yapılan bir örneğin 4 farklı dizisinin karşılaştırılması	22
Şekil 14. Bioedit programı ile sıralanan antik ve modern koyun mtDNA dizileri	23
Şekil 15. Anadolu'nun ve dünyanın aDNA eldesi için uygunluğunu gösteren harita	38
Şekil 16. Çalışmada yer alan örneklerin ait olduğu kazı alanları için zamansal ve uzamsal HPG dağılımları.....	40

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Metakarpal değerlendirme ve tanımlaması	10
Tablo 2. Metatarsal değerlendirme ve tanımlaması	10
Tablo 3. PZR koşulları	18
Tablo 4. HPG tanımlamada kullanılan pozisyonlar	23
Tablo 5. Başarılı sonuç elde edilen Oylum Höyük örnekleri	25
Tablo 6. Başarılı sonuç elde edilen Tepecik-Çiftlik örnekleri	28
Tablo 7. Başarılı sonuç elde edilen Arslantepe örnekleri	31
Tablo 8. Başarılı sonuç elde edilen Hallan Çemi örneği.....	33
Tablo 9. Karbon-14 tarihlendirme yaptırılan örnekler ve tarih değerleri.....	34

ÖZET

Son dönemde yapılan arkeozoolojik çalışmalar, en eski (günümüzden 11000 yıl önce) ve belki de tek koyun evcilleştirme merkezinin Güneydoğu Anadolu'da olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada koyun evcilleştirmesinin tarihinin anlaşılmasına katkıda bulunmak amacıyla, Türkiye'deki çeşitli kazılardan çıkarılan koyun örneklerinin antik DNA'ları incelenmiştir.

Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe, Hallan Çemi gibi kazı alanlarından örnekler Orta Doğu Teknik Üniversitesi'nde 2012 yılında kurulan antik DNA laboratuvarına getirilmiştir. Antik DNA eldesi koyun olarak tanı koyulan örnekler kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra, modern evcil koyunda beş mitokondriyal DNA haplogrubunu da (A-E) ayırabildiği gözlenen 144 baz çifti uzunluğundaki DNA bölgesi yükseltgenmiştir.

DNA izolasyonu ve yükseltgenmesindeki başarı oranı Oylum Höyük örnekleri için %64,9, Tepecik-Çiftlik örnekleri için %93,3, Arslantepe örnekleri için %86,7 ve Hallan Çemi için %16,7'dir. Canlı öldükten sonra gerçekleşen nükleotid değişimleri (hatalı baz yerleştirme) tekrarlanan antik DNA dizileri ve modern koyunlara ait referans diziler karşılaştırmalı olarak çalışılarak tahmini olarak belirlenmiştir. Yükseltgenen antik DNA dizileri koyun örneklerinin haplogrublarını belirlemede kullanılmıştır. Her bir haplogrubun görülme yüzdesi: Oylum Höyük örnekleri için haplogrup A:%48,7, B:%37,8, C:%5,4, D:%5,4, E:%2,7; Tepecik-Çiftlik örnekleri için A:%3,6, B:%78,6, D:%3,6, E:%14,2; Arslantepe örnekleri için A:%30,8, B:%46,1, E:%23,1; Hallan Çemi için B:%100'dür. HPG dağılımları mevcut literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında, HPG B'nin evcilleştirmenin ilk dönemlerinde koyun evcilleştirme merkezi çevresinde baskın tip olduğu ve HPG A ve HPG C'nin frekanslarının sırasıyla 9500 ve 3800 yıl önceden itibaren arttığı gözlemlenmiştir. Koyun evcilleştirme merkezinden yapılan bu ilk çalışma, Güney/Güneydoğu Anadolu'daki evcil koyunun evrimsel tarihine katkıda bulunmanın yanısıra, mitokondriyal DNA'nın küçük bir bölgesinin modern evcil koyunlarda gözlenen haplogrublara göre antik koyunların haplogrublarını belirlemede yardımcı olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler:

Antik DNA, koyun, Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe, Hallan Çemi, mtDNA haplogrup

ABSTRACT

Recent archaeozoological studies indicated that perhaps the oldest (11000 years before present) and may be the only sheep domestication center was in Southeast Anatolia. In this study, to contribute to the understanding of sheep domestication history, ancient DNA derived from skeletal remains of sheep unearthed from archaeological sites in Turkey were examined.

Ancient samples from sites such as Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe, Hallan Çemi were brought to the dedicated aDNA laboratory which was established at the Middle East Technical University in 2012. Ancient DNA extraction was performed using the samples identified as sheep by the archaeozoologists. Then, a 144 base pair long mitochondrial DNA fragment which was shown to identify all five of the modern domestic sheep haplogroups A-E, was amplified.

Success rates in extractions and amplifications were 64,9% for Oylum Höyük samples, 93.3% for Tepecik-Çiftlik samples, 86,7% for Arslantepe samples and 16,7% for Hallan Çemi samples. Postmortem nucleotide changes (misincorporations) were inferred on the basis of replicated ancient DNA sequences and reference sequences from modern sheep samples. As the main result, ancient DNA sequences were used to estimate haplogroups of sheep samples. The observed percentage of each haplogroup was: haplogroup A:48,7%, B: 37,8%, C:5,4%, D:5,4%, E:2,7% for Oylum Höyük; A:3,6%, B:78,6%, D:3,6%, E:14,2% for Tepecik-Çiftlik; A:30,8%, B:46,1%, E:23,1% for Arslantepe and B:100% for Hallan Çemi samples. When HPG distributions were examined comparatively with the accumulated data in the literature, it was observed that HPG B might be the dominating type around the sheep domestication center in the early days of domestication and HPG A and HPG C frequencies increased around this region after 9500 ve 3800 years before present, respectively. The present study being the first study from the sheep domestication center, besides contributing to the understanding of evolutionary history of domestic sheep in South/Southeast Anatolia, also shows that a short mitochondrial DNA fragment is useful to determine the haplogroups of ancient sheep with respect to the haplogroups observed in modern domestic sheep.

Keywords:

Ancient DNA, sheep, Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe, Hallan Çemi, mtDNA haplogroup

1. GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

En son arkeolojik bulgular ve yorumlar koyun evcilleşmesinin yaklaşık 11000 yıl önce ve Şekil 1'deki haritada gösterildiği gibi ağırlıklı olarak Anadolu'da, bugünkü Türkiye sınırları içinde gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 1. İlk koyun evcilleştirme merkezini gösteren harita ((Zeder, 2008)'den uyarlanmıştır). Gösterilen tarih günümüzden öncedir (BP).

Uluslararası Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation, FAO) gelecekte gıda bulabilmeyi garantilemek için genetik çeşitliliği yüksek ve hızla kaybolmakta olan yerel ırkların korunmada öncelikli olması gerektiğini vurgulamaktadır (FAO, 2007). Orta Doğu bölgesinin koyun, sığır ve keçi ırklarının evcilleşme merkezlerine yakınlıkları (Zeder, 2008) ve yüksek genetik çeşitlilik içermeleri nedenleri ile korunmada önceliklerinin olması gerektiği belirtilmiştir (Bruford vd., 2003). Koyunlarda son yıllarda yayınlanan bir makalede de aynı görüş bir kez daha vurgulanmıştır (Tapio vd., 2010). Görüşün gerekçeleri: ırkın genetik çeşitliliğinin yüksek olmasının gelecekte ortaya çıkacak yeni çevre koşullarına uyum sağlayabilmesine, yaşamaya devam etmesine olanak sağlayacağına ve yine genetik çeşitliliği yüksek ırkların günümüzde yaşayan verim parametreleri yüksek ancak hastalıklara/zorlu çevre koşullarına direnci düşük koyun ırklarını güçlendirmek için kullanılacak genlere kaynaklık yapabileceğine inanılmasıdır. Yerli ırklarımız, evcilleşme merkezine yakın oldukları için belki de ilk evcilleşmiş koyunların günümüzde yaşayan en yakın akrabalarıdır. Dünyadaki koyun ırkları onlardan köken alıp uzaklara giden bireylerden

oluştuklarından, yerli ırklarımızın göreceli olarak dünyada en fazla genetik çeşitliliğe sahip ırklar olmaları beklenir. Ayrıca, sistematik bir seleksiyon baskısına maruz kalmamış olmaları da genetik çeşitliliğin yerli ırklarımızda yüksek olması beklentisini desteklemekte ve onların yerel çevrelerine adaptasyon gösterme fırsatı bulmuş ırklar olarak korumada önceliklerini daha da arttırmaktadır. Gerçekten, mikrosatellitlerle yapılmış yerli koyun ırklarımızı kapsayan çalışmalarda ırklarımız (Gutierrez-Gill vd., 2006; Lawson Handly vd., 2007; Peter vd., 2007) beraber çalışıldıkları diğer yerli koyun ırklarından daha fazla veya Orta Doğu'dakilerle aynı düzeyde genetik çeşitlilik sergilemişlerdir. Yine mitokondriyal DNA (mtDNA) haplogrupları (HPG) açısından da dünyada gözlenen koyun HPG'lerinin (A-E, 5 tane) tamamı yerli koyun ırklarımızda bulunmaktadır (Meadows vd., 2007). A-C HPG'ları sık, D-E HPG'ları ise az bulunan HPG'lardır (Meadows vd., 2007). Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In Vitro Korunması ve Ön Genetik Tanımlanması-I (TÜRKHAYGEN-I) isimli ulusal projede (KAMAG-106G005) 13 yerli koyun ırkının genetik tanımlaması laboratuvarımızda yapılmıştır. TÜRKHAYGEN-I'nin final raporunda belirtildiği gibi az bulunan D ve E HPG'ları bir kez daha örneklerimizde gözlenmiş ve az bulunan bu HPG'ların tüm dünyada en sık rastlandığı koyunların yine modern Anadolu koyunları olduğu gösterilmiştir. Tüm bu sonuçlar da ırklarımızın genetik çeşitliliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Ancak, mikrosatellit bazlı ölçülmüş genetik çeşitliliğin ırklarımızda Avrupa'da görüldüğü gibi (Glowatzki-Mullis vd., 2009; Tapio vd., 2010) ayrılmamış olduğu ve özellikle Anadolu'nun içinde bulunan ırkların birbirine çok benzediği gözlenmiştir (Koban, 2004; Doğan, 2009; Acar, 2010). TÜRKHAYGEN-I bağlamında toplanan mikrosatellit bilgileri ile ırk içi ve ırklar arası çeşitliliğe bakarak ırklara korumada öncelik sırası verilmek istenmiş ancak ırkların ırk içi genetik çeşitlilikleri yüksek olmak ile beraber birbirlerine çok benzediği, örneğin İsviçre koyunlarında (Glowatzki-Mullis vd., 2009) gözlenen farklardan (0.074) neredeyse yarıyarıya az (0,043) olduğu hesaplamalarla ortaya çıkarılmıştır. Böylece, Türk ırkları için gözlenen farklar üzerinden öncelik tanımanın anlamlı olmayacağı anlaşılmıştır.

Hatırlanması gereken diğer bir husus da, yüksek genetik çeşitliliğin tarih boyunca insan göçlerine eşlik eden evcil hayvanların göçle gelip yerli ırklara karışmasından da ortaya çıkabilmesi ya da artabilmesidir (Fernandez vd., 2006). Avrupa'da evcilleşme döneminde ve sonrasında hiç yaban koyunu bulunmadığı bilinmektedir (Clutton-Brock, 1999). Tüm ilk Avrupa koyunlarının Türkiye'den, ilk evcilleşme bölgesinden, gittiği sanılmaktadır. Avrupa'da koyunların neredeyse tamamında mtDNA B HPG'u bulunmaktadır. TÜRKHAYGEN-I final raporunda gösterilen çalışmada, daha önceki çalışmalarda da (Koban, 2004; Yüncü, 2009) gözlendiği gibi Türkiye'de her ırkta en az yarıya yakın B HPG'u görülmekle beraber A ve C HPG'lerinin de özellikle Doğu ve Güneydoğu'da çok yaygın olduğu belgelenmiştir. Ayrıca, D

ve E HPG'ları da görülmektedir. Türkiye'de koyunu da kapsayan iki büyük göçün Neolitik'te (Clutton-Brock, 1999) ve 5000 yıl öncesinde (Chessa vd., 2009) olduğu bilinmektedir. Ayrıca, Türkiye'ye de en azından bir kez, hayvancılıkla geçinen Türk boyları, yaklaşık 1000 yıl önce (Togan, 1999) gelirken çok sayıda koyun getirmiş olmalıdır (Berkman vd., 2008). Tutucu bir tahminle, gelen koyunların 50 milyondan fazla olabileceği ve tarih bilgileri doğrultusunda (Toynbee, 1970) göçle gelenlerin özellikle İç-Doğu ve Güneydoğu Anadolu'ya birikmiş olabilecekleri düşünülmektedir (Togan vd., 2007). Gerçekten mikrosatellit bazlı araştırmalarda Türkiye koyunlarındaki Dağlıç ile Akkaraman-Morkaraman arasında gözlenmiş genetik farklılaşma (Peter vd., 2007) bu düşünceyi kuvvetle desteklemektedir. Aynı senaryo çerçevesinde mtDNA HPG'larında gözlenen geçişli (cline) yayılım, Bruford ve Townsend'in (2006) önerdiği A ve C HPG'larının frekanslarının yüksek olduğu yerlerden (Anadolu'nun doğusundan/güneydoğusundan) gelen koyunların Anadolu'nun belki de ilk önceleri var olan yerli B HPG'unun üstünde böyle bir dağılım yaratmasıyla ortaya çıkmış olabilir. Anadolu'ya göçlerle gelen koyunlara eşlik eden çoban köpeklerinin, örneğin Kangal'ın (Koban vd., 2009) genetik yapısı Anadolu'da komşusu olduğu Akbaş köpeklerinininkinden çok farklılık göstermekte ve göçebe Türklerin göç yolundakilerle uyuşmakta; böylece Anadolu'ya doğudan gelen koyunların Anadolu'nun önceleri var olan çeşitlilik örgüsünü değiştirmiş olduğu savını desteklemektedir.

Sonuç olarak yüksek genetik çeşitlilik istenen bir kıstastır ama onun sebebinin göçlerle karışmış bir gen havuzu olup olmadığının araştırılması gerekmektedir. Göçlere göre ayrı gruplaşan ırklar varsa, bu ırklar ortaya çıkartılarak gruplar bazında koyun ırklarına korumada öncelik tanınmalıdır. İlk evcilleşmiş koyunların bugün yaşayan en yakın akrabası olan ırkı/ırkları da saptayarak belki ona/onlara en yüksek önceliği vermek mümkün olabilir. İrkları geçmişlerine göre ayırabilmek, ırk gruplarının tanınabilmesi, günümüz ırklarının evrimsel geçmişlerinin ortaya çıkarılması için Anadolu'nun 11000 yıllık geçmişi domuzlarda yapıldığı gibi (Larson vd., 2007) antik DNA (aDNA) ile ortaya çıkarılabilir. Ancak, önerilen çalışma domuzlarda yapılmış olan kadar kapsamlı olmayıp, öyle bir çalışmanın Anadolu kısmı için ilk adımlarını içermektedir.

Ayrıca ilginç bir durum da, Avrupa'ya yakınlığı nedeniyle HPG B'nin atası (Hiendleder vd., 2002) olması beklenen Anadolu yaban koyununun (yeni isimlendirme ile *Ovis gmelinii anatolica*) sadece A ve C HPG'larını içermesidir (Demirci, 2012). Fakat *Ovis gmelinii anatolica*'da gözlenen HPG A evcil koyunlarda gözlenen A dizisine çok yakın olmasına rağmen, HPG C evcil koyunlarda gözlenen C dizisine ayrı bir grup olarak isimlendirilecek kadar uzaktır. Bu durum yepyeni sorular ortaya çıkartarak, bugünkü genetik örgülerin öngörülenlerden farklı olaylarla ortaya çıkmış olabileceğinin ilk işaretlerini vermekte olabilir.

aDNA'ları ile birlikte bakıldığında hem kurt hem de köpekler için günümüz örneklerinin (modern örneklerin) genetik çeşitlilik olarak, eskiden var olan genetik çeşitliliğin sadece alt kümesini taşıdıkları gözlenmiştir (Parker vd., 2010). Genetik çeşitliliğin tümü üzerinden doğru kararlar vermek ya da günümüzde gözlenen gen havuzunun geçmişte şekilleniş aşamalarını saptayabilmek için aDNA ile çalışılmalıdır. aDNA çalışmaları 1984'te başlamış olmakla beraber, araştırma kaynaklarının kısıtlı olduğu ülke ve laboratuvarlarda uzun yıllar yapılamamıştır. Bunun sebepleri olarak, aDNA çalışmaları için steril şartlarda çalışılabilecek bir kaç odalı özel laboratuvar gerekmesi ve eski örneklerde bulunan DNA baskılayıcı maddelerin bertaraf edilememesi sayılabilir. Son yıllarda bu iki engeli aşmayı sağlayan yaklaşımlar (Rohland ve Hofreiter, 2007; Rohland vd., 2010) yayınlanmıştır. Biz de modern koyun (Koban, 2004; Doğan, 2009; Yüncü, 2009; Acar, 2010; TÜRKHAYGEN-I), köpek (Koban vd., 2009) ve insan (Berkman vd., 2008) çalışmalarımız ile vardığımız noktada öncelikle koyunda aDNA çalışmak için bu projeyi gerçekleştirdik.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Proje Süresince Ziyaret Edilen Kazı Alanları ve Alınan Örnekler

2.1.1 Oylum Höyük

Oylum Höyük Kilis'in 7 km güneydoğusunda, Gaziantep karayolunun güneyinde, Oylum köyünün hemen yanında yer alır. Burası boyutları itibariyle Güneydoğu Anadolu bölgesinin en büyük höyüklerinden biridir. Oylum Höyük, doğu-batı yönünde Fırat Vadisi ile Amik Ovası, kuzey-güney yönünde ise Kuzey Suriye ile Anadolu Platosu arasındaki kesişme noktasında yer alır. Tarih öncesi dönemlerde Kilis Ovası'nın ılıman iklimi ve verimi, Tunç Çağları'nda ise coğrafik konumu nedeniyle Oylum Höyük'ün de yer aldığı bu bölge merkez konumundadır.

Cumhuriyet Üniversitesi'nden Doç. Dr. Atilla Engin'in başkanlık ettiği Oylum Höyük, Türkiye-Suriye arasındaki sınıra hakim bir konumda bulunmaktadır. Günümüzdeki bu siyasi sınır aynı zamanda kuzeydeki Anadolu sıradağları ile güneydeki Suriye ovalarını ayıran doğal bir coğrafi hattır. Burası aynı zamanda Mezopotamya ve Akdeniz'deki eski uygarlıkların toplandığı kültürel bir bölgedir. Oylum Höyük, günümüzden yaklaşık 4000 yıl öncesinden beri koyunlarda mtDNA HPG değişimini izleyebilme olanağı vermektedir.

Oylum Höyük'e 2011 yılında (Nihan Dilşad Dağtaş, kendi imkanlarımızla), 2012 yılında (Nihan Dilşad Dağtaş ve Eren Yüncü) ve 2013 yılında (Nihan Dilşad Dağtaş) olmak üzere toplam 3 kez gidilmiştir. Bu ziyaretlerde 300'e yakın örnek araziden ve depodan alınmıştır.

2.1.2 Tepecik-Çiftlik

Melendiz Dağları'nın hemen doğusundaki küçük bir vadi içinde yer alan bir höyüktür. Kazılar 2000 yılında İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Prehistorya Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Erhan Bıçakçı ve Niğde Müzesi'nden E. Faydalı başkanlığında başlatılmıştır. Bu höyük esas olarak Neolitik Çağ'dan beri iskan edilmiş bir yerleşmedir. Ele geçen buluntularla tepedeki yerleşmenin Erken Kalkolitik Çağ'da da sürmüş olduğu kabul edilmektedir.

Bu alan 2013 yaz sezonunda (Elçin Ekşi ve Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem-kendi imkanı ile) ve 2014 yaz sezonunda (Nihan Dilşad Dağtaş, Eren Yüncü ve Reyhan Yaka) olmak üzere 2 kez ziyaret edilmiştir. Kazı ziyaretlerinde 147 adet örnek alınmıştır. Bunlara ek olarak Elçin Ekşi ve Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem İstanbul Üniversitesi deposundan 40 adet örneği de malzememiz arasına katmışlardır. Ayrıca, 2014 yaz sezonunda ortak projeler ile ilgili görüşmek ve bilgi alışverişinde bulunmak amacıyla proje yürütücüsü Prof. Dr. İnci Togan ve Dr. Füsün Özer de bu kazı alanına ziyarette bulunmuşlardır.

2.1.3 Arslantepe

Arslantepe Höyüğü, Malatya'nın 7 km kuzeydoğusunda yer alan bir arkeolojik yerleşimdir. Türkiye'deki en büyük höyüklerden biridir. Höyük, Fırat üzerindeki Karakaya Baraj Gölü'nün batısındadır. Otuz metre yükseklikteki höyük, M.Ö. 5000 yıllarından M.S. 11. yüzyıla kadar iskan edilmiştir. Bölge M.S. 5.-6. yüzyıllarda bir Roma köyü olarak, daha sonra da Bizans nekropolü olarak kullanılmıştır. Kazılar halen Prof. Dr. Marcella Frangipane tarafından koordine edilmektedir.

Bu alan 2012 ve 2013 yıllarında (Nihan Dilşad Dağtaş tarafından) ziyaret edilmiş, toplamda 27 adet örnek laboratuvara getirilmiştir. Örneklerin çoğunluğu (25 adet) depoda muhafaza edilen örnekler arasından bulunmuş, sadece 2 tanesi kazı alanından alınmıştır.

2.1.4 Hallan Çemi

Dr. Michael Rosenberg'in başkanlık ettiği Hallan Çemi Höyüğü, ya da Hallan Çemi Tepesi, Batman il merkezinin 50 km kuzeyinde yer alan bir arkeolojik yerleşimdir. Höyük, 4.3 metre yükseklikte bir tepe olup Dicle'nin kolu Sason Çayı'nın batı kıyısında dar bir vadide yer almaktadır.

Hallan Çemi sakinlerinin yerleşik avcı-toplayıcı bir topluluk olduğu anlaşılmaktadır. Tepe'nin günümüzden 11.700-11.270 yıl önce iskan edildiği ileri sürülmektedir. Bu tarihlere göre Anadolu'nun bilinen en eski yerleşim yeridir. Kazılar, herhangi bir tarımsal faaliyete ilişkin bulgu vermezken, domuzun evcilleştirilme sürecinin başlarında bulunulduğunu gösteren veriler sağlamıştır.

2013 yılında Hallan Çemi'den, M.Ö. 10000 civarına tarihlenen 6 adet örnek kazının arkeozooloğu Dr. Melinda Zeder tarafından laboratuvarımıza yollanmıştır.

2.1.5 Hasankeyf Höyük

Hasankeyf'in 1.5 km doğusunda Dicle Nehri'nin kuzey kıyısında yükselen bu höyük 200x160 m'lik alanı kaplamaktadır. 2009-2013 yılları arasında yapılan çalışmalarda Çanak Çömleksiz (akeramik) Neolitik, Demir ve Hellenistik Çağ'a ait bulgular tespit edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem aracılığıyla Hasankeyf Höyük'ten, deneylerimizde kullanılmak üzere 4 adet yaban koyunu (tahmini dönemi Neolitik-M.Ö. 10000) örneği yollanmıştır. Bu örnekler, elimizdeki örnekler arasında koyun evcilleştirmesinin gerçekleştiği düşünülen zaman dilimine ve evcilleştirme alanına (M.Ö. 9000, Güneydoğu Anadolu) en yakın örneklerdendir; fakat örneklerden DNA elde edilememiştir.

2.1.6 Salattepe

Diyarbakır ve Batman illeri arasında bulunan Salat Tepe Höyüğü 2012 yılında (Nihan Dilşad Dağtaş) ziyaret edilmiş; araziden 6 adet örnek alınmıştır. Örneklerden DNA elde edilememiştir.

2.1.7 Aktopraklık

Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem, Bursa'da yer alan bu kazı alanından 10 adet örneğin laboratuvarımıza gönderilmesini sağlamıştır. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri bu proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.8 Barcın Höyük

2013 yaz sezonunda (Elçin Ekşi ve Dr. Füsün Özer) Bursa ilindeki bu kazı alanı ziyaret edilmiş; toplam 83 adet örnek laboratuvarımıza getirilmiştir. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri bu proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.9 Başur Höyük

Yrd. Doç. Dr. Evangelia Pişkin, Siirt ilindeki bu kazı alanından 9 adet örneğin laboratuvarımıza gönderilmesini sağlamıştır. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri bu proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.10 Çayönü

Diyarbakır'daki Çayönü kazısı 2013 yılında açılmadığı için ziyaret edilememiştir. Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem ve Elçin Ekşi İstanbul Üniversitesi'ndeki örnek deposundan 20 tane örneği seçip laboratuvarımıza getirmişlerdir. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.11 Çemialo Sırtı

2013 yılında (Elçin Ekşi ve Eren Yüncü) Batman ilindeki Çemialo Sırtı kazısı ziyaret edilmiş; 32 tane örnek alınmıştır. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.12 Komana

Tokat ilindeki Komana antik kenti, Geç Bizans-Erken Selçuklu dönemini içermesi ve Türklerin Anadolu'ya gelmesi sonrasında koyunlarda mtDNA HPG değişimini gözleme imkanını bize vermesi sebebiyle kazı alanı olarak seçilmiş ve 2010 ve 2011 yıllarında (Nihan Dilşad Dağtaş tarafından) ziyaret edilip yaklaşık 60 örnek alınmıştır. Fakat alınan örneklerin sanılandan daha yakın tarihli olma olasılığı sebebiyle, örneklerin bu projede çalışılmamasına karar verilmiştir.

2.1.13 Küllüoba

Eskişehir yakınlarındaki Küllüoba 2013 yılında (Eren Yüncü ve Elçin Ekşi) ziyaret edilmiş; toplam 55 tane örnek laboratuvarımıza getirilmiştir. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.14 Maydos Kilisetepe Höyüğü

Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem, Çanakkale ilinde bulunan bu kazı alanından 19 adet örneğin laboratuvarımıza gönderilmesini sağlamıştır. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.15 Yeşilova Höyüğü

İzmir'in içindeki en eski yerleşim alanı olan Yeşilova Höyüğü'nden, 2013 yılında, bu kazıda arkeozoolog olarak görev alan Yrd. Doç. Dr. Gülçin İlgezdi Bertram tarafından 24 örnek

tarafımıza teslim edilmiştir. Deney malzemesini etkin kullanmak adına kazı alanları arasında bir önem önceliği sıralaması yapılmış; bu alanın örnekleri proje çerçevesinde çalışılmamıştır.

2.1.16 Acem Höyük

2013 yılında (Dr. Füsün Özer ve Eren Yüncü) bu kazı alanı ziyaret edilmiş; toplam 36 adet metapodya ve mandibula örneği seçilmiştir. Fakat sonrasında kazı başkanı örnekleri vermek istememiştir.

2.1.17 Boncuklu Höyük

Konya yakınlarındaki Boncuklu Höyük, 2011 yılında (Nihan Dilşad Dağtaş tarafından) ziyaret edilmiş; fakat proje için yararlı bir materyal elde edilememiştir. Sonraki yıllarda bu alan ziyaret edilmemiştir.

2.1.18 Sumaki

Batman ili Beşiri ilçesi yakınlarında bulunan Sumaki Höyük'te, 2011 yılında Kültür ve Turizm Bakanlığı'ndan resmi kazı izni alınamaması nedeniyle kazı çalışması yapılamamıştır. Devam eden yıllarda başka alanlara odaklanıldığı için buraya bir ziyaret gerçekleştirilmemiştir.

2.1.19 Gre Amer Höyüğü

2012 yılında gidilmesi planlanan Batman'daki Gre Amer Höyüğü'ne bölgede son zamanlarda artan güvenlik problemleri nedeniyle gidilmemiştir.

2.1.20 Karkamış

2012 yılında gidilmesi planlanan Gaziantep'teki Karkamış kazısına bölgede son zamanlarda artan güvenlik problemleri nedeniyle gidilmemiştir.

2.1.21 Demirköy Höyüğü

2013 yılında Diyarbakır ilindeki Demirköy Höyüğü'nden örnek alabileceğimiz söylenmiştir. Elimizdeki toplam örnek sayısına göre kazı başkanı ile tekrar yazışılması planlanmış; elimizde fazla sayıda örnek olmasından dolayı bu proje kapsamında örnek alınmamıştır.

2.2 Toplanan Örneklerin Sınıflandırılması

Koyun ve keçi kemiklerinin tanımlamalarının yapıp birbirinden ayrılması, iki tür birbiriyle benzer olduğundan, arkeozoologlar için en zor çalışmalardan biridir. Bu konu birçok araştırmacının ilgisini çekmiş; çalışma için birçok farklı morfolojik ve osteometrik

değerlendirme metodu geliştirilmiştir. Güvenilirlik dereceleri ve göz önünde bulundurdukları ölçütleri farklı olan birden fazla yayın vardır.

Bu çalışma için en iyi ve en güvenilir kemikler seçilmiştir. Seçilme aşamasında birkaç noktaya dikkat edilmiştir. Bunlar:

- a) Örnek üzerinde aynı anda birden fazla ölçütün uygulanabilmesi,
- b) Örneğin hem morfolojik özellikler hem de osteometrik ölçümlerle tanımlanabilmesi, böylece tanımlamanın güvenilirliğinin artması,
- c) Arkeolojik kazılarda fazlaca bulunması ve korunma durumlarının iyi olmasıdır.

Hangi tip kemiklerin DNA izolasyonu için uygun olduğu konusunda da bilgi alındıktan sonra, hangilerinin seçilmesi gerektiğine karar verilmiştir. Bu kemikler metakarpal, metatarsal ve mandibulalardır. Bunlara ek olarak, depo örneklerinden koyun olduğu anlaşılan farklı tipte örnekler de çalışmamızda kullanılmıştır.

Aşağıdaki kayıt tablolarında her bir ölçüt "Koyun(S), Keçi(G) ya da Belirsiz(?)" olmak üzere 3 farklı şekilde değerlendirilmek üzere hazırlanmıştır. DNA analizi için, en az 3 ölçütte "Koyun" özelliği gösteren ve hiçbir "Keçi" değerlendirmesi almayan koyun kemikleri seçilmiştir. Sonrasında osteometrik bilgi göz önünde bulundurulmuş ve ikinci bir değerlendirme yapılmıştır. Osteometrik ölçümlerin örnek seçimini doğrulamaması durumunda bu örnek çalışmadan çıkarılmıştır. Örneğin, Tablo 1'de 1 numaralı örnek bütün morfolojik ölçütlerde koyun özelliği gösterse de osteometrik değerlendirmelerden birisi koyun tanımını desteklemediği için çalışmadan çıkarılmıştır. Tablo 2'de 14 numaralı örneğin kullanılmasından morfolojik özelliklerden birisi keçi belirteci gösterdiği için vazgeçilmiştir.

Tablo 1. Metakarpal değerlendirme ve tanımlaması, D1 -D2-D3-D4 = Boessneck (1969) çalışmasından morfolojik ölçütler; LcL-LcS = Lateral kondil ölçümü; McL-McS = Medial kondil ölçümü; Skor L = Lateral kondil skoru; Skor M = Medial kondil skor; hepsi Payne (1969) çalışmasındaki ölçütlerdir. Tür tanımlaması, S = Koyun, G = Keçi.

Örnek No	D1	D2	D3	D4	LcL	LcS	McL	McS	Skor L	Skor M	Tanımlama
1	S	S	S		1.67	1.15	1.61	1.07	1.4	1.5	?
2	S	S	S		1.81	1.31	1.75	1.23	1.3	1.4	S
3	S	S	S		1.80	1.29	1.77	1.23	1.3	1.4	S
4	G	G	G		1.67	1.03	1.61	0.95	1.5	1.6	G
5	S	S	S		1.79	1.25	1.86	1.33	1.4	1.3	S
6	S	S	S		1.73	1.27	1.67	1.19	1.3	1.4	S
7	S	S	S		1.64	1.18	1.57	1.09	1.3	1.4	S
8	G	G	G		1.82	1.19	1.80	1.13	1.5	1.5	G
13	G	G	G		1.43	0.91	1.51	0.94	1.5	1.6	G

Tablo 2. Metatarsal değerlendirme ve tanımlaması (kısaltmalar yukarıdakilerle aynıdır). Ek olarak “-“ özellik tanımlanamamaktadır anlamındadır (aşınmış/kırılmış).

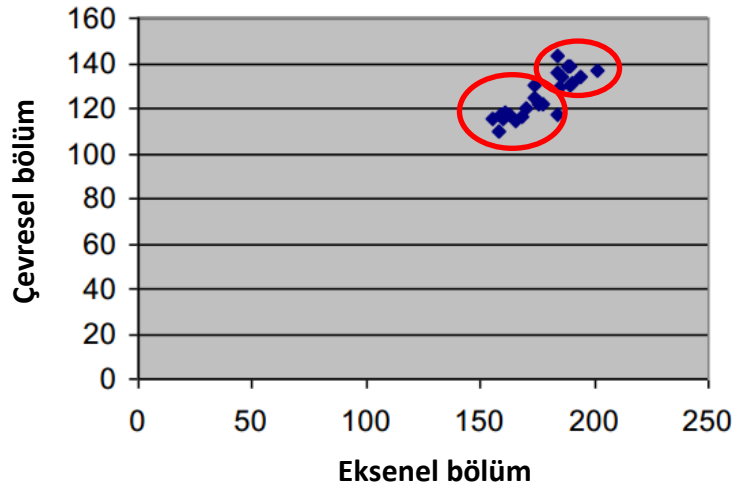
Örnek No	D1	D2	D3	D4	LcL	LcS	McL	McS	Skor L	Skor M	Tanımlama
9	G	?	G	G	1.57	0.96	1.51	0.89	1.6	1.6	G
10	S	S	S	S	1.62	1.10	1.58	1.08	1.4	1.4	S
11	G	?	G	G	1.52	0.91	1.51	0.90	1.6	1.6	G
12	S	S	-	S	1.76	1.27	-	-	1.3	-	S
14	S	S	S	G	1.60	1.13	1.64	1.15	1.4	1.4	?

Proje araştırmacıları Yrd. Doç. Dr. Evangelia Pişkin ve Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem 2011-2014 yılları arasında 12 kazı alanından 700’den fazla örneğe tanı koymuşlardır.

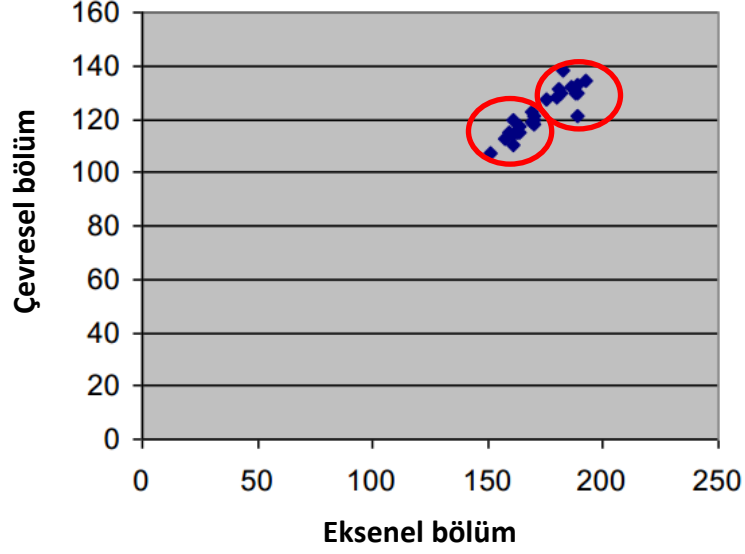
Bazı örnek gruplarında, gözlemler ve ölçümler arasında çelişkili durumlar tespit edilmiştir. Bazen ölçümler koyun ve keçi ayırımında kritik nokta olarak kabul edilen sınırın üstünde (keçinin değerlerine yakın) çıkmıştır. Literatürde, koyun metakarpal ve metatarsal kemiklerinin dış makaralarının çevresinin aksenal kısmın çapından %63-64 oranında büyük olduğu belirtilmiştir. Keçide bunun tam tersi doğrudur. Bu doğrultuda 1.56 ve 1.58 arası oran ölçümleri kritik “sınır noktaları” olarak kabul edilir. Buna rağmen, koyun için kabul edilen en

güvenli oran 1,4 iken keçi için bu oran 1,6'dır. 1,5 ise iki tür arasında bir yerde kalmaktadır. Ölçümlerin aksine, çoğu zaman gözlemsel değerlendirmeler koyunu işaret etmiştir. Bu durum Tablo 1 ve 2'de verilen sonuçların yorumlanmasında probleme sebep olmuştur. Bunun yanı sıra oranlar, virgülden sonra 1 yerine 2 basamak alınarak değerlendirildiğinde (dolayısıyla kriterler daha esnek hale geldiğinde) 1.49 oranını koyun olarak kabul edip daha çok örneğin koyun örneği olduğunu belirtmek mümkündür.

Bu ölçümlere ek olarak Payne'in (1969) metakarpal çalışmaları için kullanılan başka bir ölçüm çeşidi ile de diyagramlar çizilmiştir. Bu diyagramlar da (Şekil 2 ve 3) noktaların çok sıkı şekilde kümelenmesi sebebiyle tür ayrımında çok yardımcı olamamıştır. Bununla birlikte bu sıkı kümelenme, bizim örneklerimizin çoğunlukla -hesaplanan oran her ne kadar normal orandan büyük olsada- tek türe (koyun) ait olduğunu gösteriyor olabilir. Bu durumu, zaman içerisinde örnek toplamada edindiğimiz tecrübe ile alandan çoğunlukla koyun örneğinin ve az miktarda keçi örneğinin (istemsiz olarak) alınması ile açıklayabiliriz. Bu iki grafik de olasılıkla koyun örnekleri arasında hafif bir gruplaşmanın (üst ve alt grup şeklinde) varlığını gösteriyor olabilir. Bu gruplaşmanın ise koyun-keçi ayrımını değil (birbirine çok yakın şekilde kümelenmelerinden dolayı), dişi-erkek ayrımını göstermesi olasılık dahilindedir (erkekler dişilerden genellikle daha büyük oldukları için).



Şekil 2. Metakarpal kemiğinin orta yuvarlak eklem çıkıntısı verisi için oluşturulmuş dağılım. Kırmızı ile gösterilen iki veri grubu koyun örnekleri arasındaki dişi-erkek ayrımını gösteriyor olabilir.



Şekil 3. Metakarpal kemiğinin yan yuvarlak eklem çıkıntısı verisi için oluşturulmuş dağılım. Kırmızı ile gösterilen iki veri grubu koyun örnekleri arasındaki dişi-erkek ayrımını gösteriyor olabilir.

2.3 Laboratuvar Kurulması ve Kullanılacak Yöntemin Öğrenilmesi

2.3.1 aDNA Çalışmaları İçin Kullanılacak Laboratuvarın Hazırlanması

Orta Doğu Teknik Üniversitesi aDNA laboratuvarı kurulması için üniversite kampüsünde bulunan MODSİMMER binasında bir yer tahsis etmiştir. aDNA'ya adanmış (modern DNA'ya uzak ve UV lambaları ile donatılmış, bölmelerle temiz alan yaratılmış) laboratuvarımızın gerekli iç düzenlemesi ve alımları yapılmış; deneylere Temmuz 2012'de başlanmıştır. Şekil 4 ve 5'te bu laboratuvardan güncel kesitler sunulmuştur.

2011-2014 yılları arasında steril koşullarda toplanan örnekler buradaki -20°C dondurucuda muhafaza edilmektedir.



Şekil 4. aDNA laboratuvarımızın bölmelerini gösteren bir görüntü. Görülen kapalı bölmede örneklerin DNA izolasyonuna hazırlık aşaması yapılmaktadır.



Şekil 5. DNA izolasyonu ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) hazırlık aşamalarının yapıldığı kısmı gösteren bir fotoğraf.

2.3.2 aDNA Çalışmaları İçin Deneyim Kazanma

Deneylere başlamak için başvurumuzda da belirttiğimiz metot makalesinin yazarlarından birinin (Prof. M. Hofreiter'in) laboratuvarında DNA izolasyon işlemlerinin tamamı gözlenmiş ve bir kısmı (N. Dilşad Dağtaş tarafından) uygulanmıştır.

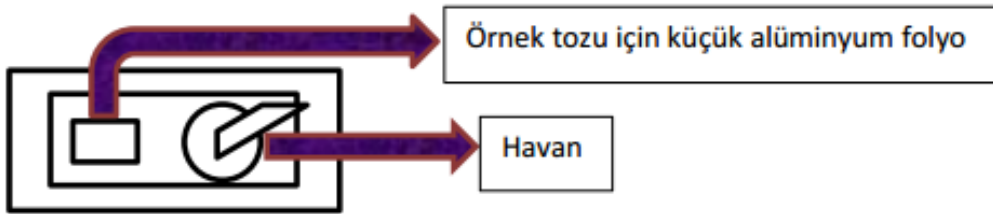
15-22 Nisan 2012 tarihleri arasında İngiltere York Üniversitesi'nden Prof. M. Hofreiter'in laboratuvarına yapılan bu ziyaret sonrası elde edilen bilgiler ve deneyimler ışığında aşağıda sunulan yöntem laboratuvarımızda aDNA eldesi için kullanılmıştır.

2.4 Yöntem

2.4.1 DNA İzolasyonu ve PZR Eldesi

- Kemik örneklerinin toz haline getirilmesi

- Kemikler ayrı ayrı küçük kilimli poşetlerde, -20°C dondurucuda saklanmaktadır.
- O gün çalışılacak örnekler çıkarılır. Durumlarına göre bir seferde 230-250 mg arası olacak şekilde küçük parçalar varsa onlar alınır; önceden terazide sıfırlanan küçük alüminyum folyo parçasının üstünde tartılır. Tezgah üzerinde 3 parça alüminyum folyo ile çalışılmaktadır. En altta büyük folyo (tezgaha serilir), bir üstünde orta boy folyo (üzerine havan ve küçük folyo koyulur) bir üstünde de örnek tartmak için küçük boy folyo kullanılmaktadır (Şekil 6).



Şekil 6. Örneği toz haline getirmek için kullanılan düzenin gösterimi.

- Kemik tozu bu küçük alüminyum folyo parçasının üzerinde tartılır. Tek kullanımlık forsepsler kullanılarak örnekler bir yerden diğerine taşınabilir ya da kırma sırasında örneğe istenilen tarafından vurabilmek için dengede tutulması sağlanabilir. Kemik tozunun ağırlığı ölçüldükten sonra havana koyulup daha ince toz haline getirilmelidir. Havanda iyice inceltiren kemik tozu tekrar o küçük folyo parçasına dökülüp oradan da önceden etiketlenen 15 ml'lik falkon tüpe alınır. Orta boy ve küçük boy folyo parçaları her örnek değişiminde değiştirilir. Örneklerin tüp sırasının bir başına bir sonuna 2 kontrol tüpü koyulur. Birinci kontrol solüsyonda kontaminasyon olup olmadığını, ikinci kontrol örnekler arasında çapraz kontaminasyon olup olmadığını anlamaya yarar. Bu

tüplerin üzerine 5 ml izolasyon solüsyonu eklenir. 37°C'de yavaş hızla döner halde 1 gece (12-16 saat) inkübasyona bırakılır. Tüpleri koymadan ağızları akma tehlikesine karşı parafilmle sarılmalıdır.

- Toz haline getirme işlemi bittikten sonra seyreltilmiş çamaşır suyu ile (1:5) havanlar doldurulup 1 gece karanlıkta bekletilir. Yıkama ve sterilizasyon işlemi ertesi gün tamamlanır. Ertesi gün bir havanın içindeki seyreltik çamaşır suyu boşaltılır. Bir fırça yardımıyla kuvvetlice bastırarak temizlenir. Tokmak da aynı şekilde temizlendikten sonra iki parça da sudan geçirilir. Bir peçete üzerine ters çevrilip koyulur. Laboratuvardaki bütün işlemler bittikten sonra havan ve tokmağın örnekle temas eden kısımları yukarıda kalacak şekilde 12 saat UV'ye maruz bırakılır. Bundan sonra başka bir örnek için kullanıma hazırdırlar.

- Kimyasalların oda sıcaklığında durabilenleri cam kapaklı bir dolapta durmaktadır. Buradan solüsyon hazırlamak için gerekli olanlar alınır. Prosedüre göre tek kullanımlık bir tartım kabı alınıp kimyasallar bununla tartılır; tercihen kaşık kullanılmaz.

- İzolasyon solüsyonunun hazırlanması

- 50 ml'lik falkon tüpe yaklaşık 45 ml 0.45 M EDTA koyulur. Üzeri Proteinaz-K ile 50 ml'ye tamamlanır.

- Bağlama solüsyonu hazırlanması

- Prosedüre göre gereken miktar GuSCN tartılır. 50 ml'lik falkon tüpe alınır.
- HPLC saflığında su ile 45 ml'ye tamamlanır.
- İyice çözünmesi için 1 gün 20-30°C arasında yavaş hızda döner halde inkübasyona bırakılabilir.

- Sodyum asetat solüsyonunun hazırlanması (bağlama solüsyonu için)

- Prosedüre göre gereken miktar sodyum asetat tartılır. 50 ml'lik falkon tüpe alınır. Aynı saflıkta su ile 44 ml'ye tamamlanır. İçine 3 ml asetik asit eklenir ve iyice çözünmesi için 1 gün 20-30°C arasında yavaş hızda döner halde inkübasyona bırakılabilir. Ertesi gün çözündüyse üzeri dH₂O ile 50 ml'ye tamamlanır. Eğer çözünmediyse 3 ml daha asetik asit eklenir. Bir gün daha döner halde inkübasyona bırakılır. Ertesi gün solüsyonun pH'ı pH kağıdı ile ölçülür, değerin 4-5 arasında olması beklenir. Bu durumda sodyum asetat iyi çözünmelidir.
- Çözünen sodyum asetat solüsyonundan 5 ml alınıp 45 ml'lik GuSCN solüsyonuna eklenir.

- DNA izolasyonunun tamamlanması

- İnkübasyondaki Proteinaz-K'lı tüpler çıkarılıp tüplüğe koyulur. Tüplerin sırası (kontrol-1, 1, 2, 3,....., kontrol-2) bozulmamalıdır.
- Yeni 15 ml'lik tüpler çıkarılır, etiketlenir. Her boş tüpe 2,5 ml bağlama solüsyonu koyulur.
- Santrifüjden önce tüplerin ağzındaki parafilm çıkarılır. 4000 rpm'de 1,5 dk santrifüj edilir.
- Santrifüjden çıkan 15 ml'lik tüpler yavaşça tüplüğe alınır, biyogüvenlik kabineye getirilir. Tüpler sırayı bozmadan alınır, içerisinde 2,5 ml bağlama solüsyonu olan yeni tüplere supernatant tek hamlede dökülür ve kalan damlacıklar da tekrar dipteki pelete değdirilmeden pipetle çekilip yeni tüpe aktarılır. Diğer 15 ml'lik tüplerde kalan peletler sonra kullanılabilir düşüncesiyle buzlukta saklanır.
- Önceden hazırlanan silika solüsyonu iyice vortekslenir. Her tüpe 100 ul bu solüsyondan eklenir.
- Tüplerin ağzı parafilmle 3 saat oda sıcaklığında yavaş döner pozisyonda inkübasyona bırakılır.
- Diğer aşama için gereken 2 ml'lik tüpler ve kolonlar çıkarılır. Tüplerin kapakları kesilir ve tüpler etiketlenir. Whatman filtreden 7 mm'lik ekstra filtreler kesilir, bir uç yardımıyla kolonların içerisindeki filtrenin üzerine takılır.
- 3 saat bekleme süresinden sonra tüpler inkübatörden alınır. Üzerlerindeki parafilm çıkarılır ve 4000 rpm'de 1.5-2 dk santrifüj edilir.
- En sonda elde edilecek DNA'ların saklanacağı 1,5 ml'lik tüpler de bir kenarda etiketlenir ve hazırlanır.
- Santrifüjden çıkan tüplerin supernatantları eğerek çöp olarak kullanılacak bir 50 ml'lik falkon tüpe dökülür. Dipte kalan peletlere 400 ul bağlama solüsyonu eklenir ve pipetleme yardımıyla bu pelet çözündürülür. Sonra bu çözelti kolonlu küçük tüpe alınır.
- Kolonlu tüpler 13000 rpm'de 2 dk santrifüj edilir. Dibe geçen supernatant çöp olarak kullanılan falkona dökülür.
- Kolonun üzerine 450 ul önceden hazırlanmış yıkama solüsyonu eklenir.
- Kolonlar 13000 rpm'de 2 dk santrifüj edilir. Dibe geçen süpernatantlar çöp falkonuna dökülür.
- Kolonlara yeniden 450 ul yıkama solüsyonu eklenir. Yine aynı koşullarda santrifüj yapılır. Dibe geçen süpernatant dökülür. Tüpte hiç etanol kalmadığından emin olunmalıdır.

- Kolonlar yeni tüpe alınır. Tam filtrenin ortasına 50 ul önceden hazırlanmış TE solüsyonu eklenir. 10 dk beklenir ve tüpler 13000 rpm'de 1.5 dk santrifüj edilir.
- Kolonlar atılır. Elde edilen 50 ul DNA çözeltisinin dibinde biraz silika kalmış olsa bile DNA bu haliyle PZR için kullanılabilir.

- Kullanılan primerler

- Cai vd.'nin (2007) çalışmasında AF010406.1 GenBank numaralı mtDNA dizisini (Hiendleder vd., 1998) referans olarak kullanarak tasarladığı bir çift primer, 144 baz çiftlik (bç) parçayı yükseltmek için kullanılmıştır. Bu mtDNA parçasının bir kısmı tRNA^{Pro}, bir kısmı ise kontrol bölgesi üzerindedir. Kullanılan primer çiftinin dizileri aşağıda Şekil 7'de gösterilmiştir.

primer	primer dizisi	uzunluk (bç)
L15391	5'-CCACTATCAACACCCAAAG-3'	144
H15534	5'-AAGTCCGTGTTGTATGTTG-3'	

Şekil 7. İleri ve geri primerlerin (L15391-H15534) dizileri.

- Deneylerin başlangıcında, Cai vd.'nin (2007) çalışmasındaki 166 bç'lik parçayı yükseltmeyeen ikinci primer çifti de kullanılmıştır. Fakat daha sonra başarısız sonuçlar sebebiyle çalışmadan çıkarılmıştır.

- PZR koşulları

dH ₂ O.....	7,4 ul
Taq tampon.....	2,0 ul
MgCl ₂	1,6 ul
İleri primer.....	1,5 ul
Geri primer.....	1,5 ul
AmpliTaq Gold.....	0,6 ul
dNTP.....	0,2 ul
BSA.....	0,2 ul
DNA.....	5 ul

Toplam 20 ul

- Örnek sayısı, 2 DNA izolasyonu kontrolü ve 2 PZR kontrolü (yine kontaminasyon olup olmadığının kontrolü için bir başa bir sona koyulur) için PZR tüpleri hazırlanır. 20 dk kapakları açık şekilde biyogüvenlik kabininin içinde UV altında bırakılır. PZR

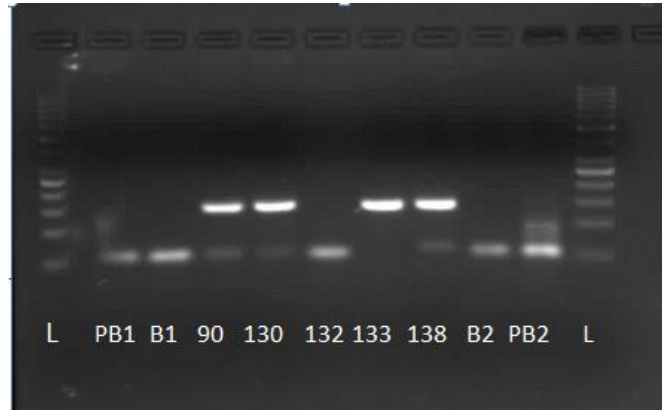
karışımı yukarıdaki prosedüre göre hazırlanır ve her bir tüpe 5 ul DNA'dan sonra 15 ul PZR karışımı koyulur. Daha sonra Tablo 3'te gösterilen koşullarda PZR aşaması tamamlanır.

Tablo 3. PZR koşulları

İlk denatürasyon	94°C	10 dk	60 döngü
Denatürasyon	94°C	30 s	
Primer bağlanma	53°C	45 s	
Uzama	72°C	45 s	
Son uzama	72°C	5 dk	
Son sıcaklık	10°C	∞	

- PZR ürünlerinin agaroz jelde kontrolü

- Tek kullanımlık tartım kabında 1.0 g saf agaroz tartılır. Tartılan agaroz 40 ml 0.5X TBE solüsyonunda (%2.5) çözündürülür. Bunun için mikrodalga fırın kullanılır (agaroz sadece sıcakta çözünmektedir). Eriyen agaroz jeline 0.4 ul SYBR Safe eklenir ve önceden tarafları hazırlanan elektroforez tankına dökülür. Jel donduktan sonra örnek yükleme işlemine geçilir.
- Jele yüklemek için 1 ul Orange/Blue boya 5 ul PZR ürünü ile karıştırılır. Bütün örnekler bu şekilde hazırlanıp jelde tarağın oluşturduğu kuyucuklara yüklenir. En son 50 bç'lik merdiven boş bir kuyucuğa referans oluşturması için yüklenir. Örnekler 85 voltta 75 dk yürütülür. Görüntülenmeleri UV ışık altında yapılır. Aşağıdaki şekilde (Şekil 8) izole edilen aDNA'nın jelde görüntülenmiş hali verilmiştir.



Şekil 8. UV ışık altında görüntülenen agaroz jelden bir örnek. L: 50 bç'lik merdivenler, PB1: PZR 1. kontrol, B1: DNA izolasyonu 1. kontrol, 90-130-133-138: başarılı PZR'ler, 132: başarısız PZR, B2: DNA izolasyonu 2. kontrol, PB2: PZR 2. kontrol.

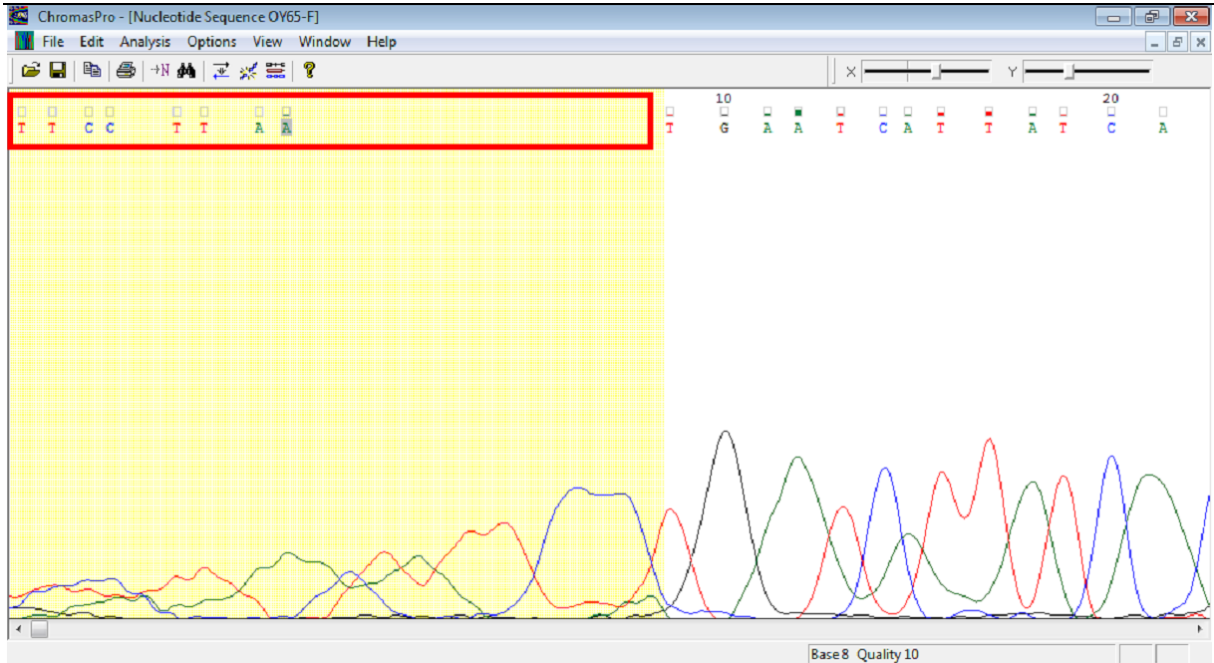
En baş ve en sonda görünen bantlar 50 bç'lik referans merdiven bantlarıdır. Denenen 5 örnekten 4'ü sonuç vermiştir (beklenen DNA parçası uzunluğu 144 bç). En altta,

133 hariç bütün örneklerde gözlenen bantlar primer bantıdır ve DNA dizi sonuçlarını etkilememektedir. Kontrollerde hiç bant çıkmaması izolasyonda kontaminasyon yaşanmadığının belirtisidir. Sonuçta, örneklerin korunma durumuyla da doğru orantılı olarak, bu yöntemin aDNA elde etmede oldukça başarılı olduğu söylenebilir. Fakat eğer örneklerin korunma durumları kötüyse, yani toprak altında kaldıkları süre boyunca çevresel koşullar nedeniyle çok fazla değişime maruz kaldılarsa, başarı oranının düşme ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır.

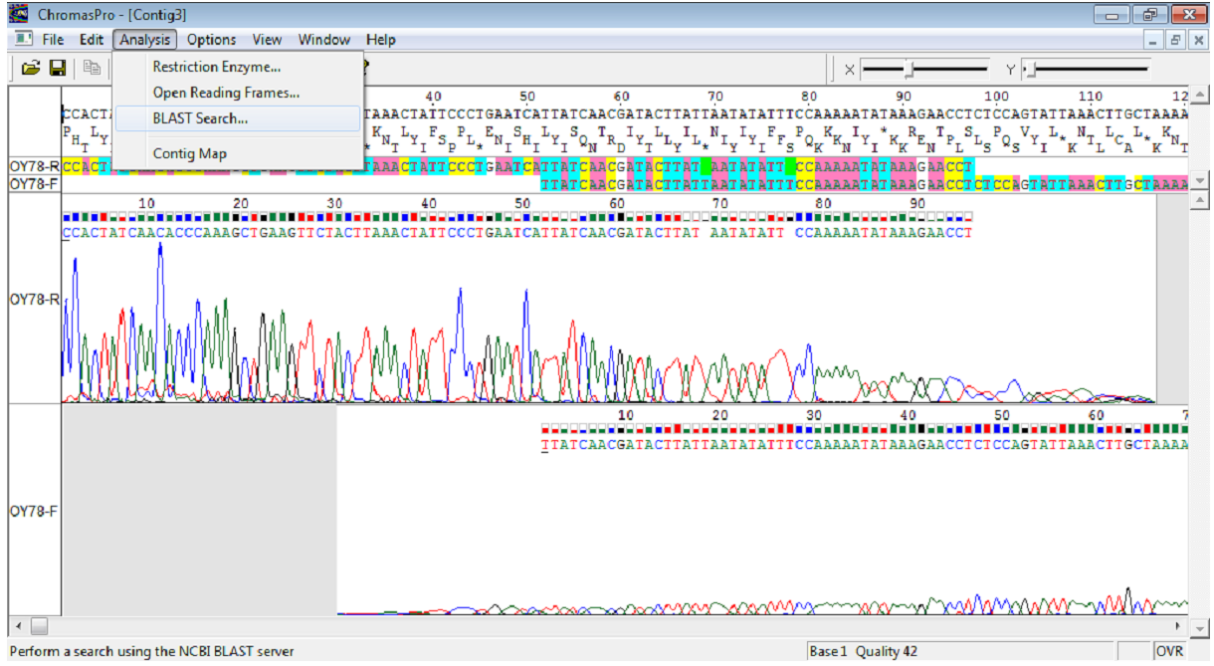
2.4.2 DNA Dizisinin Analizi

2.4.2.1 Elde Edilen İlk Dizinin Koyun Örneği Olduğunun Sınanması

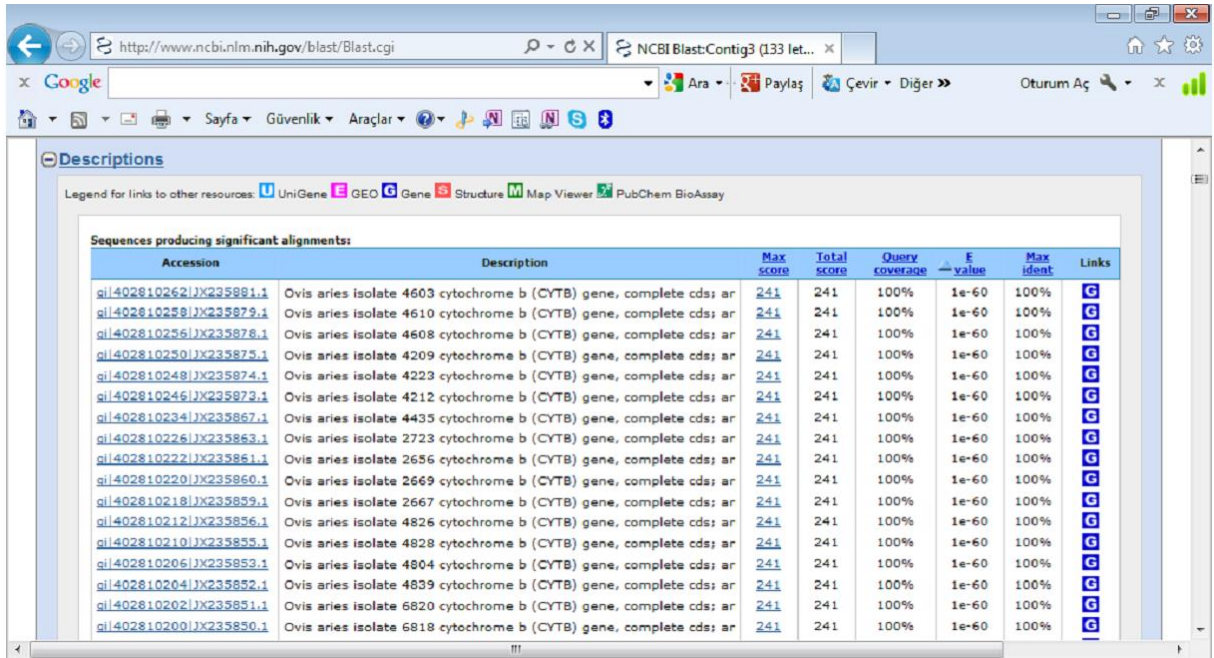
Elde edilen DNA dizilerinin gerçekten koyuna ait olup olmadığının anlaşılabilmesi için bu dizilerin düzeltilmesi ve birleştirilmesi işlemlerinin de yapıldığı ChromasPro programı kullanılmıştır. Aşağıda bir örneğin düzeltilme (Şekil 9) ve program içerisindeki BLAST yardımcı programı ile veri tabanında aratılması sonucu (Şekil 10) kendisine en benzer dizinin bulunması (Şekil 11) gösterilmiştir.



Şekil 9. Elde edilen DNA dizisinin baş ve son kısımlarında primerin bağlanmasından dolayı kötü çıkan primer bölgelerinin ChromasPro programı ile kesilmesi. Sonraki aşamada ileri ve geri diziler birleştirilir ve tek bir dizi elde edilir (kırmızı kutu içinde gösterilen bölge bu birey için kullanılmamıştır yani kesilmiştir).



Şekil 10. Elde edilen dizinin ChromasPro programı içindeki BLAST yardımcı programı ile veri tabanında aratılması.



Şekil 11. Yapılan bir BLAST aramasının ardından elde edilen sonucun gösterimi. Mavi ile listelenmiş diziler bizim programda elde ettiğimiz diziyeye en çok benzeyenlerdir.

Şekil 11'de de görüldüğü gibi bütün bu mavi diziler *Ovis aries* (koyun) DNA dizisi olup; benzerliğin derecesini gösteren değerlerden: Query coverage (dizilerdeki örtüşmenin kapsamı) ve Max identity (dizilerin hangi oranda benzediği) %100 (en iyi değer), E-value (E sabiti) değeri sıfıra oldukça yakın ($1e-60$, en iyi değer sıfır) çıkmıştır. Bütün bu sonuçlar

bizim DNA dizimizin kesinlikle koyun DNA dizisi olduğunu göstermektedir. Şekil 12’de başka bir örnek olarak kontaminasyonun BLAST yardımcı programında nasıl tespit edildiği gösterilmiştir.

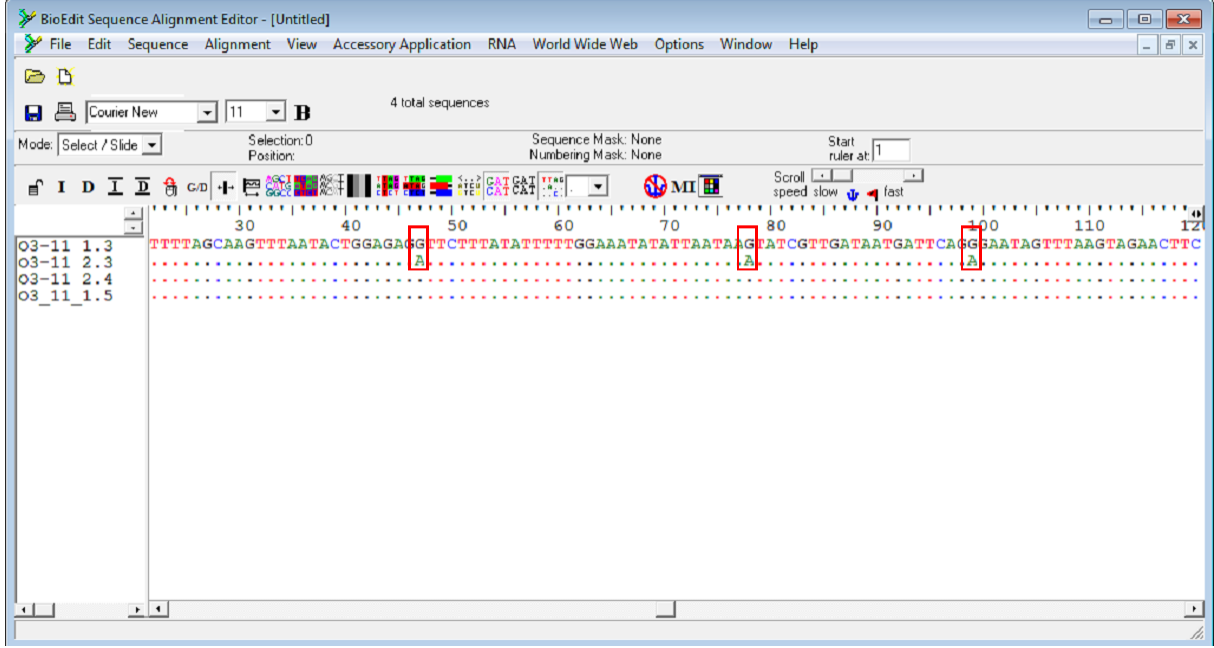
Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
gi 344175583 FR854092.1	Ralstonia syzygii R24, genomic contig 00003-1629	41.0	41.0	18%	2.8	88%	
gi 344171084 FR854083.1	blood disease bacterium R229, genomic contig 00007-1627	41.0	41.0	18%	2.8	88%	
gi 299075079 FP883891.2	Ralstonia solanacearum PSI07 megaplasmid mppSI07, complete se	41.0	41.0	18%	2.8	88%	
gi 253984392 CP001674.1	Methylovorus glucosetrophus SIP3-4, complete genome	41.0	41.0	12%	2.8	100%	
gi 222447181 CP001364.1	Chloroflexus sp. Y-400-fl, complete genome	41.0	41.0	17%	2.8	90%	
gi 163666892 CP000909.1	Chloroflexus aurantiacus J-10-fl, complete genome	41.0	41.0	17%	2.8	90%	
gi 118344479 AC171734.2	Solanum lycopersicum chromosome 11 clone C11HBa0064J13, comp	41.0	41.0	15%	2.8	93%	
gi 403225372 JX446401.1	Kobus leche mitochondrion, complete genome	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347802443 JN632689.1	Procacpra gutturosa isolate ED mitochondrion, complete genome	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347802247 JN632675.1	Oreotragus oreotragus isolate PhC21 mitochondrion, complete geno	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347802079 JN632663.1	Naemorhedus baileyi isolate 104487 mitochondrion, complete genor	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347802051 JN632661.1	Mazama rufina isolate MRGM4 mitochondrion, complete genome	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347801925 JN632652.1	Kobus leche isolate 298188 mitochondrion, complete genome	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347801673 JN632634.1	Eudorcas rufifrons isolate AWWP5812 mitochondrion, complete geno	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347801239 JN632603.1	Blastocercus dichotomus isolate MRGBd8 mitochondrion, complete ge	39.2	39.2	11%	9.8	100%	
gi 347730584 AY349011.3	Burkholderia cepacia phage Bcep22, complete genome	39.2	39.2	22%	9.8	83%	
gi 317383220 HQ833293.1	Viverricula indica isolate W11/WFC/tissue/878 control region, partial s	39.2	39.2	11%	9.8	100%	

Şekil 12. Bakteri kontaminasyonunun BLAST ile kanıtlanması. Mavi ile gösterilmiş diziler içinde bizim dizimize en iyi benzerlik gösteren ilk dizi *Ralstonia syzygii* olarak adlandırılan bir Gramnegatif toprak bakterisine ait dizidir.

2.4.2.2 Aynı Bireyden Elde Edilen Dizinin Tekrarlanabilirliğinin ve aDNA Örneği Olduğunun Sınanması

Canlılar öldükten sonra vücutlarındaki DNA’ları da parçalanmaya başlar. DNA’nın bütünlüğü, içinde bulunduğu çevresel koşullara (örneğin yıllar boyu içinde beklediği toprağın nemi, pH’sı, içinde bulundurduğu metal iyonlarının çeşitliliği gibi) ve ölümün eskiliğine bağlı olarak etkilenmektedir. Bu çevresel koşullar ve zaman DNA dizilerinde kırılmalara neden olduğu gibi, ölümden bu yana geçen zaman içerisinde DNA dizisinde baz değişimlerine de sebep olabilmektedir. Böylece, farklı dizilere sahip homolog bölgeler ortaya çıkarak çalışmalarda zaman zaman aynı bireyden elde edilen sonuçlarda farklılığa sebep olabilmektedir (Olivieri vd., 2012). Bu durum (aynı bireyden birbiri arasında birkaç baz fark olan DNA’ların eldesi) DNA’nın antik olduğunun göstergesidir. Biz de çalışmalarımızda elde edilen dizilerin aDNA dizisi olduğunu kanıtlamak istedik. İlk aşamada iki örnek için (bir tanesi yeterince kopya vermemiştir) deneme yapılmıştır. Bunun için bir örnekten iki farklı kez DNA izole edilip, elde edilen bu DNA’lardan beş farklı PZR işlemi yapılmıştır. Toplamda 10 adet DNA eldesini gerektiren bu işlemler sonucunda elimizde iyi kalitede 4 dizi olduğu belirlenmiştir. Bu

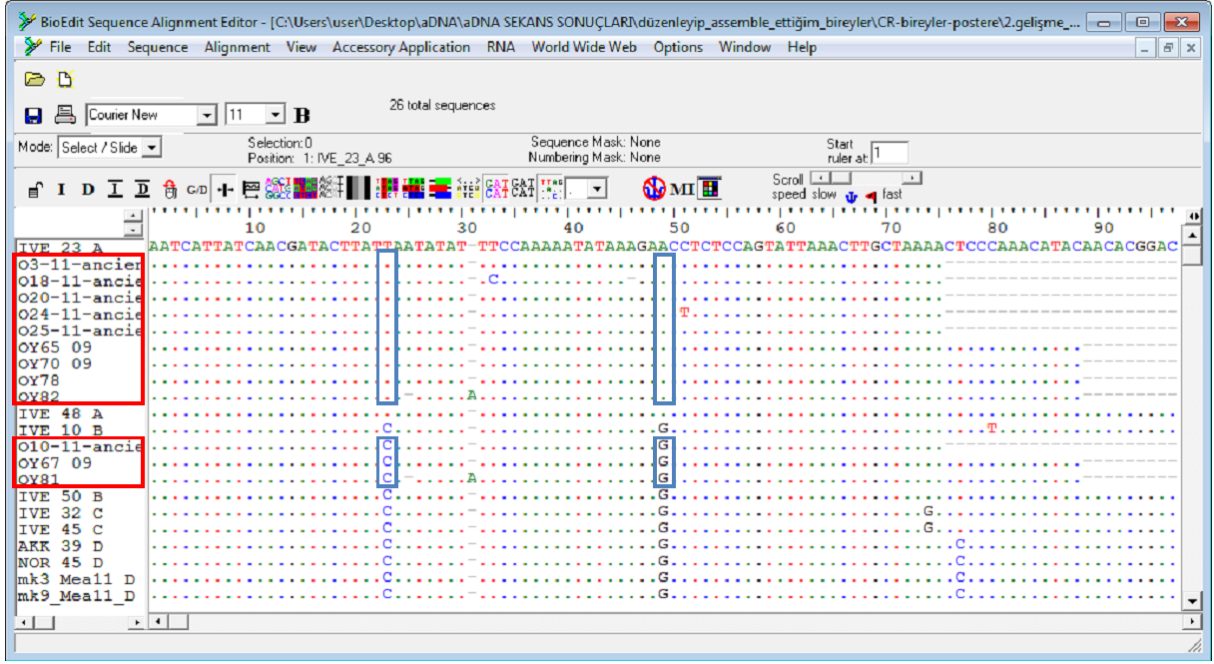
dizilerden sadece birinde 3 ayrı pozisyonda (Şekil 13) G-A dönüşümü (transition) gözlenmektedir. Bu dönüşüm tipi (yani transition) aDNA'da en çok beklenen dönüşümlerden biridir (Olivieri vd., 2012). 144 baz çiftlik dizinin diğer 3 kopyasının da aynı olması asıl dizinin bu 3 tekrarda yakalanan dizi olduğuna; tek dizide dönüşüm olması da 144 baz çifti uzunluğundaki dizinin antik koyun DNA'sı olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 13. Tekrarları yapılan bir örneğin 4 farklı dizisinin karşılaştırılması. Kutu içerisinde gösterilen pozisyonlarda G-A değişimleri gözlenmektedir.

2.4.2.3 Elde Edilen aDNA Dizilerinin Modern Örneklerle Birlikte Gösterimi

Aşağıdaki şekilde (Şekil 14) elde edilen bazı aDNA dizilerinin referans diziler (HPG'ları bilinen) ile birlikte (Demirci, 2012; Meadows vd., 2011) Bioedit programı ile gösterimi verilmiştir.



Şekil 14. Bioedit programı ile sıralanan antik ve modern koyun mtDNA dizileri. Kırmızı kutu içerisinde gösterilenler aDNA örnekleridir. HPG belirlemeye yarayan nükleotid pozisyonları mavi kutular ile belirtilmiştir.

2.4.2.4 HPG Tayini

Literatürde HPG bilgileri yer alan 263 mtDNA dizisi (Hiendleder vd., 1998; Demirci vd., 2013) burada referans olarak kullanılmıştır. Çalışmada yükseltgenen parçanın mtDNA kontrol bölgesinde yer alan kısmı üzerindeki 5 farklı nükleotid pozisyonuna bakarak aDNA örneklerinin HPG'ları (A-E) belirlenmiştir. Tablo 4, kontrol bölgesi üzerindeki 5 pozisyonda (15459., 15476., 15484., 15509. ve 15512. bazlar) her HPG için bulunması gereken nükleotidleri karşılaştırma kolaylığı olması için göstermektedir.

Tablo 4. HPG tanımlamada kullanılan pozisyonlar (Demirci vd. (2013) çalışmasından uyarlanmıştır).

HPG	Referans Diziler	AF010406.1 Üzerinde HPG Belirleme Pozisyonları				
		15459	15476	15484	15509	15512
HPG A	HM236174	T	T	A	A	T
HPG B	HM236176	C	T	G	A	T
HPG C	HM236178	C	T	G	G	T
HPG D	HM236180	C	T	G	A	C
HPG E	HM236182	C	C	G	G	T

3. BULGULAR

3.1 aDNA Sonuçları

Bu proje kapsamında Anadolu'daki 21 farklı arkeolojik kazı alanından örnekler toplanmış veya arkeologlarca tarafımıza teslim edilmiştir. Toplanan örneklerden 118 tanesi proje kapsamında DNA eldesi için çalışılmış (Hasankeyf ve Salattepe rnekleri dahil); çalışılan bu örneklerden 79 tanesi başarılı olmuştur. Aşağıda çalışılan örnekler farklı kazı alanları açısından açıklanmıştır.

3.1.1 Oylum Höyük Sonuçları

Proje süresince Oylum Höyük'ten 37 adet örneğin aDNA'sı başarı ile elde edilmiştir. Bu örneklerin dönemleri M.. 1800 ile M.. 30 arasında değişmektedir. Aşağıda Tablo 5 bu örnekleri, toplamda yapılan DNA izolasyonu ve PZR tekrarlarını, hangi baz değişimleri olduğu bilgisini, HPG'ları ve örneğin ait olduğu dönemi göstermektedir. OY42, OY19 ve OY44 rnekleri için elde edilen Karbon-14 tarihleri de kırmızı ile gösterilmiştir.

Tablo 5. Başarılı sonuç elde edilen Oylum Höyük örnekleri (n=37), DNA izolasyon ve PZR yükseltgeme sayıları, HPG tayin etmede kullanılan nükleotid pozisyonları, HPG tayinleri, arkeolojik bulgulara dayanarak yapılan tarihlendirmeler ve seçilen 3 örnek için Karbon-14 tarihlendirme sonuçları (kırmızı ile boyanmış)

Örnek kodları (DNA izolasyon sayısı/PZR yükseltgemesi)	mtDNA tRNA ^{Pro} -CR bölgesindeki pozisyonlar (AF010406.1)					HPG	Tarihlendirme
	15459	15476	15484	15509	15512		
AF010406.1 (Hiendleder vd., 1998)	C	T	G	A	T	B	0 (Modern)
OD1-11 (1/1)*	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1600
O3-11 (2/4)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1700
O18-11 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1700
O20-11 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1700
O24-11 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1700
O25-11 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1700
OY25 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 700-330
OY61 (2/3)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1200/1100-900
OY65-09 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1700
OY70-09 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1200/1100-900
OY78 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 700-330
OY82 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 700-330
OY90 (1/1)*	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1200-1100/330
OY110 (2/3)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 700-330
OY131 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1600
OY133 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1600-1200/1100
OY137 (1/1)*	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 1800-1600

Tarihler arkeolojik bulgulara dayalı tarihlerdir. Karbon-14 tarihlendirmeleri kırmızı renk ile belirtilmiştir. “.” referans ile aynı nükleotidi temsil etmektedir. * birden fazla PZR ürünü elde edilemeyen örnekleri göstermektedir. Benzer bir tablo Demirci vd. (2013) çalışmasında sunulmuştur.

Tablo 5. Devam

Örnek kodları (DNA izolasyon sayısı/PZR yükseltgemesi)	mtDNA tRNA ^{Pro} -CR bölgesindeki pozisyonlar (AF010406.1)					HPG	Tarihlendirme
	15459	15476	15484	15509	15512		
AF010406.1 (Hiendleder vd., 1998)	C	T	G	A	T	B	0 (Modern)
OY142 (1/2)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 700-330
O10-11 (2/3)	B	M.Ö. 1800-1700
OY21 (1/2)	B	M.Ö. 330-30
OY42 (3/4)	B	M.Ö. 1800-1700 (M.Ö. 1880 - 1690)
OY66 (1/1)*	B	M.Ö. 1600-1200
OY67-09 (1/2)	B	M.Ö. 1600-1200/1100
OY72 (3/4)	B	M.Ö. 1200-1100/330
OY81 (1/2)	B	M.Ö. 700-330
OY89 (1/2)	B	M.Ö. 700-400
OY91 (1/2)	B	M.Ö. 700-400
OY105 (1/2)	B	M.Ö. 1600-1200/1100
OY114 (1/1)*	B	M.Ö. 330-30
OY123 (1/2)	B	M.Ö. 1200-1100/330
OY134 (1/2)	B	M.Ö. 1800-1600
OY138 (1/2)	B	M.Ö. 700-330
OY19 (1/2)	.	.	.	G	.	C	M.Ö. 900-700 (M.Ö. 1000 – 840)
OY44 (1/2)	.	.	.	G	.	C	M.Ö. 1800-1600 (M.Ö. 1880 – 1680)
OY86 (2/3)	C	D	M.Ö. 1800-1600
OY130 (2/3)	C	D	M.Ö. 1800-1600
OY59 (1/2)	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 1200/1100-900

Tarihler arkeolojik bulgulara dayalı tarihlerdir. Karbon-14 tarihlendirmeleri kırmızı renk ile belirtilmiştir. “.” referans ile aynı nükleotidi temsil etmektedir. * birden fazla PZR ürünü elde edilemeyen örnekleri göstermektedir. Benzer bir tablo Demirci vd. (2013) çalışmasında sunulmuştur.

Modern koyunda belirlenen mtDNA HPG'lerinin hepsi (HPG A %48,7; HPG B %37,8; HPG C %5,4; HPG D %5,4 ve HPG E %2,7) Oylum Höyük örneklerinde tespit edilmiştir.

3.1.2 Tepecik-Çiftlik Sonuçları

Proje süresince Tepecik-Çiftlik'ten 28 adet örneğin aDNA'sı başarı ile elde edilmiştir. Bu örneklerin dönemleri M.Ö. 7500 ile M.Ö. 5800 arasında değişmektedir. Aşağıda Tablo 6 bu örnekleri, toplamda yapılan DNA izolasyonu ve PZR tekrarlarını, hangi baz değişimleri olduğu bilgisini, HPG'ları ve örneğin ait olduğu dönemi göstermektedir. TÇ9 ve TÇ58 örnekleri için elde edilen Karbon-14 tarihleri de kırmızı ile gösterilmiştir.

Tablo 6. Başarılı sonuç elde edilen Tepecik-Çiftlik örnekleri (n=28), DNA izolasyon ve PZR yükseltgeme sayıları, HPG tayin etmede kullanılan nükleotid pozisyonları, HPG tayinleri, arkeolojik bulgulara dayanarak yapılan tarihlendirmeler ve seçilen 2 örnek için Karbon-14 tarihlendirme sonuçları (kırmızı ile boyanmış)

Örnek kodları (DNA izolasyon sayısı/PZR yükseltgemesi)	mtDNA tRNA ^{Pro} -CR bölgesindeki pozisyonlar (AF010406.1)					HPG	Tarihlendirme
	15459	15476	15484	15509	15512		
AF010406.1 (Hiendleder vd., 1998)	C	T	G	A	T	B	0 (Modern)
TÇ17-D (1/1)*	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 6800-6600
TÇ1-D (2/2)	B	M.Ö. 7500-7000
TÇ2-D (1/1)*	B	M.Ö. 7500-7000
TÇ3-D (2/2)	B	M.Ö. 7500-7000
TÇ4-D (1/1)*	B	M.Ö. 7500-7000
TÇ5-D (2/2)	B	M.Ö. 7500-7000
TÇ7 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800
TÇ8 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800
TÇ8-D (2/2)	B	M.Ö. 6500-6400
TÇ9 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800 M.Ö. 6085-6010
TÇ11-D (2/2)	B	M.Ö. 6800-6600
TÇ12-D (1/1)*	B	M.Ö. 6800-6600
TÇ13-D (1/1)*	B	M.Ö. 6800-6600
TÇ14-D (2/2)	B	M.Ö. 6800-6600
TÇ18-D (2/2)	B	M.Ö. 6800-6600
TÇ41 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800

Tarihler arkeolojik bulgulara dayalı tarihlerdir. Karbon-14 tarihlendirmeleri kırmızı renk ile belirtilmiştir. “.” referans ile aynı nükleotidi temsil etmektedir. * birden fazla PZR ürünü elde edilemeyen örnekleri göstermektedir.

Tablo 6. Devam

Örnek kodları (DNA izolasyon sayısı/PZR yükseltgemesi)	mtDNA tRNA ^{Pro} -CR bölgesindeki pozisyonlar (AF010406.1)					HPG	Tarihlendirme
	15459	15476	15484	15509	15512		
AF010406.1 (Hiendleder vd., 1998)	C	T	G	A	T	B	0 (Modern)
TÇ43 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800
TÇ45 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800
TÇ49 (1/2)	B	M.Ö. 6000-5800
TÇ52 (1/2)	B	M.Ö. 6700-6500
TÇ53 (1/2)	B	M.Ö. 6700-6500
TÇ57 (1/2)	B	M.Ö. 6700
TÇ58 (1/2)	B	M.Ö. 6700
							M.Ö. 6645-6505
TÇ7-D (2/2)	C	D	M.Ö. 6500-6400
TÇ15-D (1/1)*	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 6800-6600
TÇ16-D (1/1)*	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 6800-6600
TÇ48 (1/1)*	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 6000-5800
TÇ56 (1/2)	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 6700

Tarihler arkeolojik bulgulara dayalı tarihlerdir. Karbon-14 tarihlendirmeleri kırmızı renk ile belirtilmiştir. “.” referans ile aynı nükleotidi temsil etmektedir. * birden fazla PZR ürünü elde edilemeyen örnekleri göstermektedir.

Modern koyunda belirlenen mtDNA HPG'larından 4 tanesi (HPG A %3,6; HPG B %78,6; HPG D %3,6 ve HPG E %14,2) Tepecik-Çiftlik örneklerinde tespit edilmiştir.

3.1.3. Arslantepe Sonuçları

Proje süresince Arslantepe'den 13 adet örneğin aDNA'sı başarı ile elde edilmiştir. Bu örneklerin dönemleri M.Ö. 3700 ile M.Ö. 2100 arasında değişmektedir. Aşağıda Tablo 7 bu örnekleri, toplamda yapılan DNA izolasyonu ve PZR tekrarlarını, hangi baz değişimleri olduğu bilgisini, HPG'ları ve örneğin ait olduğu dönemi göstermektedir.

Tablo 7. Başarılı sonuç elde edilen Arslantepe örnekleri (n=13), DNA izolasyon ve PZR yükseltgeme sayıları, HPG tayin etmede kullanılan nükleotid pozisyonları, HPG tayinleri ve arkeolojik bulgulara dayanarak yapılan tarihlendirmeler

Örnek kodları (DNA izolasyon sayısı/PZR yükseltgemesi)	mtDNA tRNA ^{Pro} -CR bölgesindeki pozisyonlar (AF010406.1)					HPG	Tarihlendirme
	15459	15476	15484	15509	15512		
AF010406.1 (Hiendleder vd., 1998)	C	T	G	A	T	B	0 (Modern)
AT8 (2/3)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 3000-2900
AT9 (2/3)	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 3100-2900
AT9-96 (1/1)*	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 3700-3500
AT13-90 (1/1)*	T	.	A	.	.	A	M.Ö. 2300-2100
AT2 (1/1)*	B	M.Ö. 3000-2900
AT2-96 (1/1)*	B	M.Ö. 3700-3500
AT3 (1/1)*	B	M.Ö. 3000-2900
AT4 (1/1)*	B	M.Ö. 3000-2900
AT5 (2/3)	B	M.Ö. 3000-2900
AT5-90 (2/3)	B	M.Ö. 3700-3500
AT8-96 (2/3)	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 3700-3500
AT10 (2/3)	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 3100-2900
AT10-90 (2/3)	.	C	.	G	.	E	M.Ö. 3700-3500

Tarihler arkeolojik bulgulara dayalı tarihlendir. "." referans ile aynı nükleotidi temsil etmektedir. * birden fazla PZR ürünü elde edilemeyen örnekleri göstermektedir.

Modern koyunda belirlenen mtDNA HPG'larından 3 tanesi (HPG A %30,8; HPG B %46,1 ve HPG E %23,1) Arslantepe örneklerinde tespit edilmiştir.

3.1.4 Hallan Çemi Sonuçları

Proje süresince Dr. Melinda Zeder'in gönderdiği 6 adet örneğin aDNA'sı elde edilmeye çalışılmış; fakat yalnız birinden görece başarı elde edilmiştir. Bu örneğin dönemi M.Ö. 10000'e tarihlenmektedir. Aşağıda Tablo 8 bu örneği, toplamda yapılan DNA izolasyonu ve PZR tekrarlarını, hangi baz değişimleri olduğu bilgisini, HPG'ları ve örneğin ait olduğu dönemi göstermektedir.

Tablo 8. Başarılı sonuç elde edilen Hallan Çemi örneği, DNA izolasyon ve PZR yükseltgeme sayıları, HPG tayin etmede kullanılan nükleotid pozisyonları, HPG tayini ve arkeolojik bulgulara dayanarak yapılan tarihlendirme

Örnek kodları (DNA izolasyon sayısı/PZR yükseltgemesi)	mtDNA tRNA ^{Pro} -CR bölgesindeki pozisyonlar (AF010406.1)					HPG	Tarihlendirme
	15459	15476	15484	15509	15512		
AF010406.1 (Hiendleder vd., 1998)	C	T	G	A	T	B	0 (Modern)
HÇ93-5H40-1107 (5/5)(?)	.	B	M.Ö. 10000

Tarihler arkeolojik bulgulara dayalı tarihlerdir. “.” referans ile aynı nükleotidi temsil etmektedir.

Görece başarı (baz pozisyonlarından birinin kesin olmaması sebebiyle) ile DNA dizisi elde edilen bu örneğin HPG B'ye ait olduğu görülmüştür.

3.2 Karbon-14 Sonuçları

Proje süresince 5 adet arkeolojik örnek Beta Analytic Laboratuvarı'na Karbon-14 (AMS tekniği ile) tarihlendirme için gönderilmiştir. Burada amaç, arkeolojik bulgulara dayanarak tarihlendirilmiş olan örneklerden bazılarının (ait oldukları dönem, HPG ve kazı alanı farklarını göz önünde bulundurarak) AMS tekniği ile de tarihlendirilip arkeolojik yaşlarının kesinlik kazanması ve arkeolojik tarihlendirmeye olan güvenin artmasıdır.

Okumalar analizi yapan laboratuvar tarafından kalibre edilmiştir. Aşağıda analiz sonrası elde edilen tarihlendirme aralıkları, arkeolojik tarihlendirme değerleri ile beraber gösterilmiştir.

Tablo 9. Karbon-14 tarihlendirme yaptırılan örnekler ve tarih değerleri

Örnek kodu	Arkeolojik tarihlendirme	Karbon-14 tarihlendirme
TÇ9	M.Ö. 6000-5800	M.Ö. 6085-6010
TÇ58	M.Ö. 6700	M.Ö. 6645-6505
OY42	M.Ö. 1800-1700	M.Ö. 1880-1690
OY44	M.Ö. 1800-1600	M.Ö. 1880-1680
OY19	M.Ö. 900-700	M.Ö. 1000-840

Karbon-14 tarihlendirmelerin genel olarak arkeolojik bulgulara göre yapılan tarihlendirme ile uyduğu gözlemlenmiştir. Tepecik-Çiftlik örnekleri için verilen sonuçlar son düzeltmelerin sonuçlarıdır.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1 Çalışmanın Önemi

Bu projede koyunun evcilleştirme tarihine ışık tutabilmek amacıyla, mtDNA'nın tRNA^{Pro} ve kontrol bölgeleri üzerindeki 144 bç'lik bölge Anadolu'daki farklı kazı alanlarından alınan antik örneklerde yükseltgenmeye çalışılmıştır. Yükseltgenen bu bölgeye göre Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe ve Hallan Çemi örneklerinin mtDNA HPG'ları belirlenmiştir.

Bu proje Anadolu'dan yapılmış, antik koyunlarda farklı mtDNA HPG'larının olduğunu gösteren ilk çalışmadır ve günümüzde koyun evcilleştirmesi ile ilgili büyümekte olan veri ve bilgi birikimine katkı yapmaktadır. Bu çalışma sayesinde mtDNA HPG'larının küçük bir mtDNA bölgesine bakılarak saptanabileceği belirlenmiştir. Önceleri, örneğin RFLP metodu ile modern koyunlarda C ve E HPG'larını ayırt etmek mümkün değildi. Ek olarak, HPG

tanımlamada RFLP metodundan daha güçlü olduğu düşünölen SSCP metodu ile dahi D ve E HPG'ları ayırlamamaktaydı (Yüncü, 2009). HPG'ları belirlemek için mtDNA kontrol bölgesinde çok sayıda uzun dizileme yapılması gerekmektedir (Demirci, 2012). Bu çalışmadan önce çalışılan 144 bç'lik bölgenin 5 HPG'u ayırıcı gücü bilinmemekteydi. Fakat bu çalışmada gösterildiği üzere, kısa bir sürede ve sınırlı bir bütçe ile antik koyunda mtDNA HPG tayini yapılabilir.

Çalışma sırasında bazı örneklerin aynı bireyin farklı kemikleri olabileceği ve bu durumun sonuçları saptırabileceği belirlenmiştir. Fakat, birçok örneğin farklı açmalardan toplanmış olması veya bir anatomik yapının sadece bir tarafını (mesela sol taraf) temsil eden örneklerin kullanılması sonuçların yüksek ihtimalle farklı bireylere ait olduğunu göstermektedir.

Bu proje ile arkeozooloji çalışmalarına da yeni bakış açıları getirmek mümkün olmuştur. Arkeolojik malzemeden elde edilen DNA ile geçmişte olmuş olayları, örneğin sayısal popülasyon değişimlerini, tespit etmek mümkündür; fakat aşağıda belirtilen HPG C artışı gibi bulguları sadece morfolojik değerlendirme ile belirlemek imkansızdır. aDNA çalışmaları ile yakın zamanda Türkiye'de arkeologlar, arkeozoolojlar ve biyologlar arasında bir sinerjinin oluşması beklenmektedir.

4.2 aDNA Laboratuvarı, Örnek Toplanması ve Prosedürün Uygulanması

Projenin ilk adımı, antik örnek içeren her çalışmada olması gerektiği gibi adanmış bir laboratuvarın kurulması aşamasıydı. Bu laboratuvar ve gerekli kontrol deneyleri olmadan çalışma güvenilir olarak değerlendirilmeyebilirdi. Bunun sebebi, modern DNA'nın aDNA dizilerini kontamine edebilme ve DNA dizilerini yanlış bilgi verebilecek şekilde baskılama olasılığıdır. Laboratuvarın kurulması için Prof. Michael Hofreiter'in önerdiği kurallar izlenmiştir. ODTÜ MODSİMMER binasında kurulan aDNA laboratuvarı, 2012 yılı Temmuz ayından beri faaliyettedir.

Çalışmadaki ikinci aşama örnek toplama aşamasıydı. Farklı alanlara yapılan 3-4 günlük ziyaretlerde genellikle az sayıda (en fazla 10) örnek toplanabilmekteydi. Bir kazı sezonunda 50-60 örnek toplayabilmek için depolarda bulunan örnekler de çalışmaya dahil edilmiştir. Bu sayede hem örnek sayısı hızlı şekilde artırılabilmiş, hem de Güneydoğu Anadolu'daki İlisu Barajı altında kalacak kazı alanları gibi sonuçlanmış alanlardan örnek alınabilmesi imkanı doğmuştur.

Şu an laboratuvarımızda proje süresince toplanmış çok sayıda örnek bulunmaktadır ve bu sayının ileriki yıllarda yeni projelerle artması beklenmektedir. "aDNA Kaynak Bankası" olarak adlandırdığımız bankada birikmekte olan bu örneklerin ileride yeni soruları cevaplamak amacıyla yeni projelerde kullanılması söz konusudur.

Koyun ve keçi örneklerini ayırmak, bu türlerin birbirlerine fenotipik olarak oldukça benzemeleri ve yıllar boyu çoğunlukla birarada beslenmiş olmaları sebebiyle arkeozoologlar için zor bir görevdir. Bu projede, örnek tanımlamaları Yrd. Doç. Dr. Evangelia Pişkin ve Yrd. Doç. Dr. Can Yumni Gündem tarafından yapılmıştır.

aDNA elde edilmesi ve elde edilen DNA'dan dizileme için örnek hazırlanması aşamalarını öğrenmek için proje eski bursiyeri Nihan Dilşad Dağtaş Prof. Hofreiter'in İngiltere-York'taki laboratuvarını ziyaret edip prosedürlerde deneyim kazanmış; kazanılan deneyim kurulan laboratuvarımıza aktarılmıştır.

4.3 Seçilen DNA Bölgesi

MtDNA kontrol bölgesinin modern koyundaki 5 farklı mtDNA HPG'ünü belirlemede en bilgi verici bölge olduğu belirtilmiştir (Meadows vd., 2011).

Bu çalışmada odaklanılan mtDNA bölgesi, Cai vd.'nin çalışmasından (2007) esinlenilmiştir. Bölge oldukça küçüktür (<150 bç); ki bu aDNA'nın kırıklı olması sebebiyle bu tip çalışmalar için uygun bir büyüklüktür. Aynı zamanda bu bölgenin, modern koyunda yaygın bulunan üç HPG'u da (HPG A,B ve C) ayırt edebildiği bilinmektedir (Luo vd., 2005). Mevcut verilerden modern evcil koyuna ait 263 mtDNA kontrol bölgesi dizisi HPG'lara ayrıldığında, burada yapılan tanımlama ile Cai vd.'nin (2007) kullandığı bölgenin yaptığı tanımlamanın uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Böylece, kullanılan DNA bölgesinin öncelikle HPG A-C'yi tanımlamada güvenilir olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, bu karşılaştırmalar sırasında bölgenin, Luo vd. (2005) çalışmasında belirtilmeyen, modern koyunda tanımlanan D ve E HPG'larını da ayırabildiği gözlemlenmiştir. Luo vd.'nin çalışmasında (2005) bulunamamasının sebebi, nadir bulunan bu HPG'ların çoğunlukla Türkiye'deki koyun ırklarında gözlemlenmesidir (Meadows vd., 2007; Demirci vd., 2013). Buna rağmen, Demirci vd. (2013) çalışmasında tanımlanan *Ovis gmelinii anatolica*'da gözlemlenen HPG X, HPG C'den bu çalışmadaki bölge kullanılarak ayrılamamıştır.

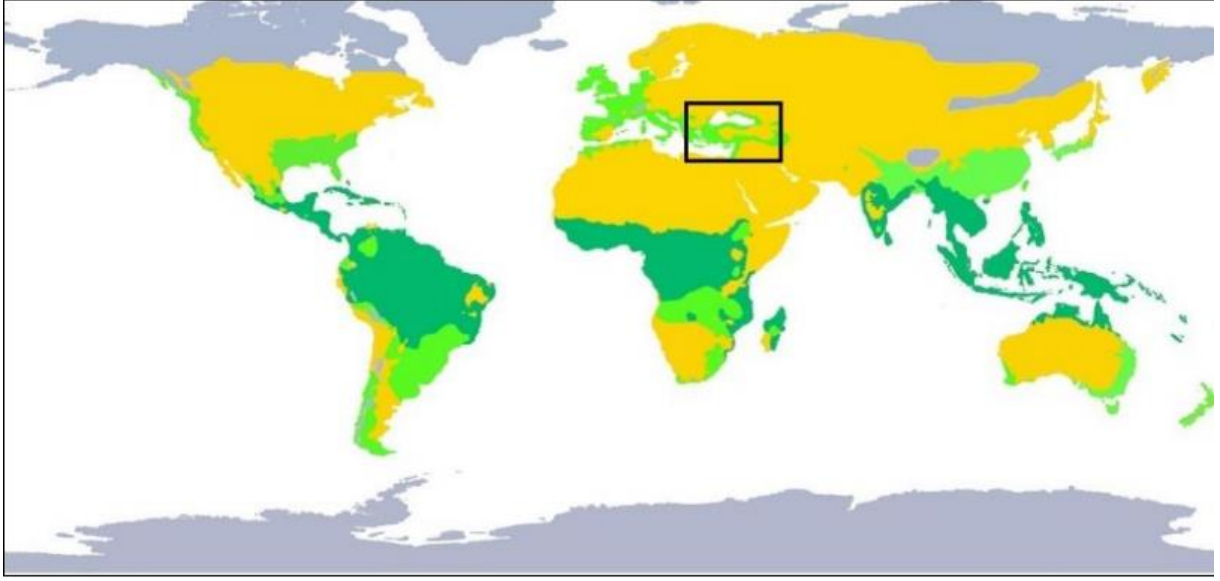
Cai vd. (2007) çalışmasında 2 çift primer çalışılması önerilmiştir. Fakat, önerilen ikinci çift ilk denemelerde çalışmamıştır. Veritabanlarında karşılaştırma yapılırken, ikinci primer çiftinin bir dizisinin (H15661) primerleri dizayn ederken kullanılan referans dizi ile (AF010406.1) eşleşmediği görülmüştür. Bu sebeple, ikinci primer çifti çalışmadan çıkarılmıştır. Bu durum çalışılan bölgenin kısalmasına sebep olsa da, birinci çift primerle çoğaltılan bölge halen mtDNA HPG'larını ayırmada başarılıdır. İki yerine tek çift primer kullanmak, aDNA çalışması için kısa bir bölgeyi çalışmanın yanısıra, kaynakları ve zamanı daha etkili ve ekonomik biçimde kullanmaya yaramıştır.

4.4 aDNA Eldesi ve DNA'nın Otantikliği

DNA eldesi ve yükseltgenmesinde başarı oranı, M.Ö. 1800-30 arasına tarihlenen Oylum Höyük örnekleri için %64,9 (37/57), M.Ö. 7500-5800 arasına tarihlenen Tepecik-Çiftlik örnekleri için %93,3 (28/30), M.Ö. 3700-2100 arasına tarihlenen Arslantepe örnekleri için %86,7 (13/15) ve M.Ö. 10000'e tarihlenen Hallan Çemi örnekleri için %16,7 (1/6)'dir. Diğer çalışmalarda, örneğin Ottoni vd.'nin (2011) Anadolu'nun güneyinden Bizans popülasyonları üzerine yaptığı çalışmada başarı oranı %62 iken Cai vd.'nin (2007) çalışmasında %88,8, Larson vd.'nin çalışmasında (2007) ise %46,2'dir. Bu çalışmada %64,9-93,3 olan başarı oran aralığı (Hallan Çemi sayılmazsa), diğer çalışmalardaki başarı oranlarının neredeyse hepsinden yüksektir. Bunun sebebi bu projede çalışılan aDNA bölgesinin görece küçük bir belge olması olabilir. Literatürdeki bütün koyun aDNA çalışmalarında (Cai vd., 2007, 2011; Campana vd., 2010; Olivieri vd., 2012; Niemi vd., 2013) çalışılan DNA bölgesi bu çalışmadakinden en az iki kat uzundur. Bu sebeple, çalıştıkları bölgeleri en az 3 çift primerle çoğaltmak zorundalardı; ancak bu 3 çift de çalıştığında örnek başarılı şekilde yükseltgenmiş oluyordu. Ayrıca, çalışmanın DNA elde etmedeki başarı oranları örneklerin yaşları arasındaki farklılıktan da kaynaklanıyor olabilir.

Sawyer vd.'nin (2012) çalışması örnek yaşı ve örneğin sahip olduğu DNA miktarı arasında bir negatif korelasyondan bahsetmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, Tepecik-Çiftlik ve Arslantepe gibi daha eski örneklerden daha yüksek, Oylum Höyük'teki daha yeni örneklerden daha düşük başarı ile DNA elde edilmiş olmasından dolayı Sawyer vd. (2012) çalışmasının sonuçları ile uyuşmamaktadır. Çevresel koşulların (makro ve mikro iklimsel koşullar, toprak koşulları) aDNA'nın korunma durumunu etkilediği öngörülebilir. Örnekler permafrosttan olduğunda, örneğin Orlando vd.'nin (2013) çalışmasında Kanada'da günümüzden 560000-780000 yıl öncesine tarihlenen bir permafrostta bulunan at fosilinden tüm genom elde edilmesi gibi, aDNA'nın daha kolay elde edildiği söylenebilir. Bu projede farklı kazı alanlarındaki farklı çevresel koşullar (örneğin Oylum Höyük'ün Güneydoğu Anadolu'nun güneyinde olup diğer alanların enlem olarak daha kuzeyde kalması gibi, veya alanların yükselti farkları gibi) elde edilen farklı DNA başarı oranlarını açıklayabilir.

Aşağıda Şekil 15 Anadolu'nun farklı coğrafik bölgeleri için tahmin edilen aDNA elde edilme başarı oranlarındaki farklılıkları göstermektedir. Oylum Höyük'ün orta-zayıf aDNA ürünü elde edilen bölge olarak tanımlanan açık yeşil bölgede olup, diğer bölgelerin orta-iyi aDNA ürünü elde edilen sarı bölgede yer almaları da aDNA elde etme oranlarında gözlenen kazı alanları arası farkı açıklayabilir.



Şekil 15. Anadolu'nun (siyah dikdörtgen içinde) ve dünyanın aDNA eldesi için uygunluğunu gösteren harita (Haile vd.'nin (2009) çalışmasından uyarlanmıştır). Sarı alanlar orta-iyi aDNA elde etme olasılığı olan, açık yeşil alanlar orta-zayıf aDNA elde etme olasılığı olan yerlerdir.

Toplam 79 örneğin 144 bç'lik mtDNA bölgesi (PZR veya dizileme kaynaklı az sayıda baz eksikliği ile) dizileri başarı ile elde edilmiş ve mtDNA HPG'ları belirlenmiştir. Antik örneklerde, pürin-pürin değişimi (transition) en çok görülen ve en çok beklenen ölüm sonrası baz değişimidir (Hofreiter vd., 2001). Pürin-pirimidin arasındaki değişimlere (transversion) ise aDNA çalışmalarında daha az rastlanır. Yakın zamanda Sawyer vd.'nin (2012) çalışması aDNA'daki baz değişim örgülerini özetlemiştir. Fakat, bahsedilen çalışmadaki örgüler yalnızca Yeni Nesil Dizileme teknolojisi kullanıldığında gözlemlenebilecek olup, bu projede kullanılan Sanger dizilemesi ile tanımlanamamaktadır.

Bu projede, tahmin metodunun sınırları ve elde edilen veri dahilinde yüksek sayıda pürin-pürin değişimi gözlemlenmiş ve bunlardan C'den T'ye olan değişimler elde edilen dizilerin otantikliğini göstermiştir. Fakat bazı örneklerde incelenen bölgenin modern referans dizilerle tamamen aynı olduğu gözlemlenmiştir. Çalışılan bölgenin küçüklüğü göz önünde bulundurulduğunda böyle bir durum beklenmelidir. Ayrıca, alandan toplanan örneklerle depodan gelenler arasında bir oran farkı görünmektedir. Bu da, eğer modern DNA'dan bir kontaminasyon varsa bunun depo örneklerinde bulunma ihtimalinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

4.5 HPG Dağılımları Üzerine

HPG frekanslarına göre, %48,7 ile HPG A Oylum Höyük örneklerinde gözlemlenen en yaygın HPG'tur. Bunu %37,8 ile HPG B izlemektedir. HPG C (%5,4), HPG D (%5,4) ve HPG E

(%2,7) ise bu örnek seti için gözlemlenen nadir HPG'lerdir. Bu durum modern Türk ırklarında belirlenen HPG D ve HPG E frekanslarına uymaktadır (Demirci vd., 2013). HPG A ve HPG B frekansları da günümüzde o bölgede yaşayan İvesi ırkında gözlemlenen (Demirci vd., 2013) frekanslarla (sırasıyla %37 ve %41) uyumludur. Fakat HPG C için bir fark söz konusudur. Günümüzde, o bölgede yaşayan İvesi ırkında HPG C frekansının %22 olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, bölgeye yakın coğrafyada yaşayan Norduz ve Akkaraman ırklarında da HPG C frekansı sırasıyla %24 ve %14'tür.

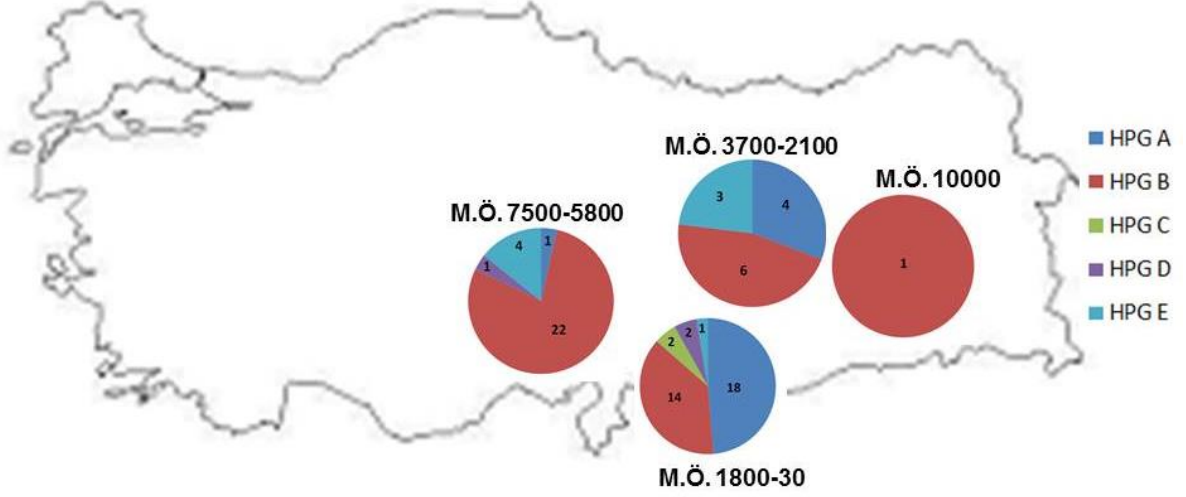
Bu durumda, bölgede gözlemlenen HPG C frekans artışına birkaç alternatif açıklama sunulabilir. Birincisi, örnek sayısı o dönemdeki frekansları tam olarak yansıtmaya yetmiyor olabilir. Fakat 37 sayısı, bir gözlem için istatistiksel olarak kabul edilen n=30 sayısından fazla olduğundan nedenin bu olma olasılığı zayıftır. Diğer taraftan, bu bölgeye yakın bir coğrafi konumda yer alan ve tarihsel açıdan Oylum Höyük'e benzeyen Arslantepe örneklerine bakıldığında da HPG C frekansının düşük olduğu (hatta hiç gözlemlenmediği) görülmektedir. Bu durumda, HPG C'nin o dönemde Güneydoğu Anadolu'nun o bölgesinde az olduğunu söylemek mümkün olabilir.

İkinci bir açıklama olarak, tek bir ebeveynden gelen haploit bir lokus olan mtDNA, genetik sürüklenmeye maruz kalmış ve HPG C %5,4'ten %22'ye ulaşmış olabilir.

Başka bir açıklama da, HPG C açısından zengin olan bireylerin (ırkların) bölgeye daha yakın zamanda, M.Ö. 30'dan sonra getirilmiş olabileceğidir. HPG C frekansı bu göçle artmış olabilir. Olası bir göç senaryosu, M.S. 1000 dolaylarında muhtemelen Hazar Denizi ve Orta Asya çevresindeki HPG C açısından zengin olan bölgelerden geçerek (Tapio vd., 2006) Aral Denizi'nin doğusundan Güneydoğu Anadolu'ya (Cahen, 1968) gelen, Selçuklular olarak da bilinen göçebe Oğuz Türkleri ile ilgili olabilir. Buna benzer bir göç yolu Kangal köpeği için gösterilmiştir (Koban vd., 2009). Bu senaryoya göre, Selçuklular'la beraber Güneydoğu Anadolu'ya gelen koyunlar bu bölgedeki HPG C dağılımına katkı sağlamış olabilir.

Son olarak, Chessa vd.'nin (2009) retrovirüs eklenti frekansına dayanarak önerdiği yaklaşık 5000 yıl önce İran-Irak yöresi kaynaklı ikinci göç, bölgedeki HPG C frekans değişimi ile ilgili olabilir. Eğer Sherratt'ın (1981) önerdiği ikincil ürün devrimi ve ertesinde ikinci koyun yayılımı ve göç esas olarak koçlarla olmuş, ve dişilerin yayılımı koçların göçünden çok daha yavaş gerçekleşmişse bu durum HPG C'de gözlenen frekans artışı ile uyumlu olabilir.

Bu çalışmada modern koyundaki HPG C'nin yaban koyunundaki HPG X'ten ayırt edilemediğini gördüğümüz için, belki de, önceki dönemlerde koyunun HPG X açısından zengin olduğu, HPG C'nin ise sonradan gelip frekansını artırdığı da söylenebilir.



Şekil 16. Çalışmada yer alan örneklerin ait olduğu kazı alanları için zamansal ve uzamsal HPG dağılımları (batıdan doğuya: Tepecik-Çiftlik, Oylum Höyük, Arslantepe ve Hallan Çemi). Dilimler içerisindeki rakamlar örnek sayılarını göstermektedir.

Şekil 16'da gösterilen haritada projede çalışılan kazı alanlarının HPG dağılımları görülebilmektedir. Uzak dönemden yakına doğru: Hallan Çemi'de %100 (1 örnek), Tepecik-Çiftlik'te %78,6 ve Arslantepe'de %46,1 oranında HPG B görülmesi, bu HPG'un evcilleştirme zamanında bölgede yüksek frekansta bulunduğunu ve muhtemelen ilk evcilleştirilen HPG olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın başka bir sonucu da, HPG A'nın Doğu'dan/Güneydoğu'dan ve zaman içinde artarak geldiğidir. aDNA gözlemleri Anadolu'nun önce HPG B tipi koyunları içerdiği, daha sonra HPG A'nın ve C'nin Asya'dan Anadolu'ya gelmiş olabileceği senaryosuyla uyumludur.

Aşağıda anlatılan gelecekteki çalışmalar öncesinde, HPG B ağırlıklı koyunların mtDNA açısından ilk koyun evcilleştirmesinin akrabaları olabileceği; Anadolu'ya 9500 yıl öncesinden itibaren HPG A'nın girmeye başladığı (Tepecik-Çiftlik'te sadece 1 bireyle temsil edilmektedir) ve HPG C'nin 3800 yıl öncesine kadar rastlanmadığı daha sonra artmaya başladığı söylenebilir. Bu sıraya uygun olarak korunmada öncelik verilecek modern ırkların seçiminin her bir HPG bulunma/varış olayına uygun olarak yapılması önerilebilir.

4.6 Gelecekteki Çalışmalar

Anadolu'daki antik koyun populasyonlarının sahip olduğu tarihsel genetik çeşitliliği daha iyi anlamak için, bu çalışma daha farklı bölgelerden ve zaman dilimlerinden örneklerle genişletilmelidir. Bu da proje kapsamında elde edilen diğer örneklerin çalışılması ile mümkün olabilecektir. Zamansal ve uzamsal dağılımı olan daha çok sayıda örnekle, elde edilen sonuçlar daha güvenilir ve bilgi verici olacaktır. Anadolu'dan, özellikle koyun evcilleştirme

merkezi olduğu düşünölen bölgeden (Zeder, 2008), toplanan örneklerle yapılacak gelecek çalışmalar evcilleştirme sürecinin ilk aşamalarına ve evcil koyunun tarihine ışık tutacaktır.

Bunlara ek olarak, yapılan çalışmada olduğu gibi tek bir lokusu barındıran araştırmaların sonuçlarını desteklemek ve daha çok bilgi veren polimorfik bölgeleri çalışabilmek için gelecekte mitogenomlar ve tüm genomlar üzerine de çalışılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

Acar, H. 2010. Bioinformatic Analyses in Microsatellite-Based Genetic Diversity of Turkish Sheep Breeds (Yüksek Lisans Tezi). Ankara. Orta Doğu Teknik Üniversitesi.

Berkman, C. C., Dinç, H., Şekeryapan, C., Togan, İ. 2008. "Alu insertion polymorphisms and an assessment of the genetic contribution of Central Asia to Anatolia with respect to the Balkans", *American Journal of Physical Anthropology*, 136, 11-18.

Boessneck, J. 1969. Sayfa 331-358. *Science in Archaeology*. Editörler: Brothwell, D., Higgs, E. London: Thames and Hudson.

Bruford, M. W., Bradley, D. G., Luikart, G. 2003. "DNA markers reveal the complexity of livestock domestication", *Nature Genetics*, 4, 2-12.

Bruford, M. W., Townsend, S. J. 2006. Sayfa 307-317. *Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms*. Editörler: Zeder, M. A., Bradley, D. G., Emshwiller, E., Smith, B. D. CA: University of California Press.

Cahen, C. 1968. *Pre-Ottoman Turkey: A General Survey of the Material and Spiritual Culture and History*. New York: Taplinger Pub. Co.

Cai, D., Han, L., Zhang, X.-L., Zhou, H., Zhu, H. 2007. "DNA analysis of archaeological sheep remains from China", *Journal of Archaeological Science*, 34, 1347-1355.

Cai, D., Tang, Z., Yu, H., Han, L., Ren, X., Zhao, X., Zhu, H., Zhou, H. 2011. "Early history of Chinese domestic sheep indicated by ancient DNA analysis of Bronze Age individuals", *Journal of Archaeological Science*, 38, 896-902.

Campana, M. G., Bower, M. A., Bailey, M. J., Stock, F., O'Connell, T. C., Edwards, C. J., Checkley-Scott, C., Knight, B., Spencer, M., Howe C. J. 2010. "A flock of sheep, goats and cattle: Ancient DNA analysis reveals complexities of historical parchment manufacture", *Journal of Archaeological Science*, 37, 1317-1325.

Chessa, B., Pereira, F., Arnaud, F., Amorim, A., Goyache, F., Mainland, I., Kao, R. R., Pemberton, J. M., Beraldi, D., Stear, M. J., Alberti, A., Pittau, M., Iannuzzi, L., vd. 2009. "Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations", *Science*, 324, 532-536.

Clutton-Brock, J. 1999. *A Natural History of Domesticated Mammals*. Cambridge: Cambridge University Press.

Demirci, S. 2012. *MtDNA Based Genetic Diversity of Native Sheep Breeds and Anatolian Mouflon (Ovis gmelini anatolica) in Turkey (Yüksek Lisans Tezi)*. Ankara. Orta Doğu Teknik Üniversitesi.

Demirci, S., Koban Baştanlar, E., Dağtaş, N. D., Pişkin, E., Engin, A., Özer, F., Yüncü, E., Doğan, Ş. A., Togan, İ. 2013. "Mitochondrial DNA diversity of modern, ancient and wild sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: New insights on the evolutionary history of sheep", *PLoS ONE*, 8(12), e81952.

Doğan, Ş. A. 2009. *Reassessment of Genetic Diversity in Native Turkish Sheep Breeds with Large Numbers of Microsatellite Markers and Mitochondrial DNA (Yüksek Lisans Tezi)*. Ankara. Orta Doğu Teknik Üniversitesi.

FAO. "The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture". <http://www.fao.org/docrep/010/a1250e/a1250e00.htm>, Son erişim tarihi: 10 Aralık 2014.

Fernandez, H., Hughes, S., Vigne, J-D., Hemler, D., Hodgins, G., Miguel, C., Hanni, C., Luikart, G., Taberlet, P. 2006. "Divergent mtDNA lineages of goats in an early Neolithic site, far from the initial domestication areas", *PNAS*, 103, 15375-15379.

Glowatzki-Mullis, M-L., Muntwyler, J., Baumle, E., Gaillard, C. 2009. "Genetic diversity of Swiss sheep breeds in the focus of conservation research", *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126, 164-175.

Gutierrez-Gil, B., Uzun, M., Arranz, J., Primitivo, F. S., Yıldız, S., Çenesiz, M., Bayon, Y. 2006. "Genetic diversity in Turkish sheep", *Acta Agriculturae Scandinavica*, 56, 1, 1-7.

Haile, J. S., Froese, D. G., MacPhee, R. D. E., Roberts, R. G., Arnold, L. J., Reyes, A. V., Rasmussen, M., Nielsen, R., Brook, B. W., Robinson, S. 2009. "Ancient DNA reveals late survival of mammoth and horse in interior Alaska", *PNAS*, 106, 22352–22357.

- Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R., Janke, A. 1998. "The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major Ovine haplotypes", *Journal of Molecular Evolution*, 47, 441-448.
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., Janke, A. 2002. "Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies", *Proc. R. Soc. Lond. B*, 269(1494), 893- 904.
- Hofreiter, M., Serre, D., Poinar, H. N., Kuch, M., Pääbo, S. 2001. "Ancient DNA", *Nat Rev Genet*, 2, 353–359.
- Koban, E. 2004. *Genetic Diversity of Native and Crossbreed Sheep Breeds in Anatolia (Doktora Tezi)*. Ankara. Orta Doğu Teknik Üniversitesi.
- Koban, E., Gökçek Saraç, Ç., Açıkan, S. C., Savolainen, P., Togan, İ. 2009. "Genetic relationship between Kangal, Akbash and other dog populations", *Discrete Applied Mathematics*, 157, 2335-2340.
- Larson, G., Albarella, U., Dobney, K., Rowley-Conwy, P., Schibler, J., Tresset, A., vd. 2007. "Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe", *PNAS*, 104(39), 15276-15281.
- Lawson Handley, L-J., Byrne, K., Santucci, F., Townsend, S., Taylor, M., Bruford, M. W., Hewitt, G. M. 2007. "Genetic structure of European sheep breeds", *Heredity*, 99, 620–631.
- Luo, Y. Z., Cheng, S. R., Batsuuri, L., Badamdorj, D., Olivier, H., Han, J.L. 2005. "Origin and genetic diversity of Mongolian and Chinese sheep using mitochondrial DNA D-loop sequences", *Acta Genetica Sinica*, 32, 1256-1265, (Çince).
- Meadows, J. R., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E., Kijas, J. W. 2007. "Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the Near East", *Genetics*, 175, 1371–1379.
- Meadows, J. R. S., Hiendleder, S., Kijas, J. W. 2011. "Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel", *Heredity*, 106, 700-706.
- Niemi, M., Bläuer, A., Iso-Touru, T., Nyström, V., Harjula, J., Taavitsainen, J-P., Stora, J., Lidén, K., Kantanen, J. 2013. "Mitochondrial DNA and Y-chromosomal diversity in ancient populations of domestic sheep (*Ovis aries*) in Finland: comparison with contemporary sheep breeds", *Genet Sel Evol*, 45, 2.

- Olivieri, C., Ermini, L., Rizzi, E., Corti, G., Luciani, S., Marota, I., De Bellis, G., Rollo, F. 2012. "Phylogenetic position of a Copper Age sheep (*Ovis aries*) mitochondrial DNA", *PLoS ONE*, 7(3), e33792.
- Orlando, L., vd. 2013. "Recalibrating *Equus* evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse", *Nature*, 499, 74-78.
- Otoni, C., Ricaut, F. X., Vanderheyden, N., Brucato, N., Waelkens, M., Decorte, R. 2011. "Mitochondrial analysis of a Byzantine population reveals the differential impact of multiple historical events in South Anatolia", *Eur J Hum Genet*, 19, 571–576.
- Parker, H. G., Shearin, A. L., Ostrander, E. A. 2010. "Man's best friend becomes Biology's best in show: Genome analyses in the domestic dog", *Annual Review of Genetics*, 44, 309–36.
- Payne, S. 1969. Sayfa 295-305. *The Domestication and Exploitation of Plants and Animals*. Editörler: Ucko, P. J., Dimbleby, G. W. London: Duckworth Pub.
- Peter, C., Bruford, M., Perez, T., Dalamitra, S., Hewitt, G., Erhardt, G. 2007. "Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds", *Animal Genetics*, 38(1), 37-44.
- Rohland, N., Hofreiter, M. 2007. "Ancient DNA extraction from bones and teeth", *Nature Protocols*, 2, 7.
- Rohland, N., Siedel, H., Hofreiter, M. A. 2010. "Rapid column-based ancient DNA extraction method for increased sample throughput", *Molecular Ecology Resources*, 10, 677-68.
- Sawyer, S., Krause, J., Guschanski, K., Savolainen, V., Pääbo, S. 2012. "Temporal patterns of nucleotide misincorporations and DNA fragmentation in ancient DNA", *PLoS ONE*, 7(3), e34131.
- Sherratt, A. 1981. Sayfa 261-305. *Pattern of the Past: Studies in Honour of David Clarke*. Editörler: Hodder, I., Isaac, G., Hammond, N. Cambridge: Cambridge University Press.
- Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Cinkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Viinalass, H., Kantanen, J. 2006. "Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian and Central Asian areas", *Mol Biol Evol*, 23, 1776–1783.
- Tapio, M., Ozerov, M., Tapio, I., Toro, M. A., Marzanov, N., Cinkulov, M., Goncharenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Kantanen, J. 2010. "Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in Northern Eurasia", *BMC Genetics*, 11, 76.

Togan, İ. 1999. Alternative Passageways to Modern Nationhood: Patterns of Power-sharing and Concentration of Power in Central Asia and the Near East. Beijing Forum, 2, 516-545.

Togan, İ., Berkman, C., Koban, E., Saraç, G. Ç., Dinç, H. 2007. An Anatolian Trilogy With Some Implications on Conservation Issues: Arrivals of Nomadic Turks Together with Their Sheep and Shepherd Dogs. ESF workshop on "Population genetics modelling and habitat fragmentation: separating recent and ancient events for efficient conservation". Oieras-Portekiz.

Toynbee, A. J. 1970. The Western Question in Greece and Turkey: A Study in the Contact of Civilizations. New York: Howard Fertig Inc. Edition.

TÜRKHAYGEN-İ: "Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının In Vitro Korunması ve Ön Moleküler Tanımlanması-I".http://www.turkhaygen.gov.tr/data/index_tr.asp, Son erişim tarihi: 3 Kasım 2014.

Yüncü, E. 2009. Mitochondrial DNA (mtDNA) Haplogroup Composition in Turkish Sheep Breeds (Yüksek Lisans Tezi). Ankara. Orta Doğu Teknik Üniversitesi.

Zeder, M. A. 2008. "Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: origins, diffusion and impact", PNAS, 105, 11597-11604.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. İNCİ ZEHRA TOĞAN
Proje No:	111T464
Proje Başlığı:	Anadolu'daki Çeşitli Arkeolojik Kazılardan Çıkarılmış Koyun Örneklerinden Antik DNA (aDNA) İzole Etmek ve aDNA'ya Dayalı mtDNA Haplogrup Tayini Yapmak
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	36
Araştırmacılar:	EVANGELIA PIŞKIN, CAN YÜMNİ GÜNDEM
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BIYOLOJİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/11/2011 - 01/11/2014
Onaylanan Bütçe:	293500.0
Harcanan Bütçe:	256953.94
Öz:	<p>Son dönemde yapılan arkeozoolojik çalışmalar, en eski (günümüzden 11000 yıl önce) ve belki de tek koyun evcilleştirme merkezinin Güneydoğu Anadolu'da olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada koyun evcilleştirmesinin tarihinin anlaşılmasına katkıda bulunmak amacıyla, Türkiye'deki çeşitli kazılardan çıkarılan koyun örneklerinin antik DNA'ları incelenmiştir. Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe, Hallan Çemi gibi kazı alanlarından örnekler Orta Doğu Teknik Üniversitesi'nde 2012 yılında kurulan antik DNA laboratuvarına getirilmiştir. Antik DNA eldesi koyun olarak tanı koyulan örnekler kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra, modern evcil koyunda beş mitokondriyal DNA haplogrubunu da (A-E) ayırabildiği gözlenen 144 baz çifti uzunluğundaki DNA bölgesi yükseltgenmiştir.</p> <p>DNA izolasyonu ve yükseltgenmesindeki başarı oranı Oylum Höyük örnekleri için %64,9, Tepecik-Çiftlik örnekleri için %93,3, Arslantepe örnekleri için %86,7 ve Hallan Çemi için %16,7'dir. Canlı öldükten sonra gerçekleşen nükleotid değişimleri (hatalı baz yerleştirme) tekrarlanan antik DNA dizileri ve modern koyunlara ait referans diziler karşılaştırmalı olarak çalışılarak tahmini olarak belirlenmiştir. Yükseltgenen antik DNA dizileri koyun örneklerinin haplogrublarını belirlemede kullanılmıştır. Her bir haplogrubun görülme yüzdesi: Oylum Höyük örnekleri için haplogrup A:%48,7, B:%37,8, C:%5,4, D:%5,4, E:%2,7; Tepecik-Çiftlik örnekleri için A:%3,6, B:%78,6, D:%3,6, E:%14,2; Arslantepe örnekleri için A:%30,8, B:%46,1, E:%23,1; Hallan Çemi için B:%100'dür. HPG dağılımları mevcut literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında, HPG B'nin evcilleştirmenin ilk dönemlerinde koyun evcilleştirme merkezi çevresinde baskın tip olduğu ve HPG A ve HPG C'nin frekanslarının sırasıyla 9500 ve 3800 yıl önceden itibaren arttığı gözlemlenmiştir. Koyun evcilleştirme merkezinden yapılan bu ilk çalışma, Güney/Güneydoğu Anadolu'daki evcil koyunun evrimsel tarihine katkıda bulunmanın yanı sıra, mitokondriyal DNA'nın küçük bir bölgesinin modern evcil koyunlarda gözlenen haplogrublara göre antik koyunların haplogrublarını belirlemede yardımcı olduğunu göstermiştir.</p>
Anahtar Kelimeler:	Antik DNA, koyun, Oylum Höyük, Tepecik-Çiftlik, Arslantepe, Hallan Çemi, mtDNA haplogrup
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- Ancient DNA Isolation and Mitochondrial DNA Haplogroup Determination from Sheep Samples Unearthed from Oylum Höyük, Kilis-Turkey: A Preliminary Study (Bildiri)