

ULUSAL MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

www.biyoloji.gen.tr
21 - 24 Ağustos 2015

ÖZET KİTAPÇIĞI



*Bilime Hizmet...
Araştırmaya Hizmet...*



KONGRE ORGANİZASYONU

Kongre Başkanı

Prof. Dr. Sezai TÜRKEK, Uludağ Üniversitesi

Kongre Koordinatörü ve Düzenleme Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi

Düzenleme Kurulu Başkan Yardımcısı

Dr. Buğrahan EMSEN, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Sekreterler

Arş. Gör. Hicret Aslı TIĞIL, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Deniz CAN, Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi

BİLİM KURULU

Prof. Dr. Abdul Razaque MEMON	Uluslararası Saraybosna Üniversitesi
Prof. Dr. Ahmet KOÇ	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü
Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Prof. Dr. Aynur BAŞALP	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Prof. Dr. Bahattin TANYOLAÇ	Ege Üniversitesi
Prof. Dr. Burhan ARIKAN	Çukurova Üniversitesi
Prof. Dr. Cumhuri ÇÖKMÜŞ	Ankara Üniversitesi
Prof. Dr. Dilek TURGUT BALIK	Yıldız Teknik Üniversitesi
Prof. Dr. Ece TURHAN	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Prof. Dr. Ekrem ATALAN	İnönü Üniversitesi
Prof. Dr. Feray KÖÇKAR	Balıkesir Üniversitesi
Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI	Adnan Menderes Üniversitesi
Prof. Dr. Figen ERTAN	Trakya Üniversitesi
Prof. Dr. Güleray AĞAR	Atatürk Üniversitesi
Prof. Dr. Hatice GÜLEN	Uludağ Üniversitesi
Prof. Dr. İsa GÖKÇE	Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN	Yıldız Teknik Üniversitesi
Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU	Atatürk Üniversitesi
Prof. Dr. Kasim BAJROVIC	Uluslararası Saraybosna Üniversitesi
Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL	Bülent Ecevit Üniversitesi
Prof. Dr. Kemal GÜVEN	Dicle Üniversitesi
Prof. Dr. Leyla AÇIK	Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE	Atatürk Üniversitesi
Prof. Dr. Mehmet İNAN	Akdeniz Üniversitesi
Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ	Necmettin Erbakan Üniversitesi
Prof. Dr. Muhsin KONUK	Üsküdar Üniversitesi
Prof. Dr. Naci DEĞERLİ	Cumhuriyet Üniversitesi
Prof. Dr. Nermin GÖZÜKIRMIZI	İstanbul Üniversitesi
Prof. Dr. Sezai TÜRKEK	Uludağ Üniversitesi
Prof. Dr. Sezen ARAT	Namık Kemal Üniversitesi
Prof. Dr. Yüksel BÖLEK	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Prof. Dr. Zeki KAYA	Orta Doğu Teknik Üniversitesi
Prof. Dr. Zihni DEMİRBAĞ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Doç. Dr. Atilla KARŞI	Mississippi State Üniversitesi
Doç. Dr. Emine Selcen DARÇIN	Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi
Doç. Dr. Fatih Ali CANLI	Süleyman Demirel Üniversitesi
Doç. Dr. Hanife GENÇ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ	Erzurum Teknik Üniversitesi
Doç. Dr. Muhammad AASIM	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Doç. Dr. Turgay ÜNVER	Çankırı Karatekin Üniversitesi
Doç. Dr. Zahid IQBAL	İsra Üniversitesi

SÖZLÜ BİLDİRİ ÖZETLERİ

***Staphylococcus aureus*'da Metisilin Direncinin Genotipik Yöntemlerle Belirlenmesi**

Abdullah Kıran¹, Recep Arslan¹

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Saruhanlı Meslek Yüksekokulu, Manisa.

abdullah.kiran@cbu.edu.tr

Özet

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* 'lar önemli patojen bakterilerdir. Özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda ciddi sağlık problemlerinde etkilidirler. Türkiye ve dünyada yoğun bakım ünitelerindeki direnci düşmüş hastalarda ölümlere neden olabilmektedirler. Metisilin gibi güçlü antibiyotiklere direnç geliştirdiklerinden dolayı tedavi zorlukları vardır ve kontrol altında tutulmaları gerekir. Ayrıca çoklu antibiyotik direncinin diğer bakterilere de aktarılmasında etken ajan bakteriler oldukları düşünülmektedir. Bunlar salgınlara neden olmaktadır. Bu yüzden epidemiyolojik takip gereklidir. Moleküler tiplendirme yöntemleri suşlar arasındaki klonal ilişkinin ortaya konulması yanında herhangi bir toplum, bölge, ülke veya dünya genelindeki yaygın genotipik klonların dağılımı hakkında da oldukça yararlı bilgiler sunmaktadır. MRSA suşlarının saptamasında mecA geninin varlığını göstermeye yönelik PZR bazlı genotipik yöntemler tercih edilir. Çünkü homojen ve heterojen direncin ortaya çıkarılmasında duyarlılık ve özgüllüğü %100'dür. mecA geninin varlığını göstermeye dayanan genotipik yöntemler metisilin direncinin belirlenmesinde altın standart olarak kabul edilmektedir. PZR ise daha az DNA ile çalışılması ve uygulama kolaylığı açısından hibridizasyona göre tercih edilmektedir. PZR sonucunda agaroz jel elektroforezinde 1.8 kilobazlık ürün bandı görülen izolatlar mecA yönüyle pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Metisilin direnci, *Staphylococcus aureus*, mecA geni.

Determination of Meticillin Resistance of *Staphylococcus aureus* by Genotypic Methods

Abstract

Methicilline resistant *Staphylococcus aureus* is an important pathogenic bacterium. They cause serious health problems especially in the intensive care unit's patients. They can cause the death of patients with low immunity in Turkey and around the world. Medical treatment is difficult because of methicillin and some other antibiotics' resistance, and they must be under control. Besides, MRSA's are agent bacteria for multiple-antibiotic resistance to the other bacteria. They have caused epidemics. For that reason, epidemiologic control is needed. Molecular typing methods supply useful information to detect the clonal relationships among the epidemic bacteria and information about the distribution of the common genotypic clones in a community, region, country and around the world. PCR-based genotypic methods aiming to show the existence of mecA gene are preferred in the determination of MRSA strains because its sensitivity and specificity in showing the homogenous and heterogeneous resistance is 100%. Genotypic methods based on showing the existence of mecA gene are regarded as golden standard in the determination of methicillin resistance. PCR is preferred to hybridization because less work with DNA is necessary and it is more practical. Isolates that show 1.8 kilobase product range in agarose-gel electrophoresis as a result of PCR are regarded as positive in terms of mecA.

Keywords: Meticillin resistance, *Staphylococcus aureus*, mecA gene.

Türkiye’de Genetiği Değiştirilmiş Mısır ve Soya fasülyesi İçeren Gıdaların Taranması Amacıyla DNA Ekstraksiyon Yöntemlerin Karşılaştırılması

Aydin Turkec¹ , Stuart J. Lucas²

¹Uludag University, Mustafa Kemalpaşa Vocational School, Department of Plant and Animal Production, 16500
Bursa, Turkey

²Sabancı University, Nanotechnology Research and Application Centre, Orhanlı, 34956 Tuzla, Istanbul, Turkey

turkec@uludag.edu.tr

Özet

Mısır ve Soya fasülyesi çok sayıda yetkilendirilmiş Genetiği Değiştirilmiş (GD) özelliklere sahip olan en önemli Genetiği Değiştirilmiş ürünlerdir. Bu çalışmada Türkiye’de ticari olarak bulunan 93 farklı mısır ve soya fasülyesi ürünlerinde genetiği değiştirilmiş elementlerin saptanabilmesi amacıyla 5 farklı DNA ekstraksiyon metodu değerlendirilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. DNA ekstraksiyon metodlarının analiz edilen mısır ve soya gıda ürünlerin çoğunda iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Bununla birlikte , Foodproof, Wizard, Genespin ve CTAB metodlarının her birinde farklı mısır ve soya ürünlerine göre değişmekle birlikte en yüksek DNA verimi ve saflığı elde edilmiştir. Ekstraksiyonu yapılan örnekler daha sonra, P-35S, T-NOS, *bar*, and P-FMV gibi GM elementleri saptayabilen Foodproof GMO tarama kiti ile katlı gerçek zamanlı PCR reaksiyonu ile taranmıştır. Sonuçlar örneklerin %19.5’inin en az bir GM element içerdiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: DNA ekstraksiyonu, Gıda Güvenliği, Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar, Mısır, Soya Fasülyesi

Comparison of DNA Extraction Methods For Accurate Screening of Genetically Modified Maize and Soy-containing Foods in Turkey

Abstract

Maize and soy are the most important genetically modified (GM) crops with increasing number of authorised GM events. In this paper, five DNA extraction methods were evaluated for the detection of genetically modified (GM) elements in 93 maize and soy foodstuffs commercialised in Turkey and the results compared. It was found that all extraction methods performed well for the majority of maize and soy foodstuffs analysed. However, the Foodproof, Wizard, Genespin and CTAB methods each produced the highest DNA yield and purity for different maize and soy products, suggesting that selecting the correct DNA isolation method is important for accurate GMO screening in food products. The extracted DNA of the samples was then screened for the presence of GM elements, along with certified reference materials (CRMs) using the Foodproof GMO Screening kit, which detects the GM elements P-35S, T-NOS, *bar*, and P-FMV in a multiplex real-time PCR reaction. The results indicated that 19.35% of the samples were positive for the presence of at least one of the GM elements.

Keywords: DNA extraction, Food safety, Genetically Modified, Maize, Soya

Doksorubisin Dirençlilik Mekanizmalarının Genomik Yöntemlerle Tespit Edilmesi

Ayşe Banu Demir^{1,2}, Ahmet Koç¹

¹ İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir

² Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

banu.demir@deu.edu.tr

Özet

Kemoterapi, kanser hastalarının tedavisine önemli katkılarda bulunan bir tedavi yöntemidir. Teröpatik dirençlilik, kanser durumlarının çoğunda tedavi başarısızlığının önemli bir nedenidir. İlaç dirençliliğinin altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılması, kemoterapi tedavilerinin etkisini arttırmada önem arz etmektedir. Doksorubisin, birçok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılan doğal bir ajandır. Birçok tümör bu ajana karşı dirençlilik göstermektedir. Bu çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* model organizması kullanılarak, BY4741 yabani tip maya suşu için Doksorubisin toksik seviyesi belirlenmiş ve bu toksik seviyeye karşı dirençlilik gösteren genleri tespit etme amaçlı tüm genom düzeyinde tarama yapılmıştır. CUE5, AKL1, CAN1, YHR177W ve PDR5 genlerinin fazla ifadenmesi, Doksorubisine karşı, toksik seviyeden daha yüksek ilaç seviyesinde dahi dirençlilik göstermiştir. Aşırı ifadenmelerinin dirençlilikte rol aldığı bulunan genlerin birçoğunun ortak mekanizması, direkt yada indirekt yollarla hücre membran yapısında değişiklik yaratmalarıdır. Bu nedenle, hücre membran değişimlerinin, yüksek doz ilaca karşı dirençlilikte rol oynayan ana mekanizma olabileceği düşünülmektedir. Bulunan genlerin ifadenmelerinin, hücrelerin Doksorubisine karşı fizyolojik bir yanıtı olarak artıp artmadığına, eş-zamanlı PCR ile bakılmış ve ekspresyon açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu genlerin fazla ifadenmesinin, maya hücrelerinde fizyolojik bir yanıt olmadığı düşünülmektedir. Doksorubisin muamelesi ile hücre genelindeki gen değişimlerine bakmak için tüm genom mikroarray analizi gerçekleştirilmiş ve ilacın çeşitli biyolojik ve hücre fonksiyonlarında farklılık yarattığı gösterilmiştir. Mikroarray analizlerinde bulunan genlerin genel olarak, detoksifikasyon, kromozom kondensasyonu, DNA integrasyonu ve nitrojen, sülfür ve selenyum metabolizmasının regülasyonu gibi genel stres yanıtı ile ilgili olaylarda rol oynadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, Genom-düzeyi tarama, İlaç Dirençliliği, *Saccharomyces cerevisiae*

Identification of Doxorubicin Drug Resistance Mechanisms by Using Genomic Techniques

Abstract

Chemotherapy is an important contributor for the treatment of cancer patients. Therapeutic resistance is one of the major contributors for the failure of the chemotherapy effectiveness in most cancer cases. Understanding the molecular mechanisms that underlie the drug resistance is important to increase the effectiveness of the chemotherapeutic treatments. Doxorubicin is a natural product that is widely used in treatment of various cancer types, yet many tumors have resistance against this agent. By using the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism, we performed genome-wide screenings to identify the genes that cause resistance against Doxorubicin. Overexpression of CUE5, AKL1, CAN1, YHR177W and PDR5 genes have been identified to cause resistance against Doxorubicin at higher concentrations than the identified toxic level. Overexpression of these genes, identified from genomic library screenings, has a common affect that they all lead changes in membrane structure either directly or indirectly, which might be the main mechanism that protects cells against very high concentrations of Doxorubicin. Real-time PCR and microarray analysis for these genes were also performed. None of the CUE5, AKL1, CAN1, YHR177W and PDR5 genes showed expression changes upon Doxorubicin treatment, compared to their corresponding untreated wild-type status. Therefore, overexpression of these genes may not be a physiological response of yeast cells against Doxorubicin. Genome-wide microarray analysis showed changes in several cellular and biological functions upon Doxorubicin treatment. Identified genes mainly function in general stress related events such as, detoxification, chromosome condensation, DNA integration and regulation of nitrogen, sulfur and selenium metabolism.

Keywords: Doxorubicin, Drug resistance, Genome-wide screening, *Saccharomyces cerevisiae*

Termofilik *Anoxybacillus flavithermus* Bakterisine ait β -glukosidaz Geninin Klonlanması, Ekspresyonu ve Enzim Karakterizasyonu

Aytül Uzun¹, Esmâ AKYILDIZ¹, Cemal Sandallı¹, Hakan Karaoğlu² ve Fatih Ş. Beriş¹

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Ed. Fakültesi Biyoloji Bölümü, 53100, Rize

²Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, 53100, Rize

aytul_uzun_4488@hotmail.com

Özet

Dünyada bol bulunan ve yenilenebilir enerji kaynağı olan selülozun yıkımında da rol oynayan enzimlerden biri olan β -glukosidazlar (3.2.1.21), oligosakkaritlerin yapısında bulunan β -glukozidik bağların hidrolizinden sorumludur. Ayrıca çözünür sellobiyoz ve selo-oligosakkaritleri glukoz birimlerine hidrolizlerler. Özellikle termofilik karakterde olan β -glukosidazlar yüksek sıcaklıkta çalışmalarından dolayı endüstriyel olarak birçok avantaja sahiptirler. Bu çalışmada, termofilik *Anoxybacillus flavithermus* bakterisine ait β -glukosidaz geni PZR ile saptanarak klonlanmış ve *E. coli*'de eksprese edilerek biyokimyasal karakterizasyonu amaçlanmıştır. *Afbgl* geni PZR ile yakalanarak pET100 Directional TOPO Expression kit ile *E. coli* BL21Star(DE3) hücresinde eksprese edilmiştir. Sonrasında ısı çöktürmesi ve Ni^{+2} afinite kromatografisi yöntemleriyle saflaştırılmıştır. SDS-PAGE analizinde enzimin 52 kDa olduğu, optimum çalışma sıcaklığının 65°C, optimum pH'sı 6,8 olarak bulunmuştur. Enzimin substratı olan *p*-nitrofenil β -D-glukosid ile yapılan kinetik denemelerde $V_{\max}$ değerinin 44,55 U, K_m değerinin ise 402,9 μM olduğu belirlenmiştir. Metal iyonlarının enzim aktivitesine etkisinde BRENDA verilerine göre seçilen K^+ , Cu^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , Al^{+3} , Fe^{+3} iyonları kullanıldı. Kullanılan tüm metallerin 0,1 mM'dan itibaren aktiviteyi inhibe ettiği sadece Mg^{+2} 'nin 0,5 mM konsantrasyonda aktiviteyi 1,6 kat arttırdığı bulundu. Enzim üzerine EtOH, DTT, EDTA, 2-propanol, 2-bütanol, β -ME, TritonX-100 etkileri incelendi. Genel olarak tüm kimyasalların aktiviteyi inhibe ettiği görüldü. Çalışmada ayrıca 4-nitrofenil- β -D-sellobiozid, 2-nitrofenil- β -D-galaktopiranozid, 4-nitrofenil- β -D-ksilopiranozid, D-salisin, D-(+)-sellobioz sentetik ve doğal substratlar olarak kullanıldı. Bu substratların $V_{\max}$ ve K_m değerleri hesaplanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Anoxybacillus flavithermus*, β -glukosidaz, enzim karakterizasyonu, termofilik enzim.

Cloning, Expression, and Enzyme Characterization of Thermophilic β -glucosidase from *Anoxybacillus flavithermus*

Abstract

β -glucosidases (3.2.1.21) hydrolyse cellulose which is the most abundant and renewable source of energy on Earth. Also this enzyme completes the hydrolysis by converting cellobiose and cello-oligosaccharides into glucose monomers. Expecially, thermophilic β -glucosidases from thermophilic microorganisms allow the enzyme reaction at high temperature that make several advantages for industrial usages. In this study, we aimed to clone, expression, and biochemical characterization of thermophilic β -glucosidase gene from thermophilic bacterium, *Anoxybacillus flavithermus*. The gene was cloned, sequenced, and expressed in *E. coli*. The gene, *Afbgl*, consists 1383 bp of nucleotides and encoded a polypeptide of 461 amino acids. *Afbgl* was cloned and overexpressed in *E. coli* BL21Star(DE3) host cells with pET100 Directional TOPO Expression Kit. Then, we purified to homogeneity by heat precipitation and Ni^{+2} -affinity chromatography. The molecular mass of the recombinant enzyme was 52 kDa. The optimum temperature and pH of the purified enzyme were 65°C and 6,8, respectively. At these points, the enzyme had 44,55 U/mL of $V_{\max}$ and 402,9 μM of K_m towards *p*-nitrophenyl β -D-glucoside. We had been tested some metal ions as BRENDA data, K^+ , Cu^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , Al^{+3} , Fe^{+3} . Our results show all metal we tested are inhibitor. We also tested some chemical to determine how to effect on enzyme activity, i.e. EtOH, DTT, EDTA, 2-propanol, 2-butanol, β -mercaptoethanol, and TritonX-100. All tested chemicals were inhibited the activity with the lowest concentrations. Our studies continous to determinig the activity with different substrates, 4-nitrophenyl- β -D-cellobioside, 2-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, 4-nitrophenyl- β -D-xylopyranoside, D-salicin, and D-(+)-cellobiose.

Keywords: *Anoxybacillus flavithermus*, β -glucosidase, enzyme characterization, thermophilic enzyme.

VIM-1, VIM-2, VIM-5 ve VIM-38 Metallo- β -laktamaz Enzimlerinin İnhibisyonunun Araştırılması

Azer Özad Düzgün¹, Anne Makena², Christopher J. Schofield², Anna Rydzik², Ayşegül Saral³, Cemal Sandallı⁴

¹Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

²Oxford Üniversitesi Kimya Bölümü Kimya Araştırma Laboratuvarı, Oxford

³Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Artvin

⁴Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Rize

azerozad@windowslive.com

Özet

VIM-tipi β -laktamaz üreten bakteriler karbapenemler dahil çoğu beta-laktamlara karşı direnç gösterirler. Bu direnç proteinleri için inhibitör moleküller tanımlamak önemlidir. Bu çalışmada, 56 farklı bileşiğin VIM-1, VIM-2, VIM-5 ve VIM-38 metallo- β -laktamaz enzimlerine karşı inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Birleşikler Oxford Üniversitesi Kimya Araştırma laboratuvarı tarafından sentezlenmiştir. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Birleşikler kullanılarak enzimlerin % residual aktivitesi hesaplanmıştır. Enzimlerin residual aktiviteleri arasında farka neden olan 6 bileşik seçilerek enzimlerin IC50 değerleri belirlenmiştir. ML302F kodlu birleşik ile yapılan inhibisyon deneyinde VIM-1'in 3.7, VIM-2'nin 0.02, VIM-5'in 0.05 ve VIM-38'in 0.04, ML302 ile yapılan deney sonucunda VIM-1'in IC50 değeri belirlenememişken VIM-2'nin 2.3, VIM-5'in 1.2 ve VIM-38'in 1.6, ML302 COOH ile yapılan deneyde VIM-1'in 248, VIM-2'nin 4.5, VIM-5'in 46 ve VIM-38'in 69 IC50 değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Diğer 3 bileşik ile yapılan deneylerde VIM-1 için IC50 değeri hesaplanamamıştır. AR730B bileşiği kullanılarak; VIM-2, VIM-5 ve VIM-38'in IC50 değerleri sırasıyla 91.6, 1.5, ve 1.6, AR634 ile yapılan deney sonucu; 92.1, 67 ve 62.5 ve AR678B bileşiği kullanıldığında ise enzimlerin; 335, 50.3 ve 70.5 IC50 değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Sonuç olarak kullanılan farklı inhibitörlerin VIM-varyantları üzerine farklı etkilere neden olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnhibisyon, VIM

Investigation of the Inhibition of VIM-1, VIM-2, VIM-5 and VIM-38 Metallo- β -lactamase Enzymes

Abstract

VIM-type β -lactamase-producing bacteria are resistant to most antibiotics against beta-lactams, including carbapenems. The inhibitory molecules to identify are important for these protein resistance. In this study, the effect of inhibition of 56 various compounds were investigated against VIM-1, VIM-2, VIM-5 and VIM-38 type metallo- β -lactamase enzymes. The compounds were synthesized by the University of Oxford Chemistry Research Laboratory. Experiments were performed in triplicate. % Residual activity of the enzyme is calculated using the compounds. According to residual activity of the enzyme 6 different compounds were selected and IC50 values of enzymes were determined. Inhibition assays performed with compound which was coded ML302F, VIM-1 3.7, VIM-2 0.02, VIM-5 0.05 and VIM-38 0.04, result of experiments with ML302, while VIM-1's IC50 value was not determined, VIM-2, VIM-5 and VIM-38 have 2.3, 1.2 and 1.6 IC50 values. Result of with ML302 COOH, VIM-1 of 248, VIM-2 of 4.5, VIM-5 of 46 and VIM-38 of 69 IC50 values were found. IC50 values were not calculated for VIM-1 with the other three compounds. Using AR730B compound, IC50 values of VIM-2, VIM-5 and VIM-38 91.6, 1.5, and 1.6, respectively. Result of with AR634, 92.1, 67 and 62.5, when used AR678B compound, IC50 values of enzymes were detected as 335, 50.3 and 70.5. As a result of using different inhibitors on VIM-variants have been identified to cause different effects.

Keywords: Inhibition, VIM

Haşhaş (*Papaver somniferum* L.)’da Morfin ve Noskapin Üretim Mekanizmasının Yeni Nesil Dizileme Sistemi ile Transkriptom Düzeyinde İncelenmesi

Behcet İnal^{1,2}, Tuğba Gürkök¹, Mine Türkteş¹, M. Cengiz Baloğlu³, Turgay Ünver¹

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

² Siirt Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

³ Kastamonu Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik ve Genetik Bölümü

behcetinal@gmail.com

Özet

Haşhaş bitkisinin morfin, kodein, tebain, noskapin ve papaverin gibi tıbbi öneme sahip ana alkaloidlerin yanı sıra yaklaşık 30 değişik alkaloit ihtiva eden kapsülü, katma değerleri yüksek, yarı sentetik ilaç aktif hammaddeleri üretmede kullanılmaktadır. Ancak; haşhaşta alkaloit üretim mekanizması oldukça karmaşıktır ve tüm yönleriyle henüz aydınlatılabilmemiş değildir. Özellikle, ağrı kesici olarak kullanılan morfin ve öksürük kesici aynı zamanda antikanserojen etkisi olan noskapin alkaloitlerinin üretim mekanizmasında yer alan genetik ve moleküler elementler tam olarak belirlenememiştir. Bu çalışmada, fungal bir elisitör olan Metil Jasmonat (MeJA)’ın morfin ve noskapince zengin iki farklı haşhaş çeşidine ait kapsül dokusuna uygulandıktan sonra ToF-LC/MS (Time of Flight Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) ile yapılan alkaloit ölçümleri sonucunda başta morfin ve noskapin olmak üzere birçok alkaloit miktarının indüklenme sonucu arttığı saptanmıştır. MeJA uygulaması sonucunda iki çeşide ait kapsül dokularında meydana gelen transkriptom düzeyindeki farklılıklar Roche 454-GS FLX+ platformu kullanılarak belirlenmiştir. Yüksek verimli dizileme sonucunda ortalama uzunlukları 375,5 baz çift olarak toplam 43.426.727 baz okuma belirlenmiştir. Okumalar, iAssembler yazılımı ile *de novo* olarak birleştirilerek transkriptlere ait yapılan gen ontoloji (GO) analizleri sonucunda, sekonder metabolit biyosentezi ve çeşitli biyotik stres koşullarına dirençlilik mekanizmalarında rol alan bir çok gen bulunmuş ve haşhaşta alkaloit üretimiyle bağlantılı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte BIA biyosentezi indüklenmiş haşhaş kapsülünde sekonder metabolit sentezi ile ilişkili, LBD, MYB, ERF, TALE NAC transkripsiyon faktörleri bulunmuştur. Ayrıca morfin ve noskapin biyosentezinde rol aldığı düşünülen mikroRNA’lar, tekrarlı elementler ve genik-SSR (Simple Sequence Repeat) gibi moleküler elementler belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Haşhaş, Morfin, Noskapin, Transkriptom, Roche GS 454 FLX+

Transcriptome Based Analysis of the Morphine and Noscapine Biosynthesis Mechanism in Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.) via Next Generation Sequencing

Abstract

Opium poppy (*Papaver somniferum* L.) as an important medicinal plant possesses a variety of alkaloids such as analgesic morphine, anti-tumor agent noscapine and cough suppressant codeine. As well as, poppy plants contain 30 different alkaloids of which added-value is high and are used for producing semi-synthetic pharmaceutical active ingredients. Although the morphine and noscapine are the major alkaloids of opium poppy their biosynthetic pathways are not fully understood in terms of genetic and molecular aspects. In this study, we treated morphine rich and noscapine rich cultivars of opium poppy with a fungal elicitor Methyl Jasmonate (MeJA). The capsules of plants harvested 9 hours after treatment and some of their alkaloid levels were measured by HPLC/ToF-MS. It was detected that all the alkaloid levels were increased especially morphine and noscapine. Thereafter, we performed next generation RNA sequencing with Roche 454-GS FLX+ platform to clarify the transcriptome profiling of each cultivar and also to detect the differences between two cultivars. A total of 43.426.727 base reads were obtained and the mean length of the reads were 375.5 bp. *De novo* assembly was achieved using iAssembler software. As a result of GO analysis numerous genes, involving in secondary metabolism biosynthesis and several biotic stress response pathways, were identified. And also their relationship with BIA biosynthesis was illuminated. In addition some transcription factors, miRNAs, repetitive elements and genic-SSRs were characterized and they were associated with BIA biosynthesis in opium poppy cultivars.

Keywords: Opium poppy, Morphine, Noscapine, Transcriptome, Roche GS 454 FLX+

Bu çalışma Kastamonu Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından KÜBAP-01/2012-34 nolu proje ile desteklenmiştir.

Sistem biyotıp araştırmaları için bütünleştirilmiş biyolojik ağlar yaklaşımı

Beste Calımlıoğlu^{1,2}, Kazım Yalçın Aręa¹

¹Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

beste.calimlioglu@medeniyet.edu.tr

zet

Bir hastalık nadiren tek bir gendeki anormalliğin neticesi olup, genellikle geniş bir gen kümesinin ve bu genlerin çeşitli hücrenel bileşenler ile etkileşimini ilgilendiren karmaşık etkileşimlerin ve bozuklukların sonucudur. Çeşitli insan hastalıklarını tanımlamak için biyolojik sistemlerin karmaşık dinamiğinin tetkiki ve modellenmesi zorlu bir görev olup, son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Bu çalışmada, araştırmacıların hastalıkla ilişkili gen ve proteinlerin tespitine, hastalığın hem diğer hastalıklar hem de biyolojik süreçler ile ilişkisinin açıklanmasına, hastalık yozizlerinin incelenmesine ve tanı, prognoz ve tedavi stratejilerinin (teröpatik hedef, biyobelirteç) geliştirilmesine imkan veren bir hesaplamalı sistem biyolojisi erevesi sunmaktayız. Bu kapsamda,  genom-seviyeli biyolojik ağdan eş zamanlı yararlanılmaktadır: Transkripsiyonel düzenleyici aę (162 TF, 178 miRNA ve 3683 gen arasında 8768 etkileşim), protein-protein etkileşim ağı (21013 protein arasında 283555 etkileşim), ve metabolik aę (3765 gen ile ilişkilendirilmiş 8010 tepkime ve 3102 metabolit). Farklı omiks seviyelerinden gelen yüksek hacimli verilerin biyolojik ağlar ile bütünleştirilmesi hastalığa özgü alt-ağların oluşturulmasını sağlar ve istatistiksel, grafik teorisi temelli ve işlevsel zenginleştirme analizleri vasıtasıyla hastalıkla ilişkili merkezi moleküller (gen, protein, miRNA, metabolit), biyolojik süreçler, sinyal iletim ve metabolik yozizleri belirlenebilmektedir. 100'n üstünde gen ekspresyon veri setinin biyolojik ağlarla bütünleştirilmesi yoluyla çok sayıda insan hastalığı (tip 2 diyabet, sedef, meme kanseri, yumurtalık kanseri gibi) için yöntemin uygulanabilirliği gösterilmiştir. Burada sunulan aę-temelli yaklaşım yeni ve doğru teşhis doğrultusunda yn sunmakta ve gelecekte karmaşık insan hastalıklarına yönelik kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları tasarlanmasında yardım potansiyeli göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Biyobelirteç, Biyolojik ağlar, Sistem biyolojisi, Sistem biyotıp, Terpatik hedef

Integrated biological networks approach for systems biomedicine research

Abstract

A disease is rarely a consequence of an abnormality on a single gene, but it is usually the result of complex interactions and perturbations involving large sets of genes and their relationships with several cellular components. The challenging task of studying and modeling complex dynamics of biological systems in order to describe various human diseases has gathered great interest in recent years. Here, we present a computational systems biology framework which allows researchers to identify genes and proteins associated with the disease, elucidate the association of disease with other diseases as well as biological processes, examine the disease pathways, and develop strategies (therapeutic targets, biomarkers) for diagnosis, prognosis and treatment. Three genome-scale biological networks are simultaneously utilized: Transcriptional regulatory network (8768 interactions between 162 TFs, 178 miRNAs, and 3683 genes), protein-protein interaction network (283555 interactions between 21013 proteins) and metabolic network (8010 reactions and 3102 unique metabolites associated with 3765 genes). Integration of high throughput data from different omics levels with biological networks yields disease-specific subnetworks and through statistical, graph-theoretical and functional enrichment analyses, central molecules (genes, proteins, miRNAs, metabolites), biological processes, signaling and metabolic pathways can be identified. Applicability of the methodology is shown for numerous human disorders (including type 2 diabetes, psoriasis, breast cancer, ovarian cancer) via incorporation of over 100 gene expression datasets with the biological networks. The network based approach presented here offer ways forward on novel and accurate diagnostics, and potentially help to design personalized therapeutics for complex human diseases in the future.

Keywords: Biological networks, Biomarkers, Systems biology, Systems biomedicine, Therapeutic targets

***Silene aegyptiaca* subsp. *aegyptiaca*G'nın Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesi**

Şeyma Sırcan¹, Betül Aydın¹, Leyla Açık¹, Osman Karabacak²

¹Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

²Gazi Üniversitesi, Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

barslan@gazi.edu.tr

Özet

Caryophyllaceae içerisinde yer alan *Silene* cinsi Türkiye’de 165 takson ile temsil edilmektedir. Bu çalışmanın amacı *Silene aegyptiaca* subsp. *aegyptiaca*’nın metanol ve etanol özütlerinin antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini belirlemektir. Özütlerin patojen 9 bakteri ve 3 maya suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Özütlerin antioksidan aktiviteleri ise demir iyonu şelatlama ve 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) süpürücü etkileri incelenerek belirlenmiştir. Ayrıca özütlerin antioksidan aktivitelerini etkilediği düşünülen total fenol, β -karoten ve likopen içerikleri de belirlenmiştir. Metanol ve etanol özütleri *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 suşlarına karşı orta derecede antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. DPPH radikalini süpürücü etki için IC₅₀ değerleri 183,34 $\pm$ 9,25 μ g/ml (metanol özütü) ve 114,46 $\pm$ 1,60 μ g/ml (etanol özütü) olarak bulunmuştur. Demir iyonu şelatlama aktivitesi için IC₅₀ değerlerinin ise 4,33 $\pm$ 0,19 mg/ml (metanol özütü) and 3.43 $\pm$ 0.11 (etanol özütü) mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Özütlerin total fenolik madde, β -karoten ve likopen içeriklerinin sırasıyla metanol özütü için 59,08 $\pm$ 2,00 mg GAE/g; 1,267 $\pm$ 0,007 μ g/g; 0,330 $\pm$ 0,003 μ g/g; etanol özütü için ise 102,42 $\pm$ 0,52 mg GAE/g; 1,018 $\pm$ 0,017 μ g/g; 0,612 $\pm$ 0,005 μ g/g olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar *S. aegyptiaca* subsp. *aegyptiaca*’nın potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Silene aegyptiaca* subsp. *aegyptiaca*, Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite

Antimicrobial and Antioxidant Effects of *Silene aegyptiaca* subsp. *aegyptiaca*

Abstract

Genus *Silene*, belong to Caryophyllaceae, is represented by 165 taxa in Turkey. The aim of the present study is to establish the antimicrobial and antioxidant properties of methanol and ethanol extracts obtained from *Silene aegyptiaca*. Antimicrobial effects of the extracts were studied by using agar well diffusion method against 9 bacterial and 3 fungal pathogen test strains. Antioxidant activities of the extracts were assayed by using ferrous ion chelating and 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity. Furthermore, total phenol, β -carotene and lycopene contents of these extracts were also determined. Methanol and ethanol extracts showed moderate antimicrobial activity against only *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 strains. IC₅₀ values for scavenging of DPPH radical were 183.34 $\pm$ 9.25 (for methanol extract) and 114.46 $\pm$ 1.60 (for ethanol extract) μ g/ml. For the ferrous ion chelating activity the IC₅₀ values were 4.33 $\pm$ 0.19 (for methanol extract) and 3.43 $\pm$ 0.11 (for ethanol extract) mg/ml. Total phenolic, β -carotene and lycopene contents were 59.08 $\pm$ 2.00 mg GAE/g; 1.267 $\pm$ 0.007 μ g/g; 0.330 $\pm$ 0.003 μ g/g for the methanol extract and 102.42 $\pm$ 0.52 mg GAE/g; 1.018 $\pm$ 0.017 μ g/g; 0.612 $\pm$ 0.005 μ g/g for the ethanol extract, respectively. These results indicate that the extracts of *S. aegyptiaca* could be a potential antioxidant agent source.

Keywords: *Silene aegyptiaca* subsp. *aegyptiaca*, Antimicrobial activity, Antioksidan activity

***Lactobacillus plantarum*’dan Saflaştirılan Safra Tuzu Hidrolaz Phe18Leu ve Tyr24Phe Mutantlarının Karakterizasyonu**

Cansu Önal and Mehmet Öztürk

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bolu

onal_c@ibu.edu.tr

Özet

Safra tuzu hidrolaz enzimi (BSH), sindirim sistemi bakterileri olan özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*, gibi organizmalarda glisin ya da taurin ile konjüge olmuş safra tuzlarının aminoasitlere ve safra asitlerine indirgenmesini sağlamaktadır. Safranin dekonjügasyonu kan kolesterol seviyesinin düşmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Diğer taraftan BSH’nin bağırsakta oluşturduğu dioksikolik asit ve litokolik asit gibi sekonder metabolitler toksik olmaları nedeni ile hücrede DNA hasarı oluşturarak yâda apoptozis’i indükleyerek kolon kanserine neden olduklarını gösteren son yıllarda yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Çeşitli kaynaklardan elde edilen BSH enzimleri substrat tercihi ve katalitik aktivite özgünlüğü göstermektedir. BSH ve toksik sekonder metabolitler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için BSH enzimin yapı ve fonksiyonunun iyi anlaşılması gerekmektedir. BSH enziminin üç boyutlu kristal yapılarına ilave olarak, yönlendirilmiş mutasyonlar enzimlerin yapı ve fonksiyonunu anlamak için kullanılan yöntemlerden biridir. Tamamen ya da kısmi olarak korunmuş aminoasitleri kodlayan kodonların değiştirilmesinin önemi, son yıllarda yayınlanan makalelerde sıklıkla vurgulanmasına rağmen literatürde bu tip çalışmalar yoktur. Bu çalışmada, *Lactobacillus plantarum* kökenli *bsh* geni pBluescript vektörüne klonlanmıştır. Substrat özgüllüğünden sorumlu olduğu varsayılan kısmi olarak korunmuş Phe-18 ve Tyr-24 aminoasitlerini kodlayan kodonlar yönlendirilmiş mutasyonla sırası ile Leu-18 ve Phe-24, aminoasitleri kodlayan kodonlara dönüştürülmüştür. Pet22b ekspresyon vektörüne klonlandıktan sonra saflaştırılan mutant BSH enzimleri safra salgısında bulunan farklı safra tuzları ile muamele edilerek mutasyonların enziminin sübstrat özgüllüklerine olan etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonuçları, Tyr24Phe mutasyonun BSH aktivitesi ve substurat tercihi yabanıl türe göre benzer olduğunu gösterirken, Phe18Leu mutasyonu enzimin glikokolik asit, glikodeoksikolik asit ve glikokenodeoksikolik asit üzerine olan etkilerinin sırası ile %58, %76 ve %70 azalttığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: BSH, *Lactobacillus plantarum*, konjuge safra asitleri, yönlendirilmiş mutagenез.

Functional Characterisation of Phe18Leu and Tyr24Phe Mutans of bile Salt Hydrolase Purified from *Lactobacillus plantarum*

Abstract

Bile salt hydrolase (BSH), found commonly in intestinal species of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, catalyses the hydrolysis of glycine or taurine-conjugated bile acids into the amino acid residues and the secondary bile acids. Deconjugating bile potentially plays an important role in reduction of blood cholesterol level. On the other hand, there are a lot of studies indicating that some of the secondary bile acids caused colon cancer because of making damage on DNA and apoptosis induction. BSH enzymes from various sources differ in characteristics, substrates preference and specific catalytic activity. To show relationship between BSH enzyme and toxic secondary metabolites, structure of the BSH must be better understood, but the structure and working mechanism of such an important BSH enzyme was not known very well. In addition to three dimensional structure of BSH enzyme, site-directed mutagenesis is used to understand structure and function of the enzyme. Although the importance of the substitution of the codons coding amino acids supposed to be responsible from substrate spesificity was emphasized in many review journals, there are no such studies in the literature. In this study, BSH enzyme from *Lactobacillus plantarum* has cloned to pBlueScript vector. The codons of the partially conserved aminoasids, Phe-18 and Tyr-24, supposed to be responsible for substrate specificity, substituted for Leu-18 and Phe-24 amino acids respectively by site directed mutagenesis. After cloning of the mutant *bshs* genes to pet22b expression vector, they were expressed and purified. The effects of the mutations on substrate specificity of the enzymes detected by incubating the purified mutant BSH enzymes with different bile salts. Research results indicated that Tyr24Phe mutant is similar to wild type bile salt hydrolase in respect to its activity and substrate specificity. On the other hand Phe18Leu mutant 58%, 76% and 70% decrease the enzyme activity against to glycocholic acid, glycodeoxycholic acid and glycochenodeoxycholic acid respectively.

Keywords: BSH, *Lactobacillus plantarum*, conjugated bile acids, site-directed mutagenesis.

Camellia sinensis Çiçek ve Yaprak Özütleri DnaE ve PolC Proteinleri İçin İnhibisyon Etkiye Sahiptir

Cemal SANDALLI^a, Ahmet MİDİLLİ^a, Emine Esra BUDAK^a, Emine Akyüz TURUMTAY^b, Havva ER^b, Hüseyin BAYKAL^c, Ali Osman BELDUZ^d, Vagif ATAMOV^a

^aDepartment of Biology, Faculty of Arts & Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, 53100 Rize, Turkey,
^bDepartment of Chemistry, Faculty of Arts & Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, 53100 Rize, Turkey,
^cBitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Pazar Meslek Yüksekokulu, Recep Tayyip Erdogan University, 53100 Rize, Turkey, ^dDepartment of Biology, Faculty of Arts & Sciences, Karadeniz Technical University, 6180 Trabzon, Turkey,
cemal.sandalli@erdogan.edu.tr

Özet

Kromozomal DNA replikasyonunun inhibisyonu hızlı bir şekilde mikroorganizmaların ölümüne neden olduğu için, replikasyonda görev yapan proteinler yeni ilaçların geliştirilmesi için hedefler olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada *Camellia sinensis* (Çay) çiçek ve yapraklarından hazırlanan metanol özütlerinde Gram – (*E.coli*) ve Gram + (*B.subtilis*) bakterilerine ait replikatif DNA polimeraz III enzimlerine yönelik inhibisyon etki araştırıldı. Her bir özüt 5 gr taze bitki materyali kullanılarak son hacim 5 mL’de hazırlandı. Özütlerdeki inhibisyon etki 10 µl reaksiyon hacminde (1) 100 nM 5’ ucu ^{CY5} işaretli florojenik substrat (45/20-mer çift iplik DNA), (2) 300 µM dNTP, (3) 10 mM MgCl₂, (4) 50 nM her bir polimeraz bileşenler kullanılarak 30 °C’de 10 dakika ile araştırıldı. Replikatif DNA polimeraz III ve bitki özütleri oda şartlarında 10 dakika bekletildikten sonra polimerizasyon deneylerinde kullanıldı. Reaksiyon ürünleri 8 M üre/%16’lık PAGE’de yürütülerek Typhoon FLA9500 ile görüntüldü. 20-mer primerin DNA polimeraz tarafından uzatılması bitki özütünde inhibisyonun aktivitesinin olmadığı, uzatılmaması ise bitki özütünde inhibisyon aktivitesinin olduğu şeklinde değerlendirildi. Çay bitkisinin hem yaprak hem de çiçek özütlerinde hem *B. subtilis* DNA polimeraz III (PolC proteini) hem de *E. coli* DNA polimeraz III (DnaE) üzerine inhibisyon etkili olduğu gözlemlendi. Çay bitkisi çiçek ve yapraklarından replikatif bakteri DNA polimerazları için potansiyel inhibitör molekül taşıyıcısı olduğu sonucuna varıldı ve inhibisyona neden olan moleküllerin saflaştırılması çalışmalarına devam edilmektedir. Bu çalışma TUBİTAK-113Z054 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Camellia sinensis*, replikatif DNA polimeraz inhibisyonu, Typhoon FLA9500 lazer görüntüleme

The Flower and Leave Extracts of Camellia sinensis have Inhibitory Effect for DnaE and PolC Proteins

Abstract

The replication of chromosomal DNA is essential for the growth of pathogen microorganisms and the inhibition of proteins involved in replication mechanism which are considered as targets for developing new drugs rapidly causes the death of microorganisms. In this study, we investigated the inhibition of Gram - (*E. coli*) and Gram + (*B. subtilis*) bacterial replicative DNA polymerase III enzyme in methanol extract of the flowers and leaves of *Camellia sinensis* (tea). 5 gr of fresh plant material was used to prepare the extracts in a final volume of 5 ml. Inhibition effect of each extract was investigated in 10 µl reaction volume as using below components; (1) 100 nm of 5'-prime ^{CY5} labeled fluorogenic substrate (45/20-mer double-stranded DNA), (2) 300 µM from each dNTPs, (3) 10 mM of MgCl₂ and (4) 50 nM from each polymerase at 30 °C for 10 minutes. Replicative DNA polymerase III and plant extracts was kept for 10 minutes at room conditions before the polymerization experiments. The reaction products were run in 8 M urea/16% PAGE and imaged by Typhoon FLA9500. Extension of 20-mer DNA primer by the polymerase in the present of plant extracts was evaluated that there was no activity in the plant extracts. Inhibition of primer extension in the presence of plant extracts was evaluated as having inhibitory activity. Both leaves and flower extracts of the tea plant had inhibition effect on *B. subtilis* DNA polymerase III (PolC protein) and *E. coli* DNA polymerase III (DnaE). Flower and leaves of the tea plant were concluded that they are the potential carrier of inhibitor molecules for bacterial replicative DNA polymerases and we try to purify these molecules from plant extracts. This work was supported by TUBİTAK-113Z054 number project.

Keywords: *Camellia sinensis*, inhibition of replicative DNA polymerase, Typhoon FLA 9500 Laser Scanner

Tıp ve Biyolojinin Çeşitli Alanlarında Model Organizma Olarak Kullanılan Böcekler: *Drosophila melanogaster* ve *Galleria mellonella*

Meltem Erdem¹, Ceyhun Küçük², Ender Büyükgüzel³, Kemal Büyükgüzel⁴

¹ Bülent Ecevit Üniversitesi Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Zonguldak

^{1,2} Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Zonguldak

⁴ Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Zonguldak

cyhnkucuk@hotmail.com

Özet

Model organizmalar, insan hastalıklarının sebeplerini araştırmak ve bunların tedavileri için yapılan deneylerin insan üzerinde gerçekleştirilemediği ve etik olmadığı durumlarda kullanılırlar. İnsan sağlığı çalışmalarında memeli modelleri pahalıdır ve etik sorunlar doğurabilir. Bu nedenle model organizma olarak böceklerin kullanımı bu alandaki çalışmalara önemli bir alternatif olmaktadır. *Drosophila melanogaster* Meigen ve *Galleria mellonella* L. zirai mücadelede insektisit geliştirme amacıyla kullanılmasının yanı sıra genetik ve beslenme fizyolojisi çalışmalarında da sıklıkla kullanılmaktadır. Halk dilinde meyve sineği olarak bilinen *D.melonagaster*'in larva ve erginleri, tıp ve biyolojinin çeşitli çalışma alanlarında uzun süreden beri kullanılan model bir organizmadır. İnsan ile *Drosophila* arasındaki benzer genomların bulunmasından dolayı, özellikle tıp alanında yapılan çalışmalarda yaşlanma modeli ve nörodejeneratif hastalıklar gibi insan sağlığını etkileyen hastalıkları anlamamıza katkı sağlar. Büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* larvaları son zamanlarda in vivo memeli modellerinin yerine alternatif olarak tercih edilmektedir. *G. mellonella*, 37 °C 'de yaşamını sürdürebilir, hem hümmoral hem de hüccresel immün sisteme sahip olduğundan dolayı konak-patojen etkileşimi, çeşitli antibiyotiklerin gelişimi gibi insan sağlığı araştırmalarında model organizma olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *G. mellonella* ve *D. melanogaster*'in yüksek ergin verimi, kısa hayat döngüsü, laboratuvar şartlarına uyum sağlaması nedeniyle sadece biyolojinin çeşitli alanlarında değil aynı zamanda özellikle tıp ve ilaç sanayisinde memeli modellerinin yerine kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, *Galleria mellonella*, Model organizma, Nörodejeneratif hastalıklar

Use of Insects as a Model Organism in Medicine and Various Fields of Biology: *Drosophila melanogaster* ve *Galleria mellonella*

Abstract

Model organisms are used to research causes of human disease when human experimentation can be unfeasible or unethical. Mammalian models are expensive and also may lead to ethical problems in human health studies. Therefore, the use of insects as model organism is an important alternative approach in this field. *Drosophila melanogaster* Meigen and *Galleria mellonella* L. are often used in genetic and nutritional physiology studies as well as study of insecticides development in pest management. The fruit fly *D. melanogaster*'s larvae and adults have been used in medicine and various fields of biology as a model organism for a long time. There are similar genomes between human and *Drosophila*. These similarities make a major contribution to understanding of diseases that affect human health such as aging models and neurodegenerative diseases especially in the studies of medicine field. Larvae of *G. mellonella*, the greater wax moth, have been alternatively preferred instead of in vivo mammalian model recently. *G. mellonella* can survive at 37 °C, and it has both humoral and cellular immune systems like mammals, thus are used as a model organism to study human pathogens, host-pathogen interaction and development of antibiotics in the human health researches. Recent studies show that *G. mellonella* and *D. melanogaster* can be used instead of mammalian model not only various fields of biology also particularly in medical and pharmaceutical industry because of their high reproductive capacity, short life cycle and adaptation to laboratory conditions.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, *Galleria mellonella*, Model organism, Neurodegenerative diseases

Bakteriyel Alginat Üretiminde Alternatif Bir Karbon Kaynağı olarak Melas

Ciğdem Kıvılcımdan Moral

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Antalya

cigdemmoral@akdeniz.edu.tr

Özet

Alginat yapıtaşı manuronik (M) ve guluronik (G) asit olan endüstriyel bir polimerdir. Günümüzde alginatlar halen kahverengi alglerden elde edilmektedir. Ek olarak, bazı *Azotobacter* ve *Pseudomonas* türleri de alginat sentezlenmektedir. Literatürde bakteriyel alginatla ilgili çalışmalarda genellikle glikoz gibi basit şekerler kullanılmaktadır. Bu durum zaten üretim maliyeti yüksek olan bakteriyel alginatın algal alginat ile rekabetini engellemektedir. Bu nedenle alginat üretimi için alternatif, ucuz karbon kaynakları gereklidir. Melas şeker endüstrisi yan ürünlerinden biri olup içeriğinde glikoz, sukroz gibi şekerler olan ucuz bir karbon kaynağıdır. Bu çalışmada melas ana karbon kaynağı olarak modifiye Burk's besiyerine ilave edilmiştir. Alginat üretimi *Azotobacter vinelandii* ATCC® 9046 ile sabit sıcaklık ve karıştırma hızında 72 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Deneyler sırasında alginat ve bakteri üretimi ile şeker kullanımı izlenmiştir. Ek olarak alginatın endüstriyel açıdan önemli olan viskozite ve monomer dağılımı gibi özellikleri belirlenmiştir. Alginat üretimi deney sırasında artarak devam etmiş ve en fazla miktarda alginat üretimi 4,67 g/L olarak 72 saatte gözlenmiştir. Bu değer 0,85 g alginat/g bakteri'ye karşılık gelmekte iken melasın yaklaşık %94'ü deney sonunda kullanılmıştır. Genellikle polimerlerin moleküler ağırlığı arttıkça besiyer viskozitesi de artmaktadır. Maksimum besiyer viskozitesi benzer şekilde deney sonunda 4,35 cP olarak belirlenmiş olup muhtemelen polimerizasyon derecesinin düşük olduğunu göstermektedir. Alginat önce manuronik asit olarak sentezlenmektedir ki alginatın yapısındaki MM bloklar zamanla %50'den %15'e azalırken, bakteri tarafından salgılanan hücre dışı enzimlerle MG ve GG bloğa epimerize olduğu gözlenmiştir. Deney sonundaki alginat MG blok ağırlıklı olup % 50 MG ve %38 GG blok içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Alginat, *Azotobacter vinelandii*, Melas, Monomer Dağılımı, Viskozite

Molasses as an Alternative Carbon Source for Bacterial Alginate Production

Abstract

Alginate is an industrial polymer made of mannuronic (M) and guluronic (G) acids. Nowadays, alginate has been still obtained by brown algae. In addition, some species of *Azotobacter* and *Pseudomonas* synthesize alginate. In literature, in studies related with bacterial alginate simple sugars like glucose are used. This situation prevents competition of bacterial alginate which has already higher production cost with algal alginate. For this reason, alternative, cheap carbon sources are required for alginate production. Molasses which is a byproduct of sugar industry is a cheap carbon source containing sugars such as glucose and sucrose. In this study, molasses was added as a main carbon source into modified Burk's medium. Alginate production was achieved by *Azotobacter vinelandii* ATCC® 9046 at constant temperature and mixing rate during 72 hours. During experiments alginate and bacterial production and sugar utilization were followed. Furthermore, industrially important properties of alginate like viscosity and monomer distribution were determined. Alginate production increased during the experiment and the highest amount of alginate were observed as 4.67 g/L at 72 hours. While this value is corresponded to 0.85 g alginate/g bacteria, about 94 % of molasses was used at the end of the experiment. In general, broth viscosity is increased by increasing molecular weight of the polymers. Similarly, the maximum broth viscosity was determined at the end of the experiment as 4.35 cP which probably shows low polymerization degree. Alginate is first synthesized as mannuronic acid that while MM blocks in alginate structure were decreased from 50 to 15 % by time, it was observed to be epimerized into MG and GG blocks by extracellular enzymes secreted from bacteria. At the end of the experiment, alginate which contained 50 % MG and 38 % GG blocks was high in MG block.

Keywords: Alginate, *Azotobacter vinelandii*, Molasses, Monomer distribution, Viscosity

Yeni Nesil DNA Teknolojilerinin Biyoinformatik Araçlar ile Entegrasyonu ve Tanı Paneli Tasarımında Kullanılması

Osman Mutluhan Uğurel¹, Oğuz Ata², Dilek Turgut-Balık¹

¹Biyomühendislik Bölümü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul- Türkiye

²İstanbul Aydın Üniversitesi Mekatronik Mühendisliği Bölümü, İstanbul- Türkiye

dilekbalik@gmail.com

Özet

Son on yılda, hem bilgisayar hem de laboratuvar temelli DNA analizine olan yönelim artmıştır. İnsan genom projesinin tamamlanmasının ardından geliştirilen sistemler, protokoller ve araçlar bu yönelime hız kazandırmaktadır. Bununla birlikte, gelişen yeni nesil DNA dizileme teknolojisi ile son yıllarda literatüre kazandırılan nükleik asit dizilerinin artması; depolama, analiz ve değerlendirmede büyük zorlukları beraberinde getirmiştir. DNA analizlerinin rahatlıkla ve başarılı bir şekilde kullanılabilmesi için gerekli biyoinformatik analiz araçları, yazılım mühendisliğinin yardımı ile, uluslar arası kuruluşlar tarafından açık erişimli olarak veya ticari olarak kullanıcıya sunulmakta ancak çalışmaya özgü bazı durumlarda bu araçlar yetersiz kalmaktadır. Böyle durumlarda “disiplinler arası işbirliği” kilit sözcüktür. DNA dizilerinin farklı bakış açıları ile değerlendirilmesi tıp, biyomühendislik, moleküler biyoloji gibi alanlarda yeni gelişmelere ışık tutmaktadır ve DNA dizileri ile bağlantılı sektör sayısı her geçen gün artmaktadır. Bu alanlardan biri de klinik mikrobiyolojidir. Enfeksiyonların DNA temelli tanısı ile kısa sürede güvenilir sonuçlar almak mümkündür. Çeşitli kütle spektrometresi (MS) uygulamaları bu taleplerinin çoğuna yanıt vermektedir. Uçuş zamanlı matris destekli lazer desorpsiyon-iyonizasyon kütle spektrometrisi (Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry/MALDI-TOF MS), dünya çapında bir çok büyük teşhis laboratuvarlarında kültürün tanımlanması için gereken zamanı kısaltmıştır. Bu sistem ile, tam otomasyonlu olarak, biyoinformatik araçlar ile belirlenen tek nükleotitlerin analizi, kültür aşamasını atlayarak, kandaki patojenlerin doğrudan tanımlanmasına imkan vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik araçlar, tek nükleotit farklılıkları, MALDI-TOF MS

Integration of Next Generation DNA Technologies with Bioinformatic Tools And Using in Design of Diagnostic Panel

Abstract

In the last decade, there is a growing concern in laboratory and computer based DNA analyses. Systems, protocols and tools developed after completion of Human Genome Project bring acceleration to this tendency. Recently; in parallel to the increasing size of nucleic acid datas in literature, the development of next generation sequencing technologies brought major challenges in terms of storage, analysis and assessment of the sequences. Bioinformatic analysis tools required for the use of DNA sequences easily and successfully are made available, with the help of software engineers, for users either commercially or, as open access tools hosted by international organizations. But these tools are inadequate for some study-specific cases. In these cases “inter-disipliner collaboration” is the key word. Assessment of the DNA sequences with different perspectives sheds light for new developments in many discipline such as medicine, bioengineering, molecular biology, and the number of sectors that are associated with DNA sequence is increasing. One of these application area is also clinical microbiology. It is possible to get reliable results in a short time by DNA-based diagnosis of infections. Various mass spectrometry (MS) applications could respond to many of these requests. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has shortened the time needed for diagnosis of culture in many of large diagnosis laboratories on worldwide. With this system, analysis of single nucleotides are identified using bioinformatic tools, as the fully automated, make possible to diagnose pathogens directly from the blood by skipping the culture stage.

Key words: Bioinformatic tools, single nucleotide differences, MALDI-TOF MS

miRNome Analizi ile Ekmeklik Buğdayda Kuraklık Stresi ile İlişkili miRNA'ların Profillenmesi

Ebru Derelli Tüfekçi^{1,2}, Güray Akdoğan², Turgay Ünver¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

ebru.derelli@gmail.com

Özet

Mikro-RNA (miRNA)'lar, protein kodlamayan, yaklaşık 21 nükleotit uzunluğunda olan, abiyotik stres cevabı gibi çeşitli biyolojik süreçlerde önemli roller oynayan küçük RNA molekülleridir. Kuraklık, bitki büyüme ve gelişmesini etkileyen yaygın bir çevresel stres olup, bitkilerde çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik tepkilere sebep olmaktadır. Birçok çalışma, bitkilerde primer ve sekonder metabolit üretiminin kuraklık stresi koşullarından etkilendiğini göstermiştir. Bu metabolitler, osmolitler, antioksidanlar veya serbest radikal temizleyiciler gibi, bitkilerin stres toleransına ve/veya önlenmesine yardımcı olabilmektedir. Bugüne kadar bitki miRNA'larının kuraklık stresi yanıtı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, ekmeklik buğday çeşitlerinden kuraklığa dayanıklı olan Sivas 111/33 çeşitinde kuraklık stresine duyarlı miRNA'ları mikro-dizin analizi ile araştırdık. miRNA'ların ekspresyon profilleri kök ve yaprak dokusu örnekleri arasında karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Yaprak dokusunda 285 miRNA, kök dokusunda ise 244 miRNA farklı ifade edilmiştir. Ayrıca kuraklığa dayanıklı (Sivas 111/33) ve kuraklığa hassas (Atay 85) ekmeklik buğday çeşitlerinde Kantitatif Real Time PCR yapılmıştır. Bazı miRNA'lar ve onların hedef transkriptleri kuraklık stresi altında dayanıklı ve hassas çeşitlerin kök ve yaprak dokusunda farklı regüle edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, bitkilerin kuraklık stres yanıtında miRNA'ların moleküler fonksiyonunu daha iyi anlamak için yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kuraklık stresi, mikro-dizin, miRNA, *Triticum aestivum* L

Profiling of miRNAs associated with Drought Stress in Bread Wheat by miRNome Analysis

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are non-coding, ~21nt in length, small RNA molecules that play important roles in several biological processes such as response to abiotic stress. Drought is a common environmental stress influencing plant growth and development and induces various biochemical and physiological responses in plants. Several studies have shown that the production of primary and secondary metabolites is being effected under drought stress conditions in plants. These metabolites function as osmolytes, antioxidants or scavengers that can help plants to avoid and/or tolerate stresses. To date, it has been reported that a number of plant miRNAs is involved in drought stress response. In this study, we investigated drought stress responsive miRNAs in drought-tolerant bread wheat (*Triticum aestivum* cv. Sivas 111/33) by miRNA-microarray screening. Expression profiles of miRNAs were also comparatively analyzed between root and leaf samples. 285 miRNAs and 244 miRNAs were differentially expressed in leaf and root tissues, respectively. We also performed Quantitative Real Time PCR analysis and detected that in drought-tolerant and drought-susceptible (cv. Atay 85) bread wheat cultivars, some miRNAs and their target transcripts were expressed both in root and leaf tissues upon drought stress and found that expression levels of miRNAs and their target transcripts were differentially regulated. The results obtained in this study will assist to better understand the molecular function of miRNAs in response to drought stress plants.

Keywords: Drought stress, microarray, miRNA, *Triticum aestivum* L

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 113O016 nolu proje ile desteklenmiştir.

Toplumumuzda rs7141529 Polimorfizminin Prostat Kanseri Riski Üzerine Etkisi

**Ebru Özkan Oktay¹, Ayşegül Erdemir¹, Buğra Doğukan Törer², Ali İhsan Taşçı³,
Yasemin Baskın⁴, Hülya Ellidokuz⁵, Dilek Turgut-Balık¹**

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

²Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, İstanbul

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Bölümü, İstanbul

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

⁵Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Preventif Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

ebruozkan84@gmail.com

Özet

2013 yılında Avrupalı toplumda yapılan bir genom boyu ilişkilendirme çalışması rs7141529 polimorfizminin prostat kanseri için bir risk faktörü olduğunu tanımlamıştır. Bu çalışmanın amacı toplumumuzda rs7141529 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisinin belirlenmesidir. 175 (85 hasta, 90 kontrol) bireyden oluşan çalışma grubumuzda Sequenom MassARRAY iPLEX platformu kullanılarak rs7141529 polimorfizminin genotiplenmesi gerçekleştirilmiştir. SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 20.0, Chicago, IC, USA) paket programı kullanılarak allel frekansları, genotip dağılımları, odds ratio (OR), güven aralığı (GA) ve p değerleri hesaplanmıştır. İstatistik analiz sonuçlarına göre, T allelinin C alleli ile karşılaştırıldığında prostat kanseri riski ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (OR=1,61; %95 GA=1,05-2,46; p=0,029). Homozigot karşılaştırma modeline göre TT genotipi istatistiksel olarak belirgin bir şekilde iki kat artan prostat kanseri riski (OR=2,31; 95% GA=1,01-5,27; p=0,046) ile ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma ile toplumumuzda ilk defa rs7141529 polimorfizminin prostat kanseri ile ilişkisi gösterilmiş ve T allelinin hastalık için bir risk faktörü olabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, rs7141529, tek nükleotid polimorfizmi

Teşekkür: Bu Çalışma YTÜ BAPK 2012-07-04-DOP02 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Etik kurul: Karar numarası 2012/13/10 (Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 24.09.2012).

Effect of rs7141529 Polymorphism on Prostate Cancer Risk in Our Population

Abstract

A genome-wide association study from European population was identified rs7141529 polymorphism as a risk factor for prostate cancer in 2013. The aim of this study is to determine the association of rs7141529 polymorphism with prostate cancer in our population. Genotyping of rs7141529 was performed by using Sequenom MassARRAY iPLEX platform in our study group comprising 175 individuals (85 cases, 90 controls). Allele frequencies, genotype distributions, odd ratio (ORs), 95% confidence intervals (CI) and p values were calculated by using SPSS (Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 20.0, Chicago, IC, USA) software. According to statistical analysis results, T allele in comparison to the C allele was statistically significantly found to be associated with prostate cancer risk (OR=1,61; 95% CI=1,05-2,46; p=0,029). TT genotype was statistically significantly associated with two-fold increase in prostate cancer risk (OR=2,31; 95% CI=1,01-5,27; p=0,046) in homozygote comparison model. As a result, the present study demonstrated for the first time the association of rs7141529 and prostate cancer and T allele was determined as a risk factor for disease in our population.

Keywords: Prostate cancer, rs7141529, single nucleotide polymorphism

Acknowledgements: This study was funded by YTU BAPK under the Project Number 2012-07-04-DOP02.

Ethics committee: Decision no: 2012/13/10 (Bakirkoy Dr. Sadi Konuk Education and Research Hospital, 24.09.2012).

Sıcaklık ve Kuraklık Stresine Dayanıklı Buğday Çeşitlerinin Moleküler Markörler Kullanılarak Belirlenmesi

Emine Açar¹, Güray Akdoğan², Tuğba Gürkök³, Mine Türkteş¹, Turgay Ünver¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

³Çankırı Karatekin Üniversitesi Eldivan SHMYO Anestezi Bölümü, Çankırı

acaremine01@gmail.com

Özet

Dünya nüfusunun beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), tarih boyunca temel besin kaynakları arasında yer almıştır. Günümüzde tarım uygulamalarına ayrılan alanların arttırılamaması, dünya nüfusundaki artış, besin kaynaklarının yetersizliği, küresel iklim değişikliğinin tarımsal üretime etkisi gibi nedenlerle gelecekte de önemini korumaya devam edecektir. Tüm tarım ürünleri gibi buğday da iklim özelliklerinden ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Kuraklık ve yüksek sıcaklık özellikle tane dolum döneminde buğdayı olumsuz yönde etkilemekte, buğdayda verim ve kalitede önemli düşüslere neden olmaktadır. Bu durum transkriptomik ve metabolomik yaklaşımların da dahil olduğu çalışmalarla kuraklığa ve yüksek sıcaklığa dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ile mümkündür. Bu çalışma ile verim ve kuraklık tolerans indeks parametreleri dikkate alınarak seçilmiş, elit kademedeki buğday çeşitleri kullanılarak, kuraklığa ve yüksek sıcaklığa dayanıklı çeşitler belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla fizyolojik, biyokimyasal, agronomik ölçümler yapılarak ve bilinen SSR (Basit Dizi Tekrarları) markörleri ile taramalar yapılmıştır. Çalışma sonrasında elde edilen veriler, ıslah programları ile kuraklığa ve yüksek sıcaklığa dayanıklı çeşit geliştirmeye olanak verebilecektir.

Anahtar Kelimeler: Basit Dizi Tekrarları (SSR), Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), Markör Destekli Seleksiyon (MAS),

Determination of Heat and Drought Tolerant Wheat Cultivars Using Molecular Markers

Abstract

Bread wheat, *Triticum aestivum*, is an important crop for feeding the population of earth and it has been used as the main dietary resource during long time. It will continue to be important due to the reasons such as the lack of lands allocated to the present agricultural practices, the increase in the world's population, insufficiency of present food resources and the effect of global climate change on agricultural production. As all of the agricultural products, wheat is also effected by the climatic and environmental factors. Particularly, wheat in the grain filling period is negatively affected from the high temperature and drought and that cause significant reductions in wheat yield and quality. Therefore applying transcriptomics and metabolomics approaches can lead to develop heat and drought resistant cultivars. In this study, by considering the yield and quality tolerance index parameters, heat and drought resistant high quality wheat cultivars were to be selected. For that reason, physiological, biochemical and agronomical measurements were carried out and genomically profiled with known SSR (Simple Sequence Repeats) markers. Consequently, obtained data will help to provide development of heat and drought tolerant cultivars by marker assisted breeding programs.

Keywords: Bread wheat (*Triticum aestivum* L.), Marker Assisted Selection (MAS), Simple Sequence Repeats (SSR)

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından FF12035L16 nolu proje ve TÜBİTAK 113O661 ve 111O036 nolu projeleri ile desteklenmiştir.

RNA Metabolizma Düzenleyicisi CPL1 Sülfür Metabolizmasını Etkileyerek Bitkilerin Kadmiyum Toksisitesine Olan Yanıtlarını Kontrol Eder

Emre Aksoy

Niğde Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Genetik Mühendisliği Bölümü,
Merkez/Niğde 51240

emreaksoy@nigde.edu.tr

Özet

Bitki köklerindeki demir taşıyıcısı IRT1 moleküler benzerliğinden dolayı demire ek olarak topraktan kök içerisine kadmiyum da taşıyabilir. Arabidopsis gibi kadmiyuma dayanıksız (indikatör) bitkilerce alınan kadmiyum, kökte depolanır. Tolerans mekanizmaları gelişmediğinden bu bitkiler yüksek konsantrasyonlardaki kadmiyuma dayanamazlar. Öte yandan ağır metalleri yüksek seviyede depolayabilen (hiper-depolayıcı) bitkiler topraktan yüksek oranda kadmiyum alırlar; indikatör bitkilerin aksine kadmiyumu köklerinde depolamak yerine gövdelerine taşırlar. Bu bitkiler kadmiyumun toksik yan etkilerini azaltacak detoksifikasyon sistemleri geliştirmişlerdir. Hücre içerisine alınmasını takiben kadmiyum iyonları, glutatyon ve faytokilatinler gibi tiyollerle kompleks oluşturarak, koful zarı üzerinde bulunan özel taşıyıcılar aracılığıyla yaprak mezofil hücrelerinin kofullarında güvenle depolanırlar. Bu tiyoller sülfür metabolizmasından üretilir. Kadmiyum toksisitesi altında hiper-biriktirici bitkilerde sülfür metabolizmasının ve buna bağlı olarak glutatyon üretiminin arttığı bulunmuştur. Bu artış özellikle transkripsiyon seviyesinde kontrol edilir. CPL1, RNA polimeraz II'nin regülasyonunda görev alan CTD'yi defosforile ederek, transkripsiyon devrinin en son basamağında RNA polimeraz II'nin mRNA'dan ayrılması ve transkripsiyonun sonlanmasına yardımcı olur. Her ne kadar *cpl1* mutantında *IRT1* ekspresyonu artmış olsa da, mutant kadmiyuma tolerans gösterir. İndikatör bitkilerin aksine, tıpkı hiper-depolayıcılarda gözlemlendiği gibi kadmiyum daha çok *cpl1* mutantının gövdesinde birikim gösterir. İlginç olarak, *cpl1* mutantında yapılan mikroarray analizinde tüm farklı ifade edilen genlerin %37'sinin (toplam 65 gen) sülfür metabolizmasında görevli proteinleri kodlayan genlerden oluştuğu bulunmuştur. Bu genlerden seçilmiş olanlarının kadmiyum toksisitesindeki ifade seviyeleri kontrol bitkilerine oranla artış gösterir. Özellikle glutatyon ve faytokilatin üretiminden sorumlu *GST* ve *PS* genlerinin ifade seviyeleri kadmiyum toksisitesi altında *cpl1* gövdesinde yüksek oranda artış gösterir. Kısacası CPL1, sülfür metabolizmasını etkileyerek Cd toksisitesine tepkiyi kontrol eder.

Anahtar Kelimeler: kadmiyum, RNA metabolizması, sülfür, hiperdepolama, bitki

An RNA Metabolism Regulator CPL1 Regulates Plant Responses to Cadmium Toxicity by Affecting Sulfur Metabolism

Abstract

Iron transporter IRT1 can translocate cadmium from rhizosphere in addition to iron due to molecular similarities of ions. Cadmium-sensitive indicator plants like Arabidopsis accumulate cadmium in their roots, and they cannot tolerate high cadmium levels since they don't show developed tolerance mechanisms. On contrary, hyperaccumulator plants uptake high amounts of cadmium from soil; unlike indicators, they translocate it from roots to shoots instead of accumulating it in the roots. These plants have developed detoxification systems to alleviate the toxic effects of cadmium. Following the uptake into the cells, cadmium ions complex with thiols (glutathione and phytochelatin), and then are sequestered into leaf mesophyll cell vacuoles. These thiols are products of sulfur metabolism. Sulfur metabolism and, in turn, glutathione production increases under cadmium toxicity in hyperaccumulators. This increase is specifically controlled at transcription level. By dephosphorylating the CTD that functions in regulation of RNA polymerase II, CPL1 helps in separation of RNA polymerase II from mRNA and termination of transcription. *cpl1* mutant tolerates cadmium toxicity although it shows higher *IRT1* expression. Opposite to indicator plants, cadmium mainly accumulates in shoots of *cpl1* similar to hyperaccumulators. Interestingly, 37% of all differentially expressed genes (total of 65 genes) in *cpl1* microarray is related to sulfur metabolism. The expression levels of selected genes among those 65 are induced under cadmium toxicity. *GST* and *PS* genes responsible for production of glutathione and phytochelatin increases in *cpl1* shoots under cadmium toxicity. Overall, these data suggest that CPL1 regulates responses to Cd toxicity by affecting sulfur metabolism.

Keywords: cadmium, RNA metabolism, sulfur, hyperaccumulation, plant

RNA Metabolizma Düzenleyicisi CPL1 Sülfür Metabolizmasını Etkileyerek Bitkilerin Demir Eksikliğine Karşı Tepkilerini Kontrol Eder

Emre Aksoy

Niğde Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Genetik Mühendisliği Bölümü,
Merkez/Niğde 51240

emreaksoy@nigde.edu.tr

Özet

Temel mikro-besin maddelerinden bir tanesi olan demir her ne kadar doğada sık rastlanan bir metal olsa da, toprakta çözülmemiş halde bulunduğundan dolayı bitkiler tarafından emilmesi çok zordur. Bu da bitkilerin demir yetersizliğine maruz kalmalarına neden olur. Demir, özellikle Türkiye'nin büyük bir kısmını kapsayan asiditesi düşük kireçli topraklarda daha az çözündüğünden bu topraklarda yetişen tarımsal öneme sahip bitkiler sürekli demir-yetersizliğine maruz kalırlar. Demirin bitkideki homeostazının sağlanması demir-sülfür prostetik gruplarının korunması için önemli bir fiziksel faktördür. Demir-sülfür grupları fotosentez, solunum, sülfür ve azot metabolizmaları, bitki hormonları ve koenzim sentezi gibi hayati önem taşıyan işlemler için kofaktör görevi üstlenirler. Bu nedenlerden dolayı bitkinin yaşayabilmesi için sülfür metabolizmasının düzgün çalışması demir homeostazının korunması kadar önemlidir. Sülfür metabolizmasının düzenli çalışması özellikle demir-yetersizliğinin bitki üzerinde oluşturacağı yan etkilerin azaltılması açısından yüksek önem arz eder. Bugüne kadar RNA metabolizmasının sülfür metabolizmasını etkileyerek bitkilerin demir metabolizmasını nasıl kontrol ettiği araştırılmamıştır. Kısa süre önce bir RNA metabolizma düzenleyicisi olan CPL1'in mutasyonu sonucu bitkilerin demir-yetersizliği semptomları gösterdiklerini keşfettik. *IRT1* ve *FIT* genlerinin ifade seviyeleri *cpl1* mutantında arttığı halde, mutant bitki demir-yetersizliğine dayanıklılık gösterdi. İlginç olarak, *cpl1* mutantında yapılan mikroarray analizinde tüm farklı ifade edilen genlerin %37'sinin (toplam 65 gen) sülfür metabolizmasında görevli proteinleri kodlayan genlerden oluştuğu bulunmuştur. Gen set zenginleştirme analizi sonucunda, CPL1 tarafından kontrol edilen 65 sülfür metabolizması geninin bilinen sülfür mikroarray sonuçlarıyla çakıştığı bulunmuştur. Bu genlerden seçilmiş olanlarının demir-yetersizliği altındaki ifade seviyeleri kontrol bitkilerine oranla istatistiksel farklılıklar göstermiştir. Bu bulgular ışığında CPL1, sülfür metabolizmasını etkileyerek bitkilerin demir eksikliğine karşı tepkilerini kontrol edip, farklı metal metabolizmalarını düzenleyici görev üstlenir.

Anahtar Kelimeler: demir eksikliği, RNA metabolizması, sülfür metabolizması, bitki

An RNA Metabolism Regulator CPL1 Regulates Iron-Deficiency Responses by Affecting Sulfur Metabolism in Plants

Abstract

One of the essential micronutrients, iron is found highly in nature although it cannot be absorbed readily by roots due to its low solubility in calcareous soil with low acidity. Hence, agriculturally important crops grown on such soils, which cover the majority of Turkey, are exposed to constant iron-deficiency. Proper control of iron homeostasis in plants is an important physical issue for the protection of prosthetic iron-sulfur clusters that function as cofactors in crucial processes such as photosynthesis, respiration, sulfur and nitrogen metabolisms, plant hormone and coenzyme synthesis. For these reasons, proper function of sulfur metabolism is as vital as the balance of iron homeostasis. Coordinated operation of sulfur metabolism is especially important for the elimination of the side effects of iron-deficiency in plants. Up to date, control of iron metabolism by sulfur metabolism affected by RNA metabolism hasn't been studied. Recently, we discovered that the plants show iron-deficiency symptoms when RNA metabolism regulator CPL1 is mutated. Expression of *IRT1* and *FIT* increased in *cpl1* while mutant tolerated iron-deficiency. Interestingly, 37% of all differentially expressed genes (total of 65 genes) in *cpl1* microarray was related to sulfur metabolism. In gene set enrichment analyses, these sulfur metabolism genes regulated by CPL1 were found to overlap with known sulfur microarray results. The expression of selected genes among those 65 were significantly different than that of control plants under iron-deficiency. These findings suggest that CPL1 regulates iron-deficiency responses by affecting sulfur metabolism, and acts as a regulator of different metal metabolisms in plants.

Keywords: iron deficiency, RNA metabolism, sulfur metabolism, plant

Haşhaşda Sentezlenen Önemli Alkaloid Ürünlerinin Metabolik Mühendislik ve İşlevsel Genomik Yaklaşımlarıyla Manipülasyonu

Esmâ Özhüner¹, Tuğba Gürkök, Mine Türktaş, İskender Parmaksız, Turgay Ünver

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Çankırı

esma026@gmail.com

Özet

Haşhaş (*Papaver somniferum*) bitkisi özellikle narkotik morfin, öksürük kesici kodein ve kas gevşetici papaverin başta olmak üzere birçok çeşit benzilisoquinolin tipi alkaloid üretebilen bir bitkidir. Bu bitki, alkaloid biyosentez metabolizmasının araştırılması ve sekonder metabolit üretimi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada haşhaş bitkisinden izole edilen 4-OMT ve 7-OMT genleri işlevsel genomik yaklaşımı ile farklı dokularda (yaprak, gövde ve kapsül) susturulmuş ve aşırı ifade ettirilmiştir. Bu bağlamda, morfin senteziyle ilgili genlerin ifade düzeyi değişiklikleri mRNA ve protein düzeyinde ölçülmüştür. Ayrıca, susturma/aşırı ifade etme sonucu morfin, kodein, tebain ve papaverin gibi tıbbi değeri yüksek alkaloidlerin sentez miktarındaki artış veya azalışta tespit edilmiştir. Susturma ve aşırı ifade ettirme sonuçlarının gözlenmesinde qRT-PCR ile morfin sentezinde rol alan diğer genlerin mRNA düzeyleri, immuno-blotlama deneyleri ile morfin üretim yolunda rol alan diğer proteinlerin (SalAT, COR, CNMT, TYDC ve 6-OMT) ifade düzeyleri ve LC TOF/MS analizleriyle de morfin biyosentez yolağındaki ara ve son ürünlerin miktar analizleri yapılmıştır. Sonuçta, alkaloid sentezinde rol oynayan 4-OMT ve 7-OMT genleri işlevsel genomik, proteomik ve metabolik mühendisliği yaklaşımlarıyla morfin üretim mekanizmasındaki epistatik ve hipostatik etkileşen genler farklı dokularda tespit edilmiş ve alkaloid metabolizmasının regülasyonu hakkında önemli somut veriler kazanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: 4-OMT, 7-OMT, Gen susturulması ve aşırı ifade ettirilmesi, Metabolit Mühendisliği

Manipulation of Plant High Value Alkaloid Products via Metabolic Engineering and Genomics Approaches in Opium Poppy

Abstract

The opium poppy, *Papaver somniferum* L., produces several types of benzylisoquinoline alkaloids including the narcotic analgesic morphine, the cough suppressant codeine, the muscle relaxant papaverine, and the anti-microbial agents sanguinarine and berberine. To investigate the alkaloid biosynthesis mechanism and pathway the plant is frequently used. In this study, isolated from the poppy plant 4-OMT and 7-OMT genes were silenced and over expressed in different tissues (leaves, stems and capsules) via functional genomic approaches. In this context, the changes of expression levels of genes involved in the synthesis of morphine was measured in mRNA and protein level. Moreover, silencing and overexpression result were determined on the increase or decrease in the amount of medicinally important alkaloids such as codein, morphine, thebaine, and papaverine. The observed of silencing and overexpression result, mRNA levels of other genes taken a role in morphine synthesis, expression levels of other proteins taken role in the way morphine production and analysis amount of intermediate and final products morphine in the biosynthesis pathway were performed via qRT-PCR, immuno-blotting assays and LC TOF/MS analysis, respectively. Consequently, 4-OMT and 7-OMT genes play a role in alkaloid synthesis have been identified in different tissues epistatic and hypostatic interacting genes in morphine production mechanism and have been gained important data about regulation of alkaloid metabolism with functional genomics, proteomics and metabolic engineering approaches.

Keywords: 4-OMT, 7-OMT, Gene silencing and overexpression, Metabolic engineering

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 111O036 nolu proje ile desteklenmiştir.

Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi ile Zeytinin Pedisel Dokusunun Transkriptom Dizilemesi

Gülsüm Tanman Zıplar¹, Turgay Ünver¹, Mine Türktaş¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

gulsumziplar@gmail.com

Özet

Akdenizi simgeleyen bir kültür bitkisi olan zeytin (*Olea europaea* L.), ekonomik ve ekolojik olarak önemlidir. Pedisel dokusu meyve ile bağlantıyı sağlar, meyve gelişiminde ve fotosentez ürünlerinin taşınması ile birikiminde rol alır. Dokunun iletim kapasitesinin meyve büyüklüğünü etkilemesi, meyve dökümünün zamanında gerçekleşmesi ve hasat şeklinin zeytinde periyodesite olgusunu etkilemesinden dolayı pedisel dokusunun gelişimi önemlidir. Pedisel dokusunda gelişimsel farklılığın moleküler düzeyde anlayabilmek için Roche454 FLX+ yeni nesil dizileme tekniği ile transkriptom dizileme çalışması yapılmıştır. Çalışma kapsamında Ayvalık (*Olea europaea* L. cv. Ayvalık) çeşidine ait ham (Temmuz ayına ait) ve olgun (Kasım ayına ait) pedisel dokularından izole edilen total RNA'lar kullanılmıştır. Böylece farklı gelişim aşamalarında bulunan dokulardan transkriptom düzeyinde analizler yapılarak genomun fonksiyonel elementleri yorumlanmıştır. Sonuç olarak pedisel dokusunun gelişiminde etkin mRNA'lar belirlenmiş, meyve ile bitki arasındaki sinyal molekülleri ve görev aldığı yollar ortaya koyulmuş, absisyon ve doku yaşlanmasında görevli fonksiyonel elementler moleküler düzeyde incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Zeytin (*Olea europaea* L.), pedisel, meyve dökme, transkriptom, Roche 454 GS FLX+

Transcriptome sequencing via next-generation sequencing technology in olive pedicel tissue (*Olea europaea* cv. Ayvalık)

Abstract

Olive (*Olea europaea*) symbolizing the Mediterranean is economically and ecologically important cultivated plant. Pedicel tissue provides connection to the fruit, takes role in fruit development and accumulation and transportation of photosynthetic products. The development of the pedicel tissue is important because of transmission capacity of tissue affects the fruit size, for abscission to occur on convenient time and the harvest's shape affects the periyodesit cases in olive. In order to understand the developmental differences in pedicel tissue at the molecular level, transcriptome sequencing was carried out by using next generation sequencing technology Roche454 FLX+. In this study, total RNA isolated from immature (of July) and mature (of November) Ayvalık (*Olea europaea* L.cv. Ayvalık) pedicel tissues were sequenced. Thus, genome functional elements in different development stages of tissues were interpreted by analysis in transcriptome level. Eventually active mRNAs in development of pedicel tissue were determined, signaling molecules and pathways that plays role between the plant and fruit were produced, functional elements take place in abscission and tissue aging were investigated at the molecular level.

Keywords: Olive (*Olea europaea* L.), pedicel, abscission, transcriptome, Roche 454 GSFLX+

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından FF12035L20 nolu proje ile desteklenmiştir.

Yabani Zeytin (*Olea europaea* L. var *oleaster*) Bitkisi Genomunda MADS-Box Transkripsiyon Faktörü Ailesi Tanımlanması ve İfade analizi

Günseli Babaoğlu¹, Mine Türkteş¹, Turgay Ünver¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

g.babaoglu@gmail.com

Özet

Zeytin; yaprağında çeşitli antioksidanlar içeren, ekolojik açıdan zeytin ağaçları ekstrem iklim şartlarından sonra çok uzun ömürlü çölleşmeye karşı toprakları korumak ile görevli, yağa işlenmesiyle de insan sağlığına yararlı birçok etkisi olan, zeytinyağının oluşmasını sağlayan ekonomik açıdan önemli bir bitkidir. Türkiye'nin de içinde bulunduğu 30–45 derece enlemler arasında sınırlı bir alanda yetişmekte ve 40 ülkede ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılabilen bir bitkidir. İstihdam, katma değer artışı ve dış ticaret başta olmak üzere ulusal ekonomiye birçok katkısı bulunmaktadır. Transkripsiyon faktörleri (TF) içerdikleri bağlanma bölgeleri ile özel DNA dizilerini tanıyarak, DNA'ya bağlanırlar ve konformasyonel değişikliklere yol açarlar. Bu şekilde de organizmanın gelişimi, çoğalması, sinyal iletimi, stres cevabı gibi birçok biyolojik yolda rol oynayan genlerin ifadelerini düzenlerler. Daha önce yapılmış birçok çalışmada, bitkilerde MADS-Box TF genlerinin çiçek, meyve, yaprak ve kök gelişimini düzenlediği bildirilmiştir. Günümüze kadar ise deneysel olarak zeytine ait MADS-Box transkripsiyon faktörü karakterize edilmemiştir. Bu çalışmada zeytin bitkisinde yağ biyosentezi mekanizmasında rol oynayan MADS-Box TF'lerinin analiz edilmesi amacıyla zeytin doku örnekleri toplanmıştır. Öncelikle yabani zeytinde çeşitli biyoinformatik analizlerden yararlanılarak MADS-Box TF ailesinin bulunduğu genler belirlenmiştir. Bütün bu saptama çalışmalarıyla bulunan genlerden öncelikle yağ biyosentez mekanizması ile ilgili olanlar seçilerek yabani zeytin transkriptomu sonucuna göre farklı ifade edilmiş bazı genlerin zeytine ait farklı dokularda qRT-PCR tekniği kullanılarak ifade seviyeleri belirlenmiştir. Elde edilen verilerle zeytinde MADS-Box TF ailesinin yağ biyosentezi ile ilgili önemli rollerinin olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: MADS-Box, qRT-PCR, transkripsiyon faktörü, yabani zeytin

Genome-wide Identification and Expression Analysis of MADS-Box Transcription Factor Family in Wild Olive (*Olea europaea* L. var *oleaster*)

Abstract

Olive is an economically important crop since its beneficial effects on human health as oil. It includes variety of antioxidants in its leaves and. Its habitat is restricted to 30–45 degree parallels and it is grown in 40 countries including Turkey. Thus it has many contribution to national economy in different ways like employment, increase in added-value and export. Transcription factors (TF) recognise spesific DNA sequences via binding regions, bind to DNA and cause conformational changes. This changes lead to regulation of genes that play roles in various biological processes such as development, reproduction, signal transduction, response to stress. In previous studies states that MADS-Box TF genes regulate flower, fruit, leaf and root development. Up to date there has not been any characterization of MADS-Box TF in olive. In this study, tissue samples were collected in order to identify MADS-Box TF role in oil biosynthesis.

Firstly olive MADS-Box TF family genes were determined bioinformatically. After this step, among the genes that associated with oil biosynthesis mechanism were chosen and certain differentially expressed genes were validated via qRT-PCR technique. As a result, MADS-box TF family is involved in oil biosynthesis.

Keywords: MADS-box, qRT-PCR, transcription factor, wild olive

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından FF12035L19 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bitkilerde hücre çeperi mühendisliği yöntemiyle hücre duvarlarının yeniden dizayn edilmesi: pektin modifikasyonu

Halbay TURUMTAY¹

¹ Karadeniz Teknik Üniversitesi, Enerji Sistemleri Mühendisliği Bölümü, Trabzon

halbay.turumtay@gmail.com

Özet

Lignoselülozik biyokütleden biyoyakıt üretiminin, teknolojik olarak optimize edildiğinde hammaddece çok daha bol ve ucuz olması sebebiyle yakın gelecekte daha çok tercih edilmesi beklenmektedir. Biyoetanol, bitki hücrelerinin çeperinde büyük oranda birikmiş ve polimerleşmiş şekerler olan selüloz ve hemiselülozun fermentasyon ürünü olarak elde edilmekte ve benzine karıştırılarak araçlarda yakıt olarak da kullanılmaktadır. Ancak bitkilerin hücre çeperindeki farklı polimerlerin karmaşık ve sıkı etkileşimleri biyokütlenin enzimatik hidroliz (sakkarifikasyon) ile şekerlere dönüşme etkinliğini azaltmaktadır. Bu çalışmada, bitkilerdeki hücre çeperindeki pektini yapısını bozan enzimin Arabidopsis'te ekspresyonu ile elde edilen transgenik bitkilerde sakkarifikasyon etkinliğinin artırılarak, lignoselülozik kütleden biyoyakıt üretim maliyetinin düşürülmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Lignoselülozik biyokütle, Biyoyakıt, Hücre çeperi, Genetik Mühendisliği, Sakkarifikasyon

Modifying plant cell wall by cell wall engineering : focus on pectin modification

Abstract

The biofuel production from lignocellulosic biomass which will be optimized for the near future is expected to be more preferred since it is technologically much more abundant and uses cheap raw material. Bioethanol is produced from cellulose, which is largely accumulated and polymerized in the plant cell wall, and hemicellulose sugars obtained as products of fermentation, might be used as fuel additives. However, complex and tough interactions in different polymers of plant cell wall reduce enzymatic hydrolysis (saccharification) efficiency of biomass conversion to sugars. In this study, the enzyme that degrades the structure of the pectin in the plant cell wall in that is obtained by heterologous expression in Arabidopsis plants by increasing the efficiency of saccharification, it is aimed to reduce the production costs of biofuels from lignocellulosic mass.

Keywords: Lignocellulosic biomass, biofuel, cell wall, genetic engineering, saccharification

MIN6 Hücre Hatlarında G-Protein Kenetli Reseptörlerin Pankreatik Beta Hücre Fonksiyonunun Anlaşılmasındaki Rolü

Hasan Gencoglu¹, Peter M Jones²

¹ Firat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Elazığ

² Diabetes and Nutritional Sciences Division, , Guy's campus, King's College London UK

hgencoglu@firat.edu.tr

Özet

Polipeptid yapılı insülin hormonu, tüm vücudun enerji dengesi için gereklidir ve insülin salgı veya etkisinde oluşabilecek bozukluklar tip 1 ve tip 2 diyabet hastalığının gelişimiyle ilişkilidir. Beta hücrelerinin normal fonksiyonunun anlaşılması ve diyabet hastalığına neden olan beta hücre bozukluklarının tanımlanması yeni teröpatik yaklaşımları doğuracaktır. Pankreatik beta hücrelerinden salgılanan insülin salgısı hem metabolik yollar (glukoz, amino asit, esterlenmemiş yağ asitleri) hem de hücre dışı sinyaller (hormonlar, inkretinler, norotransmitterler ve bir çok küçük yapıli molekül) tarafından düzenlenmekte ve bu moleküller büyük oranda guanin kenetli protein reseptörlerinin etkisiyle hareket etmektedir.

Kings College London Diyabet Arastırma Grubuyla yapılan ana çalışmanın bir parçası olan bu çalışma ile yeni keşfedilen bazı G-protein kenetli reseptörlerden (GPCRs) GPR54,GPR56,GPR75 ve bazı diğer agonist ve reseptörlerin beta hücre fonksiyonunun düzenlenmesindeki rolleri belirlenerek diyabet hastalığının tedavisindeki potansiyelleri araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Beta Hücreler, GPCR, MIN6, Yalancı Adacık, Hücre Kültürü, Diyabet

The Role of the G-Protein Coupled Receptors In MIN6 Cell Monolayers to Assess Pancreatic B-Cell Function

Abstract

The polypeptide hormone insulin is essential for the maintenance of whole body fuel homeostasis, and defects in insulin secretion and/or action are associated with the development of Type 1 and Type 2 diabetes. Understanding normal β -cell function, and identifying the defects in β -cell function that lead to the development of diabetes, will generate new therapeutic targets. Insulin secretion from pancreatic β -cells is regulated by both metabolic pathways (glucose, amino acids, non-esterified fatty acids) and extracellular signals (hormones, incretins, non-esterified fatty acids, neurotransmitters and various small molecules) acting predominantly via G-Protein Coupled Receptors (GPCRs). The overarching aim of this project is assessing the role of the novel G-protein coupled receptors (GPCR), the GPR54,GPR56,GPR75 and also some other agonists and receptors in the regulation of β -cell function and assess whether these ligands and GPRs may have therapeutic potential for the treatment of diabetes.

Keywords: B-Cells, GPCR, MIN6, Pseudo Islets, Cell Culture, Diabetes

Nemrut Gölü Aktinobakteri Çeşitliliğinin 16S rRNA Gen Dizi Analizi ile Belirlenmesi

Hilal Ay¹, Salih Sarıcaoğlu², Ahmet Rıdvan Topkara¹, Kamil Işık¹

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Samsun

²Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, Kırşehir

hilal.ay@omu.edu.tr

Özet

Aktinobakteriler doğada yaygın olarak bulunan, ekonomik ve biyoteknolojik önemi olan mikroorganizma grubudur. Aktinobakterilerden izole edilen sekonder metabolitlerin birçoğu ilaç endüstrisinde ve tarımda kullanılmaktadır. Son yıllarda karasal aktinobakterilerden izole edilen biyokatalizörlerin ve sekonder metabolitlerin kullanımında ilerleme kaydedilmiştir. Ancak, araştırma ve geliştirme programları daha az çalışılmış habitatlardan yeni aktinobakteri suşlarının izolasyonuna odaklanmıştır. Yeni aktinobakteri türlerini izole etmeyi amaçladığımız bu çalışmada, Nemrut Gölü kıyısı sediment ve toprak örneklerinden seçici izolasyon yöntemiyle toplam 51 mikroorganizma elde edilmiştir. Renk gruplandırmasından sonra seçilen 25 izolat, 16S rRNA gen dizi analizi ile cins düzeyinde tanımlanmıştır. 16S rRNA gen dizi verilerinin EzTaxon server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim ve ark., 2012)'da yapılan analizine göre 25 izolat; *Jishengella* (1 izolat), *Saccharomonospora* (1 izolat), *Nocardia* (3 izolat), *Actinomadura* (6 izolat), *Streptomyces* (6 izolat) ve *Micromonospora* (8 izolat) cinslerinin üyelerini içermektedir. İzolatların en yakın tip türleri ile 16S rRNA gen dizi verilerine dayalı filogenetik analizi yapılarak neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) ve maximum likelihood (Felsenstein, 1981) yöntemlerine göre ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik analiz sonucu *Streptomyces* cinsine ait NRH12, NMTSC23 ve NMTC13; *Actinomadura* cinsine ait SPNT21, 31NTSP ve NTSP31; *Saccharomonospora* cinsine ait NB11 ve *Jishengella* cinsine ait NA12 izolatının yeni tür olma potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aktinobakteri, Nemrut Gölü, 16S rRNA

Determination of Actinobacteria Diversity of Nemrut Lake by 16S rRNA Gene Sequence Analysis

Abstract

Actinobacteria is a common group of microorganisms, which have economic and biotechnological importance. Most of secondary metabolites isolated from actinobacteria are used in pharmaceuticals and agriculture. The exploitation of biocatalysts and secondary metabolites from actinobacteria has improved in recent years. However, research and development programs have focused on isolation of novel actinobacteria strains from less studied habitats. In this study, aimed to isolate novel actinobacteria species, a total of 51 microorganisms were obtained from coastal sediment and soil samples of Nemrut Lake by using selective isolation method. After colour grouping, selected 25 isolates were identified by 16S rRNA gene sequence analysis at genus level. According to the analysis of 16S rRNA gene sequence data on EzTaxon server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim et al., 2012), the isolates were identified as members of the genera *Jishengella* (1 isolate), *Saccharomonospora* (1 isolate), *Nocardia* (3 isolates), *Actinomadura* (6 isolates), *Streptomyces* (6 isolates) and *Micromonospora* (8 isolates). Phylogenetic analysis of the isolates with the most closely related type species on the basis of 16S rRNA gene sequence data were applied to construct the trees based on neighbour-joining (Saitou and Nei, 1987) and maximum likelihood (Felsenstein, 1981) methods. According to phylogenetic analysis, it is considered that the isolates of NRH12, NMTSC23, NMTC13 (*Streptomyces* spp.); SPNT21, 31NTSP, NTSP31 (*Actinomadura* spp.); NB11 (*Saccharomonospora* sp.) and NA12 (*Jishengella* sp.) have high potential to be novel taxa.

Keywords: Actinobacteria, Nemrut Lake, 16S rRNA

Krater Göllerinden İzole Edilen *Nonomuraea* Türlerinin Filogenetik Analizi

Kamil Işık¹, Hilal Ay¹, Salih Sarıcaoğlu², Ahmet Rıdvan Topkara¹

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Samsun

²Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, Kırşehir

kamilis@omu.edu.tr

Özet

Mikrobiyal doğal ürünler, yeni terapötik ajanların geliştirilmesinde kullanılacak kimyasalların keşfi için önemli bir hedeftir. Biyolojik olarak aktif bileşiklerin büyük bir kısmı aktinobakterilerden elde edilmektedir. Daha düşük oranda izole edilebilen aktinobakterilere ait farklı cinsler, yeni metabolit kaynakları olarak araştırılmaktadır. Bu cinslerden biri olan *Nonomuraea* cinsinin bazı üyelerinin biyoaktif bileşikler üretebilme potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. Bu cinsin üyeleri toprak, kıyasal sediment, mağaralar ve bitkiler gibi çeşitli habitatlardan izole edilmektedir. *Nonomuraea* cinsine ait yeni türler izole etmek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, Meke Gölü ve Acıgöl'den seçici izolasyon yöntemi kullanılarak 187 aktinobakteri izole edilmiştir. Morfolojik özellikler dikkate alınarak yapılan renk gruplandırması sonucu seçilen 54 izolatın 16S rRNA gen dizi analizi yapılmış ve dokuz izolatın *Nonomuraea* cinsine ait olduğu belirlenmiştir. 16S rRNA gen dizi verilerinin EzTaxon server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim ve ark., 2012)'da analiz edilmesiyle *Nonomuraea* cinsine ait olduğu belirlenen dokuz izolatın yedisinin en yakın tip türüne dizi benzerliğinin %99'un altında olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların neighbour-joining (Saitou ve Nei, 1987) ve maximum likelihood (Felsenstein, 1981) yöntemlerine göre oluşturulan filogenetik ağaçlardaki pozisyonları dikkate alındığında, *Nonomuraea* cinsi için yeni tür(ler) olma potansiyelinin yüksek olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Nonomuraea*, Meke Gölü, Acıgöl, 16S rRNA

Phylogenetic Analysis of *Nonomuraea* spp. Isolated from Crater Lakes

Abstract

Microbial natural products are an important target for discovery of chemicals utilized in development of new therapeutic agents. Most of biologically active compounds have been obtained from actinobacteria. A variety of genera of less isolated actinobacteria have been investigated as sources of novel metabolites. Some members of the genus *Nonomuraea*, one of the less isolated actinomycete genera, are known to have potential to produce bioactive compounds. Members of this genus have been isolated a wide variety of habitats such as soil, coastal sediment, caves and plants. In this study, aimed to isolate novel species of *Nonomuraea*, a total of 187 actinobacteria isolated from Meke Lake and Acıgöl by using selective isolation method. Selected 54 isolates on the basis of morphological characteristics of colour groups were analysed for 16S rRNA gene sequence data and nine isolates were identified as members of *Nonomuraea*. By analysing 16S rRNA gene sequence data on EzTaxon server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim et al., 2012), seven isolates were found to have sequence similarity of <99% with the most closely related type species. Considering the positions of these isolates on phylogenetic trees constructed on the basis of neighbour-joining (Saitou and Nei, 1987) and maximum likelihood (Felsenstein, 1981) methods, the isolates have high potential to be novel species for the genus *Nonomuraea*.

Keywords: *Nonomuraea*, Meke Lake, Acıgöl, 16S rRNA

Aspergillus niger HBF201 Tarafından Üretilen Ekstrasellüler Fitazın Saflaştırılması ve Karakterizasyonu

Kubilay Metin, Sedef Soyal ve Nilay Ezgi Çakar

Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

kmetin@adu.edu.tr

Özet

Aspergillus niger HBF201 tarafından ekstrasellüler olarak üretilen fitaz enzimi amonyum sülfat çöktürmesi, fenil sepharoz CL-4B, DEAE sefaroz CL-6B ve sefakril 200HR kolon kromatografisi uygulayarak % 33 verimle, 71.2 kat saflaştırıldı. PAGE ve SDS-PAGE de iki fitaz bandı elde edildi ve moleküler ağırlığı FitA 130 ve FitB 60 kDA olarak hesaplandı. Maksimum enzim aktivitesi pH 3.5 ve 65 °C bulundu. Enzimin geniş bir sıcaklık ve pH aralığında stabil olduğu saptandı. Enzimin sodyum fitat için K_m değeri 1.16 mM, ve V_{max} değeri 270 U/mL olarak hesaplandı. Fitaz enziminin geniş bir substrat spesifikliğine sahip olduğu belirlendi. Fitaz aktivitesi Al^{3+} , Na^+ , K^+ , Co^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} ve Mn^{2+} katyonları tarafından artarken, Fe^{2+} ve Pb^{2+} katyonları tarafından inhibe oldu. EDTA enzim aktivitesini etkilemedi. Enzim NBS, PMSF, DTNB ve 2,3-bütandion tarafından inhibe edildi. Ancak enzim CMC, DTT ve β -merkaptotanol ile aktive oldu. Bu sonuçlar enzimin katalitik merkezinde triptofan, sistein, serin ve arjinin kalıntılarının önemli rol oynadığı ileri sürülebilir.

Anahtar sözcükler: *Aspergillus niger*, Fitaz, Karakterizasyon, Saflaştırma

Purification and Characterization of Extracellular Phytase Produced by *Aspergillus niger* HBF201

Abstract

Extracellular phytase produced by *Aspergillus niger* HBF 201 was purified 71.2 - fold with a recovery of 33% referred to the phytase activity in the crude extract using, ammonium sulphate precipitation, phenyl sepharose CL-4B, DEAE sepharose CL-6B and sephacryl 200HR. PAGE and SDS-PAGE showed two phytases bands. The molecular weights of the purified phytases were estimated to be PhyA 130 and PhyB 60 kDa by SDS-PAGE. The temperature and pH for maximum activity of the enzyme were 65 °C and 3.5, respectively. K_m and V_{max} values for sodium phytate of the enzyme were calculated to be 1.16 mM and 270 U/mL, respectively. The phytase exhibited broad substrate specificity. The phytase activity was stimulated by Al^{3+} , Na^+ , K^+ , Co^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} and Mn^{2+} cations inhibited by Fe^{2+} and Pb^{2+} cations. EDTA did not effect of the phytase activity. The enzyme activity was inhibited in the presence of NBS, PMSF, DTNB and 2,3-bütandion while CMC, DTT and β -mercaptoethanol, were activated. This result shows that tryptophan, cysteine, arginine and serine residues play an important role in the catalytic process.

Keywords: *Aspergillus niger*, Characterization, Purification, Phytase

İnsan Kaynaklı *Lactobacillus* Türlerinin 16S-ARDRA ve 16S-23S ISR Teknikleri ile Moleküler Tanımlanması

Kübra Hacıbeyoğlu ve Mehmet Öztürk

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bolu

khacibeyoglu@gmail.com

Özet

Probiyotiklerin popülaritesinin artması ile birlikte onların kaynağının ve etkili bir şekilde tanımlanmasının önemi de artmaktadır. *Lactobacillus* türleri, safra tuzu hidrolaz (BSH) enziminin kolesterol seviyesini düşürücü etkileri ve bazı sekonder metabolitleri oluşturmalarına bağlı olarak kolon kanseri ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde rutin bir şekilde probiyotik olarak kullanılmaktadır. *Lactobacillus* türlerinin insan sindirim sisteminde lokalize olması ile onların BSH enzim aktivitesine sahip olmaları arasında güçlü bir ilişki olduğundan dolayı *Lactobacillus* türlerinin BSH özellikleri probiyotik seçiminde önemli kriterlerden biri olmuştur. İnsan sindirim sisteminde ki *Lactobacillus* türleri safra tuzlarına direnç gösterdiklerinden dolayı probiyotik seçimleri için iyi bir kaynak oluşturmaktadır. *Lactobacillus* türleri birbirlerine çok yakın özellik göstermeleri nedeni ile onların tanımlanmaları ve ayırt edilmeleri büyük bir problemdir. Bu sebepten dolayı geçmişte birçok *Lactobacillus* türü yanlış tanımlanmıştır. Bu çalışmada; dört mevsim boyunca kadın ve erkek olmak üzere sağlıklı iki yetişkin bireyin gaita ve ağız boşluğundan alınan *Lactobacillus* türleri tanımlanmış ve *Lactobacillus* türlerinin sabit olup olmadığı araştırılmıştır. 16S-ARDRA ve türe özgü primerlerin kullanıldığı 16S-23S ara bölge tekniği ile kırk dört tane *Lactobacillus* türü başarılı bir şekilde tanımlanmıştır. Her iki bireyde, *Lb. paracasei*, *Lb. animalis*, *Lb. fermentum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei* ve *Lb. gasseri* türleri bulunmuştur. Sonuç olarak bu çalışma 16S -ARDRA ve 16S-23S ISR tekniklerinin probiyotik olarak kullanmak amacı ile insan sindirim sisteminden alınan *Lactobacillus* türlerini güvenilir ve hızlı bir şekilde tanımladığını göstermiştir. Bu çalışma ayrıca insan sindirim sisteminde bulunan *Lactobacillus* türlerinin dört mevsim boyunca sabit olmadığını ve beslenme alışkanlıklarına göre değiştiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, İnsan kaynaklı *Lactobacillus* türleri, 16S-ARDRA, 16S-23S ISR.

Molecular Identification of Human Originated *Lactobacillus* Species by 16S-ARDRA and 16S-23S ISR Techniques

Abstract

Probiotics are gaining popularity and therefore increasing the importance of their source and accurate speciation. *Lactobacillus* species are routinely used as probiotic strains mostly of clinical importance such as colon cancer and cardiovascular disease treatment with cholesterol-lowering effects and some secondary metabolite production of bile salt hydrolase enzyme (BSH). Since there is a strong relationship between colonization of *Lactobacillus* species in the human intestinal system and their BSH enzyme activity, BSH ability of the *Lactobacillus* is one of the important properties for probiotics selection. Since the *Lactobacillus* of the human intestinal system are resistant to bile salt, this system is a good source for probiotics selection. Identification and discrimination of *Lactobacillus* species is a big problem because of their close relatedness. Because of this reason many *Lactobacillus* species were misidentified in the past. In this work; *Lactobacillus* species are collected from the fecal samples and oral cavity of two healthy adults, male and female, during four seasons to identify probiotic bacteria and to detect whether the *Lactobacillus* species are constant or not. Forty four *Lactobacillus* (*Lb*) species were identified accurately by 16S ribosomal DNA restriction analysis (16S-ARDRA) and 16S-23S ISR species-specific primers. The strains detected in both subjects were identified as *Lb. paracasei*, *Lb. animalis*, *Lb. fermentum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei* and *Lb. gasseri*. The present work demonstrated that 16S-ARDRA and 16S-23S-ISR methods are a reliable and rapid method for the identification of *Lactobacillus* species from the human intestinal system for probiotic usage. This work also indicated that *Lactobacillus* species in the human intestinal system are not constant and change according to food habits during four seasons.

Key Words: Probiotics, Human originated *Lactobacillus* species, 16S-ARDRA, 16S-23S ISR.

Multi-Omic Stratejiler Yardımıyla Endometriyozis Hastalığı için Biyobelirteç Tayini

Medi Kori¹, Beste Çalınhoğlu^{1,2}, Kazım Yalçın Arga¹

¹ Marmara Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

² İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

Özet

Endometriyozis, genelde rahim iç tabakasındaki doku olan endometriyuma benzeyen dokunun, rahim dışında oluşması şeklinde tanımlanan; kronik, iyi huylu ve östrojen bağımlı, inflamatuvar bir hastalıktır. Kadınlarda ağrıya ve kısırlığa sebep olduğu düşünülür. Hastalığın kesin bir işareti ya da semptomu olmadığı için, tanı ve tedavi zor olmakta ve hastadan hastaya değişmektedir. Endometriyozisin kesin teşhisi cerrahi olarak yapılır, ultrason veya kan testleriyle takip edilir. Bu bağlamda, hastalıkla ilgili bulunacak biyobelirteçler önem taşımaktadır. Bu çalışmada, endometriyozis ile ilgili rapor edilmiş 3 transkriptom veri setinin istatistiksel analiziyle, her bir veri seti için gen ifadesi anlamlı düzeyde değişen genler saptandı. Hastalıklar ve biyolojik yollar arasındaki ilişkiyi haritalamak için zenginleştirme analizleri yapıldı. Daha sonra, anlamlı derecede farklılık gösteren genlerin etrafında protein-protein etkileşim ağı oluşturuldu. Oluşturulan protein-protein etkileşim ağının değişik metrikler kullanılarak topolojik analiziyle merkezi proteinler saptandı. Buna ek olarak, reporter metabolitler belirlendi ve biyolojik önemleri araştırıldı. Son olarak, tüm sonuçlar göz önünde bulundurularak, incelenen hastalıklar için aday biyobelirteçler ve/veya ilaç tasarımına yönelik önemli olabilecek genler, proteinler ve reporter metabolitler önerildi.

Anahtar Kelimeler: Endometriyozis, Sistem Biyolojisi, Biyobelirteç

Prediction of Biomarkers via Multi-Omics Strategies for Endometriosis

Abstract

Endometriosis is conventionally defined by presence of a tissue that is similar to uterine endometrial tissue in extra-uterine sites. It has described as an inflammatory disease which is chronic, benign and estrogen-dependent. It also causes pain and infertility in women. Due to the endometriosis disease haven't got any certain sign or symptoms, the diagnosis and treatment are difficult and depend on patient to patient. Endometriosis generally diagnosed by surgically and visualizes examinations such as ultrasound or blood tests. In this sense, biomarkers associated with endometriosis are significant issue. In this study, reported 3 transcriptomics datasets on endometriosis were analyzed statistically to identify differentially expressed genes (DEGs). Enrichment analyses were performed to map the interconnectivities between diseases and biological pathways. Later, protein-protein interaction networks around the DEG sets were reconstructed. Topological analyses of the reconstructed protein-protein interaction network with different topological metrics indicated the presence of the hub (central) proteins. Moreover, reporter metabolites were determined and enriched to report their biological importance. Finally, via discussion of the findings in overall, significant genes, proteins and metabolites which may be considered as a candidate biomarker and/or can be used for to design drug targets, for endometriosis were suggested under the light of different omic strategies as transcriptomics, proteomics and metabolomics.

Keywords: Endometriosis, Systems Biology, Biomarker

***Arabidopsis thaliana* Genomu Üzerinde LTR Retrotranspozonların Yerlerinin Belirlenmesi**

Mehmet Gezginci¹, Matej Lexa²

¹ Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Gaziantep

² Masaryk University Computer Science Department, Brno-Czech Republic

mehmetgezginci@gmail.com

Özet

Transpozonlar DNA üzerinde bulunan ve hareket halinde olan genetik elementlerdir. Bu elementler organizmanın hastalanmasına neden olabileceği gibi istenilen özelliklerin daha da çok salgılanmasını sağlayabilir. *Arabidopsis thaliana* yaygın yaşam alanına sahip, genomu küçük ve tek yıllık bir bitkidir. Bu özelliklerinden dolayı tüm genomunun genetik sekans yapılmıştır ve bu genetik sekansa internet aracılığı ile erişmek mümkündür. Bu çalışmanın amacı *Arabidopsis thaliana* bitkisi üzerinde bulunan LTR retrotranspozonların yerlerinin belirlenmesi ve görüntülenmesidir. Çalışma için *Arabidopsis thaliana*'ya ait olan genetik sekanslar ve bilinen transpozonlar internet kullanılarak indirilmiş, bunlar arasında eşleşme olup olunmadığını belirlemek için BLAST'lama işlemi gerçekleştirilmiştir. BLAST'lama sonucu elde edilen veriler, *Arabidopsis thaliana* üzerinde transpozonların varlığını göstermektedir. BLAST'lama sonuçları Sequel Pro programında oluşturulmuş veritabanına aktarılmıştır. Bu veritabanı kullanılarak Python programlama dilinde algoritma yazılmıştır. Elde edilen çıktı Integrative Genomics Viewer programına aktarılmıştır. Integrative Genomics Viewer sonuçları ile *Arabidopsis thaliana*'ya ait beş kromozom üzerinde de transpozonların olduğu görüntülenmiştir. Elde edilen görüntüler sağlıklı bir *Arabidopsis thaliana*'ya ait olduğu için bu görüntülerden yola çıkılarak, transpozon kaynaklı hastalıklar belirlenebilir, gereken tedavi yöntemleri de geliştirilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Arabidopsis thaliana*, Biyoinformatik, LTR Retrotranspozon, Python, Integrative Genomics Viewer

Finding and Visualization of LTR Retrotransposons in *Arabidopsis thaliana*

Abstract

Transposons are mobile genetics elemets found in DNA. These elements could contribute to cause diaseses or produce desired genes more. *Arabidopsis thaliana* has a widespread, small genome and it is an annual plant. Thanks to these properties scientists sequenced all genome of *A. thaliana*. It is easy to access the sequences via internet. In this study we aimed to find and visualize LTR retrotransposons in *A. thaliana*. For the study, all genome sequences belonging to *A. thaliana*, and known LTR retrotransposons downloaded using internet. To prove existence of transposons in *A. thaliana*, BLAST was done between the genome sequences and the LTR retrotransposons. Outputs of BLAST were transferred to database created in Sequel Pro application. Using the database algorithms was written in Python. Output of the algorithms was used in Integrative Genomics Viewer application to visualize retrotransposon in *A. thaliana*. As a result it was proven all chromosomes of *A. thaliana* had retrotransposons LTR. This information could allow scientists to develop new treatment techniques.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, Bioinformatics, LTR Retrotransposons, Python, Integrative Genomics Viewer

***Saccharomyces cerevisiae*'da Mig1 Transkripsiyon Represörü NTH1 Gen Ekspresyonunu Dolaylı Aktive Eder**

Mehmet Şerafeddin Solak¹, Tülay Turgut Genç², Sezai Türkel³

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çanakkale

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Çanakkale

³Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa

mssolak@comu.edu.tr

Özet

Trehaloz *S.cerevisiae*'da, depo karbonhidratı ve stres koruyucu olarak bulunmaktadır. Maya hücrelerinde trehaloz seviyesi trehalozun yıkımını ve sentezini içeren sürekli bir döngü ile sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. *S.cerevisiae*'da trehaloz biyosentezi, trehaloz sentaz enzim kompleksi (TPS) ile iki basamakta katalizlenirken trehalozun yıkımı *NTH1* geni tarafından kodlanan trehalaz enzimi ile gerçekleşmektedir. Trehalaz aktivitesi cAMP/PKA bağımlı yolk tarafından post-translasyonel seviyede düzenlenmektedir. Ayrıca transkripsiyon aktivatörleri ve represörleri içeren farklı sinyal yolları *NTH1* genini transkripsiyon seviyesinde düzenlemektedir. Çinko-parmak DNA bağlanma motifine sahip olan Mig1 glikoz baskılamasında görev alan bir transkripsiyon faktörüdür. SNF1 kinaz ve GLC7 fosforilaz enzimleri Mig1 proteininin hücresel lokalizasyonunu ve aktivitesini belirlemektedir. Çalışmamızda Mig1 represörünün *NTH1* geninin transkripsiyonu üzerine etkileri araştırıldı. Alternatif karbon kaynağında ve ısı stresinde, *S. cerevisiae* BY4741 suşunda *NTH1* geninin transkripsiyonu 2-3 kat artış gösterdi. Benzer şekilde azot açlığında *NTH1* gen ekspresyonu *S.cerevisiae* BY4741 suşunda 6 kat fazla bulundu. Fakat aynı şartlarda üretilen $\Delta mig1$ mutant hücrelerde *NTH1* gen ekspresyonunda değişim gözlenmedi. Bu durum stres koşullarında, *NTH1* geninin ekspresyonu için Mig1 proteininin aktivitesinin gerekli olduğunu göstermektedir. Ayrıca $\Delta mig1$ ve *S.cerevisiae* BY4741 suşlarında trehaloz ve glikojen seviyeleri belirlendi. $\Delta mig1$ suşunda trehaloz seviyesi yaban suşa göre 2 kat glikojen seviyesi ise 9 kat yüksek bulundu. Bu durum Mig1 proteininin trehalozun ve glikojenin yıkımı için gerekli olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak Mig1 transkripsiyon represörü nukleusta bir başka proteinle etkileşip bu proteini baskılayarak *NTH1* geninin ekspresyonunu dolaylı olarak etkilemektedir.

Anahtar Kelimeler: Trehalaz, *NTH1*, *MIG1*, *Saccharomyces cerevisiae*

Transcriptional Repressor, Mig1, Indirectly Activates the *NTH1* Gene Expression in *Saccharomyces cerevisiae*

Abstract

Trehalose is present in *Saccharomyces cerevisiae* as a storage carbohydrate and as a stress protectant. The regulation of trehalose level in yeast cell is strictly controlled by continuous recycling. The biosynthesis of trehalose is catalysed by a two step process including trehalose synthase enzyme complex (TPS) and degradation of trehalose catalyzed by neutral trehalase enzyme encoded by *NTH1* gene. Trehalase activity is regulated by cAMP/PKA dependent pathway at post-translational level. Different signaling pathways, including transcriptional activators and repressors, regulate the *NTH1* gene expression at the transcriptional level. Mig1 is zinc-finger DNA binding transcription factor that is involved in glucose repression. Activity of Mig1 is controlled by its nuclear localization which is determined by SNF1 kinase and GLC7 phosphatase. In our research, the effect of Mig1 transcriptional repressor on the regulation of *NTH1* gene expression was investigated. Our results indicated that the transcription of *NTH1* gene is activated 2-3 fold in alternative carbon sources and heat stress. Also in nitrogen starvation, expression of *NTH1* gene is increased 6-fold in BY471 strain of *S. cerevisiae*. But in $\Delta mig1$ mutant strain there is no activation of *NTH1* gene transcription in all three conditions. This indicates that Mig1 activity necessary for activation of *NTH1* gene expression under stress conditions. Furthermore, we have analyzed the trehalose and glycogen levels in the $\Delta mig1$ and BY4741 strains. The trehalose and glycogen levels in the $\Delta mig1$ strain is at least 2-fold and 9-fold higher than BY4741 strain, respectively. The breakdown of both trehalose and glycogen in $\Delta mig1$ mutant strain is diminished. Our results suggest that Mig 1 transcription repressor may interact another protein in the nucleus and mediates *NTH1* gene expression indirectly by repressing this protein.

Keywords: Trehalase, *NTH1*, *MIG1*, *Saccharomyces cerevisiae*

Alzheimer Tipi Demans Hastalarında Serum ve Eritrosit Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesinin Araştırılması ve Bu Enzimin Lökositlerde mRNA Ekspresyon Seviyesinin Belirlenmesi

Mesut Işık, Şükrü Beydemir

Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 25240-Erzurum

mesutisik16@gmail.com

Özet

İlk kez Alman bir psikiyatrist olan Alois Alzheimer tarafından 1906 yılında tanımlanan Alzheimer hastalığı, günlük yaşamsal aktivitelerde azalma ve bilişsel yeteneklerde bozulma ile karakterize olan nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalık ile iyi bir biyolojik kolerasyonu olan serum ve plazmadaki çoğu metabolit ve proteinlerin düzeyi kontrolden istatistiksel olarak farklı miktarlarda bulunur. Fakat bu markırların da bu hastalığın önceden teşhisi için biyomarkır olma noktasında eksik kaldığı bilinmektedir. Gelecekte, biyomarkırların kullanımı ile dejeneratif demansın erken tespiti için basit, girişimsel olmayan testlerin geliştirilmesi acilen gereklidir. Ancak, bugüne kadar, Alzheimer hastalığının erken tanısı için kullanılabilir hiçbir ekstraserebral tanı markırları (plazma/serum, trombositler, idrar, bağ dokusu) mevcut değildir. Bu hastalık ile birçok nörotransmitter sistem değişim göstermekle birlikte en çarpıcı olanı kolinerjik sistemde gözlenen değişimdir. Kolinerjik hipoteze göre, Alzheimer hastalığı asetilkolinesteraz gibi kolinerjik belirleyicilerin aktivitelerinin ve/veya miktarlarının azalmasıyla ilişkilidir. Asetilkolinesteraz, lenfositler de dahil olmak üzere insanların plazma ve kanlarında belirlenmiştir ve non-kolinerjik fonksiyona sahip olduğu da iyi bilinmektedir. Bu yüzden çalışmamızda Real Time-PCR ile Alzheimer tipi demanslı hastaların lökositlerinde biyomarkır olabileceği düşünülen asetilkolinesteraz geninin mRNA ekspresyon seviyesi ve bu enzimin aktivitesi belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, asetilkolinesteraz mRNA ekspresyon seviyesi sağlıklı ve Alzheimer hastalarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değiştiği bulunmuştur. Sonuç olarak, bu genin Alzheimer hastalarında hem periferik hem de beyin dejeneratif değişiklikleri arasında dinamik bir denge içinde bir markır olabileceğini ve basit bir kan testi ile yararlı ve 'Girişimsel olmayan' tanısal markır olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Biyomarkır, Gen ekspresyonu, Alzheimer, Asetilkolinesteraz

The Investigation Activities of Serum and Erythrocyte Acetylcholinesterase Enzyme in Alzheimer Type Dementia and Determination of mRNA Expression Level of this Enzyme in Leukocytes

Abstract

Alzheimer disease, first described by a German pschyiatriist Alois Alzheimer in 1906 is a neuro-degenerative disease which is characterized by a decrease in daily life activities and corruption in cognitive abilities. Most proteins or metabolites evaluated in plasma or serum thus far are, at best, biological correlates of this disease: levels are statistically different in Alzheimer versus controls, but they lack sensitivity or specificity for diagnosis or for tracking response to therapy. In the future, non-invasive tests for an early detection of degenerative dementia by use of biomarkers are urgently required. However, up to the present, no validated extracerebral diagnostic markers for the early diagnosis of Alzheimer disease are available. Among several neurotransmitter systmes in which Alzheimer disease cause changes, the most striking one takes place in the cholinergic system. According to the cholinergic hypothesis, Alzheimer's disease is associated with a change in activity and/or amounts of cholinergic determinants such as acetylcholinesterase Acetylcholinesterase is well known as having noncholinergic functions and has been detected in the blood and plasma of humans including in lymphocytes. Thus, we have determined acetylcholinesterase activity and the mRNA expression level of acetylcholinesterase gene in leukocytes of Alzheimer type dementia with Real Time-PCR. Study results, A statistically significant difference in acetylcholinesterase mRNA expression level was found between group Alzheimer disease and control group. Consequently, We believe that this gene represents an indicator in a dynamic equilibrium between both peripheral and brain degenerative changes in Alzheimer and may become a useful 'non-invasive' diagnostic marker via a simple blood test.

Keywords: Biomarker, Gene expression, Alzheimer, Acetylcholinesterase

Moleküler sitogenetik metotlar ile *Dactylis L.* genomlarının analizi

Metin Tuna¹, Hüseyin Keleş¹, Gülsemin Savaş Tuna², İlker Nizam¹, Eyup E. Teykin¹ ve Gülru Yücel¹

¹Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Tekirdağ

²Ebru Nayim Fen Lisesi, Tekirdağ

metintuna66@yahoo.com

Özet

Dactylis L. çok sayıda alt türü (yaklaşık 20) içeren tek tür den oluşan bir cinstir. Cinsin üyesi olan *Dactylis glomerata L.* (orchardgrass veya cooksfood) *Lolium* ve *Festuca*'nın ardından en önemli buğdaygil yem bitkilerinden birisidir. Bununla birlikte bu gün *Dactylis glomerata* genomu ve cins içerisinde bulunan diğer alt türler ile ilişkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu güne kadar *Dactylis glomerata L.* üzerinde yapılmış olan sitogenetik çalışmalar sadece mitotik kromozom sayımı ve klasik yöntemler ile yapılmış bir kaç karyotip çalışmasından ibarettir. *Dactylis* kromozomlarının morfolojik olarak bir birlerine çok benzemesi klasik yöntemler ile elde edilmiş olan bu karyotiplerin genom analizlerinde kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu çalışmanın amacı flow sitometri ve florasan in situ hibridizasyon (FISH) gibi yeni moleküler sitogenetik teknikleri kullanarak *Dactylis* taksonlarını ilk defa karakterize etmektir. Çalışma için gen bankalarında bulunan tüm *Dactylis* alt türlerini (yaklaşık 20) kapsayan ve 120 aksesiyondan oluşan bir genetik materyal koleksiyonu oluşturulmuş ve analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında yapılan flow analizi sonuçlarına göre *Dactylis L.* Cinsine ait aksesyonların ortalama çekirdek DNA içeriklerinin 3.90 ile 9.64 pg/2C arasında değiştiği saptanmıştır. Flow sitometrik analiz sonuçları kromozom sayısı ile ilişkilendirilmiş ve aksesyonların bu güne kadar bilinmeyen ploidy düzeyleri belirlenmiştir. Buna ilave olarak yapılan bu çalışmada ilk defa *Dactylis* kromozomlarının içerdiği yüksek derecede tekrarlanan DNA bölgeleri C-Banding ve florasan in situ hibridizasyon yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sitogenetik, *Dactylis*, Flow Sitometri, Florasan in situ hybridization, Çekirdek DNA içeriği,

Analysis of *Dactylis L.* Genomes by using flow cytometer and fluorescent in situ hybridization

Abstract

Dactylis L. is a monospecific genus including approximately 20 subspecies. Although, *Dactylis glomerata L.* (orchardgrass or cooksfood) is the most important third forage grass, we do not know much about its genome structure and relation to other subspecies included in the genus *Dactylis*. Previous cytogenetic studies of the genus are limited to chromosome counts and construction of karyotypes on the basis of classical methods such as feulgen or acetocarmine staining. Morphological similarities of the *Dactylis* chromosomes limits the usage of those karyotypes to study genome relations within the genus. The objective of this study was to characterize *Dactylis* taxons for the first time by using new molecular cytogenetic techniques such as flow sitometri ve fluorescent in situ hibridizasyon (FISH). A *Dactylis* genetic resource collection including almost all subspecies (20 subspecies and 120 accessions) was established by requesting from gene banks and analysed in the study. Based on the results of flow cytometric analysis, nuclear DNA content of the *Dactylis* accessions varied between 3.90 and 9.64 pg/2C. Previously unknow ploidy levels of the accessions were determined by correlating nuclear DNA content of the accession with their chromosome numbers by counting chromosome number of a few plants. In addition, distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of *Dactylis* taxons were studied using C-banding and fluorescent in situ hybridization analysis with 45S and 5S rDNAs as probes.

Key words: Cytogenetic, *Dactylis*, Flow cytometer, FISH, Nuclear DNA content

Bu çalışma Tübitağın 111O654 nolu projesi ile desteklenmiştir.

Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi İle Zeytin Genomunun Analizi

Mine Türktas, Turgay Ünver, Gülsüm Zıplar, Tuğba Gürkök

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

mineturktas@gmail.com

Özet

Oleaceae familyasının bir üyesi ve Akdeniz bölgesinin karakteristik ağaçlarından olan zeytin (*Olea europaea* L.), ekonomik ve ekolojik bakımdan büyük öneme sahip bir kültür bitkisidir. Son yıllarda moleküler biyolojide kullanılan tekniklerin gelişmesi ile birlikte, birçok alanda olduğu gibi, bitki bilimi ve tarımsal alanda yürütülen çalışmalar da yeni bir boyut kazanmıştır. Zeytinin yüksek ekonomik değerine karşın, genom dizisi halen belirlenmemiştir ve literatürde zeytin genomuna ait az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmada, yeni nesil dizileme metodu kullanılarak tüm zeytin genomu dizilenmiştir. Elde edilen genomik veriler, birçok farklı biyoinformatik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında, Ayvalık zeytin çeşidinin DNA içeriği akış sitometresi ile ölçülerek, yaklaşık genom boyutu yaklaşık 1,4 Gb olarak tespit edilmiştir. Genom dizilemesi için Roche 454 FLX+ yeni nesil dizileme sistemi kullanılarak, 5X derinliğinde genom dizi bilgisi elde edilmiştir. Transpozon elementlerinin tespiti için farklı veri bankaları taranmış ve bilinen elementlerin yanı sıra *de novo* analizler ile de zeytine özgü transpozonlar belirlenmiştir. Gen içeriğinin aydınlatılması amacıyla BLAST analizleri yapılmıştır. Genomdaki yapısal düzenlemelerin belirlenebilmesi için zeytin genomu dizileri bilinen farklı bitki genomlarına haritalanmıştır. Bu çalışmalar ile zeytin genomuna ait yapısal özelliklerin yanı sıra, zeytinde bulunan genler ve diğer fonksiyonel elementler tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik, Genomik, Yeni Nesil Dizileme, Zeytin

Abstract

Being a member of *Oleaceae* family and characteristic tree of Mediterranean region, olive (*Olea europaea* L.) is an economically and ecologically important domesticated plant. With the development of techniques used in molecular biology in recent years, as in many fields, studies conducted in plant science and agricultural fields has gained a new dimension. Despite its high economic value, genome sequence of the olive is still not determined, and there are few olive genome studies in the literature. In this study, whole genome of olive has been sequenced. The obtained data has been analyzed using several bioinformatics tools. Using flow cytometry, DNA content of olive Ayvalık cv. was measured as approximately 1.4 Gb. Roche 454 FLX+ system was used for sequencing and 5x depth olive genome sequence was achieved. To identify transposable elements, sequences from different databanks were screened, and known elements as well as olive specific transposons with *de novo* assay were determined. In order to identify gene content, BLAST analyses were performed. To determine the structural arrangements in the genome, olive sequences has been mapped to different plant genomes. In this study, as well as the structural properties of the olive genome, olive genes and other functional elements are identified.

Keywords: Bioinformatics, Genomics, Next Generation Sequencing, Olive

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 112O502 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Chlamydomonas reinhardtii'nin Değişen Besi Koşullarına Tepkisinde Vakuollerin Rolü

Munevver Aksoy¹ and Arthur R. Grossman¹

¹Carnegie Institution for Science, Department of Plant Biology, Stanford, CA, USA 94305

maksoy@carnegiescience.edu

munaksoy@gmail.com

Özet

Sulfur (S) birçok biyomolekulde bulunan essential bir makro elementtir. Sulfat (SO_4^{2-}) iyonu sulfurun en okside olmuş ve doğada en yaygın formudur. Hayvanlar sulfatı redukte edip kullanamazken, fotosentetik organizmlar redukte edip organik moleküllerin yapısına katabilirler. Sulfat doğada çok yaygın olmasına rağmen toprak partiküllerine bağlanabilir ve bitki ve mikro organizmalar tarafından alınamayabilir. Biz *Chlamydomonas reinhardtii*'nin (bundan sonra *Chlamydomonas*) sulfat eksikliğine aklimasyonu üzerine çalışmaktayız. S eksikliğinde kültür edilen *Chlamydomonas*, hücre içi ve dışı kaynaklardan S alınmasında artış gösterir ve büyüme hızında ve fotosentetik aktivitesinde düşüş gösterir. Bu aklimasyon prosesinde ilgili olan faktörlerden bazılarının identifikasyonunu yapmış bulunuyoruz. Bu bulgulara göre S aklimasyon mekanizmasında iki basamaklı bir transkripsiyonel mekanizma vardır; İlk basamaktaki genlerin transkripsiyonu *de novo* protein sentezi gerektirmezken ikinci basamaktaki genlerin transkripsiyonu için *de novo* protein sentezi gerekmektedir. Yakın zamanda vakuoler transport chaperon (VTC) kompleks subunitlerinin *Chlamydomonas*'in S aklimasyonu için gerekli olduğunu bulduk; *VTC1* and *VTC4* genlerinde mutasyona uğrayan hücreler, hücre dışı salgılanan arylsulfataz enzim düzeyinde anormallik göstermektedir ve sulfur, azot ve fosfat eksikliği altında wild-type hücrelerden daha cabuk bir zamanda olmaktadır. İlginç olarak, *Chlamydomonas vtc1* mutanti sulfur eksikliği altında vakuol oluşturmamakta ve polyfosfat akümülayonu yapamamaktadır. Ayrıca, bu mutant S-aklimasyonu ile ilgili hücre dışı enzimlerin periplazmik bölüğe salgılanmasında anormallik göstermektedir. Şu anda, makronutrient eksikliği altında, polyfosfat metabolizması, VTC kompleksi ve vakuol formasyonu arasındaki ilişkileri çözmek için çalışmaktayız.

The Role of Vacuoles in Responses of *Chlamydomonas reinhardtii* to Changing Nutrient Conditions

Abstract

Sulfur (S) is an essential macro element that is found in many biological molecules. Sulfate (SO_4^{2-}) is the most oxidized and abundant S compound in the nature. While animals are incapable of reducing and assimilating SO_4^{2-} , it can be taken up by photosynthetic organisms, reduced and incorporated into organic compounds. However, even when abundant in the environment, SO_4^{2-} can be bound to soil particles where it is not readily accessible to plants and microbes. We have been studying the acclimation of *Chlamydomonas reinhardtii* (*Chlamydomonas* throughout) to S deficiency. S-deprived *Chlamydomonas* exhibits elevated scavenging of S from both external and internal sources as well as decreased growth and photosynthetic activity. We have identified several factors that are involved in the S acclimation process. There appears to be a two tiered transcriptional response to S deprivation; activation of first tier genes does not require *de novo* protein synthesis, whereas activation of second tier genes requires *de novo* protein synthesis. Recently, we discovered that the protein subunits of the putative vacuolar transporter chaperone (VTC) complex (composed of VTC1-4) are essential for acclimation of *Chlamydomonas* to S deprivation; cells mutated for the *VTC1* and *VTC4* genes do not accumulate extracellular arylsulfatase during S deprivation and die more rapidly than wild-type cells during S, phosphorous (P) and nitrogen (N) deficiency. Interestingly, the *Chlamydomonas vtc1* mutant fails to form the large vacuoles (acidocalcisomes) associated with S deficiency and therefore does not accumulate polyphosphate (which accumulates in those vacuoles). Furthermore, this mutant is defective in targeting the S-deprivation-responsive periplasmic proteins (including the arylsulfatase) to the periplasmic space. Presently, we are attempting to elucidate potential links between polyphosphate metabolism, the VTC complex and vacuole formation, and the responses of *Chlamydomonas* to macronutrient deprivation.

Acı Kavun (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) Meyve Özsuyunun Kolzada (*Brassica napus* L.) *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Aktarımı Üzerine Etkisi

Mustafa YILDIZ¹, Murat AYCAN², Mustafa KAYAN², Deniz Köm³, Semra MİRİCİ⁴

¹Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü 06110 Dışkapı / Ankara

²Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı 06110 Dışkapı / Ankara

³Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü 06100 Tandoğan / Ankara

⁴Gazi Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Bölümü Beşevler / Ankara

Özet

Araştırma, acı kavun (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) meyve özsuyunun kolzada (*Brassica napus* L.) *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada, 'Elvis' çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Gen aktarım çalışmalarında, kanamisinine dayanıklılığı belirleyen *npt-II* ve raportör GUS genlerini bulunduran 'pBin 19' plazmidini içeren *Agrobacterium tumefaciens*'in GV2260 hattı kullanılmıştır. Bakteri büyüme ve inokülasyon ortamlarına farklı dozlarda (0-kontrol, 200, 400, 800 ve 1600 µl/L) acı kavun meyve özsuyu eklenmiştir. Gen aktarımında tohumlar kullanılmıştır. Tohumlar steril edildikten sonra, 500 µl bakteri solüsyonu içeren 50 ml steril saf su içerisine konulmuş ve inokülasyon için 28°C'de 72 saat boyunca çalkalayıcıya (180 rpm) yerleştirilmiştir. İnokule edilen tohumlar, çimlendirmek için Magenta kaplarında, 50 mg/L kanamisin ve 500 mg/L duocid içeren MS besin ortamına ekilmiştir. Aday transgenik bitkiler üzerinde yapılan moleküler analizler, bakteri büyüme ve inokülasyon ortamına eklenen acı kavun meyve özsuyunun gen aktarım frekansını önemli derecede artırdığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler : Acı kavun meyve özsuyu, *Agrobacterium tumefaciens*, gen aktarımı, kolza

Not: Bu araştırma, TÜBİTAK tarafından 113O280 numara ile desteklenen proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

The Effect of Squirting Cucumber (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) Fruit Juice on *Agrobacterium tumefaciens* – Mediated Gene Transfer In Rapeseed (*Brassica napus* L.)

Abstract

This research was conducted to investigate the effect of squirting cucumber (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) fruit juice on *Agrobacterium tumefaciens* – mediated gene transfer in rapeseed (*Brassica napus* L.). In the study, seeds of cv. 'Elvis' were used. GV2260 line of *Agrobacterium tumefaciens* having 'pBIN 19' plasmid containing *npt-II* determining kanamycin resistance and GUS reporter genes were used in transformation studies. Different squirting cucumber fruit juice doses (0-control, 200, 400, 800 ve 1600 µl/L) were added to bacteria growth and inoculation mediums. Seeds were used in gene transfer. After sterilization, seeds were imbibed in 50 ml steril water containing 500 µl bacterial solution and they were placed in a rotary shaker (180 rpm) for 72 hours at 28°C for inoculation. Inoculated seeds were sown in MS medium containing 50 mg/l kanamycin and 500 mg/l duocid in Magenta vessels. Molecular analysis performed on candidate transgenic plants showed that squirting cucumber fruit juice added to bacterial growth and inoculation mediums increased gene transformation frequency significantly.

Key Words: Squirting cucumber fruit juice, *Agrobacterium tumefaciens*, gene transfer, rapeseed

Acı Kavun (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) Meyve Özsuyunun Patateste (*Solanum tuberosum* L.) *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Gen Aktarımı Üzerine Etkisi

Mustafa KAYAN¹, Murat AYCAN¹, Deniz Köm², Mustafa YILDIZ³, Sancar Fatih ÖZCAN⁴

¹Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı 06110

Dışkapı / Ankara

²Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü 06100 Tandoğan / Ankara

³Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü 06110 Dışkapı / Ankara

⁴Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yenimahalle / Ankara

Özet

Bu çalışma, acı kavun (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) meyve özsuyunun patateste (*Solanum tuberosum* L.) *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada, 'Marabel' çeşidine ait fideler kullanılmıştır. Gen aktarımı çalışmalarında, kanamisinine dayanıklılığı belirleyen *npt-II* ve raportör GUS genlerini bulunduran 'pBin 19' plazmidini içeren *Agrobacterium tumefaciens*'in GV2260 hattı kullanılmıştır. Bakteri büyüme ve inokülasyon ortamlarına farklı dozlarda (0-kontrol, 200, 400, 800 ve 1600 µl/L) acı kavun meyve özsuyu eklenmiştir. Gen aktarımında koltuk altı mersitem bölgelerini içeren gövde eksplantları kullanılmıştır. Eksplantlar, 500 µl bakteri solüsyonu içeren 50 ml steril saf su içerisine konulmuş ve inokülasyon için 28°C'de 3 saat boyunca çalkalayıcıya (180 rpm) yerleştirilmiştir. Seleksiyon ortamına ise 50 mg/l kanamisin ve 500 mg/l duocid ilave edilmiştir. Aday transgenik bitkiler üzerinde yapılan moleküler analizler, bakteri büyüme ve inokülasyon ortamına eklenen acı kavun meyve özsuyunun gen aktarım frekansını önemli derecede artırdığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Acı kavun meyve özsuyu, *Agrobacterium tumefaciens*, gen aktarımı, patates

Not: Bu araştırma, TÜBİTAK tarafından 113O280 numara ile desteklenen proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

The Effect of Squirting Cucumber (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) Fruit Juice on *Agrobacterium tumefaciens* – Mediated Gene Transfer In Potato (*Solanum tuberosum* L.)

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of squirting cucumber (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) fruit juice on *Agrobacterium tumefaciens* – mediated gene transfer in potato (*Solanum tuberosum* L.). In the study, seedlings of cv. 'Marabel' were used. GV2260 line of *Agrobacterium tumefaciens* having 'pBIN 19' plasmid containing *npt-II* determining kanamycin resistance and GUS reporter genes were used in transformation studies. Different squirting cucumber fruit juice doses (0-control, 200, 400, 800 ve 1600 µl/L) were added to bacteria growth and inoculation mediums. Stem explants having axillary meristems were used in gene transfer. Explants were imbibed in 50 ml steril water containing 500 µl bacterial solution and they were placed in a rotary shaker (180 rpm) for 3 hours at 28°C for inoculation. 50 mg/l kanamycin and 500 mg/l duocid were added in selection medium. Molecular analysis performed on candidate transgenic plants showed that squirting cucumber fruit juice added to bacterial growth and inoculation mediums increased gene transformation frequency significantly.

Key Words: Squirting cucumber fruit juice, *Agrobacterium tumefaciens*, gene transfer, potato

Arpa (*Hordeum vulgare* L.)’de *SIRE1* Retrotranspozonları

Nermin Gözükırmızı, Buket Çakmak ve Sevgi Maraklı

İstanbul Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34118, Vezneciler-İstanbul, Türkiye

nermin@istanbul.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, soya bitkisinde tanımlanmış olan *SIRE1* retrotranspozonunun hareketi IRAP yöntemi ile arpa bitkisinde araştırıldı. Çalışmada, 4 adet olgun embriyo DNA’sı ve aynı fideye ait 4’er kök ve yaprak DNA’sı kullanıldı. IRAP analizi sonucu olgun embriyo, kök ve yaprak DNA’larında polimorfik bantlar gözlemlendi. Polimorfizm oranları embriyolar arasında %0-27, kökler arasında %8-60 ve yaprakların arasında %11-50 olarak tespit edildi. Ayrıca, retrotranspozonların yaşam döngüsünde önemli yere sahip olan *gag*, *env*, *rt* domenleri de *SIRE1* retrotranspozonunun *gag*, *env*, *rt* domenlerine özgü primerler ile çoğaltıldı. *SIRE1 gag*, *env*, *rt* domenlerine ait PCR ürünlerine dizi analizi yapıldı. Veriler gen bankasına sunularak aksesyon numarası alındı ve ClustalW2 analizi ile arpa bitkisindeki diğer transpozonlar ve diğer bitkilerde tanımlanmış *SIRE1* retrotranspozonları ile karşılaştırılarak MEGA6 sistemi ile filogenetik ağaçlar oluşturuldu. *SIRE1* retrotranspozonunun, evolüsyonun erken evrelerinde arpa genomuna girmiş olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Hordeum vulgare* L., Polimorfizm, Retrotranspozon, *SIRE1*

SIRE1 Retrotransposons in Barley (*Hordeum vulgare* L.)

Abstract

In this study, the movement of *SIRE1* which is first described in soybean plants was investigated by IRAP method in barley plants. Four mature embryo DNA, and four seedling roots and leaves DNAs derived from the same seedling were used. As a result of IRAP the analysis of mature embryos, leaves and roots, polymorphic DNA bands were observed. Polymorphism rates were determined as 0-27 % in between embryos, 8-60 % in between roots and 11-50 % in between leaves. In addition, *gag*, *env*, *rt* which has an important place in the life cycle of retrotransposons, were amplified by *SIRE1 gag*, *env*, *rt* domains specific primers. Sequence analyses were performed on *SIRE1 gag*, *env*, *rt* domains of the PCR products. Data submitted to the gene bank, accessions No.s were taken and sequences were compared using ClustalW2 analysis with the other transposons in barley and other plant *SIRE1* retrotransposons, phylogenetic trees was created with MEGA6 system. It was concluded that *SIRE1* retrotransposons might be entry in the early stages of genome evolution in barley.

Keywords: Polymorphism, Retrotransposon, *Hordeum vulgare* L., *SIRE1*

***Hypericum perforatum* L. (Sarı Kantaron) Bitkisinin Doku Kültüründe Mikro Üretimi**

Musa Türker¹, Neşe ERAY²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Van

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Van

neseeray@yyu.edu.tr

Özet

Sarı kantaron adıyla tanınan *Hypericum perforatum* antiviral, antibiyotik, antikanser ve antidepresan etkileri olan bir dizi kimyasala sahip tıbbi bir bitkidir. Hafif ve orta şiddette depresyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmada bitkinin tohumları steril edildikten sonra hormonsuz MS (Murashige and Skoog) ortamında, laboratuvar şartlarında çimlenmek üzere inkübasyona bırakılmıştır. Bir aylık fidelerden alınan eksplantlar, farklı hormon uygulamalarına maruz bırakılmıştır. 4 mg/L BA (6-Benziladenin) içeren MS ortamında gövde ucu ve gövde eksplanları inkübe edilmiş, ortama alınan eksplantlarda çoklu sürgün gelişimi gözlemlenmiştir. 1 mg/L BA ve 1 mg/L 2,4-D (2,4- Diklorofenoksiasetik asit) içeren MS ortamında kök, gövde, gövde ucu eksplantlarının karanlıkta inkübasyonu sağlanmış ve bu ortamda kök eksplantlarında değişiklik olmazken, gövde ve gövde ucu eksplantlarından kallus oluşumu gerçekleşmiştir. Kalluslar çok küçük, kahve ya da açık kahve renkli gevrek yapıda meydana gelmişlerdir. 2 mg/L 2,4-D, 1mg/L BA, 1 mg/Lt NAA (1-Naftelen Asetik Asit) içeren MS ortamlarına hipokotil ve kotiledon eksplantları ekilmiştir. Bu ortamlarda hipokotil eksplantlarının uç kısımlarında kallus oluşmuş ve kemik benzeri bir yapı ortaya çıkmıştır. Kotiledon eksplantlarından çok az bir kısmı sürgün geliştirmiş, diğerlerinde bir değişiklik olmamıştır. 1 mg/L BA ve 2 mg/L NAA içeren ortamlara yaprak eksplantlarının ekimi gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamada yaprak eksplantlarından çoklu sürgünler gelişmiştir. Eksplant başına ortalama 32±2 sürgün gelişimi gerçekleşmiştir. Bu sürgünler steril olarak tek tek kesilmiş hormonsuz MS ortamında inkübasyon sonrası 15 gün içinde kök oluşumu gerçekleştirilmiştir. Bu sayede tek bir yaprak eksplantından onlarca bitki rejenere edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Doku Kültürü, *Hypericum perforatum*, Mikroçoğaltım

Micropropagation of *Hypericum perforatum* in Plant Tissue Culture

Abstract

Known as St. John's Wort, *Hypericum perforatum* L. is a medicinal plant and has effects antiviral, antibiotic, anticancer and antidepressant with a series of chemical. The Plant are generally used for treatment of mild to moderate depression. In this study, the sterilized seeds were incubated for germination under laboratory conditions. Explants, taken from a month seedlings were exposed to different hormone implementations. Shoot and shoot tip explants were incubated on MS (Murashige and Skoog) containing 4mg/L BA(6-Benzylaminopurine) and the development of multiple shoots in the explants taken the medium was observed. Root, shoot, shoot tip explants were incubated on MS medium containing 1 mg/L BA and 1 mg/L 2,4-D (2 4-dichlorophenoxyacetic acid) in darkness. In this medium, while there was no change in root explants, callus formation from shoot and shoot tip explants occurred. Calluses were very small, coffee or light brown color with crunchy structure. Hypocotyl and cotyledon explants were cultivated on MS medium containing 2mg/L 2,4-D, 1mg/L BA, 1 mg/Lt NAA (1-Naphthaleneacetic acid) . In this medium hypocotyl explants formed callus in explants ends and appeared like bone . A very small part of cotyledons have developed shoots, there wasn't a change in the others. Leaf explants incubated on MS medium containing 1 mg / L BA ve 2 mg / L NAA. With this practice, leaf explants developed multiple shoots. The average numbers of shoots per explant was determined as 32±2. Growing shoots was incubated hormone-free MS medium for rooting. Root formation occurred in 15 days. In this way dozens of plants have been regenerated from a single leaf explants.

Keywords: *Hypericum perforatum*, Micropropagation, Tissue Culture

Karadeniz'in Farklı Derinliklerinden Alınan Sedimentlerden İzole Edilen İki Yeni *Micromonospora* Türünün Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması

Aysel Veyisoğlu¹, Nevzat Şahin²

¹Sinop Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Sinop

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun

nsahin@omu.edu.tr

Özet

Bu çalışmanın amacı, Karadeniz sedimentinden nistatin, rifamisin ve deniz suyu ilaveli SM3 agardan izole edilen S1510 ve S2508B *Micromonospora* izolatlarını moleküler yöntemlerle tanımlamaktır. Genomik DNA izolasyonu ve evrensel primerler ile 16S rRNA gen bölgesi PCR amplifikasyonları yapılan ve nükleotit dizileri belirlenen izolatların filogenetik analizleri yapılarak akrabalık ilişkileri belirlenmiştir. Yakın akraba tip türleri ile DNA-DNA hibridizasyon sonuçlarına göre taksonomik statüleri iki yeni tür olarak kesinleşmiş olan izolatların fenotipik ve kemotaksonomik karakteristikleri test edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi nükleotid dizi analizine göre S1510 izolatı en yüksek nükleotid benzerliğini *M. equina* Y22^T tip türüne % 98.25 (24/1375) ve *M. spongicola* S3-1^T tip türüne ise % 98.01 (29/1455) oranında göstermiştir. S2508B izolatı ise en yüksek 16S rRNA gen bölgesi nükleotid dizi benzerliğini *M. eburnea* LK2-10^T tip türüne % 98.83 (17/1451) ve *M. spongicola* S3-1^T tip türüne ise % 98.76 (18/1455) oranında göstermiştir. *Micromonospora* suşları arasındaki intragenerik ilişkilerin aydınlatılması için *gyrB* ve *rpoB* gen bölgeleri ilgili primerler ile PCR amplifikasyonları yapılarak nükleotid dizi belirlenmiş ve filogenetik analizleri yapılmıştır. İzolatların baskın menakinonları MK-10(H₆) olup tüm hücre hidrolizatlarında şeker profilleri glikoz, mannoz, ksiloz ve riboz içermekte, polar lipitlerde dominant olarak difosfatidilgliserol, fosfatidilinozitol, fosfatidiletanol amin bulunmakta ve tüm hücre hidrolizatlarında ise baskın olarak *iso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0} ve C_{17:0} yağ asitleri yer almaktadır. Nükleotid dizileri GenBanka depozit edilen ve uluslararası kültür koleksiyon merkezlerinden kültür koleksiyon numarası alınan bu iki *Micromonospora* türü isimlendirilerek yakın bir sürede literatüre kazandırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Karadeniz, *Micromonospora*, 16S rRNA geni, *gyrB* geni, *rpoB* geni

Molecular Identification of Two Novel *Micromonospora* spp. Isolated from Different Depths of the Black Sea

Abstract

The aim of this study was to identify the isolates of *Micromonospora* sp. S1510 and S2508B, which were isolated from the Black Sea sediment using SM3 agar supplemented with nystatin, rifamycin and sea water, by molecular methods. After genomic DNA isolation and PCR amplification of 16S rRNA gene region by universal primers, phylogenetic analyses of the isolates were conducted on the basis of 16S rRNA gene sequence data. Phenotypic and chemotaxonomic analyses of the isolates having definite novel species status according to the results of DNA-DNA hybridisation with the most closely related type species were performed. The isolate S1510 was found to have the highest 16S rRNA gene sequence similarity with the type species of *M. equina* Y22^T (98.25% with 24/1375) and *M. spongicola* S3-1^T (98.01% with 29/1455) whereas the isolate S2508B was most closely related to *M. eburnea* LK2-10^T with 98.83% (17/1451) and *M. spongicola* S3-1^T with 98.76% (18/1455). In order to clarify intrageneric relationships of *Micromonospora* strains, PCR amplifications of *gyrB* and *rpoB* gene regions were conducted and phylogenetic analyses based on sequence data were performed. The isolates have MK-10(H₆) as predominant menaquinone; glucose, mannose, xylose, ribose in whole-cell hydrolysates; diphosphatidylglycerol, phosphatidylinositol and phosphatidylethanolamine as predominant polar lipids and *iso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0} and C_{17:0} as predominant fatty acids in whole-cell hydrolysates. These two isolates having GenBank accession numbers for nucleotide sequences and collection numbers from international culture collections will be published as novel taxa in the genus *Micromonospora*.

Keywords: Black Sea, *Micromonospora*, 16S rRNA gene, *gyrB*, *rpoB*

Lokal Endemik *Agropyron deweyi* Á. Löve (Poaceae) Türünün Taksonomik Hiyerarşisinin Morfolojik Karakterler ve Nüklear/Kloroplast DNA Bölge Dizileri Kullanılarak Sorgulanması

Ayten Dizkırıncı¹, Oktay Yiğit¹, S. Mesut Pınar²

¹Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Fakültesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 65080, Van, Türkiye

²Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 65080, Van, Türkiye

oktay_yigit_1303@hotmail.com

Özet

Bu çalışmada, *Agropyron deweyi* A. Löve türünün cins içerisindeki taksonomik pozisyonu morfolojik karakterler ve moleküler teknikler kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Morfolojik karakter olarak yaprak özellikleri, başak (spike), başakçık (spikelet), dışkavuz (gluma), içkavuz (lemma) ve kapçık (palea) yapıları incelenmiştir. Nüklear ribozomal internal transcribed spacer (ITS) ve kloroplast matK bölgelerinin DNA dizileri moleküler araştırma kapsamında analiz edilmiştir. Çalışma sonunda, *A. deweyi* ve *A. cristatum* (L.) Gaertn. kompleksine ait türler arasında morfolojik karakterler bakımından farklılık görülmemiştir. Ayrıca her bir DNA bölgesi için *Agropyron* cinsine ait 4 farklı taksondan elde edilen 12 DNA dizisi, Gen Bankasından alınan diziler ile beraber analiz edilmiş ve *Agropyron deweyi* türünün *A. cristatum* ile aynı taksonomik statüde olduğu desteklenmiştir. *Agropyron deweyi* ve *A. cristatum* kompleksine ait alt taksonların DNA dizileri arasında, hangi bölge kullanılırsa kullanılsın genetik varyasyon görülmemiştir. Morfolojik karakter olarak çiçek durumu ana ekseninin (rachis) olgunlaşınca kırılğan olmayışı, geniş aralıklı başakçık yapısı, başakçıkların ve içkavuzların tüysüz (glabrous) olması gibi karakterler dikkate alındığında *A. deweyi*'nin *A. cristatum* subsp. *pectinatum* (M. Bieb.) Tzvelev var. *pectinatum*'a çok benzer olduğu saptanmıştır. Bu yüzden tüm morfolojik ve moleküler sonuçlar dikkate alındığında *A. deweyi* türünün, *A. cristatum* subsp. *pectinatum* var. *pectinatum*'un sinonimi olduğu düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: *Agropyron deweyi*, ITS, morfoloji, filogeni, sinonim, *matK*

Questioning taxonomic hierarchy of local endemic *Agropyron deweyi* Á. Löve (Poaceae) using morphological characters and sequences of nuclear/chloroplast DNA regions

Abstract

In this study, both morphological characters and molecular techniques were used to enlighten taxonomic position of local endemic *Agropyron deweyi* A. Löve within the genus. Leaf, spike, spikelet, gluma, lemma and palea structures were studied as morphological characters. DNA sequences of nuclear ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) and chloroplast matK regions were analyzed as part of molecular investigation. The results demonstrated that no remarkable morphological differences exist among studied specimens of *A. deweyi* and *A. cristatum* (L.) Gaertn. complex. Based on 12 sequences of 4 *Agropyron* taxa produced from the current study and sequences obtained from GenBank, our results supported the suggestion that taxonomic status of *Agropyron deweyi* is same with *A. cristatum* species. Any genetic variation was not observed among samples of *A. deweyi* and *A. cristatum* complex regardless of analyzed region. *A. deweyi* was especially very similar to *A. cristatum* subsp. *pectinatum* (M.Bieb.) Tzvelev var. *pectinatum* in terms of morphological characters such as inflorescence rachis tough at maturity, spikelets with distinct gaps, indumentum glabrous, and lemma glabrous. Therefore, when all morphological and molecular results are taken into account, *A. deweyi* and *A. cristatum* subsp. *pectinatum* var. *pectinatum* should be considered as synonym.

Key Words: *Agropyron deweyi*, ITS, morphology, phylogeny, synonym, *matK*

DNA Hasar Yanıtının İnsan MOB2 Proteinini Tarafından Düzenlenmesi

Ramazan Gundogdu, Valenti Gomez and Alexander Hergovich

Tumour Suppressor Signalling Group, UCL Cancer Institute, University College London, 72 Huntley Street,
London UK, WC1E 6DD

r.gundogdu.11@ucl.ac.uk

Özet

Memeli genomları farklı mekanizmalar tarafından induklenmiş DNA çift sarmal kırıkları (double strand break; DSB) gibi DNA lezyonlarını saptayan ve tamir eden savunma sistemleri tarafından sürekli olarak korunmaktadırlar. Onarılmamış DSB'ler genomik istikrarsızlığa sebep olmalarından dolayı kanserleşmede önemli rol oynamaktadırlar. Bu nedenle bu tür lezyonların anında tespit edilerek hasarın onarımına veya kontrollü hücre ölümüne imkan sağlayacak hücre siklus kontrol noktalarının aktivasyonunu tetikleyen DNA hasar yanıt sistemlerinin (DNA damage response; DDR) aktive edilmeleri gerekmektedir. Genel olarak Hippo sinyal yolagında rol oynayan MOB (Mps one binder) proteinleri esansiyel sinyal yollarının önemli düzenleyicileridirler. Bu çalışmada, insan MOB2 proteininin (hMOB2) daha önce bildirilmiş olan NDR aktivitesini inhibe edici özelliğinden bağımsız biçimde DDR regülatörü olarak görev yaptığını belirledik. Transform edilmiş hücrelerde hMOB2 proteininin baskılanmasının ardından DSB'ler birikmesiyle DDR-p53 sinyalizasyonu tetiklenmekte ve p53/p21 proteinleri vasıtasıyla hücre siklus G1/S fazında bloke edilmektedir. Sonuçlarımızla göre hMOB2 proteini DNA hasar sensör kompleksi olan MRN (MRE11-RAD50-NBS1) kompleksini regüle eden RAD50 proteini ile etkileşim halindedir. hMOB2; MRN kompleksinin hasarlı kromatine yüklenmesinde ve ayrıca ATM-NBS1-SMC1 sinyalizasyonunun DDR sisteminde çalışmasında rol oynamaktadır. Ayrıca hMOB2 eksikliği; MRN yetersizliğinde olduğu gibi, hücre siklus kontrol noktalarının çalışmasını azaltmakta ve hücrelerin radyo/kemoterapötik hassasiyetini artırmaktadır. hMOB2 proteinin azalması MRN kompleksinin fonksiyonlarını etkileyerek DSB birikimine ve devamında hücrelerin G1/S hücre siklus fazında durmasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak, bizler bu çalışma ile hMOB2'nin DDR sisteminde ve hücre dönüşünde yeni keşfedilen fonksiyonlarını sunmayı amaçlamaktayız.

Anahtar kelimeler: DNA hasar yaniti / MOB2 / MRN kompleksi

Regulation of DNA Damage Responses by human MOB2

Abstract

Mammalian genomes are constantly protected by defence mechanisms that detect and repair DNA lesions, such as double strand breaks (DSBs), which are caused by different mechanisms. Given that unrepaired DSBs can drive genomic instability, a hallmark of cancer, they must be detected instantly to trigger the DNA damage response (DDR) in order to activate cell cycle checkpoints allowing cells to repair the DNA damage, or to ultimately induce cellular death. As members of Hippo signalling pathway, MOB (Mps one binder) proteins are conserved regulators of essential signalling pathways. Here, we describe human MOB2 (hMOB2) as DDR regulator, functioning independently of its previously reported inhibition of NDR activity. Upon hMOB2 depletion, DSBs accumulate in untransformed human cells, triggering DDR-p53 signalling, finally resulting in a p53/p21-dependent G1/S cell cycle arrest. hMOB2 interacts with RAD50 regulating the essential MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) DNA damage sensor/transducer complex. Mechanistically, hMOB2 promotes MRN recruitment to damaged chromatin and ATM-NBS1-SMC1 signalling in the DDR. Additionally, like MRN deficiency, hMOB2 knockdown impaired cell cycle checkpoints and amplified radio/chemo-sensitivity. Therefore, hMOB2 depletion compromises MRN functionality, causing DSB accumulation and consequently a G1/S arrest. Collectively, we will present evidence showing novel functions of hMOB2 in the DDR and cell cycle progression.

Keywords: DNA damage response / MOB2 / MRN complex

Yüksek Işık Uygulanması ile *Spirulina Platensis*' in Boya Biyosorpsiyon Potansiyelinin Arttırılması

R.Aysun Kepekçi¹, Fatih Deniz²

¹ Gaziantep Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gaziantep

² Sinop Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Sinop

raysunkepekci@gmail.com

Özet

Bu çalışmada, çevresel indükleyici olarak yüksek ışık şiddetinin kullanılması yoluyla fenolik madde içeriği arttırılan *Spirulina platensis* 'in boya biyosorpsiyon potansiyeli değerlendirilmiştir. Endüstriyel uygulamalarda yaygın kullanımından dolayı C.I. Basic Red 46 model azo boya olarak seçilmiştir. Yüksek ışık şiddeti uygulanan alg grubundaki fenolik madde birikiminin kontrol grubundakinden yaklaşık sekiz kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Yüksek miktarda fenolik madde içeriğine sahip olan *Spirulina platensis* 'in boya biyosorpsiyon potansiyeli herhangi bir muamele görmemiş olan *Spirulina platensis* 'inkine göre yaklaşık %31 daha fazla olarak bulunmuştur. Arttırılmış fenolik madde miktarı biyosorbentin boya biyosorpsiyon yeteneğini geliştirmiştir. Bu durum fenolik madde miktarındaki artışla ilgili olarak mikroalgde boya bağlanması için daha fazla sayıda aktif bölge bulunması ile ilişkilendirilebilir. Biyosorpsiyon verileri Freundlich, Langmuir ve Dubinin-Radushkevich isotherm modelleri ile araştırılmıştır. Langmuir modelinin biyosorpsiyon dengesinin verilerini temsil etmek için daha uygun olduğu bulunmuştur. Lojistik model elde edilen kinetik verilere en iyi uyumu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Azo boya; Biyosorpsiyon; Fenolik bileşikler; *Spirulina platensis*

Enhancement of Dye Removal Potential of *Spirulina platensis* by High Light Treatment

Abstract

Dye biosorption potential of *Spirulina platensis* containing high level of phenolic compounds provided by high light as an environmental stimulant was evaluated in this study. C.I. Basic Red 46 was chosen as a model azo dye because of its widely using in industrial applications. The level of phenolic compound accumulation in the high light treated alga group was defined approximately eightfold higher than in the control group. The dye biosorption potential of *S. platensis* with high level of phenolic compounds was found as nearly 31% higher than that of the native alga. The enhanced phenolic content improved the dye biosorption ability of the biosorbent. This may be attributed to a higher number of active sites available in the microalga for more dye binding related to increase of phenolic compounds. The biosorption data were analyzed using Freundlich, Langmuir and Dubinin-Radushkevich isotherm models. Langmuir isotherm model was more adequate to represent the data of biosorption equilibrium. The logistic model provided the best fit to the kinetic data obtained.

Keywords: Azo dye; Biosorption; Phenolic compounds; *Spirulina platensis*

Burgazada, Büyükada, Heybeliada ve Kınalıada Topraklarından *Micromonospora* Türlerinin İzolasyonu ve Moleküler Tiplendirilmeleri

Salih Sarıcaoğlu¹, Hilal Ay², Fadime Özdemir Koçak³, Kamil Işık²

¹Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, Kırşehir

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Samsun

³Şeyh Edebali Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümü, Bilecik

salihsarica61@gmail.com

Özet

Adaların uzun yıllar devam eden jeomorfolojik süreçler sonunda anakaralardan ayrılan kara parçaları olması, bu ortamları biyoçeşitlilik çalışmaları açısından dikkat çekici ortamlar haline getirmiştir. Toprakta yaygın olarak bulunan aktinomisetlerin üyesi olan *Micromonospora* cinsine ait türler, oldukça karmaşık bir sekonder metabolizmaya sahip olup, çok çeşitli biyoaktif bileşikler üretmektedirler. Bu çalışmada, yaklaşık 7500 yıl önce anakaradan ayrılmış olan Burgazada, Büyükada, Heybeliada ve Kınalıada'nın farklı lokalitelerinden alınan toprak örnekleri kullanılarak *Micromonospora* çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Örneklem alanı adalardan alınan toprak örnekleri dilüsyon plak, sükröz gradient ve %1.5'lük fenol ön uygulamaları ile muamele edilerek aktinomisetler için seçici olan humik asit-vitamin, Bennett's ve tripton-yeast ekstrakt-glukoz -vitamin agar ortamlarında bakteri izolasyonu gerçekleştirildi. Burgazada, Büyükada, Heybeliada ve Kınalıada toprak örneklerinden toplam 17 *Micromonospora* izolatu elde edilmiştir. İzolatların 12 tanesi humik asit-vitamin agar ortamında, 5 tanesi de diğer iki besiyeri ortamından izole edilmiştir. Genomik DNA'ları izole edilen test suşlarının, 16S rRNA gen bölgesinin PCR amplifikasyonu yapılarak PCR ürünleri dizilendi. Dizi verileri EzTaxon server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim ve ark., 2012)'da analiz edilerek test suşlarının 16S rRNA gen dizilerine göre en yakın tip türleriyle filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogramları oluşturuldu. 16S rRNA gen bölgesi nükleotit dizilerine dayalı akrabalık ilişkilerini yansıtan filogenetik analizlerine göre izolatların, farklı *Micromonospora* tip türleri ile farklı yüzde benzerlik ve nükleotit değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Burgazada, Büyükada, Heybeliada ve Kınalıada topraklarından izole edilen *Micromonospora* suşlarının yeni tür olma potansiyeli taşıdığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Burgazada, Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, *Micromonospora*

Isolation and Molecular Typification of *Micromonospora* spp. of Soils from Burgazada, Büyükada, Heybeliada and Kınalıada

Abstract

Islands have been attractive habitats for biodiversity studies because they are land parts separated from mainland at the end of long-lasting geomorphological processes. Members of the genus *Micromonospora* belonging to actinomycetes common in soil have highly complex secondary metabolism and they are producers of various bioactive compounds. In this study, it was aimed to determine *Micromonospora* diversity of Burgazada, Büyükada, Heybeliada and Kınalıada using soil samples of different localities. After pre-treatment of soil samples with 1.5% phenol, dilution plate and sucrose gradient, microorganisms were isolated by using humic acid-vitamin agar, Bennett's agar and tryptone-yeast extract-glucose agar which are selective isolation media for actinomycetes. A total of 17 isolates belonging to the genus *Micromonospora* were isolated from soil samples of Burgazada, Büyükada, Heybeliada and Kınalıada; 12 of which from humic acid-vitamin agar and 5 of which from either Bennett's or tryptone-yeast extract-glucose agar. After genomic DNA isolation of test strains, PCR amplification of 16S rRNA gene region was conducted and the amplicons were sequenced. Sequence data was analysed on EzTaxon server (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>; Kim et al., 2012) and phylogenetic dendrograms were constructed on the basis of 16S rRNA gene sequences of test strains with the most closely related type species. According to phylogenetic analysis of test strains based on 16S rRNA gene sequences, the strains have different similarity levels to different type species of *Micromonospora*. The strains of *Micromonospora* isolated from Burgazada, Büyükada, Heybeliada and Kınalıada soils are considered to have high potential to be novel taxa.

Keywords: Burgazada, Büyükada, Heybeliada, Kınalıada, *Micromonospora*

Kronik Böbrek Yetmezliğine Yol Açan En Önemli İki Faktör: Diyabetin ve Hipertansiyonun Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkileri

Sevcan Mamur^{1,2}, Deniz Yüzbaşıoğlu², Kadriye Altok³, Fatma Ünal², Serpil Müge Değer³

- (1) Biyoloji Bölümü, Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Polatlı, Ankara, Türkiye
(2) Genetik Toksikoloji Laboratuvarı, Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye
(3) Nefroloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

smamur@gazi.edu.tr

Özet

Günümüzde kronik böbrek yetmezliğine (KBY) götüren en önemli iki sebep diyabet ve hipertansiyon hastalıklarıdır. Fakat diyabeti ve hipertansiyonu olan kronik böbrek yetmezlikli hastalarda genetik hasarı araştıran yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı KBY'li hastalardaki olası genetik hasarın, diyabet ve hipertansiyon hastalıklarının varlığıyla artıp artmadığının belirlenmesidir. Buna ilaveten, vücut kitle indeksinin (VKİ), yaşın ve cinsiyetin kromozom anormallikleri (KA) üzerine etkileri de tespit edilmiştir. Bu çalışmada hemodiyalize giren toplam 52 KBY'li hasta (21 diyabetik, 31 diyabetik olmayan; 9 hipertansiyonu olan ve 43 hipertansiyonu olmayan) ve 24 sağlıklı birey incelenmiştir. Ayrıca VKİ 25 (kg/m²)'den büyük olan 18 KBY'li hasta ve VKİ'yi 25 (kg/m²)'den küçük olan 33 KBY'li hastada kromozomal anormalliklerin frekansı karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda anormal hücre yüzdesinin (p=0,002) ve hücre başına düşen anormalliklerin (p=0,001) kontrol grubuna göre arttığını göstermektedir. Buna karşın, diyabetik ve diyabetik olmayan ve hipertansiyonu olan ve olmayan hastalar arasında KA frekansı bakımından önemli fark olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde VKİ'yi 25 (kg/m²)'den büyük olan KBY'li hastalar ile VKİ'yi 25 (kg/m²)'den küçük olan hastalar arasında KA bakımından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Yaş ve cinsiyet, kromozomal anormallik frekansını etkilememiştir. Mitotik indeks kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kontrole göre önemli düzeyde azalmıştır (p<0,001). Fakat diyabetik ve diyabetik olmayan, ve hipertansiyonu olan ve olmayan KBY'li hastalar karşılaştırıldığında mitotik indekste anlamlı bir farklılık yoktur.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, hipertansiyon, mitotik indeks, kromozomal anormallik testi, kronik böbrek yetmezliği.

Do Diabetes and Hypertension Two Most Important Factors Leading To Chronic Kidney Failure Effect Chromosome Aberrations

Abstract

Diabetes and hypertension are the two most important factors leading to chronic kidney failure (CKF) today. However no enough studies investigating genetic damage in CKF patients with diabetes and hypertension. The aim of this study is to determine whether the possible genetic damage in CKF patients increasing with diabetes and hypertension. We also determined the effect of body mass index (BMI), age and gender on chromosome aberrations (CA). 52 CKF patients in total (21 diabetic and 31 non-diabetic; 9 hypertensive and 43 non-hypertensive) undergoing haemodialysis and 24 healthy controls were investigated. In addition, the frequency of CAs in 18 CKF patients with BMI levels higher than 25 (kg/m²) was compared with 33 CKF patients with BMI levels less than 25 (kg/m²). The results showed that the frequency of CAs (p=0.002) and CA/Cell (p<0.001) statistically increased in CKF patients undergoing haemodialysis compared to controls. However, there was no significant difference in CAs between diabetic and non-diabetic and, hypertensive and non-hypertensive CKF patients. Furthermore there was no significant difference in CAs in patients with BMI higher than 25 (kg/m²) compared to those of less than 25 (kg/m²). The age and gender did not affect the frequency of CAs. Mitotic index (MI) significantly decreased in CKF patients compared to controls (p<0,001). However, there was no significant difference between diabetic and non-diabetic CKF patients and, between hypertensive and non-hypertensive CKF patients in terms of MI.

Keywords: Chronic kidney failure, chromosome aberrations, diabetes, hypertension, mitotic index.

Bitkilerde Proantosiyanidinlerin Polimerleşmesi

Seyit Yuzuak¹, De-Yu Xie¹

¹ North Carolina State University, The Department of Plant and Microbial Biology, Raleigh-North Carolina, USA

sytyzk@gmail.com

Özet

Proantosiyanidinler (PAs) birçok bitkinin tohumlarında, gövde kabuklarında, yapraklarında ve meyvelerinde sentez edilmektedir. Bu metabolitler örneğin epikateşin ve kateşin gibi flavan-3-ol moleküllerinin polimerleşmesinden meydana gelen oligomer ya da polimer flavanoidler olup, yüksek oranda gösterdikleri yapısal farklılıklar ile karakterize edilirler. Proantosiyanidinler patojenlere ve radyasyon kaynaklı zararlara karşı bitkilere direnç kazandırır. Bitkisel gıda ürünlerine ise acımsı ve keskin bir tat verirler. Bu metabolitler ve bunların polimerleşmemiş monomer üniteleri ayrıca güçlü antioksidantlar olup bu özelliğiyle insan sağlığı açısından alzheimer, kanser, kardiyovasküler gibi hastalıkları önleyici birçok faydaları vardır. Bugüne kadar, proantosiyanidinlerin bitkilerde metabolik olarak fenilalanininden lökoantosiyanidinlere ve son olarak flavon-3-ol moleküllerine kadar nasıl sentezlendiği hakkında çok yoğun ve geniş bir bilgi elde edilmiştir. Lökoantosiyanidinlerden flavon-3-ol sentezine kadar LAR (Leucoanthocyanidin reductase) ve ANR (Anthocyanidin reductase) olmak üzere iki farklı metabolik yol ortaya çıkarılmıştır ki bu iki metabolik yolun keşfi antosiyanin üreten bitki hücrelerinde proantosiyanidinlerin metabolik bir mühendislik ile üretilmesine olanak tanımıştır. Bununla birlikte, proantosiyanidinlerin polimerleşme mekanizması hala tamamıyla bilinmemektedir. Daha önceki çalışmalarımıza dayanarak, transgenik antosiyanin üreten tütün hücrelerinin proantosiyanidinlerin polimerleşmesini katalizleyen enzim(ler)i ifade ettiğini varsaymaktayız. Bu çalışmamızda, proantosiyanidinlerin polimerleşmesinde rol oynadığını varsaydığımız protein ve gen(ler)i tanımlamak için antosiyanin üreten kırmızı tütün hücrelerinin *in vitro* bir sistem olarak hazırlandığını sunmaktayız. Bu sistemde kırmızı tütün hücrelerinden elde edilen total protein ekstraktlarının kateşin ve epikateşini substrat olarak kullanıp proantosiyanidin benzeri yeni bileşikler üretebildiğini gözlemledik. Ayrıca, bu tip enzimatik aktivite gösteren aday proteinleri ortaya çıkarmak için total protein ekstraktlarını saflaştırmakta ve bu mekanizmada rol alan protein ve gen(ler)in karakterizasyonuna devam etmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Antosiyanin Redüktaz, *Nicotiana tabacum*, Polimerleşme, Proantosiyanidinler

Polymerization of Proanthocyanidins in Plants

Abstract

Proanthocyanidins (PAs) are synthesized in the fruits, leaves, barks and seeds of many plants. They are oligomers or polymers of flavonoids resulting from polymerization of flavan-3-ol units (e.g., epicatechin, catechin) and characterized by highly diverse of structures. PAs provide resistance for plants against pathogens and radiation-caused damages. In food products, PAs give an astringent flavor. PAs and their monomers are also strong antioxidative nutrients with multiple benefits to human health, such as preventing against cardiovascular diseases, cancer and Alzheimer's disease. To date, the biosynthetic pathway of PAs has gained intensive understanding from phenylalanine through leucoanthocyanidins to flavan-3-ols. Two pathways, the LAR (Leucoanthocyanidin reductase) and the ANR (Anthocyanidin reductase) pathways, have been identified from leucoanthocyanidins to flavan-3-ols, which has allowed the success of metabolic engineering of PAs in anthocyanin-producing cells of plants. However, mechanisms of PA polymerization remain completely unknown. Based on our lab's previous work, we hypothesize that transgenic anthocyanin-producing tobacco cells express enzymes to catalyze polymerization of PAs. In this study, I report that anthocyanin producing red tobacco cells have been established *in vitro* to identify genes and proteins involved in the polymerization of PAs. We have observed that crude protein extractions from red cells can use catechin or epicatechin as substrates to produce new compounds, which are PA-like products. We have been purifying proteins to identify candidates with this type enzymatic activity, and characterizing genes and proteins involved in polymerization of PAs.

Keywords: Anthocyanin Reductase, *Nicotiana tabacum*, Polymerization, Proanthocyanidins

Biyoeanol Üretiminde Şeker Pancarı Melası Hidrolizatı ile Farklı Fermentasyon Besiyerlerinin Etkinliğinin Araştırılması

Taner Sar, Meltem Yesilcimen Akbas*

Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze, Kocaeli

akbas@gtu.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, biyoeanol üretimi için sülfirik asit çözeltisi ile hidroliz edilmiş ve hidroliz edilmemiş şeker pancarı melası kullanıldı. Etanol üretebilen *E.coli* FBR5 suşunun üreme özelliği, hidroliz edilmiş ve hidroliz edilmemiş seyreltik şeker pancarı melası içeren fermentasyon besiyeri kullanılarak incelendi. *E.coli* FBR5 suşu'nun hidroliz edilmemiş ve seyreltilmiş melas içeren besiyerinde üremediği belirlendi. Hidroliz edilmiş ve seyreltilmiş melas içeren besiyerinde ise olabilecek toksik bileşiklerin varlığı sebebiyle düşük üreme yoğunluğu görüldü. Bu nedenle, *E.coli* FBR5 suşu'nun üremesinin iyileştirilmesi ve toksik bileşiklerin azaltılması için asit ile hidroliz edilmiş şeker pancarı melası Ca(OH)_2 ile muamele edildi. Bu uygulamanın melas hidrolizatı içeren fermentasyon besiyerinde hücre biyokütlesi ve etanol verimini arttırdığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Biyoeanol, *E. coli*, Hidroliz, Şeker Pancarı Melası

Effectiveness of Different Fermentation Media with Sugar Beet Hydrolysate for Bioethanol Production

Abstract

In this work, un-hydrolyzed and hydrolyzed (by dilute sulfuric acid) sugar beet molasses (SBM) were used for bioethanol production. Growth of ethanologic strain, *E. coli* FBR5 was investigated by using diluted un-hydrolyzed or hydrolyzed sugar beet molasses containing fermentation medium. The strain did not grow in the diluted un-hydrolyzed SBM containing medium whereas it grew at low density by using diluted hydrolyzed SBM containing medium due to the possible inhibitory toxic compounds. Therefore, hydrolyzed SBM was treated with Ca(OH)_2 to reduce the toxic substances and improve the growth of *E. coli* strain FBR5. It was shown that the treatment of hydrolyzed SBM with Ca(OH)_2 enhanced the cell biomass and ethanol yield in fermentation medium.

Keywords: Bioethanol, *E. coli*, Hydrolysis, Sugar Beet Molasses

Morfin Sentezi İndüklenmiş Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) Bitkisinde Genom Düzeyinde Transkriptom Analizi

Tuğba Gürkök¹, Esmâ Özhüner², Mine Türktaş², İskender Parmaksız³ Turgay Ünver²

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi Eldivan SHMYO Anestezi Bölümü, Çankırı

² Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Çankırı

³ Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Tokat

t.gurkok@karatekin.edu.tr

Özet

Ekonomik ve tıbbi açıdan önemli bir bitki olan haşhaş, (*Papaver somniferum* L.) farmasötik özelliklere sahip morfin, kodein gibi benzilizokinolin alkaloidlerini (BIA) üretme kapasitesine sahip bir bitkidir. Mikroarray analizleri, bir hücre, doku veya canlıdaki transkriptomun ve ifade seviyelerinin belirlenmesine olanak sağlayan bir teknolojidir. Bu çalışmada, haşhaş bitkisi Ofis 95 çeşidine fungal bir elisitör olan metil jasmonat (MeJA) uygulanması döllenme sonrası döneminde yapılarak 0, 3, 6 ve 12. saatlerde bitkilerin kapsülleri hasat edilmiştir. MeJA uygulaması yapılmış ve yapılmamış bitkilerin kapsül dokusundan morfin, kodein, tebain, noskapin, laudanozin ve papaverin alkaloidlerinin miktarları LC/ToF-MS ile ölçülmüştür. Metabolit ölçümleri sonucunda 12. saatte alkaloid miktarı en yüksek seviyesine ulaştığı belirlenmiştir. Morfin ve noskapin miktarlarının tüm zaman dilimlerinde diğer alkaloidlere göre daha yüksek olduğu tespit edilirken eser miktarda papaverin ölçülmüştür. Transkriptomik seviyede değişiklikleri belirlemek amacıyla ise haşhaş bitkisine ait 23,902 transkripte karşılık gen 95,608 prob kullanılarak kontrol, 0, 3 ve 12. saatlere ait mikroarray analizleri yapılmıştır. Mikroarray analizleri sonucuna göre oluşturulan 6 farklı zaman diliminde, 12–0 saatleri arasında ifadesi değişen transkript sayısı en fazla iken 0. saat–kontrol arasında en az olarak belirlenmiştir. Zaman dilimleri kendi aralarında karşılaştırıldığında 14 transkriptin ortak olduğu ve tümünün ifade seviyesinin düştüğü gözlenmiştir. BIA biyosentezinde görev alan; NCS, CNMT, SalR, OMT, COR, CAS, CheSyn, StySyn enzimlerini kodlayan transkriptlerde ifade değişimleri anlamlı bulunmuştur. Gen ontoloji analizleri sonucunda; uyarılara cevap, stres cevabı, iyon bağlayıcı, oksidoredüktaz ve transferaz aktiviteleri ile ilişkili transkriptlerin daha fazla sayıda olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Benzilizokinolin alkaloid biyosentezi, Haşhaş, Mikroarray,, Patojen stresi, Transkriptom analizi.

Genome-Wide Transcriptome Analysis Of Morphine Synthesis Induced Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.)

Abstract

Opium poppy (*Papaver somniferum* L.) is a medically and economically important plant because of producing Benzylisoquinoline alkaloids (BIA). Microarray is a technology that allows the detection of transcriptome and expression levels in a given cell, tissue or organism and in a given time. In this study, we treated Ofis 95 variety with fungal elicitor methyl jasmonate (MeJA) in the post anthesis stage and after treatment capsules were harvested after 0, 3, 6 and 12 hours from both treated and control plants. The amounts of morphine, codeine, thebaine, noscapine, laudanosine and papaverine alkaloids in capsule of control and treated plants were measured using LC/ToF-MS. In metabolite profiles, the alkaloid levels reached the highest levels 12 hours after treatment. While the morphine and noscapine levels were more abundant in all time points, papaverine was rarely found. To compare large-scale mRNA expression patterns in opium poppy, specific 95,608 probes corresponding to 23,902 transcripts were designed and microarray analysis performed for control, 0, 3rd and 12th hours. The microarray data revealed that among six different time periods the number of altered transcripts was the highest between 12- 0 hours, while the least was between 0 hour - control. Time points shared 14 common negatively regulated transcripts. In BIA biosynthesis pathway, the altered transcripts corresponding to NCS, CNMT, SalR, OMT, COR, CAS, CheSyn, StySyn enzymes were found to be significant. As a result of gene ontology analysis, it was detected that response to stimulus and stress, ion-binding, oxidoreductase and transferase related transcripts were most abundant.

Keywords: Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis, Microarray, Opium poppy, Pathogen stress, Transcriptome analysis

Bitki Biyoteknolojisi İçin Genomik ve Transkriptomik Yaklaşımlar

Turgay Ünver¹, Mine Türktaş¹, Behçet İnal¹, Tuğba Gürkök¹, Esmâ Özhüner¹, Ebru Derelli Tüfekçi¹, Yağız Alagöz¹, Yusuf Pekmezci¹, Ummügülsüm Zıplar Tanman¹, Günseli Babaoğlu¹, Emine Açar¹, Yeliz Özden¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

<http://unverlab.karatekin.edu.tr>

Özet

İnsan genom projesiyle birlikte başlayan bilimsel devrim bitki bilimlerinde de devam etmektedir. Günümüze deyin dizileme teknolojilerinin uygulanması ve geliştirilmesi konusunda önemli ilerlemeler söz konusu olmuştur. Bununla beraber genom dizilemesinde karşılaşılan güçlüklerin yeni nesil dizileme (YND) sistemleriyle aşılmış ve birçok türün dizilenmesi bu sayede sağlanmıştır. Tüm genom dizileme başta ve transkriptom okumaları başta olmak üzere, ekzom dizilemesi, metilasyon ve küçük RNAlar gibi epigenetik düzenlemelerin ortaya çıkarıldığı pek çok araştırma yürülmüş ve 50'den fazla bitki türünün genom analizi tamamlanmıştır. Öte taraftan, bitkisel üretimin artırılması amaçlı olarak genom dizileme uygulamalarından yararlanılmaktadır. Genomda endojen olarak bulunan ve kodlanmayan RNAlar olarak tanımlanan kısa diziler halinde olan mikro-RNAlar (miRNA) transkripsiyonel araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır. miRNA tanımlama, ölçme ve işlevlerinin araştırılması üzerine çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bitkilerde transkriptom analizlerinin uygulanması sayesinde üretimde kısıtlayıcı olan biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bu kapsamda laboratuvarımızda yapılan zeytin genom projesi, mikro-RNA tabanlı analizler ve metabolit mühendisliği çalışmaları özetlenecektir.

Anahtar Kelimeler: Genom düzenleme, Metabolit mühendisliği, miRNA, Zeytin genom projesi

Genomics and Transcriptomics Approaches for Plant Biotechnology

Abstract

The scientific revolution started with the human-genome sequencing project ignited other sequencing projects, including plant species. Different technologies have been developed to cope with such challenge, including the second- and third-generation sequencing platforms called “next-generation” sequencing (NGS). The former has allowed sequencing most genomes to date. Both the genome and the transcriptome can be sequenced, including the whole-genome, exome, DNA-protein-interaction regions, mRNA sequencing and different epigenetic approaches like small RNA, methylation. More than 50 plant genomes have been sequenced so far, with many more projected for the near future. On the other hand, the obtained data has been utilized to improvement of plants especially crops. One of the translational research areas is plant micro-RNAs (miRNA) to develop plants with high yield. miRNAs are small, endogenously expressed and non-protein coding RNAs which regulates gene expression via post-transcriptional inhibition and cleavage. A number of miRNAs have been identified and functionally characterized by direct cloning, high-throughput sequencing and bioinformatic analyses from a number of plant species. The functional roles of miRNAs in plant development as well as stress response to biotic and abiotic environmental factors has been discovered. Here, we summarized the studies conducted in our laboratory especially on olive genome project, miRNA-based analyses, and metabolite engineering.

Keywords: Genome editing, Metabolite engineering, miRNA, Olive genome Project

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 109O661, 111O036, 112O502 ve 113O016 nolu projelerle desteklenmiştir.

Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi ile Zeytinin Pedisel Dokusunun Transkriptom Dizilemesi

Ümmügülsüm Tanman Zıplar¹, Turgay Ünver¹, Mine Türктаş¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

gulsumziplar@gmail.com

Özet

Akdenizi simgeleyen bir kültür bitkisi olan zeytin (*Olea europea*), ekonomik ve ekolojik olarak önemlidir. Pedisel dokusu meyve ile bağlantıyı sağlar, meyve gelişiminde ve fotosentez ürünlerinin taşınması ile birikiminde rol alır. Dokunun iletim kapasitesinin meyve büyüklüğünü etkilemesi, meyve dökümünün zamanında gerçekleşmesi ve hasat şeklinin zeytinde periyodesite olgusunu etkilemesinden dolayı pedisel dokusunun gelişimi önemlidir. Pedisel dokusunda gelişimsel farklılığı, moleküler düzeyde anlayabilmek için Roche454 FLX+ yeni nesil dizileme tekniği ile transkriptom dizileme çalışması yapılmıştır. Çalışma kapsamında Ayvalık (*Olea europea* L. cv. Ayvalık) çeşidine ait ham (Temmuz ayına ait) ve olgun (Kasım ayına ait) pedisel dokularından izole edilen total RNA'lar kullanılmıştır. Böylece farklı gelişim aşamalarında bulunan dokulardan transkriptom düzeyinde analizler yapılarak genomun fonksiyonel elementleri yorumlanmıştır. Sonuç olarak pedisel dokusunun gelişiminde etkin mRNA'lar belirlenmiş, meyve ile bitki arasındaki sinyal molekülleri ve görev aldığı yollar ortaya konulmuş, absisyon ve doku yaşlanmasında görevli fonksiyonel elementler moleküler düzeyde incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: meyve dökme, pedisel, Roche 454 GS FLX+, transkriptom, Zeytin (*Olea europaea*)

Transcriptome sequencing via next-generation sequencing technology in olive pedicel tissue (*Olea europaea* L. cv. Ayvalık)

Abstract

Olive (*Olea europaea*) symbolizing the Mediterranean is economically and ecologically important cultivated plant. Pedicel tissue provides connection to the fruit, takes role in fruit development and accumulation and transportation of photosynthetic products. The development of the pedicel tissue is important because of transmission capacity of tissue affects the fruit size, for abscission to occur on convenient time and the harvest's shape affects the periyodesit cases in olive. In order to understand the developmental differences in pedicel tissue at the molecular level, transcriptome sequencing was carried out by using next generation sequencing technology Roche454 FLX+. In this study, total RNA isolated from immature (of July) and mature (of November) Ayvalık (*Olea europaea* L.cv. Ayvalık) pedicel tissues were sequenced. Thus, genome functional elements in different development stages of tissues were interpreted by analysis in transcriptome level. Eventually active mRNAs in development of pedicel tissue were determined, signaling molecules and pathways that plays role between the plant and fruit were produced, functional elements take placed in abscission and tissue aging were investigated at the molecular level.

Keywords: abscission, Olive (*Olea europaea* L.), pedicel, Roche 454 GSFLX+, transcriptome,

Papaver Cinsinde Sentetik RNA-kılavuzlu CRISPR/Cas9 Sistemi Aracılı Gen Nakavtı

Yağız Alagöz¹, Tuğba Gürkök¹, Turgay Ünver¹

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı, Türkiye

yagizalagoz1@gmail.com

Özet

Papaver cinsi, özellikle kodein, noskapin ve morfin gibi benzilzokinolin alkaloidlerini (BIA) yüksek miktarlarda üreten türleri ile bilinmektedir. Bu gruptan alkaloidlerin üretimi, daha önce *P. somniferum*'da ayrıntılı olarak tanımlandığı gibi spesifik genler tarafından kodlanan değişik tiplerdeki enzimlerin yer aldığı kompleks bir yolak tarafından kontrol edilmektedir. Ancak bu genlerin çoğunluğu, *Papaver* cinsinin *Oxytona* seksiyonunda henüz tanımlanmamıştır. Şimdiye kadar genlerin özelliklerinin tam olarak tesbit edilebilmesi için yapılan fonksiyonel çalışmalarda, doğadan türetilen pek çok sentetik araç genom düzenleme amaçlı kullanılmıştır. Özellikle, genom mühendisliğinde son zamanlarda yükselen bir trend olan sentetik RNA-kılavuzlu CRISPR/Cas9 sistemi, farklı bitki türlerinin genomlarının düzenlenmesinde çok defa kullanılmıştır. Sistem temel olarak kimerik bir kılavuz-RNA'dan ve sentetik Cas9 proteininden oluşup genomik DNA'da çift zincir kırıkları oluşturmaktadır. Oluşan çift zincir kırıkları organizmanın kendi genom düzenleme mekanizmaları olan homolog rekombinasyon ve diğer tamir mekanizmaları ile giderilir ve oluşan çerçeve kayması mutasyonu ilgili genin nakavt edilmesine neden olur. Çalışmamızın temel amacı, BIA ların haşhaştaki üretim mekanizmalarını daha iyi anlamak için, CRISPR/Cas9 sistemini kullanarak *Oxytona* seksiyonunda bazı gen veya genlerin nakavt edilmesidir. Böylece, bu sistem kullanılarak haşhaştan istenilen yolların manipülasyonu literatürde ilk kez gösterilmiş olacaktır.

Anahtar Kelimeler: CRISPR/Cas9, genom düzenleme, *Oxytona*, *Papaver*

Synthetic RNA-guided CRISPR/Cas9 System-mediated Gene Knock-Out in Genus *Papaver*

Abstract

The genus *Papaver*, is particularly known with its species that produce high amounts of benzyloisoquinoline alkaloids such as codeine, noscapine and morphine. The production of those group of alkaloids has a very complex pathway that is controlled by many varied types of enzymes encoded by specific genes that were previously defined in *P. somniferum* in detail. But the majority of those genes haven't been identified yet in the members of section *Oxytona* of genus *Papaver*. So far in many functional genomic studies, the synthetic genome editing tools, derived from the nature, were used to determine the exact properties of the genes. Particularly, synthetic RNA-guided CRISPR/Cas9, as a recently emerging trend in genome engineering, have been used to edit the genomes of different plant species. The system is basically composed of chimeric guide-RNAs and a synthetic Cas9 protein that introduce double strand breaks (DSB) in genomic DNA. The resulting DSBs are repaired by utilizing organism's own genome repair mechanisms of homologous recombination and other repair mechanisms a frame-shift mutation to knock-out the gene of interest. The main objective of our research is to knock-out the desired gene or genes in section *Oxytona* by using CRISPR/Cas9 system to better understand the BIA production mechanisms in poppy. Thus, the manipulation of the desired pathway by using this system in poppy was demonstrated for the first time in the literature.

Keywords: CRISPR/Cas9, genome editing, *Oxytona*, *Papaver*

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından FF12035L18 nolu proje ve TÜBİTAK 109O661 ve 111O036 nolu projeleri ile desteklenmiştir.

Doku Asiri Buyumesi Mekanizmasının Ortaya Cikarılması: hMOB1A'nin Doku Buyumesini Inhibe Etme Rolu

Yavuz Kulaberoglu¹, Alexander Hergovich¹

¹Tumor Suppressor Signalling Group, UCL Cancer Institute, University College London, 72 Huntley Street, London UK, WC1E 6DD

Yavuz.kulaberoglu.12@ucl.ac.uk

Özet

Deregule olmuş hippo sinyal yolları, kanser gelişimi ve organ büyümesinde önemli sinyal yolları olarak kabul edilmektedir. Hippo sinyal yolunun, organ büyümesi, hücre çoğalması ve ölümünden sorumlu bir yolak olduğu rapor edilmiştir. Ve, bir çok çalışma, bu yolun, MST/LATS/NDR kinazlarının da dahil olduğu, kompleks protein-protein etkileşimleri tarafından düzenlendiği göstermektedir. Bu anlamda, bir tumor baskılayıcı olan hMOB1 proteinin, bu kompleks protein-protein etkileşimlerinde hayati rol oynadığı düşünülmektedir. Butun bu gerçekleri göz önüne alınarak, hangi protein-protein etkileşiminin, hippo sinyal yolunun tumor baskılayıcı özelliğine katkı sağladığını ortaya çıkarmak için, hMOB1A proteininin Kristal yapısından yola çıkarak, birbirinden farklı tek nokta mutasyonları oluşturuldu. Bu çalışmada, bu tek nokta mutasyonlarının, hem insan hücrelerinde MST, NDR ve LATS kinazlarına bağlanma kapasitesini, hemde *Drosophila* hücrelerinde, Warts, Trc, ve Hpo kinazlarına bağlanma kapasitesi gösterilmektedir. Dahası, hMOB1A proteinin, göğüs kanser hücrelerinde dengeli bir şekilde ifade edildiği zaman, hücre çoğalmasında kayda değer bir şekilde düşüş gözlemlendi ki bu da hMOB1A proteinin tumor baskılayıcı olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, oluşturulmuş olan hMOB1 mutant versiyonlar, göğüs kanser hücrelerinde test edilerek, hangi protein-protein etkileşiminin önemli olduğu gösterilecektir. hMOB1A'nin tumor baskılayıcı aktivitesine daha çok desteklemek için, kanser hücresinde davarregule edilerek, migrasyon aktivitesi ölçüldü ve migrasyon aktivitesinin arttığı gözlemlendi ki bu da hMOB1A'nin gerçekten tumor baskılayıcı olarak görev yaptığı göstermektedir. Bunun yanında, nokta mutasyonlu hMOB1A'ler, Mats-kusurlu *Drosophila* sineklerine aktarıldı. Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar, hMOB1A proteininin, Mats-kusurlu *Drosophila* sineklerini kurtardığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, farklı hMOB1A mutant versiyonları kullanarak, hangi protein-protein etkileşiminin, *Drosophila*'da hangi rol oynadığı gösterilecektir.

Anahtar Kelimeler: Hippo Sinyal Yolu, Protein-protein Etkileşimi, *Drosophila Melanogaster*

Emerging The Molecular Mechanism Of Tissue Overgrowth: The Role For hMOB1A In Inhibiting Tissue Overgrowth

Abstract

Deregulated Hippo Signaling pathway is regarded as an important driving force for cancer development and overgrowth of organ size. It has been reported that Hippo Signalling pathway is a novel signaling transduction pathway which regulates organ size, cell proliferation, and death. Intriguingly, numerous studies have revealed that Hippo Signaling is regulated by a MST/LATS/NDR kinase cascade which is tightly modulated by different protein-protein interactions. More intriguingly, it is suggested that MOB1 plays pivotal role in the regulation of MST1/2, LATS1/2, NDR1/2 kinases.

To understand the molecular mechanism how these PPIs contribute to the tumor suppression activity of Hippo Signaling, we have generated a panel of hMOB1A versions carrying single-point mutation based on crystal structure. Here, we describe key mutations of hMOB1 which affect specific binding to NDR, LATS and MST kinases in human cells as well as Warts, Trc, and Hpo in fly cells. Moreover, we show that overexpression of hMOB1A(wt) remarkably decreased cell proliferation of breast cancer cells, suggesting tumor suppressor activity of hMOB1A. To further support tumour suppressor activity of hMOB1A, we show that it activates migration of cancer cells when hMOB1A is knocked down. Based on these solid foundations, we aim to unravel the molecular mechanism of tumour suppression activity of hMOB1A based on the selected mutants. In addition to addressing the role of hMOB1A in mammalian cell system, we introduced selected hMOB1A variants into Mats-deficient embryos to reveal which PPIs is essential for physiological role of hMOB1A in complex multicellular organism, since it has been reported that hMOB1A compensates for mats (*drosophila* homologs of hMOB1A) loss-of-function in *Drosophila*. Now, we aim to analyze which hMOB1 variants can compensate for the loss of Mats in complex multicellular organism.

Key Words: Hippo Signalling, Protein-Protein Interaction, *Drosophila Melanogaster*

Haşhaş Bitkisinde Transkriptom Verilerinin Biyoinformatik ve Fonksiyonel Analizi

Yeliz Demirci^{1,2}, Tuğba Gürkök¹, Turgay Ünver¹, Mine Türктаş¹ Serkan Uranbey²

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

dmrcylz@gmail.com¹

Özet

Haşhaş (*Papaver somniferum* L.), ülkemizde geleneksel olarak tarımı yapılan, endüstriyel ve tıbbi açıdan önemi büyük bir bitkidir. Haşhaş, narkotik analjezik morfin, öksürük kesici kodein, antimikrobiyal ajan sanguinarin, vasodilatör olarak kullanılan papaverin ve antikanserojenik noskapin gibi çeşitli Benzilizokinolin alkaloidlerini (BIA) üretmektedir. BIA biyosentez yolağı çok sayıda enzimin yer aldığı oldukça karmaşık bir yoldur. Transkriptom çalışmaları, metabolik yollarda anahtar rol oynayan enzimlerin aydınlatılması için kullanılan etkili araçlardır. Bu çalışma kapsamında, fungal bir elisitör olan Metil Jasmonat (MeJa) uygulaması ile morfin üretimi indüklenmiş haşhaş bitkisinin kapsül dokusunun yeni nesil dizileme sistemi ile elde edilen transkriptom verileri biyoinformatik araçlar ile analiz edilmiştir. Bu amaç için, BLAST ve Blast2Go analizleri ile mevcut veri tabanları, haşhaş dizileri ile karşılaştırılarak anotasyonları yapılmış ve transkriptler tanımlanmıştır. Dizilerin analizi sonucunda, sekonder metabolit üretimi ile ilişkili olduğu düşünülen 10 adet gen seçilerek, gerçek zamanlı PZR (qRT-PCR) yöntemi ile ifade seviyeleri ölçülmüştür. Mevcut çalışma, elisitör ile indüklenmiş haşhaş bitkisinin kapsülünde bulunan transkriptlerin profillemesi, sekonder metabolit üretim yolağının aydınlatılmasına ışık tutması açısından önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Benzilizokinolin alkaloidi (BIA), haşhaş, metil jasmonat (MeJa), sekonder metabolit

Bioinformatic and Functional Analysis of Transcriptom Data in Opium poppy

Abstract

Opium poppy (*Papaver somniferum* L.) is traditionally cultivated in Turkey and it is important with regard to industrial and medical applications. Opium poppy produces several Benzyloquinolin alkaloids (BIA) such as narcotic analgesics morphine, the cough suppressant codeine, antimicrobial agent sanguinarine, vasodilator papaverine and potential anticancer agent noscapine. BIA biosynthesis is a complex pathway including a several number of enzymes. Transcriptom studies are predominant tools that are used to detect the enzymes taking part in the metabolic pathways. In this study, transcriptome data mining was carried out with the outputs of Next generation sequencing system in methyl jasmonate (MeJa) induced opium poppy morphine rich cultivars capsules. For this purpose, available databases were compared with opium poppy sequences using BLAST and Blast2Go analysis and transcripts were identified and annotated. As a result of these analyses, 10 genes considered to be related with the production of the secondary metabolite were selected and their expression levels were measured by quantitative real time PCR (qRT-PCR) method. This study will help to illuminate the secondary metabolite production pathway via profiling the transcripts found in capsule tissue upon fungal elicitor-induced opium poppy.

Key words: Benzyloquinolin alkaloid (BIA), opium poppy, methyl jasmonate (MeJa), seconder metabolite

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından EY28015B09 nolu proje ile desteklenmiştir.

***Lactobacillus rhamnosus* KPb7 ve E9 Suşlarından Safra Tuzu Hidrolaz Enzimi'nin Moleküler Klonlanması ve Ekspresyonu**

Yeşim Kaya¹, Kübra Hacıbeyoğlu², Zekiye Kılıçsaymaz² and Mehmet Öztürk²

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Muğla

² Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bolu

yesimkaya@mu.edu.tr

Özet

Safra tuzu hidrolaz (BSH) enzimi bağırsak florasında bulunan birçok probiyotik bakteri tarafından sentezlenmektedir. BSH pozitif probiyotik bakteriler sahip oldukları bu özellik sayesinde sindirim sisteminin zor koşullarında kolonize olup, safra tuzlarını dekonjuge edebilirler. Dekonjuge safra asitlerinin vücuttan atılımı ile kolesterolden yeni safra tuzları sentezi yapılması, vücuttaki toplam kolesterol seviyesinin düşmesini sağlamaktadır. Bunun yanı sıra bağırsak florasının birincil safra asitlerini ikincil safra asitlerine (dioksikolik asit ve litokolik asit) dönüştürmesiyle artan toksik sekonder metabolitlere maruz kalan hücrelerde DNA hasarı ve apoptozisin indüklenmesi kolon kanserine yol açar. BSH enzimi birçok türde hatta aynı türlerin farklı suşları arasında dahi polimorfizm göstermektedir. Bu nedenle BSH enziminin yapısı çok iyi bilinmemektedir. Bu çalışmada, BSH enziminin yapı ve fonksiyonunu anlamak için, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile *Lb. rhamnosus* KPb7 ve E9 suşlarından *bsh* gen dizileri çoğaltılmıştır. PZR ürünleri, klonlama vektörü pBluescript'e sokulmuş, DNA sekansı elde edilmiş ve daha sonra ekspirasyon vektörü pet22b'ye aktarılmıştır. Rekombinant suşlar *Escherichia coli* BLR(DE3) şusu kültüründe 0.01 mM isoprophylthiogalactopyranoside (IPTG) ile indüklenmiştir. Yüksek oranda ekspres edilen *bsh* proteinleri Ni⁺² şelatlı kolon kullanılarak pürifiye edilmiştir. Rekombinant *Bsh* 'ların sentezlenmesi sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile teyit edilmiştir. *Bsh* enzim aktiviteleri Ninhidrin ve Direk Besiyeri deneyleri ile ölçülmüştür. Araştırma sonuçları, *Lb. rhamnosus* KPb7 ve E9 suşlarının glikokonjuge safra tuzlarına (Glikokolik asit, Glikodeoksikolik asit ve Glikokenodeoksikolik asit) karşı aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Gelecekte BSH enzimlerinin aktif bölgelerindeki anahtar rezidülerini, substrat bağlanma ceplerini ve BSH enziminin substrat özgüllüğünü bulmak için iki klonun *bsh* geni üzerinde yönlendirilmiş mutagenез yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Lactobacillus rhamnosus*, Safra Tuzu Hidrolaz Enzimi, Gen Klonlanması, Gen Ekspresyonu

Molecular Cloning and Expression of Bile Salt Hydrolase Enzyme from *Lactobacillus rhamnosus* KPb7 and E9 Strains

Abstract

Bile salt hydrolase (BSH) enzyme is synthesized from lots of intestinal probiotic bacteria. BSH active probiotics colonize in harsh conditions of the intestinal tract and deconjugate the bile salts due to their BSH activities. Since free bile acids are excreted from the body, the synthesis of new bile salts from cholesterol can reduce the total cholesterol concentration in the body. On the other hand, increasing of toxic seconder metabolites via bacterial transformation of primary bile acids to secondary bile acids (Deoxycholic acid and Litocholic acid) cause damage on DNA and apoptosis induction which lead to colon cancer. BSH show polymorphism in different species and different strains of the same species. Because of this reason the structure and function is not known very well. In these studies, to understand BSH enzyme structure and function, the *bsh* genes were amplified from *Lb. rhamnosus* KPb7 and E9 strains by PCR reaction. PCR products were inserted into pBluescript cloning vector and sequenced and then inserted into pET22b expression vector. Recombinant *bsh* genes were induced with 0.01 mM of isoprophylthiogalactopyranoside in *Escherichia coli* BLR (DE3) strain. The highly expressed BSH proteins were purified with Ni²⁺ chelated column. Expression of recombinant BSH proteins was confirmed by sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). BSH enzyme activities were measured with ninhydrin and direct plate assays. Research results represented that *Lb. rhamnosus* KPb7 and E9 have activity toward glycoconjugated bile salts (Glychocholic acid, Glycodeoxycholic acid and Glychochenodeoxycholic acid). Site-directed mutagenesis can be applied for two clones containing *bsh* genes to find key residues of the active site, substrate binding pockets and substrate specificity of BSH enzyme in the future.

Keywords: *Lactobacillus rhamnosus*, Bile Salt Hydrolase (BSH), Gene Cloning, Gene Expression

Arabidopsis thaliana* (L.) bitkilerinin uniform olarak yetiştirilmesi için basitleştirilmiş bir hidroponik kültür sistemi

Yonca Surgun¹, Betül Bürün²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Muğla

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla

yoncasurgun@gmail.com

Özet

Hidroponik kültür bitkilerin büyütülmesinde yaygın ve sıklıkla kullanılan bir sistemdir. Moleküler araştırmalarda genellikle çevre kaynaklı varyasyonları minimize etmek amacıyla hidroponik sistemler tercih edilmektedir. Bu çalışmanın amacı *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh bitkilerinin senkronize büyümesini sağlayan bir hidroponik kültür sisteminin geliştirilmesidir. Hidroponik sistemin kurulumu iki temel aşamayı içermektedir. İlki, taş yünlerini içeren plastik tüplerin hazırlanması, ikincisi hazırlanan tüplerin, üzerinde delikler bulunan straforlara yerleştirilmesidir. Tüplerin yerleştirildiği straforlar daha sonra besin solüsyonu içeren hidroponik kültür kaplarına koyulur. Bir plastik kapta yaklaşık 30 bitki yetişmekte ve bu durum aynı kültürde yetişen bitkilerle birçok analizin gerçekleşmesine imkan vermektedir. Önerilen sistem gen ekspresyon çalışmalarında test edilmiş ve bağımsız deneyler sonucunda tekrarlanabilir sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca bu sistemde, önceki bazı hidroponik sistemlerin aksine tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi boyunca aktarım aşaması yoktur. Bu çalışmada, basitleştirilen hidroponik kültür sisteminin ekipmanları ve kurulumu, ayrıca model bitki *Arabidopsis thaliana* 'da sistemin kullanımı ve yararları tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Arabidopsis thaliana* (L.), hidroponik sistem, kolay kurulum, senkronize büyüme

A simplified hydroponic culture system for uniformly growing *Arabidopsis thaliana* (L.) plants

Abstract

Hydroponic culture is a widely and frequently used system for growth of the plants. Generally, hydroponic systems are preferred for molecular experiments to minimize variations that are based on external conditions. The objective of this work was to improve a hydroponic culture system for synchronous growth of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh plants. The construction of the hydroponic system could be divided into two main steps. Firstly, the plastic tubes with rockwool were prepared, secondly the prepared tubes, were placed in the styrofoam having holes. Then styrofoam which including the tubes were put in the hydroponic container with nutrient solution. One plastic container yielded up to approximately 30 plants and it allows to carry out numerous analyzes the plants which grown in the same culture. A suggested system was tested in gene expression studies and the reproducible results were obtained between the independent experiments. However, comparing to some hydroponic systems in the previous studies, there is no transplanting step during both seed germination and plant growth in the system described by the current study. This paper has discussed the construction and equipments of the simplified hydroponic culture system as well as its use and utility in the model plant *Arabidopsis thaliana*.

Keywords: *Arabidopsis thaliana* (L), easy setup, hydroponic system, synchronous growth

* Bu çalışma, Yonca Surgun'un Doktora Tez çalışmasının bir bölümüdür. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri biriminin 2011/36 nolu projesiyle desteklenmiştir.

Yabani Zeytinde (*Olea europaea* cv *oleaster*) Yüksek Verimli RNA Dizilemesi ile Yeni ve Korunmuş miRNA Tayini ve Hedef Genlerinin Belirlenmesi

Yusuf Pekmezci¹, Mine Türктаş¹, Turgay Ünver¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, FenFakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı

e-posta: myusufpekmezci@gmail.com

Özet

Zeytin bitkisi Akdeniz havzasına özgü ve iklimin tipik bitkilerinden birisi olup, sağlık, gıda, kozmetik gibi alanlarda yüksek ekonomik değeri olan ve ülkemizin de önemli miktarda yetiştiriciliğini üstlendiği bir ağaçtır. MikroRNAlar 18-22 nükleotid uzunluğunda, protein kodlamayan ancak gen ifadesi düzenlenmesinde post-transkripsiyonel olarak rol oynayan tek zincirli RNA dizileridir ve stres dayanıklılığı, gelişim gibi süreçlerde miRNAların işlevleri bilinmektedir. Bu çalışmada yabani zeytin bitkisinin yaprak ve pedisel dokularının Temmuz ve Kasım aylarında alınan örneklerinin RNAları izole edilerek yüksek verimli dizileme teknolojisiyle elde edilen okumalar üzerinden yeni ve korunmuş miRNAların tayini biyoinformatik olarak yapılmıştır. Bunun için farklı veribankalarından alınan pre-miRNA dizileri ile transkriptom okumaları BLAST analizleri yapılmıştır. Yeni miRNAların data setlerinden bulunması için daha önceden yapılmış olan küçük RNA okumalarının Zeytin Genom Survey Dizisi üzerine haritalanmasından yararlanılarak eşleşen dizilerin katlanma yapıları RNAfold yazılımı ile belirlenmiştir. Çalışmalar sonucu transkriptom kütüphanelerinden çok sayıda korunmuş ve yeni miRNA tespit edilmiştir. Tüm miRNAların karşılık gelen transkriptom üzerinde hedef gen analizi sonucu tespit edilen mRNAların gen ontolojisi yapılarak doku farklılaşmasında rol alan gen ve miRNAların seviyeleri eş zamanlı PCR ile doğrulanmıştır. Bulunan sonuçlar çerçevesinde zeytin türüne özgü yeni miRNAlar tanımlanmış ve bunların doku-mevsim değişikliklerinde seviyeleri gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyoinformatik, miRNA, Transkriptom, Yabani zeytin

Identification of Novel and Conserved miRNAs and Their Targets in Wild Olive (*Olea europaea* cv *oleaster*) via High-Throughput RNA Sequencing

Abstract

Olive is a tree that is specific to Mediterranean basin and one of the typical plants of the climate and has high values on fields like health, food, cosmetics and our country bears the production in significant amounts. MicroRNAs are 18-22 nucleotide long non-coding, single-stranded RNA sequences that regulate gene expression on post-transcriptional level and are known to be involved in various biological processes such as stress tolerance and development. In this study samples were taken on July and November from wild olive tree's pedicel and leaf tissues and their RNA extracted to identify conserved and novel miRNAs bioinformatically on the reads that were gathered from high throughput sequencing technology. To do that, pre-miRNA sequences from different databases were collected and analysed via BLAST on transcriptome reads. To obtain novel miRNA datasets smallRNAs from previous studies were used after being mapped on Genome Survey Sequence and foldings of matching sequences were defined with RNAfold software. As results of the studies numerous novel and conserved miRNA were detected. Confirmed mRNAs were subjected to gene ontology after target gene analysis of whole miRNAs on the corresponding transcriptome and expression levels of genes and miRNAs that play role in tissue specialization were validated via real-time PCR. Consequently, olive specific novel miRNAs were identified and their levels in tissue-season differentiation were observed.

Keywords: Bioinformatics, miRNA, Transcriptome, Wild olive

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi BAP Koordinasyon birimi tarafından FF12035L17 nolu proje ile desteklenmiştir.

2,4,6-trinitrotoluen (TNT) ile Kirlenmiş Sudan İzole Edilen Bakteriler ile TNT'nin Biyodegradasyonu

Zehra Gün Gök¹, Murat İnal¹, Mustafa Yiğitoğlu¹

¹ Kırıkkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kırıkkale

zzehragungok@gmail.com

Özet

Mutajenik özelliğinden, doğada yıkımın zor olmasından ve 2,4,6-trinitrotoluen (TNT) ile kirlenmiş alanların çok fazla olmasından dolayı TNT nitroaromatik bileşikler arasında en tehlikeli kirlenici olarak bilinmektedir. Bu çalışmada Kırıkkale Yahşıhan bölgesinden alınan TNT ile kirlenmiş su örneğinden mikrobiyolojik yöntemlerle TNT'yi azot kaynağı olarak kullanabilen ve TNT'yi metabolize edebilen bakteri suşları izole edilmiştir. TNT'yi yıkabilen bakteri suşlarının izolasyonu için su örneği yaklaşık on yıldır TNT kirliliğine maruz kaldığı bilinen araziden alınmıştır. Alınan su örneğinin TNT miktarı spektrofotometrik analizlerle belirlenmiştir. İzole edilen bakteriler azot kaynağı olarak sadece TNT bulunan besiyerinde kültür edilmiş ve izolatların TNT yıkım kapasiteleri besiyerinden belirli aralıklarla alınan örneklerin spektrofotometrik analizleri ile belirlenmiştir. İzole edilen bakteriler yapılan biyokimyasal testlerle karakterize edilmiştir ve tür analizleri 16S rDNA dizi analizi yöntemi ile belirlenmiştir. Bütün degradasyon çalışmalarında bakteriler 30°C'de ve 120 rpm'de inkübe edilmiştir. Su örneğinden izole edilen suşlar arasında TNT yıkım kapasitesi en iyi olan suşlar 16S rDNA dizi analizlerine göre SUK2 izolatı *Stenotrophomonas maltophilia*, SUK3 izolatı *Klebsiella pneumoniae*, SUK4 izolatı *Raoultella planticola* olarak tanımlanmıştır. Bu suşlarla TNT degradasyon çalışmalarında, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda TNT azalışı K2, K3 ve K4 izolatları için 100 ppm TNT içeren M8 besiyerinde sırasıyla %70, %96, %93 olarak belirlenmiştir. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) TNT'yi ana kirlenici madde olarak görür ve TNT'yi öncelikli mutajenik malzeme olarak listeler. Bu çalışmada izole edilen bakteri suşları TNT'yi etkili bir şekilde metabolize edebilmektedirler ve TNT ile kirlenmiş alanların biyoremediasyonunda kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: 2,4,6-trinitrotoluen, bakteri suşları, biyoremediasyon, degradasyon.

Biodegradation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) with Bacteria Isolated From TNT Contaminated Water

Abstract

2,4,6-trinitrotoluene (TNT) has been known as the most dangerous pollutant among the nitroaromatic compounds because of its mutagenic properties, its persistence in the environment, and the wide range of sites that are contaminated with TNT. In this work, strains of bacteria can use TNT as a nitrogen source and metabolize TNT were isolated by microbiological methods from TNT-contaminated water sample taken from Kırıkkale, Yahşıhan region. Water sample for isolation of bacteria that can break down TNT was taken from the land has been known to be exposed TNT contamination about ten years. The amount of TNT in the water sample was determined by spectrophotometric analysis. Isolated bacteria were cultured in medium which contains TNT as a sole nitrogen source and TNT degradation capacities of isolates were determined by spectrophotometric analysis of samples taken at regular intervals from the medium. Isolated bacteria were characterized by biochemical assays and strains were identified by 16S rDNA sequencing method. In all degradation studies, bacteria were incubated at 120 rpm and 30°C. Among isolated strains from water sample, the strains having best TNT degradation capacities were identified SUK2 isolate as *Stenotrophomonas maltophilia*, SUK3 isolate as *Klebsiella pneumoniae*, SUK4 isolate as *Raoultella planticola* according to their 16S rDNA sequence analysis. Reduction of TNT in minimal media which containing 100 ppm TNT of K2, K3 and K4 isolates were detected respectively 70%, 96% and 93% at the end of the incubation period of 24 hours. United States Environmental Protection Agency (EPA) sees TNT as the main contaminant and lists TNT as a priority mutagenic material. Isolated bacterial strains in this study are able to metabolize TNT efficiently and can be used in bioremediation of TNT contaminated sites.

Keywords: 2,4,6-trinitrotoluene, bioremediation, degradation, strains of bacteria.

***Lactobacillus plantarum* 'dan Elde edilen Safra Tuzu Hidrolaz Asn170Val Mutantının Fonksiyonel Karakterizasyonu**

Zekiye Kılıcsaymaz ve Mehmet Öztürk

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bolu

zkilicsaymaz@gmail.com

Özet

Probiyotiklerin kolesterol üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, sindirim sistemindeki probiyotiklerin safra tuzu hidrolaz enzim aktivitesi ile serum kolesterol seviyesini düşürdüğü varsayılmaktadır. Ağız yoluyla uygulanan *Lactobacillus* ların insan, fare, rat ve domuzlarda kan kolesterol seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Diğer taraftan, bağırsaktaki bakteriler tarafından salgılanan BSH'nin bağırsakta oluşturduğu dioksikolik asit ve litokolik asit gibi sekonder metabolitlerin toksik olmaları nedeni ile hücrede DNA hasarı oluşturarak ya da apoptozis'i indükleyerek kolon kanserine neden olduklarını gösteren birçok çalışma vardır. Bu kadar önemli olan BSH enziminin yapısı ve çalışma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu enzimin yapısını ve fonksiyonunu anlamak için kullanılan yöntemlerden biri yönlendirilmiş mutagenездir. Bu çalışmada yaklaşık altmış farklı *Lactobacillus* türüne ait BSH enzim aminoasit dizileri karşılaştırılmış ve bazı aminoasitlerin tamamen korunmuş olduğu bulunmuştur. Katalitik aktiviteden sorumlu olduğu varsayılan tamamen korunmuş Asn170 aminoasidini kodlayan kodon yönlendirilmiş mutagenез yöntemi ile pCON1 klonu kullanılarak Val170 aminoasidini kodlayan kodona dönüştürülmüştür. *bsh*/Asn170Val mutant geni ekspresyon vektörü olan pET22b ye klonlanmış ve *E. coli* BLR(DE3) suşunda yüksek düzeyde ifadesi gerçekleştirilmiştir. Glikodioksikolik asit tuzu ile inkübe edilen mutant hücre ve hücre ekstraktlarının katalitik enzim aktivitesi Ninhidrin ve Direkt Besiyeri yöntemiyle belirlenmiştir. Araştırma sonuçları Asn170Val mutasyonunun enzim aktivitesini tamamen kaybettiğini göstermiştir. Bu çalışma tamamen korunmuş Asn170 aminoasidinin enzim aktivitesinde ya da katlanmasında önemli bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Lactobacillus plantarum bsh*, Safra tuzu hidrolaz (BSH), Yönlendirilmiş mutagenез

Functional Characterisation of Asn170Val Mutant Bile Salt Hydrolase Enzyme from *Lactobacillus plantarum*

Abstract

Although the mechanism of the probiotics actions on cholesterol was not known exactly, it has been supposed that probiotics in human gastrointestinal tract have ability to decrease serum cholesterol level by the activity of bile salt hydrolase enzyme (BSH). It was shown that the reduction of cholesterol level in blood by oral application of *Lactobacillus* has been demonstrated in human, mouse, rat and pigs. On the other hand, there are a lot of studies indicating that some of the bile acids such as deoxycholic and lithocholic acid deconjugated with BSH enzyme caused colon cancer because of damage on DNA and apoptosis induction. The structure and working mechanism of such an important BSH enzyme was not known very well. Site-directed mutagenesis is one of the methods used to understand structure and function of the enzymes. In this study, amino acid residues of BSH enzymes from almost sixty different *Lactobacillus* species were aligned and it was found that some amino acids were totally conserved. The codons of the totally conserved amino acid, Asn170 supposed to be responsible for catalytic activity, was substituted for Val170 amino acid by site directed mutagenesis by using pCON1 clone. Asn170Val/*bsh* mutant gene was cloned into pET22b expression vector and overexpressed in BLR(DE3) *E. coli* strain. The effects of the mutation on catalytic activity of enzyme was detected by Direct Plate and Ninhidrin Assays in which the mutant cell and cell extracts were incubated with Glydeoxycholic acid salt. Research results indicate that Asn170Val mutation led to a complete loss of enzyme activity. The result supports the idea that totally conserved amino acid Asn170 may play important role in the enzyme activity or assembly.

Keywords: Bile salt hydrolase (BSH), *Lactobacillus plantarum bsh*, Site-directed mutagenesis

***Lactobacillus plantarum* 'dan Elde edilen Safra Tuzu Hidrolaz Asn170Val Mutantının Fonksiyonel Karakterizasyonu**

Zekiye Kılıcsaymaz ve Mehmet Öztürk

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bolu

zkilicsaymaz@gmail.com

Özet

Probiyotiklerin kolesterol üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, sindirim sistemindeki probiyotiklerin safra tuzu hidrolaz enzim aktivitesi ile serum kolesterol seviyesini düşürdüğü varsayılmaktadır. Ağız yoluyla uygulanan *Lactobacillus* ların insan, fare, rat ve domuzlarda kan kolesterol seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Diğer taraftan, bağırsaktaki bakteriler tarafından salgılanan BSH'nin bağırsakta oluşturduğu dioksikolik asit ve litokolik asit gibi sekonder metabolitlerin toksik olmaları nedeni ile hücrede DNA hasarı oluşturarak ya da apoptozis'i indükleyerek kolon kanserine neden olduklarını gösteren birçok çalışma vardır. Bu kadar önemli olan BSH enziminin yapısı ve çalışma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu enzimin yapısını ve fonksiyonunu anlamak için kullanılan yöntemlerden biri yönlendirilmiş mutagenездir. Bu çalışmada yaklaşık altmış farklı *Lactobacillus* türüne ait BSH enzim aminoasit dizileri karşılaştırılmış ve bazı aminoasitlerin tamamen korunmuş olduğu bulunmuştur. Katalitik aktiviteden sorumlu olduğu varsayılan tamamen korunmuş Asn170 aminoasidini kodlayan kodon yönlendirilmiş mutagenез yöntemi ile pCON1 klonu kullanılarak Val170 aminoasidini kodlayan kodona dönüştürülmüştür. *bsh*/Asn170Val mutant geni ekspresyon vektörü olan pET22b ye klonlanmış ve *E. coli* BLR(DE3) suşunda yüksek düzeyde ifadesi gerçekleştirilmiştir. Glikodioksikolik asit tuzu ile inkübe edilen mutant hücre ve hücre ekstraktlarının katalitik enzim aktivitesi Ninhidrin ve Direkt Besiyeri yöntemiyle belirlenmiştir. Araştırma sonuçları Asn170Val mutasyonunun enzim aktivitesini tamamen kaybettiğini göstermiştir. Bu çalışma tamamen korunmuş Asn170 aminoasidinin enzim aktivitesinde ya da katlanmasında önemli bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Lactobacillus plantarum bsh*, Safra tuzu hidrolaz (BSH), Yönlendirilmiş mutagenез

Functional Characterization of Asn170Val Mutant Bile Salt Hydrolase Enzyme from *Lactobacillus plantarum*

Abstract

Although the mechanism of the probiotics actions on cholesterol was not known exactly, it has been supposed that probiotics in human gastrointestinal tract have ability to decrease serum cholesterol level by the activity of bile salt hydrolase enzyme (BSH). It was shown that the reduction of cholesterol level in blood by oral application of *Lactobacillus* has been demonstrated in human, mouse, rat and pigs. On the other hand, there are a lot of studies indicating that some of the bile acids such as deoxycholic and lithocholic acid deconjugated with BSH enzyme caused colon cancer because of damage on DNA and apoptosis induction. The structure and working mechanism of such an important BSH enzyme was not known very well. Site-directed mutagenesis is one of the methods used to understand structure and function of the enzymes. In this study, amino acid residues of BSH enzymes from almost sixty different *Lactobacillus* species were aligned and it was found that some amino acids were totally conserved. The codons of the totally conserved amino acid, Asn170 supposed to be responsible for catalytic activity, was substituted for Val170 amino acid by site directed mutagenesis by using pCON1 clone. Asn170Val/*bsh* mutant gene was cloned into pET22b expression vector and overexpressed in BLR(DE3) *E. coli* strain. The effects of the mutation on catalytic activity of enzyme was detected by Direct Plate and Ninhidrin Assays in which the mutant cell and cell extracts were incubated with Glydeoxycholic acid salt. Research results indicate that Asn170Val mutation led to a complete loss of enzyme activity. The result supports the idea that totally conserved amino acid Asn170 may play important role in the enzyme activity or assembly.

Keywords: Bile salt hydrolase (BSH), *Lactobacillus plantarum bsh*, Site-directed mutagenesis

POSTER BİLDİRİ ÖZETLERİ

Moleküler İslah Yöntemiyle Yüksek Miktarda Demir İçeren ve Verimi Artırılmış Patates Hatlarının Geliştirilmesi

Ahmet Şahin¹, Mehmet Emin Çalışkan², Emre Aksoy³

Niğde Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Genetik Mühendisliği, 51240 Niğde

ahmet.sahin@mail.nigde.edu.tr

Özet

Patates, dünyada en çok üretimi yapılan 5. kültür bitkisi olup yumrularında biriktirdiği karbohidrat, protein ve vitaminlere ek olarak özellikle yüksek oranda demir içeren tarımsal bir üründür. Temel mikro-besin maddelerinden bir tanesi olan demir her ne kadar doğada sık rastlanan bir metal olsa da, toprakta çözülmemiş halde bulunduğundan dolayı bitkiler tarafından emilmesi çok zordur. Demirin çözülmesi için toprağın asiditesinin yüksek olması gerekir. Özellikle kireçli toprakların asiditesinin düşük olmasından dolayı, bu tür topraklarda büyüyen bitkilerde demir yetersizliği çok sık gözlenir. Ne yazık ki Türkiye topraklarının büyük bir kısmı kireçli topraklarla kaplı olduğundan tarımsal öneme sahip patates gibi bitkiler sürekli demir eksikliğine maruz kalırlar. Bu da patates veriminin düşük olmasına neden olur. İnsan diyetinin temel maddesi bitkiler olduğundan, bitkilerde oluşacak demir eksikliği dolaylı yoldan insan sağlığını da etkiler. Aneminin en önemli nedeni olan demir yetmezliği, hem Türkiye’de, hem de dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Bu nedenden dolayı önerilen bu projenin nihai amacı yüksek miktarda demir içeren verimi artırılmış patates hatlarının geliştirilmesidir. Bu amaca yönelik ilk olarak *Arabidopsis thaliana* IRT1, IRT2 ve NAS4 proteinlerinin *Solanum tuberosum*’daki yüksek benzerlik gösteren homologları (sırasıyla %68, %63 ve %60) pBLAST analizi sonucunda bulunmuş ve bu homologların filogenetik bağlantıları incelenmiştir. 200 patates hattında demirin bitki içine alınması ve taşınmasında rol oynayan IRT ve NAS proteinlerinin ve bu proteinleri üreten genlerin demir eksikliğindeki ifade seviyelerine bakılarak, en yüksek IRT ve NAS seviyesine sahip hatlar belirlenecektir. Bu hatların dokularındaki demir miktarları tayin edilerek, yüksek oranda demir biriktiren patates hatları seçilip bu hatların ürün verimliliği araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: biyoinformatik analiz, demir eksikliği, gen ifadesi, moleküler ıslah, patates

Improvement of Potato Varieties with Higher Iron Content and Yield by Molecular Breeding

Abstract

Potato is the fifth most produced crop in the world and accumulates high levels of carbohydrates, proteins, vitamins as well as iron in its stolons. Being one of the essential micronutrients, iron is found highly in nature although it cannot be absorbed readily by roots due to its low solubility in alkaline environments such as calcerous soils. Plants grown on such soils are often exposed to iron deficiency. Since majority of soil is calcerous in Turkey, unfortunately agriculturally important crops like potato are exposed to constant iron deficiency, leading to lower potato yields. Iron deficiency in plants in turn affects the human health since the plants are the main iron source in human diet. Being the most important cause of anemia, iron deficiency continues to be a major public health problem both in Turkey and in the world. For this reason, the ultimate goal of this project is the development of potato varieties with higher yield and iron content. We first identified the homologs of *Arabidopsis thaliana* IRT1, IRT2 ve NAS4 in *Solanum tuberosum* with very high homology percentages (68%, 63% ve 60%, respectively) in pBLAST analyses and investigated the phylogenetic relationships of them. The expression levels of genes and proteins (IRTs and NAS) function if iron uptake and distribution in plants will be detected in 200 potato varieties under iron deficiency. Varieties showing the highest IRT and NAS levels will be determined. Then, the potato varieties with the highest iron content and yield will be determined among selected varieties.

Keywords: bioinformatics, gene expression, iron deficiency, molecular breeding, potato

Güneydoğu Anadolu Bölgesin’de Yetişen *Vicia* L. (Fabaceae) Taksonlarının Nüklear Ribozomal ITS Dizilerine Dayalı Moleküler Filogenetik Analizleri

Alevcan Kaplan¹, A.Selçuk ERTEKİN², Nur YILDIRIM³, Esra Gündüzer³

¹Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü- Batman

²Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü-Diyarbakır

³Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi- Ankara

kaplanalevcan@gmail.com

Özet

Günümüzde teknolojinin hızla ilerlemesi ile modern tekniklerin getirdiği imkânlardan filogeni çalışmalarında da faydalanılmaya başlanmış olup, pür sistematik çalışmalar dışında biyokimyasal, sitolojik ve moleküler yöntemler aracılığıyla daha detaylı olarak incelenmektedir. Bu çalışmada da Güneydoğu Anadolu Bölgesin’de yetişen *Vicia* L. türlerinin nüklear ribozomal DNA ITS (Internal Transcribed Spacer; ITS1+5.8S rDNA+ ITS2) dizilerine dayalı türler arası filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi ve morfolojik verilerle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Materyal olarak bölgenin farklı lokalitelerinden toplanmış olan *Vicia* L. (Fabaceae) cinsinin taksonları oluşturmuştur. Morfolojik çalışmalarda bitkinin çeşitli kısımlarını (yaprak, çiçek, meyve, tohum gibi) içeren yaklaşık 50 karakter incelenerek ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın deneysel aşamalarını DNA izolasyonu, DNA amplifikasyonu ve DNA dizi sekanslaması oluşturmuştur. DNA dizileri Clustal W programı yardımıyla hizalanmıştır. Moleküler evrimsel analizler Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) versiyon 5.1 Beta 2 akrabalık analiz programının uygun parametresi ile yapılmıştır. Filogenetik ağaç oluşturulurken uzaklık temelli yöntemlerden UPGMA kriteri seçilerek bootstrap testi uygulanmıştır. ITS bölgesinin uzunluğu yaklaşık 602- 672 bp olarak belirlenmiştir. Nokta mutasyonlar, korunan ve değişen karakterler hakkında informatik bilgiler elde edilmiştir. Seksiyon düzeyinde ayrımı yapılan türler, oluşturulan filogenetik ağaçta, genetik uzaklık bakımından da anlamlı bir şekilde ayrılarak gruplaşmışlardır. Elde edilen veriler *Vicia* L. cinsinin taksonomik problemlerin çözümünde kullanılabilecek güvenilir bilgiler vermiştir. Yapılan morfolojik ayrımlar DNA sekans çalışmalarıyla desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fabaceae, ITS, moleküler filogeni, nrDNA, *Vicia* L.

Molecular Phylogenetic Analyses of *Vicia* L. (Fabaceae) Taxons Growing in the Southeastern Anatolia Region Based on Nuclear Ribosomal ITS Sequences

Abstract

Nowadays, the rapid progress of technology has enabled us to use the possibilities of modern technics also in the phylogeny studies and examine them in a greater detail via the biochemical, cytological and molecular methods outside of pure systematic studies. This study is aimed at determining the interspecies phylogenetic relations of *Vicia* L. species growing in the Southeastern Anatolia Region based on Nuclear Ribosomal DNA ITS (Internal Transcribed Spacer; ITS1+5.8S rDNA+ ITS2) sequences and comparing them with morphological data. The materials consist of the taxons of *Vicia* L. (Fabaceae) species that were collected from different localities of the region. In the morphological studies, we examined and measured approximately 50 characters containing various parts of the plant (such as leaf, flower, fruit and seed). The experimental stages of the study consist of the DNA isolation, DNA amplification and the DNA sequencing. DNA sequences were aligned via the Clustal W program. Molecular evolutionary analyses were performed with a convenient parameter of the Beta 2 affinity analysis program of Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 5. 1. While forming the phylogenetic tree, we selected the UPGMA criteria among the distance-based methods and applied the bootstrap test. The length of the ITS area was determined approximately as 602- 672 bp. We obtained information about the point mutations, as well as the protected and the changing characters. The species being distinguished in the section level were significantly separated and grouped also in terms of distance on the phylogenetic tree. The acquired data were observed to be reliable in terms of being used in the solution of the taxonomical problems of the *Vicia* L. species. The morphological separations were supported with the DNA sequence studies.

Key Words: Fabaceae, ITS, Molecular Phylogeny, nrDNA, *Vicia* L.

Molecular characterization of *Alternaria* species isolated from *Pistacia vera* L.

Safa Jasım Ali¹, Feyza Nur Kafadar¹, Ali Jadaan Al-Aayedi¹, Selçuk Basbuğa¹, Ayhan Turan¹, Edibe Özgün¹, Kamil Sarpkaya², Fatma Konukoğlu², Canan Can¹

¹ Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep

² Gaziantep Fıstık Araştırma Enstitüsü, Gaziantep

incik@gantep.edu.tr

Özet

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) Türkiye de önemli ekonomik gelir getiren bir tarım ürünüdür. Antepfıstığında (*Pistacia vera* L.) ve diğer birçok önemli tarım bitkilerinde *Alternaria* spp. verim kaybına neden olmaktadır. Antepfıstığında

Alternaria yanıklık hastalığına karşı dayanıklılıkta popülasyonun yapısıyla ilgili bilgiler çok önem taşımaktadır. Bu çalışmada *Alternaria* spp. izolatlarını karakterize etmek için doğrudan PCR-RFLP metodları kullanılmıştır. *Alternaria* spp. izolatları Türkiye'nin farklı fıstık yetiştiriciliği yapılan alanlarından olmak üzere 29 lokasyondan yerli kültürlerden elde edilmiştir. (ITS), Aktin ve (TEF) bölgelerinden özel tasarlanmış spesifik primerler kullanılarak *Alternaria* türlerinin tespit edilip tanımlanması için PCR yapılmıştır. Sırasıyla (ITS), Aktin ve (TEF) olmak üzere yaklaşık 600 bp, 250 bp ve 280 bp ampliconlar elde edilmiştir. PCR ürünleri *Hind*III, *Pst*I, *Taq*I ve *Eco*RI endonükleaz kesim enzimleri ile elde edilmiştir. ITS ve TEF deki *Hind* III, *Taq*I ve *Eco*RI lerde yüksek polimorfizm gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pistacia vera* L., *Alternaria*, PCR-RFLP.

Molecular characterization of *Alternaria* species isolated from *Pistacia vera* L.

Abstract

Pistacia vera L. is an important crop species in Turkey with considerable economic income. *Alternaria* spp cause yield loss in *Pistacia vera* L. and many other agriculturally important plants. Information on population structure is critical in breeding for resistance to *Alternaria* blight in pistachio. This study was carried out to characterize *Alternaria* isolates through PCR-RFLP. *Alternaria* spp isolates were recovered from local cultivars from 29 locations in different pistachio growing districts of Turkey. PCR based assay was developed for the detection and identification of *Alternaria* spp. using specific primers designed from nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS), Actin and Translation Elongation Factor (TEF) regions. Approximately 600 bp, 250 bp and 280 bp amplicons were obtained for ITS, Actin and TEF, respectively. The PCR products were cut with *Hind*III, *Pst*I, *Taq*I and *Eco*RI restriction endonucleases. High level of polymorphism was observed with *Hind*III, *Taq*I and *Eco*RI on ITS and TEF.

Keywords: *Pistacia vera* L., *Alternaria*, PCR-RFLP.

Prolin-Kuyruğun *Anoxybacillus* sp. Litik Murein Transglikosilazın Optimum Sıcaklık ve pH'sı Üzerine Etkisi

Esmâ Ceylan¹, Ayşenur Eminoğlu², Halil İbrahim Güler³, Zümrüt Kurnaz¹, Ali Osman Beldüz¹

¹ Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Trabzon

² Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Rize

³ Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Artvin

belduz@ktu.edu.tr

Özet

Son yıllarda protein mühendisliğinde rekombinant proteinlerin özelliklerinin geliştirilmesi amacı ile pek çok yöntem geliştirilmiştir. Prolin hem linker hem de loop bölgelerinde en çok tercih edilen amino asittir. Prolin hidrojen bağlanmasında amid hidrojeni vermeyen siklik bir imino asit olması nedeni ile önemli bir amino asittir. Korunmuş Pro birimleri, kararlılık için çok önemlidir. Bir prolin-kuyruk katlanmamış haldeki proteinin konformasyonel entropisinde azalış meydana getireceğinden, bir proteini kararlı yapabilir. Örnek olarak; *Thermoanaerobium brockii*'deki ikinci alkol dehidrogenaz, mezofilik homoloğu olan *Clostridium beijerinckii*'den sekiz prolin fazla içermektedir. Bu amaçla çalışmamızda *Anoxybacillus* sp. 'ye ait bir litik murein transglikosilazın (LMT) C-terminaline bir (proline-kuyruk)₁₂ kuyruk eklendi. Protein pET-28a' ya N-terminal His-Kuyruk içerecek şekilde klonlandı ve *E. coli* BL21 (DE3) pLysS içerisinde ekspres edildi. Prolin kuyruklu rekombinant protein ile prolin kuyuksuz yaban tip rekombinant proteinin karşılaştırmalı biyokimyasal karakterizasyonu yapıldı. Prolin-kuyruğun prolin kuyruk içermeyen yaban tip rekombinant proteine göre, LMT'nin optimum sıcaklığını ~5°C arttırdığı ve optimum pH değerini ise; pH 6.5'ten pH 7.0'ye çıkardığı ortaya konulmuştur. Çalışmamızın bu sonuçları, prolin-kuyrukların, rekombinant proteinlerin sıcaklık ve pH değerlerini arttırmada kullanılabileceklerini göstermiştir. Prolin kuyruğun rekombinant proteinin kararlılığı üzerine etkisi ile ilgili çalışmalarımız ise devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Prolin-Kuyruk, Optimum sıcaklık ve pH değerlerinin arttırılması,,Rekombinant protein.

Effect of Prolin-Tag on the Optimum Temperature and pH of A Lytic Murein Transglycosylase from *Anoxybacillus* sp.

Abstract

In the recent years in protein engineering, many different methods were developed to improve the feature of recombinant proteins. Proline is the most preferred amino acid type in both linker and loop regions. Proline is an important amino acid as it is a cyclic imino acid with no amide hydrogen to donate in hydrogen bonding. Conserved Pro residues are important for protein stability, thus a poly proline-tag should stabilize a protein, due to a decrease in conformational entropy of the unfolded state. For example; the secondary alcohol dehydrogenase from *Thermoanaerobium brockii* contains eight more prolines than its mesophilic homologue from *Clostridium beijerinckii*. In this purpose in this study we designed a (proline-tag)₁₂ joined to the C-terminal of the lytic murein trans glycosylase (LMT) from *Anoxybacillus* sp. The protein was cloned in to pET-28a with N-terminal His-tag and expressed in *E. coli* BL21 (DE3) pLysS. Comparative biochemical characterization of the proline tagged recombinant protein with the non- proline tagged native recombinant protein revealed that, proline-tag has increased the recombinant LMTs optimum temperature ~5°C and the optimum pH; from pH 6.5 to pH 7.0 with regard to non-prolin tagged native recombinant protein. The result of our study showed that poly-prolin tags could be used to improve the stability of the recombinant proteins. Studies on the stability of the recombinant protein of the effects of proline-tag are in progress.

Keywords: Proline-Tag, Increasing optimum temperature and pH, Recombinant protein.

***Geobacillus Thermodenitrificans* C5 Halotolarant Ksilanazın Klonlanması, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu**

¹Muhammad Irfan, ²Halil İbrahim Guler, ¹Aamer Ali Shah, ³Fulya Ay Şal, ⁴Kadriye İnan, ³Ali Osman Beldüz

¹Quaid I Azam Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Fakültesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Islamabad, Pakistan

²Artvin Çoruh Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 08000 Artvin, Türkiye

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080 Trabzon, Türkiye

⁴Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, 61080 Trabzon, Türkiye

belduz@ktu.edu.tr

Özet

Geobacillus thermodenitrificans C5 suşundan elde edilen hücre dışı ksilanaz enziminin *E.coli* BL21 suşunda ekspres edilmesiyle yüksek bir aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. (994.50 IU/mL). Isıya dayanıklı ksilanaz enzimi (GthC5Xyl) saflaştırılmış ve SDS-PAGE analizine göre 44 kDa büyüklüğünde olduğu belirlenmiştir. Saflaştırılan GthC5Xyl enziminin spesifik aktivitesi 9.89 kat saflaştırma ile 1243.125IU/mg olarak belirlenmiştir. CoCl₂, MnSO₄, CuSO₄, MnCl₂ ile GthC5Xyl enziminin aktivitesinin pozitif yönde arttığı belirlenirken, FeSO₄, Hg, ve CaSO₄'ın inhibitör etkisi gösterdiği görülmüştür. GthC5Xyl; SDS, Tween 20, Triton X-100, β-Mercaptoethanol, PMSF, DTT, NEM ve DEPC ve EDTA'ya karşı direnç göstermiştir. Buğday ksilanazına karşı daha büyük bir affinite gösteren enzimin optimum sıcaklığı 60 C° ve optimum pH'sı 6.0 olarak bulunmuştur. Enzimin yüksek sıcaklıklarda (70°C-80°C) ve düşük pH (4.0 to 8.0) aralığında selülotik aktivitesini uzun süre kaybetmediği görülmüştür. Buğday ksilanı ile enzimin muamelesi sonucu ksilopentoz son ürün olarak elde edilmiştir. Yüksek SDS direnci ve geniş bir pH aralığı olan GthC5Xyl enzimi; özellikle tekstil, deterjan üretimi ve hayvan yem sanayindeki endüstriyel süreçlerde büyük bir öneme sahip olacak özelliktedir.

Anahtar Kelimeler: *Geobacillus thermodenitrificans*, ısıya dayanıklı GthC5Xyl enzimi, rekombinant ksilanaz

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK Bilimsel Araştırma Merkezi ve Pakistan Yüksek Eğitim Kurulu tarafından desteklenmiştir.

Cloning, Purification And Characterization Of Halotolerant Xylanase From *Geobacillus Thermodenitrificans* C5

Abstract

High levels of extracellular xylanase activity (994.50 IU/ml) produced by *Geobacillus thermodenitrificans* C5 were detected when it was expressed in *E. coli* BL21 host. Thermostable xylanase (GthC5Xyl) was purified to homogeneity and showed a molecular mass of approximately 44 kDa according to SDS-PAGE. The specific activity of the purified GthC5Xyl was up to 1243.125IU/mg with a 9.89-fold purification. The activity of GthC5Xyl was stimulated by CoCl₂, MnSO₄, CuSO₄, MnCl₂ but was inhibited by FeSO₄, Hg, CaSO₄. GthC5Xyl showed resistant to SDS, Tween 20, Triton X-100, β-Mercaptoethanol, PMSF, DTT, NEM and DEPC and EDTA. A greater affinity for oat spelt xylan was exhibited by GthC5Xyl with maximum enzymatic activity at 60°C and 6.0 pH. The activity portrayed by GthC5Xyl was found to be acellulytic with stability at high temperature (70°C-80°C) and low pH (4.0 to 8.0). Xylobiose and xylopentose were the end products of proficient oat spelt xylanase hydrolysis by GthC5Xyl. High SDS resistance and broader stability of GthC5Xyl proves it to be worthy of impending application in numerous industrial processes especially textile, detergents and animal feed industry.

Keywords: *Geobacillus thermodenitrificans*, thermostable GthC5Xyl enzyme, recombinant xylanase

Acknowledgement: This study was financially supported by TÜBİTAK Scientific and Research Council of Turkey and Higher Education Commission of Pakistan.

Anilofos Pestisitinin *Allium cepa* L.' da Mitoz Bölünme ve Kromozomlar Üzerine Etkisi

Arzu ÖZKARA¹, Dilek AKYIL¹, Muhsin KONUK²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar

²Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

arzuozkara@gmail.com

Özet

Bu çalışmada, bir pestisit olan Anilofos'un *Allium cepa* L.'da mitotik safha oranları, mitotik indeks ve kromozomlar üzerine olan etkileri araştırılmıştır. *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testinde, Anilofos'un etkili konsantrasyon (EC_{50}) değeri yaklaşık 50 ppm olarak belirlenmiş ve Pyracarbolid'in EC_{50} değeri (50 ppm), EC_{50} değerinin yarısı ($EC_{50}/2=25$ ppm) ve EC_{50} değerinin iki katı ($2 \times EC_{50}=100$ ppm) konsantrasyonları soğan köklerine 24, 48 ve 72 saat süreyle uygulanmıştır. Çalışmaya paralel olarak bir negatif ve bir de pozitif kontrol uygulaması da gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar SPSS 18.0 for Windows paket programında Dunnet-t testi (iki yönlü) ile $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Bu kimyasalın uygulanan bütün dozları *Allium cepa*'nın kök uçlarında hücre bölünmesi üzerinde inhibitör etkisi göstermiş ve tüm uygulama sürelerinde mitotik indeks üzerinde bir azalmaya neden olmuştur. Ayrıca Anilofos'un test materyalinde kromozom anormalliklerini de artırdığı tespit edilmiş olup bu anormallikler sıklıkla anafaz köprüsü, yapışkanlık ve kalgın kromozomlar şeklindedir. Bu anormalliklerin yanı sıra c-metafaz, dağılmış nukleus ve binükleer hücrelere de rastlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Allium test, Anilofos, Kromozom anormallikleri, Mitotik indeks

The Effects of Anilofos on Mitotic Division and Chromosomes in *Allium cepa* L.

Abstract

In this study, the effects of Anilofos was investigated on mitotic phases, mitotic index and chromosomes in *Allium cepa* L. In the Allium root growth inhibition test EC_{50} value was determined 50 ppm and $1/2 \times EC_{50}$ (25 ppm), EC_{50} (50 ppm) and $2 \times EC_{50}$ (100 ppm) concentrations of Anilofos were applied to onion roots. A negative and positive control were used in the experiment in parallel. The obtained results were evaluated to statistical analyses by using Dunnett-t test (two tailed) and $p<0.05$ was accepted as significant value. All concentrations of this chemical showed an inhibitory effects on cell division in root tips of *Allium cepa* and caused a decrease in mitotik index values in all treatment times. In addition this compound increased chromosome abnormalities in test material. These abnormalities were anaphase bridges, stickiness, laggard chromosome. In anaphase-telophase cells, c-metaphase, disturbed nucleus and binuclear cells were observed in other anomalies.

Keywords: Allium Test, Anilofos, Chromosome abnormalities, Mitotic index

Pyracarbolid Pestisitinin Muhtemel Sitotoksitesinin *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Belirlenmesi

Arzu ÖZKARA¹, Dilek AKYIL¹, Muhsin KONUK²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar

²Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

arzuozkara@gmail.com

Özet

Allium testi çevresel kirleticilerin genotoksik etkilerinin incelenmesi ve kimyasal maddelerin etkilerinin taranması bakımından oldukça faydalı test sistemlerinden biridir. Bu çalışmada, tarımda yaygın olarak kullanılan Pyracarbolid fungusitinin sitotoksik etkisinin *Allium* test sistemi ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testinde, Pyracarbolid'in etkili konsantrasyon (EC_{50}) değeri yaklaşık 50 ppm olarak belirlenmiş ve Pyracarbolid'in EC_{50} değeri (50 ppm), EC_{50} değerinin yarısı ($EC_{50}/2=25$ ppm) ve EC_{50} değerinin iki katı ($2 \times EC_{50}=100$ ppm) konsantrasyonları soğan köklerine 24, 48 ve 72 saat süreyle uygulanmıştır. Böylelikle fungusitin kök büyümesi ve mitotik indeks üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan *Allium* testinden elde edilen sonuçlar SPSS 18.0 for Windows paket programında Dunnet-t testi (iki yönlü) ile $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Sonuç olarak fungusitin tüm uygulama süreleri ve tüm konsantrasyonlarda mitotik indeksi anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Allium* Test, Pyracarbolid, Sitotoksiste

Potential Cytotoxicity of Pyracarbolid in Root Tip Cells of *Allium cepa* L.

Abstract

Allium test is very useful test system which examine the effects of environmental pollutants and screen the genotoxic effects of chemicals. So, in this study, we aimed to evaluate the cytotoxic effects of Pyracarbolid fungicide which is widely used in agriculture by using *Allium* test. In *Allium* root growth inhibition test, EC_{50} was determined approximately 50 ppm and, 25 ($0.5 \times EC_{50}$), 50 (EC_{50}) and 100 ($2 \times EC_{50}$) ppm concentrations of Pyracarbolid were performed to onion roots for 24, 48 and 72 h. The obtained results were evaluated to statistical analyses by using Dunnett-t test (two tailed) and $p<0.05$ was accepted as significant value. The results indicated that Benodanil significantly decreased the mitotic index in all treatments when compared with negative control. Thus, it was researched the effects of fungicide on root growth and mitotic index and identified to decrease mitotic index significantly at all treatment periods and all concentrations of fungicide.

Keywords: *Allium* Test, Pyracarbolid, Cytotoxicity

Alternatif Bir Karbon Kaynağı olarak Bakteriyel Alginat Üretiminde Maltozun Kullanımı

Çiğdem Kıvılcımdan Moral, Ayça Erdem

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Antalya

cigdemmoral@akdeniz.edu.tr

Özet

Alginat manuronik (M) ve guluronik (G) asit monomerlerinden oluşan doğal bir polimerdir. Günümüzde halen kahverengi alglerden elde edilen alginatlar aynı zamanda bazı *Azotobacter* ve *Pseudomonas* türleri tarafından da sentezlenmektedir. Bakteriyel alginat üretiminde genellikle glikoz gibi basit şekerler kullanılmaktadır. Bu durum üretim maliyetini arttırmakta dolayısıyla bakteriyel alginat, algal alginat ile rekabet edememektedir. Bu nedenle alginat üretiminde ucuz karbon kaynaklarının bulunması son derece önemlidir. Bazı gıda sanayi atıksuları çeşitli şekerleri içermekte olup bunlardan biri de başlıca şekeri maltoz olan bira sanayi atıksuyudur. Bu çalışmada maltoz ana karbon kaynağı olarak modifiye Burk's besiyerine eklenerek *Azotobacter vinelandii* ATCC® 9046 ile sabit sıcaklık ve karıştırma hızında alginat üretimi gerçekleştirilmiştir. Deneyler süresince alginat ve bakteri üretimi ile şeker kullanımı izlenmiştir. Ek olarak üretilen alginatın endüstriyel açıdan önemli olan viskozite ve monomer dağılımı gibi özellikleri belirlenmiştir. Alginat üretimi 72 saatlik deney sırasında artarak devam etmiş ve maksimum 2,87 g/L'ye ulaşmıştır. Bu değer 0,53 g alginat/g bakteri'ye karşılık gelmekte olup, maltozun yaklaşık %90'ı deney sonunda tükenmiştir. Genellikle polimerlerin moleküler ağırlığı arttıkça besiyer viskozitesi de artmaktadır. Dolayısıyla besiyer viskozitesi dolaylı olarak, üretilen polimerin moleküler ağırlığı hakkında bilgi vermektedir. Maksimum besiyer viskozitesi benzer şekilde 72 saatte 2,96 cP olarak belirlenmiş olup deneysel şartların etkin bir polimerleşmeye uygun olmadığını göstermektedir. Alginat önce manuronik asit olarak sentezlenmekte daha sonra çoğunluğu hücre dışı olan bir grup enzimle guluronik aside epimerize olmaktadır. Alginatın monomer dağılımında MM, MG ve GG blok yapılarının tamamı gözlenmiş ve daha çok GG blok içermektedir (72 saatte % 17 MM, %31 MG, %52 GG blok).

Anahtar Kelimeler: Alginat, *Azotobacter vinelandii*, Maltoz, Monomer dağılımı, Viskozite

Use of Maltose as an Alternative Carbon Source for Bacterial Alginate Production

Abstract

Alginate is a natural polymer made of mannuronic (M) and guluronic (G) acids. Nowadays, alginate has been still obtained by brown algae, at the same time, some species of *Azotobacter* and *Pseudomonas* synthesize alginate. Simple sugars like glucose are usually used for bacterial alginate production. This situation increased production cost so, bacterial alginate cannot compete with algal alginate. For this reason, it is extremely important to find out cheap carbon sources for alginate production. Some food industry wastewaters contain various sugars that brewery wastewater is one of them having maltose as a primary sugar. In this study, alginate production was achieved by *Azotobacter vinelandii* ATCC® 9046 with the addition of maltose as a main carbon source into modified Burk's medium at constant temperature and mixing rate during 72 hours. During experiments alginate and bacterial production and sugar utilization were followed. In addition, industrially important properties of alginate like viscosity and monomer distribution were determined. Alginate production continued to increase during 72 hours experiment and the maximum were achieved as 2.87 g/L. While this value is corresponded to 0.53 g alginate/g bacteria, about 90 % of maltose was used at the end of the experiment. In general, broth viscosity is increased by increasing molecular weight of the polymers. Thus, broth viscosity gives indirect information about the molecular weight of the polymer produced. Similarly, the maximum broth viscosity was determined at 72 hours as 2.96 cP which shows unsuitability of experimental conditions for effective polymerization. Alginate is first synthesized as mannuronic acid and then epimerized by a group of mostly extracellular epimerases into guluronic acid. All block types of MM, MG and GG were observed in monomer distribution of alginates and mostly contain GG block (17 % MM, 31 % MG, 52 % GG block at 72 hours)

Keywords: Alginate, *Azotobacter vinelandii*, Maltose, Monomer distribution, Viscosity

***Fusarium graminearum*'un Mitokondrisinde Bulunan *cox3*'ün Karakterizasyonu**

Aylin Gazdağlı¹, Gülruh Albayrak²

¹Istanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, İstanbul

²Istanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

aylin.gazdagli@ogr.iu.edu.tr

Özet

Sitokrom c oksidaz (kompleks IV) mitokondride bulunan büyük bir transmembran proteinidir ve ETZ'deki son elektron alıcısıdır. Enzim, ETZ'de oksidasyonla açığa çıkan elektronların moleküler oksijene aktarılmasından sorumludur. *cox3* ürünü olan COIII alt birimi heteromultimerik enzimde bakterilerle paylaşılan üç alt birimden biridir. COIII'ün işlevi diğer iki alt birimden farklı olarak tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada *cox3*'ün karakterizasyonu bitki patojenlerinden *Fusarium graminearum*'da gerçekleştirildi. Bu amaçla mitokondri DNA'ları 45 *F. graminearum* izolatından izole edildi. *cox3* gen bölgesi biyoinformatik araçlarla tasarlanan özgün primer çifti kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltıldı. 527 bp'lik çoğaltım ürünü 39 izolatın elde edildi. Saflaştırıldıktan sonra, çoğaltım ürünlerinin nukleotid dizisi Sanger yöntemiyle belirlendi. Nukleotid dizilimleri "CLUSTALW" kullanılarak hizalandı. İzolatlar arasındaki ilişki "BLASTN" analiziyle belirlendi. Nukleotid değişimlerinin açık okunma çerçevesine etkisi "ORF FINDER" ile tarandı. 26 izolatta, *cox3*'e ait farklı uzunluktaki ORF'lerin (135-372 bp) farklı boyuttaki (37-123 amino asit) olası polipeptidleri kodladığı belirlendi. SNP'ler ve delesyonlar *cox3*'ün taşıdığı yaygın varyasyonlardı. Bu değişimlerin çerçeve kaymasına yol açarak farklı polipeptidlerin sentezine neden olabileceği gösterildi. Bulgular, tür içinde divergensin belirlenmesine ve izolatlar arasındaki filogenetik ilişkilerin kurulmasına katkı sağladı. Aynı zamanda popülasyon yapısı hakkında da bilgi verdi. *cox3*'ün *F. graminearum*'da karakterizasyonu ilk defa bu çalışmayla gerçekleştirilmiştir. Yapılacak ileri analizler nukleotid değişimlerinin farklı işlevli polimorfik protein alt birimlerinin sentezlenmesine mi yoksa işlevsel olmayan ürünlerin birikimine mi yol açacağını ortaya koymalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Fusarium graminearum*, mitokondri DNA'sı, sitokrom c oksidaz

Characterization of *cox3* found in *Fusarium graminearum* mitochondria

Abstract

Cytochrome c oxidase (complex IV) is a large mitochondrial transmembrane protein and the last electron acceptor in ETC. The enzyme is responsible for the transfer of electrons, released by oxidation in ETC, to molecular oxygen. The subunit COIII, produced by *cox3*, is one of the three subunits shared with bacteria in heteromultimeric enzyme. The functions of COIII, unlike the two other subunits, haven't been clarified. In this study, the characterization of *cox3* was carried out in one of the plant pathogens -*Fusarium graminearum*. For this purpose, the mitochondrial DNAs were isolated from 45 *F. graminearum* isolates. The *cox3* gene region was amplified with polymerase chain reaction (PCR) using a specific primer pair designed with bioinformatics tools. The PCR products of 527 bp were obtained from 39 isolates. After purification, nucleotide sequences of amplicons were determined with the Sanger method. The nucleotide sequences were aligned by the usage of CLUSTALW. The relationship among the isolates was determined with BLASTN analysis. The effect of nucleotide variations on open reading frame was searched with ORF FINDER. It was determined in 26 isolates that different ORFs with a variety of lengths (135-372 bp), belonging to *cox3*, coded different sizes of (37-123 amino acids) potential polypeptides. SNPs and deletions were common variations carried by *cox3*. It was shown that these variations could cause the synthesis of different polypeptides via frame shift. The findings contributed to the determination of divergence within species and the establishment of phylogenetic relations among isolates. Also, they have provided information on the population structure. In this study, the characterization of *cox3* in *F. graminearum* is realized for the first time. Further analysis should determine whether nucleotide variations shall cause the synthesis of polymorphic protein subunits with different functions or the accumulation of unfunctional products.

Key words: *Fusarium graminearum*, mitochondrial DNA, cytochrome c oxidase

Bazı Gıda katkı Maddelerinin *Saccharomyces cerevisiae*'da Trehaloz ve Gliserol Metabolizması Genleri Ekspresyonuna Etkilerinin Moleküler ve Biyokimyasal Analizi

Aylin Kahraman, Sinem Angın, Sezai Türkel

Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa

sturkel@uludag.edu.tr

Özet

Saccharomyces cerevisiae gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan önemli bir endüstriyel mikroorganizmadır. Gıda sanayinde çeşitli gıdaların üretiminde koruyucu ve asitlendirici maddeler olarak benzoat, sorbat ve farklı organik asitler kullanılmaktadır. Bu çalışmada sodyum benzoat, potasyum sorbat ve asetik asitin *S. cerevisiae*'da üreme değerlerine, trehaloz ve gliserol metabolizması genlerinin ekspresyonuna etkileri incelendi. Trehaloz maya hücrelerinde glukoz kullanımını kontrol eden ve aynı zamanda hücreyi streslerden koruyan önemli bir depo karbonhidratıdır. Trehaloz biyosentezi TPS enzim kompleksi tarafından yapılır. Nötral trehalaz ise trehalozu hidroliz ederek hücrede biriken trehalozun glukozu yıkımını gerçekleştirir. Gliserol osmo koruyucu madde olduğu kadar maya hücrelerinde redoks dengesinin sağlanması için de biyosentezi gerekli olan bir metabolittir, *GPD1* geni tarafından sentezi tamamlanır. Araştırmamızdan elde edilen sonuçlar sodyum benzoat, potasyum sorbat ve asetik asitin *TPS1*, *NTH1* ve *GPD1* genleri transkripsiyonuna, üreme hızına ve glukoz alımına farklı derecelerde etki ettiğini göstermektedir. Maya üreme ortamında asetik asitin bulunmasının *TPS1*, *NTH1* ve *GPD1* genleri ekspresyonunda 2-4 kat kadar azalmaya neden olduğu bulundu. Sodyum benzoat ve asetik asitin *S. cerevisiae* üreme hızını da önemli derecede azalttığı tayin edildi. Potasyum sorbatın *TPS1* ve *NTH1* genleri ekspresyonlarını aktive ettiği fakat *GPD1* geni ekspresyonuna etki etmediği bulundu. Elde edilen sonuçlar, bazı gıda katkı maddelerinin maya hücrelerinin üremesine ve metabolizmasına etki ettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Trehaloz, Gliserol, *Saccharomyces cerevisiae*, Benzoat, Sorbat

Molecular and Biochemical Analysis of the Effects of Food additives on the Expression of Trehalose and Glycerol Metabolism Genes

Abstract

Saccharomyces cerevisiae is an important industrial microorganism widely used in food industry. In food industry, benzoate, sorbate and different organic acids is being used as acidifying and food preservative substances in food production. In this research, the effects of sodium benzoate, potassium sorbate and acetic acid on the growth rate, and on the expression of genes involved in trehalose and glycerol metabolism were investigated. Trehalose is an important storage carbohydrate that is involved in the regulation of glucose uptake and stress tolerance in yeast cells. Trehalose biosynthesis is catalyzed by *TPS* enzyme complex. Neutral trehalase enzyme hydrolyses trehalose to glucose molecules. Glycerol is also essential metabolites for the regulation of redox balance and also serves as osmo-protectant solute. Its biosynthesis is catalyzed by *GPD1* gene. Our research results indicate that benzoate, sorbate and acetic acid affects the growth rate, glucose uptake and the expression of *TPS1*, *NTH1* and *GPD1* genes at different degrees. Addition of acetic acid to the yeast growth medium resulted with 2-4 fold decrease in the expression of *TPS1*, *NTH1* and *GPD1* genes. Moreover, we have found that sodium benzoate and acetic acid decreases the growth rate of *S. cerevisiae* at significant levels. On the other hand, while potassium sorbate activates the transcription of *TPS1* and *NTH1* genes, it has no effect on the transcription of *GPD1* gene. Our results indicate that food preservatives affects the growth rate and metabolism of yeast cells.

Keywords: Trehalose, *Saccharomyces cerevisiae*, Benzoate, Sorbate

Karadeniz Sediment İzolasyonu *Nonomuraea* sp. S2301'nin Polifazik Yöntemlerle Karakterizasyonu

Aysel Vevisoğlu¹, Nevzat Şahin²

¹Sinop Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Sinop

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun

ayselvevisoglu@gmail.com

Özet

Bu araştırmada, Karadeniz'in 45 m derinliğinden alınan sedimentten sikloheksimit ve nistatin ilaveli Rafinoz-histidin agarda izole edilen S2301 nolu *Nonomuraea* izolatının polifazik yöntemler ile taksonomik pozisyonunu belirlemek amaçlanmıştır. 16S rRNA gen bölgesi PZR amplifikasyonu 27f ve 1525r evrensel primerleri, nükleotit dizileri ise altı farklı evrensel sekans primerleri kullanılarak gerçekleştirildi. Filogenetik analizler MEGA 5.2 yazılımında Neighbour Joining algoritmasına göre yapıldı. DNA-DNA hibridizasyonu De Ley ve diğ. (1970)'e göre yapıldı. Akraba tip türleri ile yüksek oranda 16S rRNA gen bölgesi nükleotit farklılığına ve düşük oranda DNA-DNA hibridizasyonuna sahip olan S2301 izolatu *Nonomuraea* cinsi içerisinde yeni bir tür statü kazanmıştır. Tüm hücre hidrolizatındaki DAP ve şeker analizleri Hasegawa ve diğ. (1983), polar lipitler Minnikin ve diğ. (1984) ve izoprenoid kinonlar ise Minnikin ve diğ. (1984) ve Kroppenstedt (1982) tarafından tanımlanan metotlara göre yapıldı. S2301 izolatu, 16S rRNA gen bölgesine dayalı filogenetik analizlere göre en yüksek nükleotit benzerliğini *Nonomuraea candida* HMC10^T (% 98.57) ve *N. salmonea* DSM 43678^T (% 97.53) ile göstermiştir. Baskın menakinon MK-9(H₄)'dür. Polar lipit profili difosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin ve fosfatidilinozitol olarak belirlenmiştir. Baskın yağ asitleri ise *iso*-C_{16:0} 2OH, *iso*-C_{16:0} ve 10-methyl C_{17:0}'dır. Tip suşun genomik DNA'sında G+C oranı % 70.2 mol'dür. Polifazik taksonomik sonuçlara göre S2301 izolatu *Nonomuraea pirazisensis* ismi ile isimlendirilerek *Nonomuraea* cinsi içinde yeni bir tür olarak literatüre kazandırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Karadeniz, *Nonomuraea pirazisensis*, 16S rRNA geni

Polyphasic Characterisation of *Nonomuraea* sp. S2301 Isolated from the Black Sea Sediment

Abstract

In this study, it was aimed to determine taxonomic position of *Nonomuraea* sp. S2301 isolated from a sediment sample at a depth of 45 meters of the Black Sea using Raffinose-histidine agar medium supplemented with cycloheximide and nystatine. PCR amplification of 16S rRNA gene region was conducted by using universal primers of 27f and 1525r while sequence data was obtained by using six different universal sequencing primers. Phylogenetic analyses were performed on MEGA 5.2 software using Neighbour-Joining algorithm. DNA-DNA hybridisation analysis was conducted according to De Ley et al. (1970). The isolate *Nonomuraea* sp. S2301 having high nucleotide difference on 16S rRNA gene region with the most closely related type species and low hybridisation level on DNA-DNA homology merited novel species status in the genus *Nonomuraea*. Whole-cell DAP and sugar profiles were determined by the methods of Hasegawa et al. (1983), polar lipids by Minnikin et al. (1984) and isoprenoid quinones by Minnikin et al. (1984) and Kroppenstedt (1982). Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequence data demonstrated that the isolate S2301 is closely associated with *Nonomuraea candida* HMC10^T (% 98.57) and *N. salmonea* DSM 43678^T (% 97.53). Predominant menaquinone is MK-9(H₄). Polar lipid profile was determined as diphosphatidylglycerol, phosphatidylethanolamine and phosphatidylinositol. Predominant fatty acids are *iso*-C_{16:0} 2OH, *iso*-C_{16:0} and 10-methyl C_{17:0}. Genomic DNA G+C content of the strain S2301 was found to be 70.2 %. Based on the results of polyphasic taxonomic analyses, the isolate S2301 will have a novel species position in the literature with the name *Nonomuraea pirazisensis*.

Keywords: Black Sea, *Nonomuraea pirazisensis*, 16S rRNA gene

Çöl Toprağından İzole Edilen Yeni *Actinobacteria* Üyesinin Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu

Hayrettin Saygın¹, Aysel Veyisoğlu², Nevzat Şahin¹

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun

²Sinop Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Sinop

ayselveyisoglu@gmail.com

Özet

Bu çalışmanın amacı iki *Nonomuraea* izolatını polifazik yöntemlerle tanımlamaktır. Karakum Çölü'nden alınan toprak örneğinden, dilüsyon plak tekniği ile inoküle edilen ve 28 °C'de 15 günlük inkübasyon süresi sonunda marin agardan KC310, R2A agardan ise KC712 *Nonomuraea* suşu izole edildi. Genomik DNA'ları izole edilen suşların 16S rRNA gen bölgesi PCR amplifikasyonları 27f ve 1525r evrensel primerler ile yapıldı. Filogenetik analizler MEGA 5.2 yazılımı kullanılarak neighbour-joining algoritmaları ile gerçekleştirildi. Kendi aralarında ve yakın filogenetik akraba tip türleri ile gerçekleştirilen DNA-DNA hibridizasyon sonuçlarına göre *Nonomuraea* cinsi içerisinde aynı türün iki üyesi oldukları kesinleşen izolatların fenotipik ve kemotaksonomik karakteristikleri belirlendi. Tüm hücre hidrolizatındaki DAP ve şeker analizleri Hasegawa ve diğ. (1983), polar lipidler Minnikin ve diğ. (1984) ve izoprenoid kinonlar ise Minnikin ve diğ. (1984) ve Kroppenstedt (1982) tarafından tanımlanan metotlara göre, yapıldı. Hücresel yağ asitleri Sasser (1990) ve Kämpfer & Kroppenstedt, (1996) göre gerçekleştirildi. 16S rRNA gen bölgesi nükleotid dizi analizlerine göre kendi aralarında % 99.73 oranında benzerlik gösteren KC310 ve KC712 izolatları en yakın filogenetik akrabası olan *N. candida* HMC10^T ile 24 nt farklılık (% 98.3 nt benzerlik) göstermiştir. Filogenetik akrabaları ile düşük DNA:DNA hibridizasyon değerleri gösteren izolatların fenotipik ve kemotaksonomik parametrelerde *Nonomuraea* cinsi karakteristiklerini sağladığı, baskın menakinonları MK-9(H₄) ve majör yağ asitleri *iso*-C_{16:0} 2-OH, C_{17:0} 10-methyl, C_{17:1} *cis*9 ve *iso*-C_{16:0}'dır. Sonuç olarak çöl izolatları bakteriyel tür konsepti şartlarının tamamını sağlayarak diğer *Nonomuraea* cinsi üyelerinden farklı yeni bir tür olarak literatüre kazandırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Karakum Çölü, *Nonomuraea*, 16S rRNA

Molecular Characterization of Novel Actinobacteria Member Isolated from Desert Soil

Abstract

This study was aimed to identify two *Nonomuraea* spp. by polyphasic methods. After dilution of soil sample from Karakum Desert and 15-day incubation at 28 °C, the isolate *Nonomuraea* sp. KC310 and *Nonomuraea* sp. KC712 were isolated from marine agar and R2A agar, respectively. Genomic DNA isolation and PCR amplification of 16S rRNA gene region by universal primers of 27f and 1525r were conducted. Phylogenetic analysis was performed on MEGA 5.2 software using neighbour-joining algorithm. According to DNA-DNA hybridization analyses of the isolates with each other and most closely related type species, the isolates merit novel species status in the genus *Nonomuraea*. Phenotypic and chemotaxonomic characteristics of the isolates were determined. Whole-cell hydrolysate DAP and sugar profiles were analysed by using the methods described by Hasegawa et al. (1983), polar lipids by Minnikin et al. (1984) and isoprenoid quinones by Minnikin et al. (1984) and Kroppenstedt (1982). Cellular fatty acid analysis was conducted according to the methods by Sasser (1990) and Kämpfer & Kroppenstedt (1996). The isolates KC310 and KC712 have 16S rRNA gene sequence similarity level of 99.73 % with each other whereas they are found to be most closely related to *N. candida* HMC10^T with 24 nt difference (98.3 % similarity). Having low DNA:DNA hybridization levels with the most closely related type species, the isolates share typical characteristics of the genus *Nonomuraea* with MK-9(H₄) as major menaquinones and *iso*-C_{16:0} 2-OH, C_{17:0} 10-methyl, C_{17:1} *cis*9 and *iso*-C_{16:0} as major fatty acids. In conclusion, two isolates from desert soil will be published as a novel species of *Nonomuraea*.

Keywords: Karakum Desert, *Nonomuraea*, 16S rRNA

Ovariectomize Ratlarda Borik Asit Uygulamasının Kemik Metabolizması Üzerine Olası Etkisi

Gamze Tosun¹, Aysegül Bildik²

¹ Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Ege Bölge Müdürlüğü, İzmir

² Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın

abildik@adu.edu.tr

Özet

Çalışmada ovariectomi operasyonu yapılan ratlarda borik asit uygulamasının kemik biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkisi araştırıldı.

Bu amaç için, 60 adet 12-14 haftalık , ortalama 150-250gr ağırlığında gebe olmayan Wistar tipi dişi rat 6 gruba ayrıldı. 3 gruba ovariectomi yapıldı, ovariectomi yapılan gruplardan birine 5mg/kg, diğerine 10mg/kg borik asit gavaj yoluyla verildi. 4.gruba yalnızca 5mg/kg; 5.gruba 10mg/kg borik asit uygulandı. Yalancı ovariectomi yapılan grup kontrol grubu olarak belirlendi. Borik asit uygulaması operasyonları takiben 8 hafta sonra başladı ve 20 gün boyunca devam etti. Deneme sonunda alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinde kalsiyum, magnezyum, fosfor, ALP, 1,25-OH vitamin D, 25-OH Vitamin D ve PTH değerleri incelendi. Araştırmada, Ovariectomi+5 mg Borik asit uygulanan grup dışında diğer grupların serum Ca düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p<0.05$). Ovariectomi ve 10mg borik asit uygulanan grubun 1,25 OH Vit D düzeyleri diğer gruplara göre düşük ($p<0.05$); 5 ve 10 mg borik asit uygulanan grupların serum ALP düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olarak saptandı ($p<0.05$).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ratlarda ovaryumların çıkarıldıktan sonra geçen 8 haftalık sürenin kemik metabolizması üzerine önemli bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir. Borik asidin farklı dozlarda uygulandığı çalışmada kemik biyokimyasal parametreleri üzerine borik asidin doğrudan etkisi ile ilgili bir sonuca rastlanmamıştır. Ancak Ca düzeylerindeki değişimler bor ile Ca arasında bir ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ovariectomi, Borik asit, 25OH Vitamin D, 1,25OH Vitamin D, ALP, Ca, P, Mg

A Possible Influence of Boric Acid Application on Bone Metabolism in Ovariectomized Rats

Abstract

In the study, the effects of boric acid application were investigated on biochemical parameters of bone in ovariectomized rats.

To this end, 12-14 weeks of age, with the average weighing 150-250g, non-pregnant, sixty female Wistar rats were divided into six groups. Three groups were bilaterally ovariectomized, 5 mg boric acid was given to one of these groups via gavage and the other group was received 10mg. Boric acid was applied only 5mg/kg to the 4th group and 10mg/kg to the 5th group. Pseudo ovariectomized group performed as control. After 8 weeks following the operations, boric acid treatment was started and continued for 20 days. Calcium, magnesium, phosphorus, ALP, 1,25-OH vitamin D, 25-OH vitamin D, and PTH values were investigated from collected serum samples at end of the research.

In the study, except from Ovariectomy+5 mg Boric acid treated group, serum Ca levels of the groups acid were significantly lower compared to the control group ($p < 0.05$). 1,25 OH vitamin D levels of Ovariectomy and 10 mg boric acid treated group were lower compared to other groups ($p < 0.05$); serum ALP levels in 5 and 10 mg of boric acid treated group were found higher than the control group ($p < 0.05$).

The results obtained from this study showed that eight weeks after the removal of the ovaries in rats did not cause a significant change in bone metabolism. In the study where different does of boric acid is applied, there is no evidence of any direct effect of the boric acid on the bone biochemical parameters. However, changes in Ca levels may suggest a relationship between the C and boron

Keywords: Ovariectomie, Boric acid, Vitamin D, 25OH Vitamin D, 1,25OH Vitamin D, ALP, Ca, P, Mg

Sebze Yetiştirilen Topraklardan Enterobacteriaceae İzolasyonu ve Antibiyotik Dirençlerinin Belirlenmesi

E. Banu Büyükübal¹, Meryem Melike Karahan¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş

banubal@ksu.edu.tr

Özet

Enterobacteriaceae üyeleri klinik olgulardan izole edilen önemli bir mikroorganizma grubudur. Bu grup üyelerinin bazıları fırsatçı patojenlerdir. Grup üyelerinde antibiyotik direnci son yıllarda hızlı bir artış göstermekte ve bu patojenlerden kaynaklanan hastalıkların tedavisi de büyük ölçüde etkilenmektedir. Antibiyotiklere dirençli bakterilerin bulaşma yolunu oluşturan tüm çevresel ortamlar (toprak, su) insan sağlığına karşı olası bir tehdit oluşturmaktadır. Bu çalışmada, bazı sebzelerin (roka, maydanoz, marul, salatalık, semizotu, ıspanak) yetiştirildiği toprak örneklerinden Enterobacteriaceae üyelerinin izolasyonu yapılmıştır. Ayrıca izolatların Amoxicillin-Clavulanic acid (AMC), Piperacillin-tazobactam (TZP), Ceftazidime (CAZ), Cefotaxime (CTX), Cefpodoxime (CPD), Ceftriaxone (CRO), Ertapenem (ETP), Meropenem (MEM), Aztreonam (ATM), Ciprofloxacin (CIP), Amikacin (AK), Trimethoprim-Sulphamethoxazole (TMP/SMX) ve Tetracycline (TET)'e karşı duyarlılıkları disk-difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Enterobacteriaceae izolatlarında (n= 22) en fazla direnç oranları sırasıyla CPD (12/22; %55), CAZ (10/22; %45), AMC (9/22; %41) ve TZP (8/22; %36) antibiyotiklerine karşı gözlenmiştir. İzolatların ETP ve CIP'e karşı %100 oranında duyarlı olduğu saptanmıştır. İzolatlar arasında test edilen antibiyotiklerin dört veya daha fazlasına karşı olan direnç %45 oranında gerçekleşmiştir. Sonuçlar, toprak kaynaklı Enterobacteriaceae üyeleri arasında β -laktam grubu antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç olduğunu ve bu mikroorganizmaların da insan sağlığı açısından önemli bir risk olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik Direnci, Enterobacteriaceae, Toprak

Enterobacteriaceae Isolation and their Antibiotic Resistance from Vegetable Grown Soil Samples

Abstract

Enterobacteriaceae members are the most frequently isolated microorganisms from clinical cases. In addition, members of this group are opportunistic pathogens. In recent years, antibiotic resistance of these group members has been increased rapidly therefore, disease treatment caused by these pathogens is getting complicated. Most environmental sources (i.e. soil, water) those are spread these antibiotic resistant bacteria may result a potential threat for human health. In the present study, Enterobacteriaceae members were isolated from soil samples of some vegetables (arugula, parsley, lettuce, cucumber, purslane, spinach) grown in. Antibiotic resistances of these isolates were also tested with disc-diffusion method against Amoxicillin-Clavulanic acid (AMC), Piperacillin-tazobactam (TZP), Ceftazidime (CAZ), Cefotaxime (CTX), Cefpodoxime (CPD), Ceftriaxone (CRO), Ertapenem (ETP), Meropenem (MEM), Aztreonam (ATM), Ciprofloxacin (CIP), Amikacin (AK), Trimethoprim-Sulphamethoxazole (TMP/SMX) and Tetracycline (TET). Among those isolates (n= 22), the highest resistance rates were observed against CPD (12/22; 55%), CAZ (10/22; 45%), AMC (9/22; 41%) and TZP (8/22; 36%), respectively. Isolates were 100% sensitive against ETP and CIP. Among those isolates, there was 45% resistance against four or more antibiotics. Results indicated that there was a greater resistance against β -lactam antibiotics among soil originated Enterobacteriaceae members, which may cause a higher risk for human health.

Keywords: Antibiotic Resistance, Enterobacteriaceae, Soil

Rizosfer Kaynaklı Floresan *Pseudomonas* ve *Bacillus* spp.'nin Tahıllardan İzolasyonu ve Fungal Fitopatojenlere Karşı İnhibitör Etkileri

E. Banu Büyükuşal Bal¹, Abdalla Aziz İbrahim İbrahim¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş

banubal@ksu.edu.tr

Özet

Rizosfer, çeşitli mikroorganizmalarla bitki kök sistemi arasında dinamik süreçlerin gerçekleştiği bir toprak kısmıdır. Bu bakımdan bitki ile mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler bitki beslenmesi ve sağlığını önemli ölçüde etkilemektedir. Rizosfer bakterilerinden *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* cinsleri bitki gelişimini teşvik ettiklerinden plant-growth promoting rhizobacteria (PGPR) olarak isimlendirilmektedir. Bu gruptaki bakteriler farklı etki mekanizmaları ile bitki büyümesini teşvik etmektedir. Bu mekanizmalardan birisi de fitopatojenlere karşı bitkiyi koruyarak sağlıklı bitki büyümesini teşvik etmektir. Bu nedenle, bu bakterilerin özellikle biyolojik kontrol ajanı olarak kullanımları kimyasal mücadele ajanlarının kullanımı ile kıyaslandığında alternatif ve güvenilir bir tercih sunmaktadır. Bu sebeple, bu çalışmada buğday ve arpa rizosferlerinden floresan *Pseudomonas* ve *Bacillus* spp. türlerinin izolasyonu ile bunların fungal fitopatojenlerden olan *Fusarium* spp.'ye karşı *in vitro* inhibitör etkileri incelenmiştir. Ön deneyler sonucunda toplam 70 izolat arasından *Fusarium* spp.'ye karşı farklı düzeyde inhibitör etkili izolatlar belirlenmiştir. Çalışmanın devam eden kısmında izolatların farklı fungal patojenlere karşı inhibitör etkili olanlarının belirlenmesi planlanmaktadır. Fitopatojenlere karşı inhibitör etkili bu mikroorganizmalar sahip oldukları genetik çeşitlilik sebebiyle biyoteknolojik açıdan sürdürülebilir tarımsal üretimde etkin rollere sahip olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus* spp., Floresan *Pseudomonas*, Fungal Fitopatojen, Tahıl

Rhizosphere Based Fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. Isolated from Grains and Their Inhibitor Effect Against Fungal Phyto-pathogens

Abstract

Rhizosphere is a dynamic soil part where various microorganism and plant root system interact together. Therefore, this plant-microorganism interaction is important for plant nutrition and health. Due to their plant growth promoting potential, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella* and *Enterobacter* species are called plant-growth promoting rhizobacteria (PGPR). These bacteria promote plant growth with different mechanisms. Among those mechanisms, plant protection against phyto-pathogens for healthy plant growth is one of them. Therefore, these bacteria provide an alternative and safe preference as a biologic control agent compared to chemical protection methods. In the present study, the isolation of fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. from wheat and barley rhizosphere was performed. In addition, their inhibitor effect against *Fusarium* spp. was also tested *in vitro*. The preliminary data indicated that out of 70 isolates, there were isolates having different inhibitory effects against *Fusarium* spp. It is further planned to test inhibitory effect of isolates against different fungal pathogens. Due to their genetic diversity, these microorganisms can play active roles in sustainable agriculture.

Keywords: *Bacillus* spp., Fluorescent *Pseudomonas*, Fungal Phyto-pathogens, Grain

***Listeria* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu**

Başar UYMAZ¹, Pınar ŞANLIBABA²

¹ Yrd. Doç. Dr., Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bayramiç MYO, Gıda Teknolojisi Bayramiç /ÇANAKKALE

² Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA

buymaz@comu.edu.tr

Özet

Listeria cinsi benzer morfolojik, biyokimyasal ve moleküler özellikler taşıyan Gr (+), spor oluşturmeyen ve hareketli birbirine yakın altı tür (*Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* ve *Listeria grayi*) içerir. *Listeria* türleri çevrede ve çeşitli gıda ürünlerinde sık bulunur ve *L. monocytogenes* Listerioziz'e neden olur. *L. monocytogenes*'in belirlenmesinde ve tanımlanmasında nükleik asitleri hedef alan genotipik spesifik, hassas ve hızlı metotların geliştirilmesi zorunluluktur. RNA molekülleri yaşayan tüm canlı hücrelerde bulunduğu ve sekansında korunmuş ve heterojen bölgeler içermesinden dolayı, 16S rRNA bakteriyel karakterizasyonda en sık uygulanan metottur. 16S rRNA'ya dayalı çalışmalar *Listeria* cinsinin birbirine yakın türler içerdiğini fakat kökenine göre iki gruba ayrıldığına işaret etmektedir. Çeşitlilik ve sekanstaki düşük değişim oranlarından dolayı *groESL*, *rpoB*, *recA*, *gyrB* and *prs* gibi housekeeping genler tanımlama için diğer ideal elementlerdir. Yayılma ile ilgili protein (*iap*), Flagellin A (*flaA*) ve fibronektin bağlanma proteini (*fbp*) *Listeria* türlerinin genotipik tanımlanması için kullanışlıdır. *L. monocytogenes*'in diğer *Listeria* türlerinden hızlı ayırımı *iap* genlerindeki nükleotid farklarını belirleyen multiplex PCR ile gerçekleştirilebilir. Ayrıca *inlA*, *inlB*, aminopeptid, tanımlanmış transkripsiyonel regülatör genler gibi tür spesifik genlerde güçlü tanımlama sağlamaktadır. Hemolitik proteinler LLO (Listeriolisin O), ILO (İvanolislin O) ve SLO (seeligerilislin O) üretiminden sorumlu *hly* geninin belirlenmesi β-hemolitik, virulent türlerin hemolitik olmayan *Listeria* türlerinden ayırımı için önemlidir.

Anahtar Kelimeler: *Listeria* cinsi, *Listeria monocytogenes*, Genotipik Tanımlama, 16S rRNA

Molecular Characterization of *Listeria* Species

Abstract

The genus *Listeria* comprises six closely related, Gr(+), non-sporulating and motile bacterial species including *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* and *Listeria grayi* which share similar morphological, biochemical and molecular characteristics. *Listeria* species are ubiquitously distributed in the environment and various food products and *L. monocytogenes* is causing Listeriosis. It is imperative that to improve specific, sensitive and speedy methods which are genotype based and targeting the nucleic acid for detection and identification of *L. monocytogenes*. Owing to the presence of RNAs in every living cells and containing regions of sequence conservation and heterogeneity, 16S rRNA has been most frequently applied method for bacterial characterization. The studies based on 16S rRNA methods have indicated that the genus *Listeria* is comprised of closely related species but distinct two groups of descent. Due to heterogeneity and low alteration in sequence conversation among housekeeping genes such as *groESL*, *rpoB*, *recA*, *gyrB* and *prs* are the other ideal genetic elements for determination. Genes for invasion-associated protein (*iap*), flagellin A (*flaA*) and fibronectin-binding protein (*fbp*) are useful for genotypic identification of *Listeria* species. For rapid distinction of *L. monocytogenes* from other *Listeria* species is attainable by the multiplex PCR that detect nucleotide differences at the *iap* genes. The species-specific genes such as *inlA*, *inlB*, amino peptide, putative transcriptional regulator genes also provide improved identification. Determination of *hly* gene, responsible from production of haemolytic proteins LLO (Listeriolysin O), ILO (İvanolysin O) and SLO (Seeligerilycin O) is important to discrimination of β-haemolytic, virulent species from non-haemolytic *Listeria* species.

Keywords: Genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, Genotypic Identification, 16S rRNA

Probiyotik Özelliklerin Moleküler Mekanizmaları

Başar UYMAZ¹, Pınar ŞANLIBABA²

¹ Yrd. Doç. Dr., Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bayramiç MYO, Gıda Teknolojisi Bayramiç /ÇANAKKALE

² Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA

buymaz@comu.edu.tr

Özet

‘Probiyotik’ olarak tanımlanan ve gıdalarla tüketilen canlı organizmalar, Gastro-İntestinal Sisteme (GİS) girmesinin ardından bağırsakların bariyer fonksiyonunu güçlendirilmesi, immün cevabın uyarılması ve patojenlere karşı rekabetin arttırılması gibi sağlığı destekleyen önemli etkiler oluşturmaktadır. Probiyotiklerin sağlık üzerine etkileri hakkında fazla bilgi bulunmasına rağmen, bu etkilerin kesin mekanizmaları bilinmemektedir. GİS’in zor fiziko-kimyasal koşullarına adaptasyondan sorumlu moleküler stratejilerinin, konakçı epitelyal hücrelerine bakteriyel adezyon ve probiyotiklerin immünomodülatör özelliklerinin moleküler, genomik ve proteomik temelli çalışmalarla aydınlatılmasına başlanmıştır. Probiyotikler, midede asidik pH’nın ve ince bağırsakta intraselüler asidifikasyona neden olan safra salgısının (safra tuzları ve safra asidi) oluşturduğu zor GİS koşullarına dayanmak zorundadır. Proteomik çalışmalar, farklı bakteriyel türlerin adaptasyon ve maruz kaldıkları asidik pH ile safraya karşı direnç için ortak moleküler mekanizmaları ve metabolik yolları paylaştıklarını ortaya çıkarmıştır. GİS ortamına adaptasyonun moleküler mekanizmalarını özetlersek: (i) protein katlanması, denatürasyon ve agregasyonunu önlemek için katlanma mekanizmasının aktivasyonu (ii) enerji üretimini artıran karbohidrat metabolizmasına katılan proteinlerin ekspresyon düzeylerindeki değişimler (iii) proton trans lokasyon ATPaz’ın aktivitesindeki artış (iv) glutamin sentetaz ve dallanmış-zincir aminoasitlerinin (BCAA) biyosentezine katılan enzimlerin fazla ekspresyonu gibi tür-spesifik stratejiler. Epitelyal hücrelere ve intestinal mukozaya bakteriyel tutunma yeteneği diğer probiyotik özelliklerdir. Teikoik ve lipoteikoik asit gibi protein benzeri bileşiklerle hücre zar özelliklerinin değişimi, yüzey tabaka proteinlerinin bağlanması ile peptidoglikan ve ekzopolisakkarit üretimi konak-probiyotik etkileşimlerinde çok önemli rollere sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Moleküler mekanizma, Proteomik çalışmalar

Molecular Mechanisms of Probiotic Properties

Abstract

The living microorganisms, termed as ‘Probiotics’, are administered in foods that following entry into the Gastro Intestinal Tract (GIT), results in measurable health-promoting effects such as strengthening intestinal barrier function, modulating immune response and enhancing antagonism towards pathogens. Even though knowledge of health benefits of probiotics, their precise mechanisms of action remain unknown. Molecular strategies responsible for adaptation to the harsh physical-chemical environment of GIT, bacterial adhesion to host epithelial cells and immunomodulatory properties of probiotics have begun to provided insight by the molecular, genomic and proteomic based studies. Probiotics have to overcome to the hard GIT conditions which provide acidic pH in the stomach and Bile flow (bile salts and bile acids), cause intracellular acidification, in the small intestine. Proteomic studies highlighted that different bacterial species share common molecular mechanisms and metabolic pathways for adaptation and response to acid pH and bile exposure. Molecular mechanisms of adaptation to GIT environment are summarize that: (i) activation of folding machinery to counteract protein misfolding, denaturation and aggregation (ii) changes in the expression level of proteins involved in carbohydrate metabolism to enhance energy production. (iii) increased activity of proton trans locating ATPase (iv) species-specific strategies such as over expression of glutamine synthase and enzymes involved in the biosynthesis of branched-chain amino acids (BCAA). Bacterial adhesion ability to epithelial cells and intestinal mucosa are the other features of probiotic properties. Modifying cell envelope properties by proteinaceous compounds such as and lipoteicoic acids, bof the surface layer proteins, production of peptidoglycans and exopolysaccharide have a pivotal roles in the host-probiotic interactions.

Key Words: Probiotic, Molecular mechanism, Proteomic studies

***Theileria annulata*'nın Laktat Dehidrogenaz Enziminin Optimum pH Değerinin Belirlenmesi ve Termal Stabilitate Analizi**

Belma Nural¹, Sinem Yakarsönmez², Ayşegül Erdemir², Dilek Turgut-Balık²

¹ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

² Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

nuralbelma@gmail.com

Özet

Theileria annulata sığırlarda theileriosis hastalığına neden olan bir parazittir. Parazitin kullanılan ilaçlara karşı gösterdiği direncin rapor edilmesiyle yeni ilaçların tasarlanması için yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Parazitin biyokimyasal yolağında önemli bir enzim olan laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi yapıya dayandırılmış ilaç tasarım çalışmalarında hedef biyomolekül olarak seçilmiştir. Önceki çalışmalarda laktat dehidrogenaz enzimini kodlayan genin pLATE31 ekspresyon vektörüne klonlaması yapılmış sonrasında *E. coli* BL21(DE3) konağında ifade edilmiştir. Bu çalışmada, kinetik analizlerde kullanılmak üzere tampon pH'sının optimum değeri belirlenmiş ve sıcaklık stabilitesinin analizi yapılmıştır. 200 µM NADH ve 10 mM pirüvat içeren 6 farklı pH değerinde hazırlanan Tris-KCl tampon içerisinde enzim eklenerek standart reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Absorbans değerleri UV visible spektrofotometre kullanılarak 340 nm dalga boyunda ölçülmüş ve optimum pH değeri 7,5 olarak belirlenmiştir. Enziminin termal stabilite analizi farklı sıcaklıklarda yapılmıştır. Enzim, 60 °C, 50 °C, 40 °C, 30 °C, 20 °C'de 15 dk inkübe edilmiş ve sonra 3'er dakika aryla 340 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, enzim 50 °C 'de belli derecede aktivite kaybetmiş; 60 °C'de ise tamamen aktivite kaybetmiştir. Enzim en iyi aktiviteyi 20 °C ve 30 °C'de göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Theileria annulata*, optimum pH, termal stabilite, laktat dehidrogenaz

Finding Optimum pH and Thermal Stability Assay of Recombinant Lactate Dehydrogenase Enzyme from *Theileria annulata*

Abstract

Theileria annulata is a parasite that causes theileriosis in cattle. Report of resistance to currently available anti-theilerials requires development of new approaches to design new drugs. LDH has been chosen as a target molecule for applying structure based drug design studies as this enzyme is crucial for the anaerobic life style of parasite. In our previous studies, LDH gene from *T. annulata* was cloned into pLATE31 and expressed in *E. coli* BL21(DE3). In this study, optimum pH and thermal stability of enzyme were analysed to be used in kinetic assays. Standart reactions were started by the addition of enzyme into the reaction mixture containing 200 µM NADH and 10 mM pyruvate in buffer Tris-KCl at 6 different pHs. Absorbance values were measured at 340 nm by using UV visible spectrophotometer and optimum pH was determined as 7,5. Then thermal stability analysis of the enzyme was done at different temperatures. Enzyme was incubated at 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C and 60 °C for 15 minutes and then absorbance was measured every 3 minutes at 340 nm. According to the results, enzyme activity was gradually lost at 50 °C and totally lost at 60 °C. The best enzyme activity was obtained at 20 °C and 30 °C.

Keywords: *Theileria annulata*, optimum pH, thermal stability, lactate dehydrogenase

Çay İnfüzyon Besiyerinde Çeşitli Küflerin Misel Büyümelerinin Araştırılması

Bilal Balkan¹, Halide Aydoğdu²

¹ Kırklareli Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Kırklareli

² Trakya Üniversitesi, Arda Meslek Yüksekokulu, Edirne

bilalbalkan@hotmail.com

Özet

Çay (*Camellia sinensis*) tat, aroma ve sağlık üzerine olan pozitif etkilerinden dolayı dünyada sudan sonra en çok tüketilen içecektir. Türkiye, dünya çay üretiminin yaklaşık % 6'sını karşılamaktadır. Türkiye'de özellikle Doğu Karadeniz Bölgesindeki çay fabrikası atıklarının oldukça büyük miktarlara ulaştığı rapor edilmiştir. Çay atıkları, kafein ve tanen gibi bileşiklerin varlığı yüzünden çevre kirliliği problemlerine yol açabilmektedir. Ayrıca besleyici olmayan bu antifizyolojik ve toksik bileşiklerin varlığı, çay atıklarının çiftlik hayvanları için faydalı yem takviyesi olmasını engellemektedir. Bu çalışmada 40 küf türü, Çay İnfüzyon Agar besiyerinde (ÇİA) misel büyüme oranlarının gözlenmesi sayesinde büyüme yetenekleri açısından tarandı ve Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerindeki misel büyüme oranları ile karşılaştırıldı. ÇİA'da *Aspergillus niger*' in PDA'daki misel büyümesinden daha büyük, *Fusarium concolor* ve *Penicillium aurantiogriseum*' un ise eşit misel büyüme oranı gösterdiği tespit edildi. Test edilen diğer 37 küfün misel büyümelerinde ise belirli oranlarda azalma belirlendi. Küflerin ÇİA'daki misel büyümeleri, onların katı substratlar üzerindeki yüzeysel kolonizasyon kapasiteleri hakkında bilgi vermektedir. Bu da küfün doğal habitatta büyüme yeteneğinin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Bu çalışmanın, kafein ve tanen içeren çay atıklarının oluşturduğu çevre problemine biyolojik olarak çözüm üretilebilmesi ve bu atıkların faydalı çiftlik hayvanı yemi olarak kullanılabilmesi için daha sonra yapılacak Katı Substrat Fermantasyonu prosesi ile biyolojik detoksifikasyon çalışmalarına bir temel oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çay atığı, Kafein, Küf, Tanen

The Evaluation of Mycelial Growth of Different Fungi Strains in Tea Infusion Medium

Abstract

Tea (*Camellia sinensis*), because of its taste, aroma and the positive effects over the health of the body, is the second most consumed drink after water. Turkey provides the 6% of the global tea production. In Turkey, especially in the Eastern Black Sea region, it was reported that the wastes the tea factories produce has reached enormous amounts. The wastes cause environment pollution because of the compounds such as caffeine and tannin. Also, the presence of these antinutritional, antiphysiological and toxic compounds makes the wastes unsuited as a food to the farm animals. In this study, 40 different fungal strains were screened in the Tea Infusion Agar (TIA) medium for their ability to grow by looking at their mycelial growth rate and was compared to the mycelial growth rate at the Potato Dextrose Agar (PDA). *Aspergillus niger* showed higher mycelial growth at TIA than at PDA while *Fusarium concolor* and *Penicillium aurantiogriseum* showed equal growth rates. On the other 37 strains, a decrease at the mycelial growth was determined. The mycelial growth of the fungi in TIA gives information about their surface colonization capacities in solid substrates. This helps us understand the ability of the fungus to live in natural habitats. It is thought that this experiment will act as a base for further research about the biologic detoxification through Solid Substrate Fermentation in order to find a biological solution to the wastes that contain tannin and caffeine as well as to use them as a food for the animals.

Key words: Caffeine, Fungus, Tannin, Tea waste

Doku Kùltürü Teknikleri ile Üretilen *Bacopa monnieri* Bitkisinin Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Buğrahan Emsen¹, Muhammet Doğan¹, Mehmet Karataş², Muhammad Aasim¹

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakùltesi, Biyoloji Bölümü, Karaman

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakùltesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya

bemsen@kmu.edu.tr

Özet

Bacopa monnieri L. içerdiği birçok aktif içerikten dolayı önemli tıbbi akuatik bitkiler içerisinde yer almaktadır. Yapısında bulunan bileşikler sayesinde anti-oksidan anti-depresan, anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal gibi etkiler gösterdiği tespit edilen *B. monnieri*'nin protein içeriği de bu özellikleri göstermesi açısından önem taşımaktadır. Bu nedenlerden dolayı mevcut çalışmada, *in vitro* koşullarda üretilen *B. monnieri*'nin protein içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *In vitro* sürgün rejenerasyonu için *B. monnieri*'nin yaprak eksplantları 0.20, 0.40 ve 0.80 mg/L BAP içeren MS ortamında sekiz hafta boyunca kültüre alınmıştır. Maksimum eksplant başına sürgün sayısı (25.12 adet) 0.80 mg/L BAP içeren MS ortamında kaydedilmiştir. Maksimum sürgün uzunluğu (2.24 cm) 0.20 mg/L BAP içeren MS ortamında elde edilmiştir. Sekiz hafta sonunda üretilen bitki yaprakları ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuş ve elde edilen ekstraksiyonlardaki toplam protein içeriğinin belirlenmesi amacıyla Lowry yöntemi kullanılmıştır. Gerçekleştirilen analizler sonucunda farklı hormon konsantrasyonlarında (0.20, 0.40 ve 0.80 mg/L) üretilen bitki yapraklarında protein miktarları sırasıyla 122, 483 ve 526 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol grubundaki protein oranı 112 µg/mL olarak rapor edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, *in vitro* çoğaltımı gerçekleştirilen *B. monnieri* bitkisinde BAP hormonu konsantrasyonu ile protein miktarı arasında pozitif korelasyon olduğunu ortaya çıkarmıştır. İstatistikî olarak değerlendirildiğinde ise her bir hormon seviyesinin ortaya çıkardığı protein içerikleri arasında $p < 0.05$ düzeyinde bir fark olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Bacopa monnieri*, protein içeriği, sürgün rejenerasyonu

Determination of Protein Content of *Bacopa monnieri* Plant Produced by Tissue Culture Techniques

Abstract

Bacopa monnieri L. is included inside important medical aquatic plants due to contained many active ingredients. Protein content of *B. monnieri* determined showing such as anti-oxidant anti-depressant, anti-inflammatory and anti-microbial effects because of the compounds may be present in the composition is also important in terms of showing these properties. For these reasons, in the present study, it was aimed determination of protein content of *B. monnieri* *in vitro* produced. For *in vitro* shoot regeneration, leaf explants of *B. monnieri* were cultured on MS medium containing 0.20, 0.40 and 0.80 mg / L BAP for eight weeks. The maximum number of shoots per explant (25.12) were recorded on MS medium supplemented with 0.80 mg/L BAP. The highest number of shoots (2.24 cm) were obtained on MS medium supplemented with 0.20 mg/L BAP. Plant leaves produced at the end of eight weeks were exposed to extraction and Lowry method was used to determine the total protein content in the resulting extraction. As a result of these analyses, amount of protein in plant leaves propagated in the different hormone concentrations (0.20, 0.40 and 0.80 mg/L) was determined as 122, 483 and 526 µg/mL, respectively. Furthermore, protein rate in the control group was reported as 112 µg/mL. The obtained results revealed that in *in vitro* propagated *B. monnieri* plant, there was a positive correlation between BAP hormone concentration and the amount of protein. When realized a statistically assessment, it was determined that there was a difference at $p < 0.05$ level among protein content caused by each hormone level.

Keywords: *Bacopa monnieri*, protein content, shoot regeneration

Akuatik Bitkilerin Antioksidatif Kapasiteleri Üzerine Genel Bir Değerlendirme

Buğrahan Emsen¹, Muhammet Doğan¹, Mehmet Karataş², Muhammad Aasim¹

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya

bemsen@kmu.edu.tr

Özet

Su bitkileri, su ortamındaki besin zincirinin ilk halkasını oluşturmaktadır. Bu bitkiler sulardaki besin ağının alt basamakları ile daha üst basamakları arasında bağ oluşturur. Ortamın kimyasal yapısını etkileyen su bitkileri suyun yumuşamasına sebep olabilir. Yapısında bulunan bileşenler su bitkilerine bu özellikleri kazandırmaktadır. Su bitkileri yapılarında bulunan alkaloidler, saponinler, flavonoidler, betulinik asit, stigmastrol, beta-sitosterol ve saponinler gibi aktif bileşiklerden dolayı geleneksel tıp sisteminde büyük öneme sahiptir. İnsan vücudunda antioksidan mekanizmanın oluşturulması birçok hastalığın önüne geçilmesine sebep olabilmektedir. Son yıllarda bu amacı gerçekleştirmeye yönelik birçok ilaç üretilmektedir. Su bitkileri de yapısına bulunan beta karoten, likopen, karotenoid gibi antioksidatif bileşenler sayesinde antioksidan mekanizmanın oluşmasında neden olabilmektedir. Serbest radikaller insan vücudunda önemli olumsuz etkilere sebep olan moleküllerin başında gelmektedir. Bu moleküllerin etki seviyesi su bitkilerinin ilaç olarak kullanımı sayesinde düşük düzeye indirilebilmektedir. Ayrıca gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar su bitkilerinin farklı ekstraktlarının antioksidan enzim aktivitesini yükselttiğini göstermiştir. Sonuç olarak, su bitkilerinin antioksidan mekanizmayı güçlendirebilmek amacıyla alternatif tıpta kullanılabileceği fikri bilimsel çalışmalar aracılığı ile ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Akuatik bitki, antioksidatif kapasite, tıbbi bitki

A General Evaluation on Antioxidative Capacities of Aquatic Plants

Abstract

Aquatic plants form the first link of the food chain in the aquatic environment. These plants create a link between higher and lower levels of the food web in the water. Aquatic plants that affect the chemical structure of medium can cause softening the water. Components present in the composition impart these properties to aquatic plants. Aquatic plants have great importance in the traditional medical system due to active compounds such as alkaloids, saponins, flavonoids, betulinic acid, stigmastrol, beta-sitosterol and saponins. Forming antioxidant mechanism in the human body may cause the elimination of many diseases. In recent years, many drugs are produced for achieving this objective. Aquatic plants may also result in the formation of antioxidant mechanism through antioxidative components such as beta carotene, lycopene, carotenoids. Free radicals are the main molecules that cause significant adverse effects on the human body. Effect levels of these molecules can be reduced to low levels by use of aquatic plants as drug. Scientific studies performed have also shown that different water plant extracts increase the activity of antioxidant enzyme. In conclusion, in order to strengthen the antioxidant mechanism, the using idea of aquatic plants in alternative medicine has been demonstrated through scientific studies

Keywords: Antioxidative capacity, aquatic plant, medicinal plant

Makrofungus Özütlerinin Antimikrobiyal ve Antitümör Etkilerinin Araştırılması

Bahar Tül¹, Burcu Poyraz¹, Fulya Çelebi¹, Hayrünisa Baş Sermenli¹, Hatice Güneş¹

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla

bsahin@mu.edu.tr

Özet

İçerdikleri sekonder metabolitler ve parçalayıcı enzimler nedeniyle makrofunguslar antimikrobiyal, antitümör veya immünomodülatör etkiye sahip yeni bileşenlerin araştırılmasında önemli doğal kaynak teşkil etmektedirler. Bu çalışmada, Muğla bölgesinden toplanan *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe geotropa*, *Gyromitra esculenta*, *Lactarius delicious*, *Melanoleuca exscissa*, *Ramaria flavescent*, *Sarcosphaera crassa*, *Morchella* türleri, *Stereum hirsutum* ve *Trametes versicolor* makrofunguslarından elde edilen metanol özütlerin antimikrobiyal ve antitümör potansiyelleri sırasıyla disk difüzyon yöntemi ve MTT analizi ile incelenmiştir. Uygulanan özütler arasında, en yüksek antimikrobiyal etki (22 mm, 80µg/disc inhibisyon zonu) *M. exscissa* özütü ile *E. coli* üzerinde kaydedilmiştir. Kullanılan 17 farklı makrofungus özütünden 8 tanesi test bakterilerinin hiçbirinde etkili olmazken, diğerlerinin 7-9 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. Buna ilaveten, toplam 16 mantar özütü (200 µg/ml) 5 farklı kanser hücre hattı üzerinde test edildiğinde, bazı özütlerin hücre bölünmesini azalttığı bazılarının ise hücre bölünmesini artırdığı tespit edilmiştir. *Morchella* türlerinin hepsinden elde edilen özütler K-562 hücre hattı üzerinde sitotoksik etki gösterirken, diğer makrofunguslardan elde edilen özütlerin hepsi ise A-549 hücre hattında sitotoksik etki sergilemişlerdir. Kanser hücreleri üzerinde en yüksek sitotoksik etki *M. deliciousa* özütü ile CCC-221 hücre hattında (%79) ve *M. distants* özütü ile K-562 hücre hattında (%72) gözlenmiştir. Diğer makrofungus türleri arasında etkili özütün *Trametes versicolor* özütü olduğu ve A-549 hücre hattında %72 sitotoksositeye yol açtığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu makrofunguslar antitümör bileşik geliştirmede potansiyel kaynak olma niteliğindedir. Gelecek çalışmalarda etken maddeler ve antitümör aktivitenin mekanizması aydınlığa kavuşturulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, Antitümör aktivite, Makrofungus, Morchella

Investigation of Antimicrobial and Antitumor Effects of Mushroom Extracts

Abstract

Mushrooms are considered to be an important natural resource for the investigation of new compounds with antimicrobial, anti-tumor or immunomodulatory effects because of their secondary metabolites and degrading enzymes. In this study, antimicrobial and antitumor potential of *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe geotropa*, *Gyromitra esculenta*, *Lactarius delicious*, *Melanoleuca exscissa*, *Ramaria flavescent*, *Sarcosphaera crassa*, *Morchella* sp., *Stereum hirsutum* and *Trametes versicolor* mushrooms collected from Mugla region have been investigated with disc diffusion method and MTT assay, respectively. Among all mushroom extracts, *M. exscissa* extract showed the highest antimicrobial effect on *E. coli* (22 mm, 80µg/disc inhibition zone). It was observed that 8 out of 17 mushroom extracts did not show any effect on all test microorganisms, the others formed up to 9 mm inhibition zone in diameters. In addition, a total of 16 mushroom extracts (200 µg/ml) were tested on 5 different cancer cell lines. It was detected that some of the extracts decreased cell proliferation but the others increased. The extracts from 8 different species of *Morchella* showed cytotoxic effect on the K-562 cell line. However, all of the extracts from other mushrooms exhibited cytotoxic effects on A-549 cell line. The highest cytotoxic effect on cancer cells was observed with *M. deliciousa* extract on CCC-221 cell line (79%) and with *M. distants* extract on K-562 cell line (72%). It was found that *Trametes versicolor* extract was the most effective extract among other mushroom species and it caused 72% cytotoxicity on A-549 cell line. Consequently, these mushrooms may be a potential source in the development of antitumor compounds. Active substances and mechanism of antitumor activity will be clarified in a future study.

Keywords: Antimicrobial activity, Antitumor activity, Morchella, Mushroom

Antibiyotiklere alternative olarak üretilmiş BAM ‘ın biyofilm üreten antibiyotik dirençli olan *E. Coli*, *P. Aeruginosa* ve *K. Pneumonia* üzerine etkisinin araştırılması

Burhan Arikan¹, Sürayya Kocamaz¹, İbrahim Valipour² and Yelis Maaşoğlu²

1 Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye
2.Biyoteknoloji, Fen Bilimleri enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye

barikanus@yahoo.com

Özet

Antibiyotik dirençliliği her geçen gün giderek artmaktadır. Özellikle biyofilm oluşturan bazı bakterileri suşları hastahanelerde antibiyotik dirençliliğinde ciddi problemler oluşturmaktadır. Birçok makalede enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişiminin arttığı ve yaşamı riske soktuğu bildirilmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada antibiyotiklere alternatif bir bileşiğin geliştirmesini amaçlamıştır.

Bioaktif molekül (BAM) olarak adlandırılan bir anti-bakteriyel karışım laboratuvarımızda tasarlanmış ve balcalı hastanesinin farklı birimlerinden izole edilen, antibiyotiğe dirençli *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı test edilmiştir.

Bakteri suşlarına karşı BAM,ın etkisini incelemek için, başlangıç bakteri sayısını saptanan, bir gecelik kültürün içerisine 200 ul / ml BAM dan eklenip 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat inkübasyondan sonra, canlı bakteri sayısı control ile (muamele edilmemiş örnek) karşılaştırılmıştır. BAM uygulaması sonunda 7-11 antibiyotiğe dirençli *E. Coli* suşları ortalama 68.5%, 12-16 antibiyotiğe dirençli *Klebsiella pneumonia* suşları ortalama 77% ve 12-15 antibiyotiğe dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşları ortalama % 91 elimine olmuşlardır. Bu araştırma bulguları BAM ın insan, hayvan, bitki ve gıda endüstrisi için antibiyotiklere iyi bir alternatif olabileceğini ve antibiyotik dirençliğinin önemli derecede azalabilmesini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik, BAM, Biyofilm, Dirençlilik

*Bu çalışma BERTA-ARGE Şirketi KOSGEB, ADANA Projesi tarafından desteklenmiştir (Proje Numarası: 23.10.2013/7425)

Investigation of a novel bioactive compound (BAM) an alternative to antibiotics, effect on biofilm producing and antibiotic resistance *E.coli*, *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Antibiotic resistance is increasing with each passing day and threatening life in worldwide. Some bacterial strains specifically biofilm-producing bacteria are usually antibiotic resistance and were making seriously problem in hospital. According to many papers, the use of antibiotics for treatment of infections led to increase antibiotic resistance and put at risk the life. So, this search was aimed to study an alternative product to antibiotics.

In our lab one anti-bacterial mixture, named bioactive molecule (BAM), was designed and tested against some antibiotic resistance bacterial strains such as *E.coli*, *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa* which were isolated from different services of balcalı hospital in Adana-Turkey. In order to study of BAM effect on the bacterial strains, 200 µl/ml of the BAM was added to the overnight culture of the strains after determination of initial number of the cells in culture. After 24 hour incubation, the bacterial cell number was evaluated and compared with untreated sample (control). *E.Coli* strains, resistance to 7-11 antibiotics, were eliminated up to 68.5% and *Klebsiella pneumonia* strains, resistance to 12-16 antibiotics, were eliminated up to 77% and *Pseudomonas aeruginosa*, resistance to 12-15 antibiotics, were eliminated up to %91 by the BAM.

The findings of this research showed that the BAM could be a good alternative to antibiotics for human, animals, plants and food industry resulting in a notables decrease in antibiotic resistance.

Keywords: Antibiotic, BAM, Biofilm, Resistance,

*This work was supported by BERTA-ARGE Company KOSGEB, ADANA (Project Number:23.10.2013/7425)

4-Kloro-2-[(2-hidroksi-1,2-difeniletiden)amino]-fenol'ün ve Mononükleer Cu(II) ve Mn(II) Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu, Katekolaz ve Katalaz-Benzeri Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi

Zeynep Çetin¹, Bülent Dede²

¹ Trakya Üniversitesi, Arda Meslek Yüksekokulu, Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, Edirne

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Isparta

bulentdede@sdu.edu.tr

Özet

İnorganik elementler, özellikle bazı metaller biyo-sistemlerin işleyişlerinde hayati önem taşımaktadırlar. Fotosentez, solunum, metal iyonunun taşınması, enzimatik fonksiyonlar gibi birçok biyolojik süreç, biyoinorganik kimya alanına girmektedir. Bu çalışmada ilk olarak çıkış maddesi olan benzoin, benzaldehit ve sodyum siyanürün reaksiyonu sonucu sentezlenmiştir. Daha sonra literatürde kaydına rastlanmayan ve Schiff bazı yapısında olan 4-Kloro-2-[(2-hidroksi-1,2-difeniletiden)amino]-fenol ligandı elde edilmiştir. Sentetik basamağın son adımında ise liganda, uygun metal tuzları eklenerek ligandın mononükleer Cu(II) ve Mn(II) kompleksleri sentezlenmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerin yapıları, ¹H- ve ¹³C-NMR, FT-IR, elementel analiz, ICP-OES, molar iletkenlik, manyetik duyarlılık ve TG-DTG çalışmalarıyla aydınlatılmıştır. Ayrıca her bir kompleksin O₂ varlığında 3,5-di-t-bütilkatekolün 3,5-di-t-bütilkinaona yükseltgenmesi reaksiyonundaki ve imidazol varlığında hidrojen peroksitin disproporsiyonu reaksiyonundaki katalitik etkinliği incelenmiştir. Her iki kompleksin de iyi katekolaz ve katalaz enzim aktivitesine sahip oldukları bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Benzoin, metal kompleks, Schiff bazı, enzim aktivitesi

Synthesis and Characterization of 4-Chloro-2-[(2-hydroxy-1,2-diphenylethylidene)amino]-phenol and its Mononuclear Cu(II) and Mn(II) Complexes, Investigation of Their Catecholase and Catalase-Like Enzyme Activities

Abstract

The inorganic elements, especially some metals are also vital to the functioning of bio-systems. Many biological processes such as photosynthesis, respiration, metal ion transport, enzymatic functions etc., fall into the realm of bioinorganic chemistry. In this study, firstly, the benzoin, which is the product of benzaldehyde and sodium cyanide, was synthesized. Then, 4-Chloro-2-[(2-hydroxy-1,2-diphenylethylidene)amino]-phenol ligand in the form of Schiff base which is new to literature was obtained. For the last part of synthesis procedure, mononuclear Cu(II) and Mn(II) complexes of the ligand were synthesized by interacting ligand with appropriate metal salts. The synthesized compounds were characterized by ¹H- and ¹³C-NMR, FT-IR, elemental analysis, ICP-OES, molar conductivity, magnetic susceptibility measurements and TG-DTG analysis. Furthermore complexes were each tested both for their ability to catalyse the oxidation reaction of 3,5-di-tert-butylcatechol to the 3,5-di-tert-butylquinone presence of O₂ and disproportionation of hydrogen peroxide in the presence of the added base imidazole. It was found that both of the complexes exhibited good catecholase and catalase enzyme activity.

Keywords: Benzoin, metal complex, Schiff base, enzyme activity

Akut Myeloid Lösemi (AML) Hastalarında MDM2 Geni 354A/G Polimorfizmi

**Ceren Tekin¹, Mehmet Özaslan¹, Sibel Bayıl Oğuzkan¹, Handan Haydaroglu²,
Selin Büdeyri², Mustafa Pehlivan²**

¹Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD.

²Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji ABD.

cerentekinbg@hotmail.com

Özet

Akut myeloid lösemi (AML), kemik iliğinin lenfopoetik veya hemapoetik kök hücrelerinden kaynaklanan malign bir hastalıktır. MDM 2 (Murine double minute 2) geni bir proto-onkogendir ve çeşitli kanser türleri ile arasında bağlantı saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı MDM 2 gen polimorfizmleri ile AML hastaları arasındaki ilişkiyi saptamaktır. Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Uygulama ve Araştırma Hastanesi Hematoloji ABD ile birlikte yürütüldü. Bu çalışmada, MDM 2 geninin 354. kodonunda adenin nükleotidini guanine dönüştüren polimorfizm tespit edilmek istendi. Bunun için 80 AML tanısı almış hasta ve kontrol grubu olarak da sağlıklı 20 birey çalışmaya dahil edildi. Çalışma ve kontrol grubundan elde edilen kanlardan DNA izole edildi ve 11. Ekzon bölgesi RT-PCR yöntemi ile çalışıldı. Hasta ve kontrol grubundaki polimorfik dağılıma bakıldığında hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı $p<0,005$.

AnahtarKelimeler : AML, MDM 2, RT-PCR

Analysis of The MDM 2 Gene 354A/G Polymorphism in Acute Myeloid Leukemia Patients

Abstract

Acute Myeloid Leukemia is a malign patient which was originated from bone marrow lenfopoetic or hematopoetic steam cell. MDM 2 (Murine double minute 2) gene is a proto-oncogen and assosiated with lots of cancer types. Aim of this study is to determine relation between AML and MDM 2 gene polymorphism. We will conduct this study with Hematology Department of Gaziantep University. In this study, 354. codon of MDM2 gene single nucleotide polymorphism adenin convert to guanine are to determine. For this reason, 80 patients wtih AML and 20 healthy people for control group are included in this study. DNA is isolated from AML patients and control group's blood and then 11. Exon region of MDM 2 gen are studied by Real-time - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Comparison of the polymorphic distrubution between patients and controls are not detected differently $p<0,05$.

Keywords : AML, MDM 2, RT-PCR

***Escherichia coli*'de OmpC ve OmpF Dış Membran Porin Proteinlerinin Farklı Metal Stresindeki Rollerinin Belirlenmesi**

Cihan DARCAN¹, Gülçin ÇETİN¹, Özge KAYGUSUZ¹, Önder İDİL²

¹ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik

² Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Amasya

cihan.darcan@bilecik.edu.tr

Özet

Bakteriler doğada çok çeşitli streslere maruz kalmaktadırlar. Bu streslerden bir tanesi de metal stresidir. Metaller organizmalar için gerekli oldukları kadar aynı zamanda da zararlıdırlar. Örneğin Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni ve Zn gibi metaller esansiyeldir ve besiyerlerine eklenmeleri gerekmektedir. Bu metaller, mikrobese olarak redoks tepkimelerinde, moleküllerin elektrostatik etkileşimlerini kararlı tutmak ve ozmotik basıncı kontrol etmek için enzimlerin bileşenleri şeklinde kullanılırlar. Ancak belli dozların üzerinde bu metaller hücrede birikim meydana getirerek toksisite göstermektedir. Ag, Al, Au, Cd, Pb ve Hg gibi ağır metallerin biyolojik önemlerinin olmadığı gibi esansiyel de değildirler. Aynı zamanda besinsel olarak da değerleri yoktur. Bununla birlikte, mikroorganizmalara oldukça toksik etkileri bulunmaktadır. Bu toksik metaller önemli hücresel bileşenlerle kovalent ve iyonik bağlarla etkileşime girmektedirler. Porin proteinleri, hücre için gerekli olan besinlerin seçici alımını sağlayan ve çevresel değişikliklere karşı sentez oranı değişen ve bu streslere karşı hücreyi koruyan yapılardır. Bu çalışmada P1 transdüksiyon metoduna göre *E.coli*'nin W3110 suşunda *ompC* ve *ompF* genleri mutant hale getirilmiştir. Mutant mikroorganizmalara Cu, Co, Zn, Ni, Cd, Mn metalleri uygulanarak MİK sonuçları belirlenmiş ve bu MİK sonuçları ile büyüme grafikleri, petri damlatma deneyleri ile metal stresi altında dış membran proteinlerinin rolü araştırılmıştır.

Sonuç olarak *ompC* ve *ompF* genlerinin mutant olduğu suşların yabani tip *E. coli*'ye göre Cu ve Co metallerine daha dirençli olduğu, Ni ve Zn metallerinde herhangi bir rollerinin olmadığı belirlenmiştir. Mn metalinde *ompC* geninin mutasyonu bakteriye direnç kazandırırken, *ompF* geninin mutasyonunun bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Cd metalinde ise *ompC* geninin mutasyonu bakteriye duyarlılık sağlarken, *ompF* geninin mutasyonunun bir rolü yoktur.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, Metal stresi, Dış membran proteini

Determination of The Roles of The *Escherichia coli* OmpC and OmpF Outer Membrane Proteins in Different Metal Stress

Abstract

Microorganisms are exposed to various stress factors in their environment. One of these stress conditions is metal exposure. For instance; metals such as Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni and Zn are essential and they should be added to the growth medium. These metals are used as micronutrient in redox reactions and they are required to keep the electrostatic interactions of molecules stable. Furthermore, they are also used as enzyme compounds in order to control the osmotic pressure. However, some higher doses of these metals accumulate in cells and they become toxic. Metals such as Ag, Al, Au, Cd, Pb and Hg are not relevant biologically as well as they are also not essential for cells. Meanwhile, they also do not have importance as a nutrient. All together, they have toxic impacts on microorganisms. These toxic metals can interact with crucial cellular compounds via covalent and ionic bonds. Porin proteins are important in the selective transport of the nutrients into the cell. Their synthesis rate is changed according to environmental alterations and they protect the cell against these stresses. In this study, we mutated the *ompC* and *ompF* genes in W3110 strain of the *E.coli* by using the P1 transduction method. We exposed the mutant microorganisms with Cu, Co, Zn, Ni, Cd and Mn metals and we determined the MIC results. The growth graphics of mutant bacteria were drawn by using these MIC results and roles of the outer membrane proteins under metal stress conditions were examined by petri dripping tests.

As a result, According wild-type *E.coli*, bacteria carrying *ompC* and *ompF* mutant genes developed a resistance against Cu and Co metals whereas they did not have any response against Ni and Zn metals. Furthermore, the bacteria in which the *ompC* gene was mutated developed a resistance against Mn metal whereas *cpxR* gene mutation did not have any impact. Besides, we have shown that the *ompC* gene mutation provided sensitivity to Cd metal whereas *ompF* gene mutation did not have any effect on bacterial response systems.

Keywords: *E. coli*, Metal stress, Outer membrane proteins

İnsan Periferal Lenfositlerinde Dynabac Antibiyotiğinin Genotoksik Etkileri

Ahmet Kayraldız¹, Lale Dönbak¹, Demet Bilgi¹, Yasemin Eldemir¹, Akif Emre İshak¹, Zeliha Yıldırım², Yasin Uzun¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş

²Gaziantep Üniversitesi, İslahiye Meslek Yüksek Okulu, Laborant ve Veteriner Sağlığı Bölümü, İslahiye

sukeyna_01@windowslive.com

Özet

Etken maddesi diritromisin olan Dynabac, çeşitli bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan makrolid grubu bir antibiyotiktir. Bu çalışmada, diritromosinin insan lenfositlerinde kardeş kromatit değişimi (KKD), kromozomal anormallikler (KA) ve mikronukleus (MN) testleri kullanılarak olası genotoksik etkisi incelenmiştir. Çalışmada ayrıca mitotik indeks (MI), proliferasyon indeksi (PI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) belirlenerek diritromisinin hücre proliferasyon kinetiğine etkisi de değerlendirilmiştir. Bu amaçla, insan periferal lenfositleri dört farklı diritromisin konsantrasyonu ile (37,75; 67,50; 125, 250 µg /ml) 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Diritromisin tüm konsantrasyonlarda, 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde KKD ve MN frekansını önemli oranda indüklemiştir. Ayrıca diritromisinin tüm dozları ile 24 (37,75 µg/ml hariç) ve 48 saat muamele edilen hücrelerde KA düzeyi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır. MI, PI ve NBI değerleri diritromisin muamelesinden etkilenmemiştir. (p>0.05). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar sitogenetik markırların düzeyindeki artışlarla diritromisin muamelesinin genetik hasara neden olduğunu ve diritromisinin insan lenfositlerinde genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Genotoksisite, Diritromisin, Dynabac, Sitotoksisite

Genotoxic Effects of Dynabac Antibiotic in Human Peripheral Lymphocytes

Abstract

Dynabac, is an antibiotic widely used in medicine to treat many different types of bacterial infections. Efficient substance of Dynabac, dirithromycin is a 14-membered lactone ring macrolide. In the present study, the possible genotoxicity of dirithromycin was investigated in cultured human lymphocytes by using sister chromatid exchanges (SCEs), chromosome aberration (CA), micronucleus (MN) tests. Cell proliferation kinetics such as mitotic index (MI), proliferation index (PI) and nuclear division index (NDI) were also evaluated. Cell cultures were treated with four different concentrations of dirithromycin (37.75, 67.50, 125, 250 µg/ml) for 24 and 48 h periods. Dirithromycin significantly induced SCE and MN frequency at all concentrations in both 24 and 48 h treated cells. In addition, CA level has been markedly increased in the cells treated with the almost all concentrations of dirithromycin for 24 (except 37.75 µg/ml) and 48 h treatment periods as compared to negative control. However, MI, RI, and NDI values did not affected by the dirithromycin treatment (p>0.05). The results of this study indicated that dirithromycin treatment caused to genetic damage by increasing the level of cytogenetic endpoints, suggesting its genotoxic action on human lymphocytes *in vitro*.

Keywords: Cytotoxicity, Dirithromycin, Dynabac, Genotoxicity

Atık Fındık Zurufundan Elde Edilen Yeni Bir *Bosea* sp. FZ88 İzolatının Polifazik Taksonomik Karakterizasyonu

Demet Tatar¹, Aysel Veyisoğlu², Rıdvan Kızılkaya³, Nevzat Şahin¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun

² Sinop Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Sinop

³ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Samsun

demetatar@gmail.com

Özet

Bosea cinsi filogenetik olarak *α-Proteobacteria* içerisinde yer almaktadır (Das ve ark., 1996; Stubner ve ark., 1998). Hücreler çoğunlukla tek hücrelerden meydana gelen Gram-pozitif çubuk şeklinde yapılardan oluşmaktadır. Bu polifazik çalışmanın amacı atık fındık zurufundan izole edilen *Bosea* cinsine ait FZ88 izolatının taksonomik pozisyonunu belirlemektir. *Bosea* sp. FZ88, rifampisin (0.5 µg/ml) ve sikloheksimid (50 µg/ml) ilaveli nişasta kazein agarda 21 günlük inkübasyon sonucu elde edildi. Kültürel özellikleri Shirling & Gottlieb'e (1966) göre 4 haftalık inkübasyon sonucu belirlendi. Pitcher ve ark. (1989) göre genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. 16S rRNA geni 27f ve 1525r evrensel primerlerini kullanarak PCR ile çoğaltıldı nükleotid dizi analizi yapıldı. Filogenetik analizler neighbour-joining algoritması kullanılarak gerçekleştirildi. Hücresel yağ asitleri Sherlock mikrobiyal tanımlama sistemine bağlı gaz kromatografisine göre ekstrakt edildi, metillendi ve analizi gerçekleştirildi (Sasser 1990; Kämpfer & Kroppenstedt, 1996). Buna göre, FZ88 izolatı *Bosea robiniae* LMG26381^T ile en fazla 16S rRNA geni dizi benzerliği (% 96.70) göstermektedir. Elde edilen genotipik, fenotipik ve yağ asidi kompozisyonu verilerine dayanarak FZ88 izolatı *Bosea* cinsi içerisinde yeni bir türü temsil etmektedir. Bu çalışma TÜBİTAK-TOVAG (Project no: 111O698) tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Atık fındık zurufu, *Bosea*, Polifazik taksonomik karakterizasyon

Polyphasic Taxonomic Characterization of a Novel *Bosea* sp. FZ88, Isolated from Hazelnut Husk Waste

Abstract

The genus *Bosea* is phylogenetically placed in the *α-Proteobacteria* (Das *et al.*, 1996; Stubner *et al.*, 1998). Cells are gram-negative rods that occur mostly as single cells. The aim of the present polyphasic study was to clarify the taxonomic position of the novel strain FZ88 of the genus *Bosea*, isolated from hazelnut husk. *Bosea* sp. FZ88 was picked after 21 days of incubation at starch-casein agar (Küster & Williams, 1964) supplemented with rifampicin (0.5 µg/ml) and cycloheximide (50 µg/ml). Cultural characteristics were determined after incubation for 4 weeks according to Shirling & Gottlieb (1966). Genomic DNA isolation was performed by Pitcher *et al.* (1989). The 16S rRNA gene region was amplified by PCR using universal primers 27f and 1525r and sequenced. Phylogenetic analysis was performed by using Neighbour Joining algorithm. Cellular fatty acids were extracted, methylated and analysed by gas chromatography with the standard Sherlock Microbial Identification (MIDI) system (Sasser 1990; Kämpfer & Kroppenstedt, 1996). FZ88 shared highest 16S rRNA gene sequence similarity with *Bosea robiniae* LMG26381^T (96.70 %). On the basis of the genotypic and phenotypic data presented that isolate FZ88 represents a novel species within the genus *Bosea*. This study was supported by TÜBİTAK-TOVAG (Project no: 111O698)

Keywords: Hazelnut husk waste, *Bosea*, Polyphasic taxonomic characterization

Halotolerant Olan Bazı Aktinomiset Türlerinin NRPS ve PKS-I Gen Kümelerinin Karakterizasyonu

Demet Tatar¹, Nevzat Şahin¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun

demetatar@gmail.com

Özet

Aktinomisetler ekonomik öneme sahip olan ürünlerin umut vaat edici bir kaynağı olan organizmalardır (antibiyotikler, enzim inhibitörleri, antiparazitik ve antikanser ajanlar gibi). Bu bileşiklerin çoğu poliketit sentaz (PKS) ve ribozomal olmayan peptid sentetaz (NRPS) metabolik yolları aracılığıyla sentezlenen sekonder metabolitlerdir. Bu çalışmanın amacı halotolerant aktinomiset olan BNT52^T ve SM3501^T izolatlarının NRPS ve PKS-I gen kümelerinin karakterizasyonunun gerçekleştirilmesidir. Öncelikle, Pitcher ve ark. (1989) göre genomik DNA izolasyonu yapıldı. NRPS ve PKS-I gen dizileri sırasıyla A3F/A7R ve K1F/M6R primerleri kullanılarak çoğaltıldı. Çoğaltılmış PCR ürünleri pGEM-T Easy vektöre (Promega) klonlandı. Elde edilen Rekombinant plazmitlerin sekans analizi ABI PRISM 3730 XL otomatik sekanslama cihazı ile gerçekleştirildi. Hizalanan diziler Blast-X programında diğer verilerle karşılaştırıldı. Filogenetik analizler amino asit dizi verilerine dayanarak neighbour-joining algoritması ile gerçekleştirildi. Sonuç olarak, amino asit dizi analizine göre BNT52^T ve SM3501^T izolatlarının NRPS, SM3501^T izolatının PKS-I gen bölgeleri klonlanarak sekans analizi gerçekleştirildi. Analiz edilen klonlara göre *Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52^T türünün NRPS genlerinin 2 farklı, *Streptomyces smyrnaeus* SM3501^T türünün NRPS geninin 1 adenilasyon domaini içerdiği belirlenirken, *Streptomyces smyrnaeus* SM3501^T türünün PKS-I geninin 1 ketosentaz domaini içerdiği tespit edildi. Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir (PYO. FEN. 1901.11.011).

Anahtar Kelimeler: Halotolerant aktinomiset, Karakterizasyon, NRPS, PKS-I

Characterization of NRPS and PKS-I Gene Clusters from Some Halotolerant Actinomycetes Species

Abstract

Actinomycetes are a promising source of products having economic importance (e.g., antibiotics, enzyme inhibitors, antiparasitic and anticancer agents). Most of these compounds are secondary metabolites synthesized by polyketide synthase (PKS) and non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) pathways. The aim of the present study was performed characterization of NRPS and PKS-I gene clusters from halotolerant actinomycetes BNT52^T and SM3501^T isolates. Firstly, genomic DNA isolation was performed by Pitcher *et al.* (1989). NRPS ve PKS-I genes sequences were amplified by using primers A3F / A7R and K1F / M6R, respectively. Amplified PCR products were cloned into pGEM-T Easy vector (Promega). Sequence analyses of obtained recombinant plasmids were performed with ABI PRISM 3730 XL otomatic sequencer. Aligned sequences were compared with other data using Blast-X. Phylogenetic analysis was performed with neighbour joining algorithm according to amino acid sequence analyses. Finally, based on amino acid sequence analysis, NRPS of BNT52^T, SM3501^T isolates and PKS-I gene cluster of SM3501^T isolate were carried out by cloning sequence analyses. According to the analyzed clones, two different adenilasyon domains of NRPS gene clusters of *Amycolatopsis cihanbeyliensis* BNT52^T, one adenylation domain of NRPS gene clusters of *Streptomyces smyrnaeus* SM3501^T were detected. It was determined to contain one ketosynthase domain of PKS-I gene clusters of *Streptomyces smyrnaeus* SM3501^T. This study was supported by Ondokuz Mayıs University (PYO. FEN. 1901.11.011).

Keywords: Halotolerant actinomycetes, Characterization, NRPS, PKS-I

***In Vitro* Test Sisteminde Potasyum Propiyonatın Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi**

Nazmiye Ataseven¹, Ayten Çelebi Keskin², Deniz Yüzbaşıoğlu¹, Fatma Ünal¹

¹Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genetik Toksikoloji Laboratuvarı, Ankara

²Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kırıkkale

deniz@gazi.edu.tr

Özet

Gıda katkı maddeleri, bazı teknolojik fonksiyonları gerçekleştirmek örneğin renk, tat veya gıdaları korumaya yardımcı olmak için gıda maddelerine bilerek eklenen maddelerdir. Potasyum propiyonat (PP), propiyonik asitin potasyum tuzu, unlu mamüller, alkolsüz içecekler, peynir, hazır pasta, yumuşak şeker, şekerleme, dolgu maddesi, jelatin, jöle, et ürünleri ve pudinglerde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada potasyum propiyonatın *in vitro* genotoksik etkileri insan periferik lenfositlerinde rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA-polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR) metodu ile rastgele 10 bazlık primerler kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla sağlıklı ve sigara içmeyen gönüllü bir bayan ve bir erkek donörden temin edilen kanlar kullanılmıştır. Periferik lenfositler PP'nin altı konsantrasyonu ile (7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125,00; 250,00 µg/mL) 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Her bir uygulama için bir negatif ve bir de pozitif kontrol (Mitomisin C) grubu bulundurulmuştur. PP ile muameleyi takiben RAPD profillerinde meydana gelen değişiklikler, bant yoğunluğunda artış veya azalış şeklinde ve bantlarda kayıp ve oluşum şeklinde ortaya çıkmıştır. Sonuçlarımız potasyum propiyonatın insan lenfositleri için genotoksik etkili olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Genotoksisite, Gıda koruyucuları, İnsan lenfositleri, RAPD-PCR

Determination of Genotoxic Effect of Potassium Propionate *In Vitro* Test System

Abstract

Food additives are substances added intentionally to foodstuffs to perform certain technological functions, for example to colour, to sweeten or to help preserve foods. Potassium propionate (PP), potassium salt of propionic acid is used in bakery products, soft drinks, cheese, ready cake, soft candy, candy, filler, gelatins, jellies, meat products and puddings as food preservatives. In this study, *in vitro* genotoxic effects of potassium propionate were determined in human peripheral blood lymphocytes by using random amplified polymorphic DNA-Polimerase Chain Reaction (RAPD-PCR) with arbitrary 10-mer primers. For this purpose venous blood from healthy female and male, non-smoking volunteers was used. Peripheral lymphocytes were treated with six concentrations of PP (7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125,00; 250,00 µg/mL) for 24 and 48 hours. A negative and a positive control (mitomycin-C) were also present for each experiment. The changes occurring in RAPD profiles following PP treatments include increase or decrease in band intensity and gain or loss of bands. The results obtained showed that potassium propionate treatment may have genotoxic effects on human lymphocytes.

Keywords: Genotoxicity, Food additives, Human lymphocytes, RAPD-PCR.

***In Vitro* İnsan Lenfositlerinde Luteolin'in Genotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi İle Belirlenmesi**

Esra Erikel, Deniz Yüzbaşıoğlu, Fatma Ünal

Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genetik Toksikoloji Laboratuvarı, Ankara

deniz@gazi.edu.tr

Özet

Flavonoid familyasının önemli bir üyesi olan luteolin çeşitli meyve, sebze ve tıbbi bitkilerde bulunmaktadır. Kereviz, yeşil biber, havuç, zeytinyağı ve enginar, luteolin için en iyi besinsel kaynaklardır. Luteolinin, anti-inflamatuvar, anti-alerjik, anti-oksidant ve anti-kanser vb. birçok farmakolojik ve biyolojik aktiviteleri vardır. Bu çalışmanın amacı, luteolinin insan lenfositlerinde *in vitro* genotoksik ve antineoplastik bir ajan olan Mitomisin C'ye karşı antigenotoksik etkilerini mikronükleus (MN) testi ile değerlendirmektir. Bu amaçla periferik kan iki sağlıklı gönüllüden (1 erkek ve 1 bayan) elde edilmiştir. Hücreler luteolinin beş farklı konsantrasyonu (0.39, 0.78, 1.56, 3.12 ve 6.25 µg/mL) ile tek başına ve 0.2 µg/mL Mitomisin C (MMC) ile eş zamanlı olarak 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Luteolinin tek başına uygulaması MN frekansını kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttırmazken, MMC+Luteolin eş zamanlı uygulaması MN frekansını pozitif kontrole kıyasla üç konsantrasyonda (0.78, 1.56 ve 3.12 µg/mL) önemli düzeyde azaltmıştır. Elde edilen verilere göre luteolin insan lenfositlerinde MMC'ye karşı kemopreventif etki göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antigenotoksisite, Genotoksisite, Luteolin, Mikronükleus (MN).

Evaluation of the Genotoxic and Antigenotoxic Effects of Luteolin In Human Lymphocytes *In Vitro* By Micronucleus Test

Abstract

Luteolin, an important member of the flavonoid family, is present in various fruits, vegetables and medicinal herbs. Celery, green pepper, carrots, olives and artichokes are the best of dietary for luteolin. It has a variety of pharmacological and biological activities, including anti-inflammation, anti-allergy, antioxidant and anticancer effects. The aim of this study is to evaluate potential genotoxic and antigenotoxic effects of luteolin in human lymphocytes *in vitro* by micronucleus (MN) test. For this purpose, peripheral bloods were obtained from 2 healthy volunteer (1 male and 1 female). The cells were incubated with five different concentrations of luteolin (0.39, 0.78, 1.56, 3.12 and 6.25 µg/mL) alone and simultaneously with 0.2 µg/mL Mitomycin C (MMC), an antineoplastic agent, at 37°C for 48 hours. The results indicated that luteolin alone did not increased the frequency of MN significantly compared to control. However MMC+Luteolin significantly decreased the frequency of MN at three concentrations (0.78, 1.56 and 3.12 µg/mL) compared to MMC control. According to these results, luteolin showed chemopreventive effect against MMC induced micronuclei in human lymphocytes.

Key words: Antigenotoxicity, Genotoxicity, Luteolin, Micronucleus (MN).

Karbon Tetraklorür ile Akciğer Hasarı Oluşturulmuş Ratlarda Çörek Otu (*Nigella sativa* L.)'nin, TUNEL Metodu ile Belirlenen Apoptozis Düzeyine Etkisi

Didem Boydak¹, M. İsmail Can², Abdullah Aslan¹, Tuncay Kuloğlu³

¹ Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Elazığ

² Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Aksaray

³ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ

didemboydak@hotmail.com

Özet

Çörek otu (ÇO) yaprak ve çiçek ekstraktı yüzyıllardır akciğer bozuklukları ve birçok hastalıkta kullanılmaktadır. Son çalışmalar, çörek otunun kanseri önleme ihtimali üzerinde odaklanmıştır. Bu çalışmanın amacı, ratlarda karbon tetraklorür (CCl₄) uygulaması yoluyla oluşturulan akciğer hasarına karşı ÇO'nun koruyucu bir rolü olup olmadığını araştırmaktır. Çalışmada 28 adet erkek Wistar albino (n=28, 8 haftalık) rat kullanılmıştır. Ratlar canlı ağırlıklarına göre dört gruba ayrılmıştır. Gruplar: (i) Negatif Kontrol: Normal su tüketen, CCl₄ ve çörek otu verilmeyen grup; (ii) Pozitif Kontrol: Normal su tüketen, CCl₄ verilmeyen fakat çörek otu verilen grup; (iii) CCl₄ Grubu: Normal su tüketen ve CCl₄ verilen grup (2 ml/kg CA, ip); (iv) CCl₄ + çörek otu Grubu: CCl₄ (2 ml/kg CA, ip) ve çörek otu verilen grup şeklinde ayarlanmıştır. Doku apoptotik indeksi TUNEL metodu yoluyla belirlenmiştir. CCl₄ + BC grubundaki apoptotik indeks (TUNEL sonuçları) CCl₄ grubuna göre azalış göstermiştir. Bu sonuçlar, BC bitkisinin akciğer üzerinde koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer, Apoptozis, DNA hasarı, TUNEL metodu

The Effect of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) on the Apoptosis Level is Determined by TUNEL Method in Rats with Carbon Tetrachloride (CCl₄)-Induced Lung Damage

Abstract

The leaf and flower extracts of black cumin (BC) have been used for lung defects and many illness for centuries. Recent studies have focused on the possible effects of black cumin in preventing cancer. The aim of this study was to examine whether BC plays a protective role against the damage in the lung via the administration of carbontetrachloride (CCl₄) to rats. 28 male Wistar albino (n=28, 8 weeks old) rats have been used in the study. The rats were divided into 4 groups according to their live weights. The groups were: (i) Negative Control (NC): Normal water consuming group to which no CCl₄ and black cumin (BC) is administered; (ii) Positive Control (PC): Normal water consuming group to which no CCl₄ is administered but BC is administered; (iii) CCl₄ Group: Normal water consuming and group to which CCl₄ is administered (2 ml/kg live weight, ip); CCl₄ + BC group: CCl₄ and BC administered group (2 ml/kg live weight, ip). Tissue apoptotic index was examined via TUNEL method. It was observed in the CCl₄+BC group that the apoptotic index (TUNEL results) decreases in comparison with the CCl₄ group. These results show that black cumin plant has a protective effect on lung.

Keywords: Apoptosis, DNA damage, Lung, TUNEL method

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (FÜBAP) tarafından F.F. 13.18 nolu proje ile desteklenmiştir.

Tenofovir Disoproksil Fumarat'ın İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi

Kubra Kurt¹, Dilay Gürkan¹, Nazik Güzel¹, Yasemin Peruze Şendur¹, Ahmet Biber¹, İbrahim Halil Kenger¹, Lale Dönbak¹, Ahmet Kayraldız¹

1. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Kahramanmaraş

dilay_412@hotmail.com

Özet

AIDS hastalığının tedavisinde kullanılan antiretroviral ilaçlar, HIV virüsünün vücutta çoğalmasını ve etkinleşmesini engelleyerek tedavi sağlarlar. Bu ilaçlar virüsü eradike etmediğinden, hastaların viral replikasyonu baskılamak amacıyla ilaçları ömür boyu kullanmaları gerekmektedir. Bu çalışmada antiretroviral ilaçlardan birisi olan tenofovir disoproksil fumaratın (TDF) insan periferik lenfositlerindeki *in vitro* genotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Bu amaçla; hücreler, tenofovir disoproksil fumaratın dört farklı konsantrasyonuyla (2,5; 5; 10; 20 µg/ml) 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmiştir. TDF'nin genotoksik aktivitesi için hücrelerdeki kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormallliği (KA) ve mikronükleus (MN) düzeyleri incelenmiştir. Sitotoksik etkiyi incelemek amacıyla muamele edilmiş hücrelerde ayrıca mitotik indeks (MI), proliferasyon indeksi (PI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) belirlenmiştir. Elde edilen veriler SPSS (17.0) paket programı kullanılarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Tenofovir disoproksil fumarat etken maddesinden hazırlanan farklı dozlar (2,5; 5; 10; 20 µg/ml) ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde KKD, KA ve MN değerlerinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Aynı şekilde tenofovir disoproksil fumarat etken maddesi ile muamelenin MI, PI ve NBI değerlerini etkilemediği gözlenmiştir ($p>0,05$). Sonuç olarak; bu çalışmada tenofovir disoproksil fumarat etken maddesinin insan periferik lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik etki göstermediği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Genotoksisite, Kardeş kromatid değişimi, Kromozomal anormallikler, Mikronükleus, Tenofovir disoproksil fumarat

Evaluation of Genotoxic Activity of Tenofovir Disoproxil Fumarate in Human Peripheral Lymphocytes

Abstract

Antiretroviral drugs used in the treatment of AIDS, treat by preventing the proliferation of HIV viruses in human body. People with HIV have to use this drugs for lifelong because of inability of the drugs to eradicate the viruses. In this study, we investigated the *in vitro* genotoxic activity of tenofovir disoproxil fumarate (TDF), one of the antiretroviral drugs, in human peripheral lymphocytes. For this purpose, the cells were treated with four different concentrations of tenofovir disoproxil fumarate (2,5; 5; 10; 20 µg/ml) for 24 and 48 hours. The levels of sister chromatid exchanges (SCEs), chromosomal aberrations (CA) and micronucleus (MN) in the cells were examined for the genotoxic activity of TDF. Mitotic index (MI), proliferation index (PI), and nuclear division index (NDI) of treated cells were also determined for the cytotoxic effect of TDF. Obtained data were compared with the control groups by using SPSS (17.0) package programme. There was no significant differences in the level of SCEs, CA, and MN in human lymphocytes treated with all concentrations of tenofovir disoproxil fumarate for all treatment period as compared to control group ($p>0,05$). Similarly, it was observed that treatment of tenofovir disoproxil fumarate did not affect the MI, PI, and NDI values ($p>0,05$). As a result, in this study it is demonstrated that tenofovir disoproxil fumarate did not have genotoxic or cytotoxic effect in the human peripheral lymphocytes.

Key words: Chromosomal aberrations, Genotoxicity, Micronucleus, Sister chromatid exchanges, Tenofovir disoproxil fumarate

Benodanil Pestisitinin *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Sitogenetik Etkileri

Dilek AKYIL¹, Arzu ÖZKARA¹, Muhsin KONUK²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar
²Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

dilekakyil9@gmail.com

Özet

Pestisitler tarımda ürünlerin verimini, kalitesini artırmak ve ürün depolanması için yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak onların kullanımları sırasında hedef olmayan organizmalara zarar vermeleri ve pestisit direncine sebep olmaları ve bazılarının mutajen ve karsinojen olmasından dolayı endişe yaratmaktadırlar.

Bu çalışma ile tarımda yaygın olarak kullanılan bir pestisit olan Benodanil'in sitotoksitesi *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde belirlenmiştir. *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testinde, Benodanil'in etkili konsantrasyon (EC_{50}) değeri yaklaşık 25 ppm olarak belirlenmiş ve Benodanil'in EC_{50} değeri (25 ppm), EC_{50} değerinin yarısı ($EC_{50}/2=12,5$ ppm) ve EC_{50} değerinin iki katı ($2 \times EC_{50}=50$ ppm) konsantrasyonları soğan kök yumrularına 24, 48 ve 72 saat süreyle uygulanmıştır. %1'lik DMSO negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Bu uygulamaları takiben mikroskopik çalışmalar için preparatlar hazırlanmıştır. *Allium* testi için elde edilen veriler SPSS programında varyans analizi (ANOVA) uygulanarak istatistiksel analizler yapılmıştır. Verilerin ortalamaları arasındaki $p<0.05$ düzeyindeki farklılıklar Dunnett-t testi (2 yönlü) ile belirlenmiştir. Sonuçlar Benodanil'in negatif kontrolle karşılaştırıldığında tüm konsantrasyonlarda mitotik indeksi anlamlı bir şekilde düşürdüğünü göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Allium* Test, Benodanil, Pestisit, Sitotoksiste

Cytogenetic Effects of Benodanil in Root Tip Cells of *Allium cepa* L.

Abstract

Pesticides are widely used in agriculture for improve the efficiency and quality of products and food storage, but there is concern about their use because some are mutagens and/or carcinogens, harm non-target organisms or cause pest resistance.

In this study Benodanil pesticide which is widely used in agriculture was determined for cytotoxicity in *Allium cepa* root meristematic cells. In *Allium* root growth inhibition test, EC_{50} was firstly determined approximately 25 ppm and, 12,5 ($0.5 \times EC_{50}$), 25 (EC_{50}) and 50 ($2 \times EC_{50}$) ppm concentrations of Benodanil were applied to onion tuber roots for 24, 48 and 72 h. %1 DMSO was used as a negative control. Following these treatments, the slides prepared for the microscopical investigations. The obtained results were evaluated to statistical analyses by using Dunnett-t test (two tailed) and $p<0.05$ was accepted as significant value. The results indicated that Benodanil significantly decreased the mitotic index in all treatments when compared with negative control.

Keywords: *Allium* Test, Benodanil, Pesticide, Cytotoxicity

Tetraploit Yonca (*Medicago sativa* L.) Populasyonlarında Linkage Eşitsizliği (LD) Analizi

Doğan İlhan¹, Muhammet Şakiroğlu², E. Charles Brummer³, Xuehui Li⁴

¹ Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kars

² Kafkas Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Kars

³The University of California Department of Plant Sciences, Davis, CA 95616

⁴ North Dakota State University Department of Plant Sciences, Fargo, ND 58108-6050

doganilhan@kafkas.edu.tr

Özet

Kültür yoncası (*Medicago sativa* L.) *Medicago sativa* tür kompleksi ya da *Medicago sativa* – *falcata* kompleksinden ıslah çalışmaları sonucu geliştirilmiştir. Bu kompleksteki mevcut taksonomi morfolojik verilerin yanı sıra ploidi temeline dayanmaktadır. Bunun neticesinde kompleksin üyeleri diploit ve tetraploit alttürler olarak sınıflandırılmaktadır. Son zamanlarda moleküler markörler kullanılarak DNA polimorfizmlerinin ve bu polimorfizmlerin fenotipler ile olan ilişkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Özellikle Association Mapping (İlişki Haritalama) çalışmaları ile Linkage (Bağlantı) analizleri gerçekleştirilerek genotip ve fenotipler arasındaki ilişkiler değerlendirilmektedir. Bu çalışmada dünyanın farklı coğrafyalarından elde edilmiş olan 70 adet tetraploit yonca populasyonu için 31 adet SSR markörü kullanılarak Linkage eşitsizliği (Linkage Disequilibrium) (LD) analizi gerçekleştirilmiştir. 103 lokustan oluşan 23 markörün *M. truncatula*'nın 8 kromozomu üzerindeki fiziksel mesafeleri belirlenmiş ve bu tetraploit aksesyonlarda önemli derecede ($p < 0,0001$) LD'nin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aksesyon, Linkage, *Medicago sativa* L., SSR, Tetraploit

Linkage Disequilibrium Analysis in Tetraploid Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Populations

Abstract

Cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) was improved from *Medicago sativa* species complex or *Medicago sativa* – *falcata* complex as result of breeding efforts. Present taxonomy in this complex based on ploidy in addition morphological datas. Thus, members of the complex classify as diploid and tetraploid subspecies. Recently, efforts focused on to find out DNA polymorphisms and their relations with phenotypes using molecular markers. Especially, relationships between genotypes and phenotypes have been evaluated carrying out Linkage analyses with association mapping studies. In this study, Linkage Disequilibrium (LD) analyses was performed using 31 SSR markers for 70 tetraploid alfalfa populations which were collected broad and diversity geographical regions in world. Physical distances of 23 markers which are consist of 103 loci on 8 chromosomes of *Medicago truncatula* was detected and it is concluded that there is no significant ($p < 0,0001$) LD in these tetraploid accessions.

Keywords: Accession, Linkage, *Medicago sativa* L., SSR, Tetraploid

Doğal *Bacillus cereus* M29 suşundan ekstraselüler tyrosinaz enzimi üretiminin optimizasyonu.

Ebrahim Valipour¹ and Burhan Arikan²

¹ Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye

² Bioteknoloji, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye

Va.cell@yahoo.com

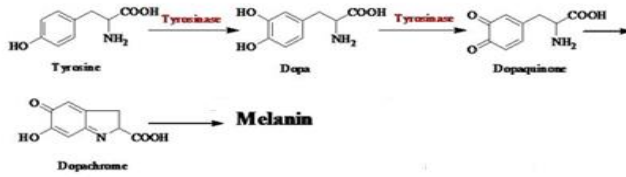
Özet

Bakteriyel tyrosinase enzimi yüksek düzeyde oksitleme kapasine sahip olup fenolik biyotransformasyon, ilaç, kozmetik ve tekstil sektöründe kullanılmaktadır. Bu çalışmada topraktan tirozinaz enzimi içeren doğal *Bacillus* sp. suşu izole edilmiştir. Suş morfolojik, biyokimyasal ve biyoinformatik analizi kullanılarak moleküler testlerle analiz edilmiş ve *Bacillus cereus* M29 olarak tanımlanmıştır.

Enzim üretimi için azot ve karbon kaynakları, pH ve sıcaklık değerlerinin gibi kültür koşulları optimize edilmiştir ve üretilen enzim karakterize edilmiştir. By testing various sources, the tryptone (0.2%) was determined as a best nitrogen sources, Glucose (0.1%) as a best carbon source. En iyi azot kaynağı olarak, tripton (% 0.2), ve en iyi karbon kaynağı olarak glikoz (% 0.1) belirlenmiştir. Ayrıca maya özütü (0.1) ve iz elementlerin (% 0.1) enzim üretimi üzerinde olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir.

Enzim üretimi için optimum sıcaklık 40°C optimum pH 7.0 ve en uygun inkübasyon süresi 48 saat olarak belirlenmiştir. Üretim ortamına, substrat olarak, L-tirosin (% 0.005) ilave edilmesi, enzim üretiminde oldukça etkili bulunmuştur. Optimizasyon sonunda 1 ml kültür ortamından 0.3 IU tyrosinase enzimi elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Bacillus* sp. melanojenik, optimizasyon, tirozinaz



Bu çalışma Tubitak tarafından desteklenmiştir (Proje No114Z065).

Optimization of extracellular tyrosinase enzyme production from native *Bacillus cereus* M29 isolate.

Abstract

Bacterial tyrosinase enzyme with a high oxidizing capacity could make their applications in phenolic biotransformation, pharmaceutical, cosmetics, and textile industry. In this research a native *Bacillus* sp. containing tyrosinase enzyme was isolated from soil sample. The strain was identified by morphological, biochemical and molecular tests using bioinformatics analysis and named as *Bacillus* sp. M29. Culture conditions such as nitrogen sources, carbon sources pH values and temperature values, for extracellular enzyme production were optimized and the produced enzyme was characterized.

By testing various sources, the tryptone (0.2%) was determined as a best nitrogen sources, Glucose (0.1%) as a best carbon source. Also the presence of yeast extract (0.1) and trace element (0.1%) determined to have positive effect on the enzyme production.

Furthermore 40°C as optimum temperature, pH 7.0 as optimum pH, 48h as optimum incubation time was determined for the enzyme production. The addition of L-tyrosine (0.005%) as a substrate to the production medium was highly effective on enzyme production. Consequently, after optimization, 0.3 IU tyrosinase enzyme per 1 ml of medium culture was obtained.

Key word: *Bacillus* sp. melanogenic, optimization, tyrosinase

This work was supported by the Tubitak (Projeck Number. 114Z065).

Toplumumuzda GSTT1 Polimorfizmi ve Akciğer Kanseri Riskinin Meta-Analiz ile Değerlendirilmesi

Ebru Özkan Oktay

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

ebruozkan84@gmail.com

Özet

Glutasyon S-transferazlar (GST) mutajenlerin ve karsinojenlerin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. İnsanda GST enzimlerini kodlayan genlerin çoğu polimorfiktir. Son yıllarda, Türk populasyonunda GSTT1 gen delesyonu polimorfizmi (null genotip) ve akciğer kanseri riski arasındaki ilişki araştırılmış ancak çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir. Bu meta-analizin amacı, bu çalışmalara ait sonuçları özetlemek ve GSTT1 polimorfizmi ve akciğer kanseri riski arasındaki muhtemel ilişkiyi değerlendirmektir. PubMed, ISI Web of Science ve Google Akademik veritabanlarında Şubat 2015'e kadar literatür taraması gerçekleştirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi için olasılıklar oranı (odds ratio=OR) ve %95 güven aralığı (GA) değerleri hesaplanmıştır. Yayın tarafsızlığı ve testlerin heterojenitesi sırasıyla huni grafiği ve I^2 istatistiği kullanılarak ölçülmüştür. Meta-analiz için RevMan (Version 5.3) yazılımı kullanılmıştır. Seçim kriterlerine göre meta-analize 1,035 hasta ve kontrol içeren toplam 5 çalışma dahil edilmiştir. Sabit etki modeline göre, GSTT1 null (negatif) genotipi pozitif genotip ile karşılaştırıldığında belirgin bir şekilde akciğer kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (OR= 1,36; %95 GA= 1,00-1,85; p= 0,05; I^2 = %0). Sonuç olarak, bu meta analiz GSTT1 null genotipinin akciğer kanseri riskini artırabileceğini öne sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, glutasyon S-transferaz T1 (GSTT1), meta-analiz

Evaluation of GSTT1 Polymorphism and Lung Cancer Risk in Our Population via Meta-Analysis

Abstract

The glutathione S-transferase (GST) plays an important role in the detoxification of mutagens and carcinogens. Many of the genes encoding GSTs in human are polymorphic. In recent years, the associations between GSTT1 gene deletion polymorphism (null genotype) and lung cancer risk in Turkish population have been investigated, but inconsistent results were reported. The aim of this meta-analysis was to summarize the results of these studies and evaluate the possible associations between GSTT1 polymorphism and lung cancer risk. Literature search was carried out in PubMed, ISI Web of Science and Google Scholar databases up to February, 2015. Odd ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated to assess the data. Publication bias and heterogeneity of tests were also evaluated using funnel plot and I^2 statistics, respectively. RevMan (Version 5.3) software was used for meta-analysis. A total of five studies containing 1,035 cases and controls were included to this meta-analysis according to the selection criteria. The null genotype of GSTT1 was significantly associated with lung cancer risk when compared with present genotype under fixed effect model (OR= 1,36; 95% CI= 1,00-1,85; p= 0,05; I^2 = 0%). In conclusion, this meta-analysis suggested that GSTT1 null genotype may increase risk of lung cancer.

Keywords: Glutathione S-transferase T1 (GSTT1), lung cancer, meta-analysis

3-metil-5-(4-karboksisikloheksilmetil)-tetrahidro-2H-1,3,5-tiyadiazin-2-tiyon Bileşiğinin Genotoksik Etkilerinin Kromozomal Aberasyon Testi ile Değerlendirilmesi

Ece Avuloğlu Yılmaz¹, Deniz Yüzbaşıoğlu¹, Azime Berna Özçelik², Seyhan Ersan², Fatma Ünal¹

¹Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

²Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Bölümü, Ankara

eceavuloglu@gazi.edu.tr

Özet

Traneksamik asit, oral, intravenöz ve infüzyon olarak uygulanan (haricen kullanılmayan), antifibrinolitik aktiviteye sahip önemli bir ilaçtır. Haricen kanamayı durdurmak ve antimikrobiyal etki oluşturmak için, daha önce Özçelik ve arkadaşları (2007) tarafından, traneksamik asidin amin grubu üzerinden on iki adet tetrahidro-1,3,5-tiyadiazin türevi sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin söz konusu etkileri traneksamik asit ile karşılaştırılmıştır. 3-metil-5-(4-karboksisikloheksilmetil)-tetrahidro-2H-1,3,5-tiyadiazin-2-tion'un en etkili bileşik olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, bu bileşik ileride ilaç olarak haricen kullanılabilir. Bununla birlikte, bir ilacın insanların kullanımına sunulmasından önce yapılması gereken bazı zorunlu testler vardır. Bu testlerden biri de genotoksisite testleridir. Bu çalışmada test maddesinin genotoksisitesi *in vitro* insan periferik lenfositlerinde kromozomal anormallik (KA) testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Lenfositler iki sağlıklı genç donörden alınarak kültür ortamında 24 ve 48 saat süreyle test maddesinin altı farklı konsantrasyonu (078; 1,56; 3,13; 6,25; 12,50 ve 25,00 µg/ml ile muamele edilmiştir. Her uygulamada bir negatif, bir çözücü (NaOH + %10 PBS) ve bir de bir pozitif kontrol (Mitomisin-C) bulundurulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, 3-metil-5-(4-karboksisikloheksilmetil)-tetrahidro-2H-1,3,5-tiyadiazin-2-tiyon, 24 saatlik uygulamada, negatif ve çözücü kontrole kıyasla KA frekansını etkilememiştir. 48 saatlik uygulamada, test maddesinin kullanılan konsantrasyonları KA frekansını doza bağlı şekilde artırmakla birlikte, bu artışlar, 25 µg/mL dışındaki diğer konsantrasyonlarda anlamlı değildir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, 3-metil-5-(4-karboksisikloheksilmetil)-tetrahidro-2H-1,3,5-tiyadiazin-2-tiyon'un kullanılan konsantrasyonlarının *in vitro* insan lenfositlerinde genotoksik riski olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antifibrinolitik ilaç, Kromozomal aberasyon, Genotoksisite

The Evaluation of Genotoxic Effect of 3-methyl-5-(4-carboxycyclohexylmethyl)-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione Using Chromosomal Aberration Assay.

Abstract

Tranexamic acid is an important drug with antifibrinolytic activity, which is applied orally, intravenously and by infusion (but not used topically). In a previous study, twelve tetrahydro-1,3,5-thiadiazine derivatives were synthesized by Özçelik et al. (2007) from the amine group of tranexamic acid as a prodrug in order to use tetrahydrothiadiazine derivatives topically as bleeding blocking and antimicrobial agents. These effects of these twelve compounds were compared with tranexamic acid. 3-methyl-5-(4-carboxycyclohexylmethyl)-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione was determined as the most prominent compound. Therefore, this compound may be used as a drug to topical use. However, there are some compulsory tests prior to commercialize a drug for human use. One of them is genotoxicity tests. In this study, genotoxicity of test substance was investigated using *in vitro* chromosomal aberration (CA) assay in human peripheral lymphocytes. Lymphocytes obtained from two healthy young donors were treated with six different concentrations (078; 1,56; 3,13; 6,25; 12,50 and 25,00 µg/mL) of test substance in culture conditions for 24 and 48 h. A negative, a solvent (PBS+%10 NaOH) and a positive control (mitomycin-C) were maintained for each treatment. According to test results, 3-methyl-5-(4-carboxycyclohexylmethyl)-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione did not affect the frequency of CAs compared with negative and solvent control at 24 h treatment. At 48 h treatment, although test substance increased the frequency of CAs in a dose-dependent manner, this increase was not significant compared to negative and solvent controls (except 25 µg/mL). Data obtained here demonstrated that 3-methyl-5-(4-carboxycyclohexylmethyl)-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione did not have genotoxic potential on human lymphocytes *in vitro*.

Key words: Antifibrinolytic drug, Chromosomal aberration, Genotoxicity.

Kardeş Kromatit Testi Kullanılarak Antidepresan İlaç Desipramin'in İnsan Periferal Lenfositlerinde Genotoksitesinin İncelenmesi

Ece Avuloğlu Yılmaz¹, Fatma Ünal¹, Deniz Yüzbaşıoğlu¹

¹Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

eceavuloglu@gazi.edu.tr

Özet

Desipramine, depresyon tedavisinde sıklıkla kullanılan bir trisiklik antidepresandır. Temel etki mekanizması, monoaminlerin nöronal geri alımını inhibe etmektir. Bu çalışma desipraminin insan periferal lenfositlerindeki genotoksik etkilerini kardeş kromatit değişimi (KKD) testi ile belirlemek için planlanmıştır. Desipraminin mitotik indeks (MI) ve replikasyon indeksi (RI) üzerine etkileri de incelenmiştir. Bunun için bir erkek ve bir bayan olmak üzere iki sağlıklı genç donörden alınan periferal kan, desipraminin altı farklı konsantrasyonu ile (1,50, 3,00, 6,00, 12,00, 18,00 ve 24,00 µg/mL) kültür şartlarında 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Ayrıca her deney için bir negatif ve bir pozitif kontrol (Mitomisin-C) bulundurulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre desipramine KKD frekansını tüm uygulamalarda doza bağlı olarak arttırmıştır (24 saatlik uygulamada 1,50 ve 3,00 µg/mL'lik dozlar hariç). MI tüm uygulama sürelerinde ve konsantrasyonlarında önemli düşüş göstermiştir. RI hiçbir uygulamada önemli değişim göstermemiştir. Bu sonuçlar desipramin'in *in vitro* insan lenfositlerinde genotoksik olabileceğini öngörmektedir.

Anahtar kelimeler: Antidepresan, Desipramine, Kardeş kromatit değişimi

Investigation of Antidepressant Drug Desipramine Genotoxicity In Human Peripheral Lymphocytes Using Sister Chromatid Exchange Test

Abstract

Desipramine is a tricyclic antidepressant widely used for treatment of depression. Its mechanism of action is mainly the inhibition of the neuronal recapture of monoamines. The present study was planned to determine the genotoxic effects of desipramine in human peripheral blood lymphocytes using sister chromatid exchange (SCE) test. Effects of desipramine on mitotic index (MI) and replication index (RI) were also investigated. For this purpose, peripheral blood obtained from two healthy young donors, a man and a woman, was treated with six different concentrations (1,50; 3,00; 6,00; 12,00; 18,00 and 24,00 µg/mL) of desipramine in culture conditions for 24 and 48 h. A negative and a positive control (mitomycin-C) were also present for each treatment. The results observed here showed that desipramine increased the SCEs compared to control at all treatments in a dose-dependent manner (except 1,50 and 3,00 µg/mL for 24 h). MI significantly decreased at all treatment periods and concentrations (except 1,50 µg/mL for 48h). RI was not affected by desipramine at all treatments. These results suggest that desipramine may have genotoxic potential on human lymphocytes *in vitro*.

Key words: Antidepresan ilaç, Desipramine, Kardeş kromatit değişimi

***Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898)' de Karyolojik Polimorfizmin Allozim Varyasyonlarına Etkisi (Rodentia: Spalacidae)**

Eda Sen¹, Tuba YAĞCI¹, Nursel AŞAN², Şükran ÇAKIR²

¹ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü , Bilecik

² Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü , Kırıkkale

edasen_1993@hotmail.com

Özet

İç Anadolu bölgesinin Ankara ve Yozgat illerinde yayılış gösteren *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) türlerine ait 20 örnek allozim (α -Gpdh, Ldh, Mdh, Es) özellikleri bakımından analiz edilmiştir. Allozim özelliklerine göre her bir il ayrı popülasyonlar olarak incelenmiş ve esterase enzimi polimorfik özellikte bulunmuştur. İç Anadolu bölgesinde Kızılırmak nehrinin oluşturduğu yay ile $2n = 54$ ve $2n = 60$ değerlerine sahip iki kromozomal forma ayrılan örneklerde, kromozomal polimorfizme bağlı allozim varyasyonlarının olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler : *Nannospalax nehringi*, Allozim, Genetik çeşitlilik, İç Anadolu

The Effect of Karyological on Allozyme Variations in *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) in Central Anatolia (Rodentia:Spalacidae)

Abstract

The 20 specimens belonging to *Nannospalax nehringi* (Satunin, 1898) collected from Ankara and Yozgat were analyzed in terms of allozyme (α -Gpdh, Ldh, Mdh, Es). All cities were analyzed as separate population by allozyme and It was determined that esterase enzyme has polymorphic chatacteristic. Specimens were separated as The Middle Kızılırmak Basin of Central Anatolia and specimens which have two different chromosomes forms as $2n=54$ ve $2n = 60$. It was determined that there is no allozim variation because of chromosomal polymorphism.

Key words: *Nannospalax nehringi*, Allozyme, Genetic diversity, Central Anatolia

Türk Populasyonunda Ankilozan Spondilit için İnterlökin 23 Reseptör Polimorfizminin Genotiplenmesi ve Analizi

Ekrem Akbulut¹, Ayşegül Erdemir¹, Metin Özgen², Yasemin Baskın³, Femin Yalçın⁴, Dilek Turgut Balık¹.

¹ Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalı, Samsun

³ Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, İzmir

⁴ İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Mühendislik Bilimleri Bölümü, İzmir

ekremakbulut@gmail.com

Özet

Ankilozan spondilit (AS) kronik ve inflamatuvar bir hastalıktır. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) insan genomunda yüksek sıklıkta görülen tek baz değişimleri olup; hastalığa yatkınlık ve hastalıkların tanısında yararlanılan önemli moleküler belirteçlerdir. Farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda AS hastalık riski ve bazı SNP'ler ilişkilendirilmiştir. Türk toplumunda etkileri henüz değerlendirilmemiş olan bu SNP'lerin çalışılması, AS tanısının erken dönemde ve omurga deformasyonu gerçekleşmeden konulmasına katkı sunacaktır. Yapılan bu çalışmada farklı toplumlarda AS riski ile ilişkilendirilen ve interlökin 23 reseptör (*IL23R*) gen bölgesinde yer alan 3 SNP'nin (rs10489629, rs11209026 ve rs1343151) Türk toplumunda genetik risk yatkınlığını belirlemek amacı ile genotiplenmesi ve analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma Modifiye New York kriterlerine göre kesin AS tanısı konulan 100 hasta ve 101 kontrol ile yapılmıştır. SNP'ler iPLEX® yöntemi ile genotiplenmiştir. Çalışmada elde edilen veriler Ki-kare, Fischer'in kesinlik testi ve lojistik regresyon analizi ile değerlendirilmiştir ($p \leq 0.5$, $OR > 1$). Bu çalışmada rs10489629 polimorfizmi için G allelinin OR değeri 0.85 (%95CI=0.57-1.28) ve p değeri 0.447, rs11209026 polimorfizmi için A allelinin OR değeri 1.61 (%95CI=0.68-3.82) ve p değeri 0.276, rs1343151 polimorfizmi için T allelinin OR değeri 0.92 (%95CI=0.60-1.42) ve p değeri 0.704 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türk toplumunda AS ile *IL23R* gen bölgesinde yer alan rs10489629, rs11209026 ve rs1343151 SNP'leri arasında risk ilişkisi bulunmadığı gösterilmiştir.

(Bu araştırma Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2014-07-04-DOP01)

Anahtar Kelimeler: Ankilozan Spondilit, Tek Nükleotid Polimorfizmi, Genotipleme, Risk İlişkilendirme

Genotyping and Analysis of Interleukin 23 Receptor Polymorphism for Ankylosing Spondylitis in Turkish Population

Abstract

Ankylosing spondylitis (AS) is a chronic and inflammatory disease. Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) are single base changes frequently observed in human genome and they are important molecular indicators used for disease susceptibility and disease diagnosis. In studies carried out on different populations, disease risk and some SNPs are associated. Research on these SNPs, the effects of which haven't evaluated in Turkish society yet, will make contributions to early diagnosis of the disease before the spine deformation occurs. In this study, genotyping and analysis study of 3 SNPs (rs10489629, rs11209026 and rs1343151) located in interleukin 23 receptor (*IL23R*) gene loci, associated with AS risk in different populations, was carried out to determine the genetic risk susceptibility in Turkish population. This study was carried out with 100 patients who were diagnosed with AS according to Modified New York criteria and 101 controls. SNPs were genotyped by iPLEX® method. Data obtained in the study were evaluated using Chi-square, Fischer's exact test and logistic regression analysis ($p \leq 0.5$, $OR > 1$). In this study, it was determined that OR value of G allele for rs10489629 polymorphism was 0.85 (%95CI=0.57-1.28) and p value was 0.447, OR value of A allele for rs11209026 polymorphism was 1.61 (%95CI=0.68-3.82) and p value was 0.276, OR value of T allele for rs1343151 polymorphism was 0.92 (%95CI=0.60-1.42) and p value was 0.704. With this study, it was demonstrated that there were no risk association between AS and rs10489629, rs11209026, rs1343151 SNPs located in *IL23R* gene loci in Turkish population.

(This research has been funded by the Yıldız Technical University Scientific Research Projects Coordination Department. Project No: 2014-07-04-DOP01)

Keywords: Ankylosing Spondylitis, Single Nucleotide Polymorphism, Genotyping, Risk of Association

Mastitisli Sütten İzole Edilen Koagülaz Negatif *Staphylococcus* İzolatlarının PCR Çoğaltılmış *groEL*(HSP60) Geninin RFLP Analizi ile Hızlı İdentifikasyonu

Safiye Elif KORCAN², Beytullah KENAR¹, Sevim Feyza ERDOĞMUŞ²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar,

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Afyonkarahisar

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Bayat MYO, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, Afyonkarahisar

ekorcan@aku.edu.tr

Özet

Araştırmacılar, mastitis kontrolü uygulanması için süt örneklerinin mikrobiyolojik incelemesinin gerekli olduğunu konusunda fikir birliğindedir. CNS enfeksiyonu meme dokusuna zarar verebilir ve süt üretiminin azalmasına yol açar. Laktasyon enesnasında sütleki somatik hücrelerin sayısının (SCC) artması ile birlikte olarak süt verimi azalır ve ürün ekonomik kayba uğrar. Ayrıca , Süt Kültür Raporlarına göre CNS türleri daha önce düşünüldüğünden daha fazla patojeniteye sahip olabilir. Bundan dolayı CNS izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu önemlidir. Bu çalışmanın amacı, hayvan kökenli Koagülaz Negatif *Staphylococcus* (CNS) larını *groEL* geninin restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP-PCR) tekniği ile değerlendirmektir. Bu nedenle 47 CNS türü önce API Staph test kit ile identifiye edilerek belirlenen 20 izolatın genotipik karakterizasyonu *groEL*(HSP60) Geninin RFLP Analizi ile yapılmıştır. En çok rastlanan CNS türleri *Staphylococcus epidermidis* 21(44,7%), *Staphylococcus haemolyticus* 11 (23,4%) ve *Staphylococcus xylosus* 7 (14,9%) olarak saptanmıştır. PCR-RFLP profillerine göre 5 different tür identifiye edilmiştir (*Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus xylosus*). Sonuç olarak, *groEL*(HSP60) Geninin RFLP Analizi CNS izolatlarının moleküler identifikasyonunda önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak hayvansal patojenlerin identifikasyonu için ticari sistemler dizayn edilmemiştir. Bu yöntem hayvansal orjinli CNS lerin identifikasyonu için geliştirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Coagulase Negative *Staphylococcus* (CNS), *groEL* gene, PCR-RFLP, bovine subclinic mastitis.

Rapid Identification of Coagulase Negative *Staphylococcus* isolates from Mastitic milk by RFLP Analysis of PCR-Amplified *groEL* Gene (HSP60)

Abstract

Researchers are generally in agreement that microbiological examination of milk samples is vital for implementation of effective mastitis control. CNS infection can damage udder tissue and lead to decreased milk production. In lactation, CNS infection is associated with an increased milk somatic cell count (SCC), which can result in economic losses and decreased milk production. Also according to Interpreting Milk Culture Reports, some CNS species may be more pathogenic than previously thought.. Thus, CNS identification at the species level is important. The aim of this study was to evaluate of reliability the technique of restriction fragment length polymorphism (RFLP-PCR) of *groEL* gene for Coagulase Negative *Staphylococcus* (CNS) of animal origin. For this reason, 47 CNS species were identified by the API Staph test kit. Genotypic characterization, based on RFLP-PCR of the *groEL* gene, was performed on 20 CNS isolates. The most commonly identified CNS species were *Staphylococcus epidermidis* 21(44,7%) and *Staphylococcus haemolyticus* 11 (23,4%) followed by *Staphylococcus xylosus* 7 (14,9%). According to PCR-RFLP profiles, 5 different species were identified: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus xylosus*. In conclusion, PCR-RFLP of the *groEL* gene is a potentially precise assay for accurate molecular identification of CNS species. However most of the commercial identification systems are not designed to identify veterinary pathogen. This method must be developed for CNS of animal origin.

Keywords: Coagulase Negative *Staphylococcus* (CNS), *groEL* gene, PCR-RFLP, bovine subclinic mastitis

Bazı Fizyolojik Koşulların *Chromohalobacter* sp. İzolatının δ-Aminolevulinik Asit Dehidrataz (ALAD) Enzimi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Safiye Elif Korcan¹, Sevim Feyza Erdoğan², Gökçe Bulut¹, İbrahim Hakkı Cığerci¹, Kıymet Güven³

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar.

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Bayat MYO, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, Afyonkarahisar.

³ Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.

ekorcan@aku.edu.tr

Özet

Tuzcul ortamlar sıklıkla endüstriyel ve tarımsal aktiviteler sonucunda ağır metaller ile kontamine olmaktadır. Ağır metaller toksik etkiye sahiptirler ve besin zinciri ile canlılarda birikime uğramaları ciddi ekolojik ve sağlık problemlerine yol açtıkları için ağır metaller önemli çevresel bir problemdir. Kurşun endüstride en çok kullanılan metal olup hemen hemen dünyanın her yerinde kurşun kirliliği önemli bir problemdir. δ-Aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD; E.C. 4.2.1.24) bir metaloproteindir ve hem sentezinde kritik bir rol oynar. δ-Aminolevulinik asit dehidratazın kurşun ile seçici inhibisyonu, kimyasal kirliliğin önemli bir biyolojik belirleyicisidir. Bu çalışmada kurşun ve diğer ağır metaller için ALAD enziminin biyomarkör olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek için bazı ağır metallerin *Chromohalobacter* sp. izolatında ALAD enzim aktivitesi üzerine olan etkisi çalışılmıştır. Bu çalışmada ALAD enzim aktivitesi spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre; Kurşun *Chromohalobacter* sp. izolatında ALAD enzim aktivitesini olumsuz etkilemiştir. ALAD enzim aktivitesini Pb(NO₃)₂ %15, ZnSO₄ %38, MnCl₂ %54, CoCl₂ %36, FeSO₄ %15, Ni(NO₃)₂'yi %52 oranlarında inhibe etmiştir. İlginç olarak MnSO₄ enzim aktivitesini 8% oranında artırmıştır. Bu çalışmada, ALAD enzim aktivitesi pH 3 ile 11 arasında olup, optimum pH 5 ve sıcaklık 20 ve 37 °C arasında saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: ALAD, *Chromohalobacter* sp., Ağır Metal, Kurşun

Determination of the Effect of Some Physiological Conditions on *Chromohalobacter* sp. Isolate's δ-Aminolevulinic Acide Dehydratase (ALAD)

Abstract

Saline environments are frequently contaminated with heavy metals as a result of industrial or agricultural activities. Heavy-metal pollution represents an important environmental problem due to the toxic effects and their accumulation throughout the food chain leads to serious ecological and health problems. Lead (Pb) is one of the most widely used metals in industries and almost in all over the world exposure to Pb continues to be a common problem. δ-Aminolevulinic acid dehydratase (ALAD; E.C. 4.2.1.24) is a metalloprotein and plays a crucial role in heme synthesis. The inhibition of the enzyme δ-aminolevulinic acid dehydratase is recognized as a useful biomarker of Pb exposure and effect, both in humans and other animal species. Selective inhibition of δ-Aminolevulinic acid dehydratase with lead is an important biological marker of chemical contamination. In this study the effects of some heavy metals on ALADs activity of *Chromohalobacter* sp. isolates has been studied in order to determine whether their ALADs could be used as biosensor for lead and other heavy metals contamination. In this study, spektrofotometric method was used to determine ALAD activity. According to the results, Pb negatively effected ALADs activity of *Chromohalobacter* sp. isolates. Some heavy metals inhibited its activity ratio of Pb(NO₃)₂ %15, ZnSO₄ %38, MnCl₂ %54, CoCl₂ %36, FeSO₄ %15, Ni(NO₃)₂ %52. Surprisingly, MnSO₄ increased its activity up to 8%. In present study, ALAD activity was observed at pH between 3 and 11, optimum pH was found to be 5 and it was observed that ALAD has an optimal temperature between 20 and 37 °C

Keywords: ALAD, *Chromohalobacter* sp., Heavy metal, Lead

***Pimpinella peregrina* Uçucu Yağının Scopolamine ile Oluşturulan Alzheimer Modelinde Hafıza, Üzerindeki Etkileri**

Emel Aydın¹, Eyüp Bağcı¹, Lucian Hritcu², Marius Mihasan²

¹ Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Elazığ

² Alexandru Ioan Cuza Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Iasi, Romanya

eyaydin@firat.edu.tr

Özet

Pimpinella (Apiaceae) yaklaşık 150 türü bulunan bir üyedir. Bu cins, *P. peregrina* türü de bunlar arasında olmak üzere Türkiye’de 23 tür ile temsil edilmektedir.. Bu cinse ait türler Anadolu’da geleneksel olarak aperitif, sakinleştirici ve diüretik olarak kullanılmaktadırlar. Çalışmanın amacı geleneksel tıpta birçok kullanım alanı bulunan bu cinsin *P. peregrina* türüne ait uçucu yağın scopolamine ile oluşturulan Alzheimer modelinde spatial hafıza üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Scopolamine, amneziye neden olduğu bilinen ve Alzheimer hastalığı rat modelinde sıklıkla kullanılan farmakolojik bir ajandır. Bu amaçla adı geçen uçucu yağ (%1 ve %3) deney hayvanlarına 21 gün süre ile solunumla uygulanmış ve bu süre sonunda davranış testleri yapılmıştır. Bu testler Y-labirenti ve radyal-kol labirenti testleridir. Bu testlerin ardından ratlar ötanazi edilmişlerdir. Ratların hipokampus beyin homojenatlarında oksidatif stres markörleri değerlendirilmiştir. Scopolamine uygulanan ratlarda indirgenmiş glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) miktarında ve ayrıca katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPX) spesifik aktivitelerinde önemli derecede azalma görülürken asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinde ve malondialdehit (MDA) ve protein karbonil seviyelerinde artış gözlenmiştir. *P. peregrina* uçucu yağı indirgenmiş GSH, SOD, CAT ve GPX spesifik aktivitelerinde artışa, AChE spesifik aktivitesinde ve MDA ve protein karbonil seviyelerinde düşüşe neden olmuştur. Ayrıca, *P. peregrina* uçucu yağı uygulanan ratlarda DNA fragmentasyonu görülmemiş olup uçucu yağın antiapoptotik aktiviteye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Böylece, elde ettiğimiz sonuçlar *P. peregrina* uçucu yağı uygulamasının (belirtilen süre ve dozajda) rat hipokampusünde oksidatif stresi azaltarak scopolamine ile oluşturulan spatial hafıza bozukluğunu iyileştirdiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Pimpinella peregrina* uçucu yağı, Spatial hafıza, Oksidatif stres, Alzheimer hastalığı

The Effects of *Pimpinella peregrina* Essential Oil on Memory, Depression and Anxiety on Scopolamine-induced Alzheimer’s Disease

Abstract

Pimpinella (Apiaceae) is a member comprising approximately 150 species. This species is represented by 23 species in Turkey including *Pimpinella peregrina*.. The species of this genus are used as appetizers, tranquillizers, and diuretics traditionally in Anatolia. The aim of the study is to research the effects of *P. peregrina* essential oil, having a variety of area of use in traditional medicine, on spatial memory on scopolamine induced Alzheimer’s model. Scopolamine is an agent causing amnesia and frequently used for Alzheimer disease rat model. For this purpose, indicated essential oil (1% and 3%) was exposed to laboratory animals by inhalation for 21 days and subsequently behavioral tests (Y-maze and radial-arm maze tests) were carried out. Then, rats were euthanized. Oxidative stress markers were assessed on hippocampus brain homogenates of rats. In scopolamine-treated rats a significant decrease of reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase (GPX) specific activities showed while an increase of acetylcholinesterase (AChE) activity and malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl levels appeared. *P. peregrina* essential oil caused a significant increase on GSH, SOD, CAT and GPX specific activities, decrease on AChE specific activity, MDA and protein carbonyl levels. Also, DNA fragmentation was not observed in the *P. peregrina* essential oil treated-rats, suggesting antiapoptotic activity of the essential oil. Therefore, exposure to *P. peregrina* essential oil (indicated time and dosage) ameliorates scopolamine-induced spatial memory impairment by attenuation of the oxidative stress in rat hippocampus.

Key Words: *Pimpinella peregrina* essential oil, Spatial memory, Oxidative stress, Alzheimer’s disease

Farklı Üreme Koşullarının *Fusarium culmorum*'da *tri4* Gen Anlatımı Üzerine Etkisi

Gülruh Albayrak¹, Emre Yörük², Aylin Gazdağlı²

¹ İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

² İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, İstanbul

eyoruk@istanbul.edu.tr

Özet

Fitopatogenlerden *Fusarium culmorum* ekin kalitesinde azalma, ürün kayıpları ve mikotoksin kontaminasyonu ile sonuçlanan yıkıcı hastalıklara neden olmaktadır. Deoksinivalenol (DON) hastalıklı tahıllarda bulunan en yaygın *F. culmorum* mikotoksinidir. DON üretiminden *tri5* gen kümesindeki 12 gen sorumluyken, *tri4* gen anlatımı DON üretiminde esansiyeldir. Çalışmada, *F. culmorum* F15 izolatında farklı üreme koşullarının *tri4* gen anlatımı, dolaylı olarak da, DON üretimine etkisi araştırıldı. Kontrol grubu PDA besi ortamında (pH 5.6) 25°C'de üretildi. Sıcaklığın etkisi, 8°C ve 15°C uygulaması ile araştırıldı. 25°C'de üretilen kültürlerde pH'nın etkisi, pH 3.0 ve 7.0'de incelendi. Bir diğer değişken olarak ortama 0.5 mM H₂O₂ eklendi. Gen anlatımı analizi Sybr Green I temelli olarak gerçekleştirildi. Total RNA molekülleri yüksek kalite ($A_{260/280} = 1.9-2.0$) ve miktarda (2-3 µg/µl) izole edildi. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda (qPZR) *β-tubulin* iç kontrol olarak kullanıldı. Standartlar dört logaritmik fazdan (1:4:16:64) oluşturuldu ve mutlak kantitasyon değerleri kaydedildi. *tri4* anlatımı pH 3.0'da üretilen F15 izolatı dışında tüm gruplarda saptandı. ΔCT değerleri 22.26±1.14 - 26.84±4.79 arasında hesaplandı. Deney setlerine ait *tri4* anlatımı seviyesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü. $\Delta\Delta CT$ değerlerinin 1.62E-03 ile 0.7088 arasında olduğu belirlendi. En yüksek *tri4* gen anlatımı kontrol grubunda kaydedilirken en düşük gen anlatımı 15°C ve pH 5.6 koşulunda saptandı. Elde edilen veriler aynı zamanda RT-PZR (ters transkripsiyon PZR) ile de doğrulandı. Veriler *tri4* geninin laboratuvarında standart üreme koşullarında bile etkin olarak anlatım yaptığını göstermesi bakımından önemlidir. Tarladaki ekinlerde ya da toplanan mahsulde gen anlatım temelli mikotoksin analizi için kit geliştirilmesi gerekliliği tartışılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Fusarium culmorum*, gerçek zamanlı PZR, *tri4* gen anlatımı

Effects of Different Growth Conditions on *tri4* Gene Expression in *Fusarium culmorum*

Abstract

Fusarium culmorum of phytopathogens cause destructive diseases resulted in reduction in crop quality, yield loses and mycotoxin contamination. Deoxynivalenol (DON) is the most prevalent *F. culmorum* mycotoxin found in diseased cereals. Whereas 12 genes in *tri5* gene cluster are responsible for DON production, *tri4* gene expression is essential in production. In this study, effects of different growth conditions on *tri4* gene expression, indirectly on DON production, in *F. culmorum* F15 isolate were investigated. Control group was grown on PDA medium (pH 5.6) at 25°C. Effect of temperature was tested by application at 8°C and 15°C. The effect of pH on cultures grown at 25°C was investigated with pH 3.0 and 7.0. 0.5 mM H₂O₂ was added as another factor. Gene expression analysis was carried out based on Sybr Green I. High quality ($A_{260/280} = 1.9-2.0$) and quantity (2-3 µg/µL) of total RNA molecules were isolated. *β-tubulin* was used as internal control in real time polymerase chain reaction (qPCR). Standards were conducted on four logarithmic phases (1:4:16:64) and absolute quantification values were recorded. *tri4* gene expression was detected in all groups except F15 isolate grown on pH 3.0. ΔCT values were calculated as 22.26±1.14 - 26.84±4.79. It was shown that *tri4* expression level of experiment sets were lower than control group. It was determined that $\Delta\Delta CT$ values were in range of 1.62E-03 and 0.7088. While maximum *tri4* gene expression was recorded in control group, minimum gene expression was detected in pH 5.6 and at 15°C. Findings were also verified by RT-PCR (reverse transcription PCR). Findings are important revealing that *tri4* gene is effectively expressed even in standard growth conditions at laboratory. Requirement of kit development for mycotoxin analysis based on gene expression in field or harvested crops have to be discussed.

Keywords: *Fusarium culmorum*, real time PCR, *tri4* gene expression

Bitki Patojeni *Fusarium* Türlerinin Tanısında Amplifiye Edilmiş Karakterize Dizi Bölgesi Markırlarının Kullanımı

Emre Yörük¹, Tapani Yli-Mattila²

¹ İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

² Turku Üniversitesi Biyokimya Bölümü/Moleküler Bitki Biyolojisi, Turku

eyoruk@istanbul.edu.tr

Özet

Fusarium cinsi ürün kayıplarına yol açan bitki patojeni türler içerir. Bu mantar türlerinin tanısı hastalıkla mücadele stratejilerinde kritiktir. Türe-özü primerlerle elde edilen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünleri gibi moleküler ve morfolojik karakterler *Fusarium* türlerinin tanısında kullanılabilir. Amplifiye edilmiş karakterize dizi bölgesi (SCAR) markırları türe özü primer tasarımı gereklidir. SCAR markırları sıklıkla rasgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) temelli PZR ürünlerinden geliştirilirler. Güncel olarak sadece *F. graminearum* ve *F. culmorum* türlerinin tanısı için 10'dan fazla SCAR markırı geliştirilmiştir ve bunlardan dördü (UBC85F/R₄₁₀/Fg16F/R ve OPT18F/R₄₇₀/Fc01F/R) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Biz, sırasıyla, *F. graminearum* ve *F. culmorum* türlerine özü en yaygın dört markırın, UBC85₄₁₀/Fg16 ve OPT18₄₇₀/Fc01'in kullanım etkinliğini inceledik. Bu türe-özü markırlar tasarlandıkları günden beri toplamda 480 defa yayınlarda kullanıldı. Bu markırlar son beş yılda 111 yayında kullanıldı. Bu araştırma rapor verilere göre, sıklıkla Amerika, Asya ve Avrupa kıtalarındaki ülkelerden köken alan 1000'den fazla *Fusarium* izolatu başarılı bir şekilde tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bildiğimiz kadarıyla bazı araştırmalarda Nepal ve Türkiye kökenli *Fusarium* izolatları bu markırlarla karakterize edilememiştir. Bu yanlış pozitif morfolojik tanıdan kaynaklanabilir. Ayrıca, bunlar bu marker bölgelerini taşımayan ya da nukleotid dizilimi değişik olarak bu dizileri taşıyan *F. graminearum* tür kompleks türlerine ait olabilir. Ancak, bu SCAR markırı temelli türe-özü primerlerin toplam başarı yaklaşık %99'dur. Ayrıca, markır kullanımı fungal izolasyona ihtiyaç duymayan *in planta* çalışmalara uyarlanmıştır. SCAR markır temelli türe-özü primerlerin gelecekte de sıklıkla kullanılacağı görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Amplifiye edilmiş karakterize dizi bölgesi, *Fusarium* türleri, tür tanısı

Sequence Characterized Amplified Region Marker Usage in Identification of Phytopathogenic *Fusarium* species

Abstract

Fusarium genus includes phytopathogenic species causing yield losses. Identification of these fungal species is crucial in disease management strategies. Both morphological and molecular characters, such as polymerase chain reaction (PCR) products obtained by species-specific primers can be used for identification of *Fusarium* species. Sequence characterized amplified regions (SCAR) markers are necessary for designing species-specific primers. SCAR markers are often based on random amplified polymorphic DNA (RAPD)-based PCR products. Currently, more than 10 SCAR markers have been developed in order to identify just for *F. graminearum* and *F. culmorum* species and four of them (UBC85F/R₄₁₀/Fg16F/R and OPT18F/R₄₇₀/Fc01F/R) are successfully used. Here, we analyzed the usage efficiency of four most common SCAR markers, UBC85₄₁₀/Fg16 and OPT18₄₇₀/Fc01, specific for *F. graminearum* and *F. culmorum*, respectively. From the date that they were designed, these species-specific primers have been used totally 480 times in publications. During the last five years they have been used in 111 publications. According to the data reported from these investigations, more than 1000 *Fusarium* isolates originating from most commonly from countries of America, Asia and Europe have been successfully identified at species level. To our knowledge *Fusarium* isolates e.g. from Nepal and Turkey could not be characterized by these markers in several investigations. The reason might be false positive morphological identification. Besides they could belong to a species of *F. graminearum* species complex, which possess these marker regions with altered nucleotide sequence or do not possess the regions. However, the total success of these species-specific primers based on SCAR markers is approximately 99%. Moreover, markers' usage have been adopted to *in planta* identification studies, which do not need to fungal isolation. It seems that species-specific primers based on SCAR markers will be used even more often in *Fusarium* characterization in future.

Keywords: *Fusarium* species, sequence characterized amplified region, species identification

K7 ve K15 Kumarin Türevlerinin *Bacteroides fragilis*'in D-Laktat Dehidrogenazı Üzerine Olan Etkilerinin *In silico* ve Spektral Analizi

Erennur Uğurel¹, Özkan Danış², Özal Mutlu³, Başak Yüce-Dursun², Cihan Gündüz², Dilek Turgut-Bahk¹

¹Biyomühendislik Bölümü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul- Türkiye

² Kimya Bölümü, Marmara Üniversitesi, İstanbul- Türkiye

³Biyoloji Bölümü, Marmara Üniversitesi, İstanbul- Türkiye

erennurugurel@gmail.com

Özet

Kanser dünya üzerinde en çok ölüme sebep olan hastalıktır. Kemoterapide kullanılmak üzere yeni bileşiklerin tespit edilmesi yapılan önemli çalışmalar arasındadır. Son çalışmalar *Bacteroides fragilis*'in enterotoksijenik suşunun kolon kanseri ile ilişkili olduğunu göstermektedir. *Bacteroides fragilis* insan kolon florasında bulunan anaerobik bir bakteridir. *Bacteroides fragilis*'in (BfD-LDH) D-laktat dehidrogenazı, D-laktatın piruvata oksidasyonunu katalize eden anahtar bir enzimdir ve anaerobik glikolizin önemli kontrol noktasını düzenler. Bu çalışmada, enzim potansiyel ilaç tasarım çalışmaları için hedeflenmiştir. Kumarinler doğal olarak bulunabilen ve anti-enflamatuar, anti-kanser ve pıhtılaşma önleme gibi geniş biyolojik aktivite yelpazesi olan bileşiklerdir. Bu çalışmada, önceden sentezlenmiş olan K7 ve K15 kumarin türevlerinin *Bacteroides fragilis*'in D-LDH enzimi üzerine olan inhibitör aktiviteleri spektral veriler ile onaylanmıştır. K7 kumarin türevi için IC₅₀ değeri 6.281µM olarak bulunmuştur. Fakat K15 50 µM konsantrasyonda aktivite göstermemiştir. *In silico* analiz için kumarin türevlerinin kimyasal yapıları ChemDraw V10 programı ile çizilmiş ve konformasyonları MarvinSketch V6.2 programı ile tespit edilmiştir. Bu kumarin türevlerinin docking çalışmaları Glide Docking (Schrödinger-Small Molecule Discovery Suit 2014-3) ve Molegro Virtual Docker programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda her iki kumarinin de aktif bölge rezidüleri ile etkileştiği ve H-bağı yaptığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Bacteroides fragilis*, D- Laktat dehidrogenaz, Docking, Kolon kanseri, Kumarin

In silico and spectral analysis of effects of Coumarin K7 and Coumarin K15 on D-Lactate dehydrogenase from *Bacteroides fragilis*

Abstract

Colorectal cancer is common worldwide. It is a treatment used for cancer chemotherapy and recent studies showed that enterotoxigenic strains of *Bacteroides fragilis* are associated with colon cancer and *Bacteroides fragilis* is an anaerobic bacteria in the human colon flora. D-lactate dehydrogenase in *Bacteroides fragilis* (BfD-LDH) is one of the key enzyme that catalyzes the oxidation of D-lactate to pyruvate and arranges a important checkpoint of anaerobic glycolysis^{2,3}. In this study, the enzyme was choosen as a target for drug design studies. Coumarins are inherently a wide range of biological activities such as anti-inflammatory, anticancer and anticoagulant effects⁴. In this study, two coumarin derivatives K7; 4-(3,4-dimethoxyphenyl)-7,8-dihydroxy-2H-chromen-2-one and K15; 3-(phenyldiazenyl)-4-hydroxy-2H-chromen-2-one have been synthesized and confirmed on the basis of their spectral data in order to evaluate them as potential *Bacteroides fragilis* D-lactate dehydrogenase (BfD-LDH) inhibitors. They were examined for the first time for their inhibitory effect on *Bacteroides fragilis* D-lactate dehydrogenase (BfD-LDH), by using pyruvate as substrate. IC₅₀ value was found for K7 as 6.281µm but K15 showed no activity at 50 µM concentration. Coumarins were drawn and conformations were revealed by ChemDraw v10 and MarvinSketch v6.2 programs respectively for *in silico* analysis. Docking of the coumarins were performed by using Glide Docking (Schrödinger-Small Molecule Discovery Suit 2014-3) and Molegro Virtual Docker programs. As a result of docking study, interaction with active site residues and H-bond formation was shown for both chemicals.

Keywords: *Bacteroides fragilis*, Colon cancer, Coumarin, D-Lactate dehydrogenase, Docking

Klinik *Pseudomonas aeruginosa* Şuşlarında Metallo- β -laktamaz Direnç Gen Taşıyıcılığının Araştırılması

Esma Gündüz KAYA^a, Esma AKYILDIZ^b, Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK^c, Fatma ÇALIK^b,
Demet TİMUR^a, Elife BERK^a, Barış Derya ERÇAL^a, Cemal SANDALLI^a

^aDepartment of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, ^bDepartment of Biology, Faculty of Arts & Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, ^cDepartment of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize

cemal.sandalli@erdogan.edu.tr

Özet

Metallo- β -laktamazlar (MBL), B sınıfı β -laktamazlardır ve IMP (Imipenemase), VIM (Verona integron-encoded MBL) ve NDM (New Delhi MBL) olmak üzere 3 temel grubu vardır. MBL'ler diğer β -laktamaz'lardan farklı olarak aktif bölgelerinde çinko bulunduran enzimlerdir. Bugüne kadar literatürde IMP'nin 51, NDM'nin 16, VIM'in 46 aleli mevcuttur. Klinik *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) şuşları MBL'ler için potansiyel mikroorganizmalardır. Bu amaçla Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi'nde izole edilen 91 adet *P. aeruginosa* klinik şuşundan IMP, VIM, NDM direnç genlerinin taşıyıcılığı PZR yöntemi ile araştırılmıştır. On dört şuşun IMP için pozitif, 60 şuşun NDM için pozitif ve 3 şuşun ise VIM için pozitif olduğu tespit edilmiştir. Direnç genlerinin birlikte bulunma oranları incelendiğinde, 11 şuşun *bla*_{NDM} ve *bla*_{IMP} genlerini, 2 şuşun da *bla*_{NDM} ve *bla*_{VIM} genlerini birlikte bulundurduğu belirlenmiştir. Tespit edilen tüm direnç genleri pGEM-T easy vektörüne klonlanması ve baz dizin analizlerinin belirlenmesi çalışmaları devam etmektedir. Bu proje Recep Tayyip ERDOĞAN Üniversitesi BAP-2014.102.03.03 nolu proje ile desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Metallo- β -laktamazlar, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *Pseudomonas aeruginosa*

Investigation of Metallo- β -lactamase Genes in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Metallo- β -lactamases (MBL) are grouped in Class B β -lactamases and this class includes three major groups such as IMP (Imipenemase), VIM (Verona integron-encoded MBL) and NDM (New Delhi MBL). MBL are enzymes which contain zinc in their active sites and because of these reason, they are different from the other classes of β -lactamases. Up to now, there are 51 variants for IMP, 16 variants for NDM and 46 variants for VIM in the literature. Clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) are the potential microorganisms for MBL genes. For this reason, the carriage of *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}-type metallo- β -lactamase resistance genes in 91 clinical isolates of *P. aeruginosa* obtained from Erciyes University, Faculty of Medicine was investigated by PCR method. Resistance genes were detected in 14 strains for IMP, 60 strains for NDM and 3 strains for VIM. In combination, *bla*_{NDM} and *bla*_{IMP} were found together in 11 strains and *bla*_{NDM} and *bla*_{VIM} was determined together in two strains. We have ongoing studies to determine the nucleotide sequences of amplified resistance genes. This project has been supported by the project from Recep Tayyip Erdogan University (BAP-2014.102.03.03).

Keywords: Metallo- β -lactamases, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *Pseudomonas aeruginosa*

***Pseudomonas aeruginosa* Klinik İzolatlarında New Delhi Metallo-β-laktamaz 6 Allelinin (*bla*_{NDM-6}) İlk Bildirimi**

Esmâ AKYILDIZ^a, Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK^b, Fatih Şaban BERİŞ^a, Cemal SANDALLI^a

^aDepartment of Biology, Faculty of Arts & Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turkey,

^bDepartment of Biology, Faculty of Arts & Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turkey

cemal.sandalli@erdogan.edu.tr

Özet

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) son yıllarda artan insidansı, ürettiği virülans faktörlerinin çeşitliliği ve sürekli yükselen antibiyotik direnç oranlarıyla sık rastlanan, mortalite ve morbiditesi yüksek, tedavisi güç hastane enfeksiyonlarının en önemli nedenlerinden biridir. Birçok antibiyotiğe doğal dirençli olması ve son yıllarda tedavide kullanılabilecek tüm antibiyotiklere dirençli (panrezistan) kökenlerin belirmeye başlaması, hastane enfeksiyonlarında en önemli bakterilerden biri olmasında etken olmuştur. Son yıllarda keşfedilen ve transfer edilebilir B sınıfı β-laktamazı olan New Delhi Metallo-β-laktamaz (NDM-βL), dünya çapında büyüyen bir tehdittir. Bugüne kadar literatürde farklı patojen mikroorganizmalarda 16 varyantı tanımlanırken, NDM-βL-6 aleli *P. aeruginosa*'da Dünya'da hiç tespit edilmemiştir. Bu çalışmada, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Eğitim Araştırma Hastanesinde klinik *P. aeruginosa* suşları ve hem VİTEK 2 otomatize sistem hem de 16S rDNA dizisi kullanılarak tanımlandı. İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılık testi yapıldı ve NDM direnç genlerinin taşıyıcılığı PZR yöntemi ile araştırıldı. Bir suşta dünyada henüz kaydı olmayan ve bir ilk olan NDM-6 taşıyıcılığı tespit edilmiştir. Çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (BAP-2014.102.03.03) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Metallo-β-laktamaz, NDM-6, *Pseudomonas aeruginosa*

The First Identification of New Delhi Metallo-β-lactamase 6 allele (*bla*_{NDM-6}) in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Recently, it has been an increasing in the incidence, variety of its virulence factors, antibiotic resistance rates, mortality and morbidity of *Pseudomonas aeruginosa*. It has a high treatment for nosocomial infections. It is naturally resistant to many antibiotics and it shows resistant to all used antibiotics in therapy (panresistant) in recent years. This makes it one of the most important factors in bacterial infection in hospitals. It was discovered a new kind of Class B β-lactamases and named as New Delhi metallo-β-lactamase (NDM-βl). This new β-lactamase can be transferred and it has a growing threat worldwide. So far, its 16 variant has been described in the literature from different microorganisms, but up to now, the NDM-βl-6 allele in *P. aeruginosa* has not been detected worldwide. In this study, clinical *P. aeruginosa* strains were identified from Recep Tayyip Erdogan University, Training and Research Hospital by using both the VITEK 2 automated system and 16S rDNA sequence. Antibiotic susceptibility test of isolates was done according to the CLSI and their NDM gene carriage was investigated by PCR method. NDM-6 was firstly determined in one of the strains in the worldwide. This project has been supported by the project from Recep Tayyip Erdogan University (BAP-2014.102.03.03).

Keywords: Metallo-β-lactamase, NDM-6, *Pseudomonas aeruginosa*

Moleküler Bir Yöntem Olan Çevresel DNA'nın (eDNA) Bazı Egzotik Sucul Bitki Türlerinin Tanımlanmasında Kullanılması

Esra Mine Ünal¹, Hasan Hüseyin Atar¹, Emre Keskin¹

¹Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü Evrimsel Genetik Laboratuvarı

esra.mine.unal@ankara.edu.tr

Özet

Tür çeşitliliğinin tespit edilmesi ekolojik düzen ve bilimsel çalışmalar için en önemli basamaklardan biri olarak kabul edilmektedir. Teknolojinin gelişmesiyle tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaya başlayan moleküler yöntemlerle tanımlama sürecinin büyük ölçüde ivme kazandığı ve çok büyük yol kat edildiği birçok bilimsel otorite tarafından kabul edilmiştir. Başta Kuzey Amerika, Avrupa, Avustralya ve Uzakdoğu ülkeleri olmak üzere dünyanın birçok yerinde hükümetlerce bile kabul edilerek resmi prosedür haline getirilen moleküler yöntemlerin kullanılması sürecine ülkemizin tam anlamıyla entegre olamadığı görülmektedir. Bu çalışmada geleneksel tanımlama yöntemleri ile tespit edilmesi çok uzun bir süreç ve büyük uzmanlık gerektiren sucul bitki türlerinin tanımlanması için çevresel DNA yöntemi kullanılarak türlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma egzotik bitki türlerinin *in vitro* olarak yetiştirildiği ortamdan alınan 50 ml'lik su örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler peristaltik pompa yardımı ile 47 mm çapında, 0,20 µm'lik selüloz nitrat filtreden geçirilmiş ve membrana sabitlenen eDNA örnekleri sudan DNA izolasyon protokolleri kullanılarak kalıp DNA haline getirilmiştir. Tür seviyesinde moleküler tanımlama amacıyla, Consortium for the Barcode of Life (CBOL) tarafından önerilen rbcL (Ribulose biphosphate carboxylase large chain) geni evrensel bitki barkodlama primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) işlemi sırasında su örneklerinden elde edilen DNA'lar için "çoklu-tüp" yaklaşımı tercih edilmiştir. PCR ürünleri saflaştırıldıktan sonra DNA dizi analizleri yapılmış ve referans gen dizileri kullanılarak tür seviyesinde tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, eDNA yönteminin sucul bitkilerin tür seviyesinde tanımlanmasında başarı ile kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Çevresel DNA, DNA Barkodlama, Moleküler Tanımlama, rbcL, Sucul Bitkiler.

Using Environmental DNA as a Molecular Method for Identification of Some Exotic Aquatic Plant Species

Abstract

Identification of species diversity is recognized as one of the most important steps in ecology and scientific studies. Starting with the development of the technology, the identification process has gained momentum largely by molecular methods. Many scientific authorities accept that the molecular identification methods has been improved very quickly. Especially North America, Europe, Australia and Far East governments considered the use of molecular methods and processes as a legal procedure, unfortunately our country couldn't integrate this scientific development. Traditional identification methods requires great expertise and time for detection of aquatic plant species. Therefore this study aimed to identify some aquatic plant species using environmental DNA method. Study was performed with 50 ml of water samples taken from exotic aquatic plant species cultured *in vitro* conditions. Samples were filtered through a 47 mm diameter and a 0.2 µm cellulose nitrate filter using a peristaltic pump. Template DNA's were extracted from eDNA samples obtained through the membrane using DNA isolation from water protocol. Consortium for the Barcode of Life (CBOL) recommends rbcL (ribulose biphosphate carboxylase a large chain) gene for identification of plant species. Primer pairs were selected from universal primers for Polymerase Chain Reaction (PCR) of rbcL gene region. During the PCR process "multi-tube" approach was used to obtain DNA from water samples. After purification, PCR products were subjected to DNA sequencing analysis. Alignments were performed using the reference gene sequences and identifications were made to species level. Our results indicated that eDNA method can be a successful technique for species level identification of aquatic plants.

Keywords: Aquatic Plants, Environmental DNA, DNA Barcoding, Molecular Identification, rbcL.

Farklı Lokalitelerden İzole edilen *Promicromonospora* ve *Micromonospora* Suşlarının 16S rRNA ve *rpoB* Gen Bölgesi ile Moleküler Tanımlaması

Fadime Özdemir Koçak¹, Kamil Işık²

¹Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Bilecik

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun

fadime.ozdemirkocak@bilecik.edu.tr

Özet

Micromonosporaceae familyasında yer alan *Micromonospora* cinsinin toprak, su, denizel ortam ve sedimentlerde bulunabildiği bildirilmiştir. *Promicromonospora* cinsi üyeleri, kokoid ve basil formdaki fragmentler içinde substrat miselyumu üretimi ve dallanmamış ağır asitleriyle karakterizedir. DNA bağımlı RNA polimeraz β alt ünitesini kodlayan *rpoB* gen bölgesi *Amycolaptosis*, *Corynebacterium*, *Micromonospora*, *Nocardia* ve *Streptomyces* cinslerinde filogenetik ilişkiyi belirlemede başarıyla kullanılmıştır. Bu çalışmada, toprak örnekleri, Fransa (Gap) ve Türkiye (Balıkesir ve Kütahya) olmak üzere iki farklı ülkeden ve farklı lokalitelerinden temin edildi. Aktinomisetlerin izolasyonu için hümitik asit agarlı (HV) sükröz gradient santrifüjasyon metodu kullanıldı ve çok sayıda aktinomiset izole edildi. Morfolojik özellikler dikkate alınarak yapılan renk gruplandırması sonucu seçilen 38 izolattın, 16S rRNA gen dizileri belirlenerek EzTaxon'da GenBank'lardaki mevcut dizilerle karşılaştırılarak, birinin *Promicromonospora* ve üçünün *Micromonospora* izolatu olduğu belirlenmiştir. Seçilen izolatların pariyal *rpoB* dizisi ilgili primerler kullanılarak elde edilmiştir. İzolatların ilgili tip suşlarıyla filogenetik analizleri, 16S rRNA ve *rpoB* gen bölgeleri için ayrı ayrı hizalamaları yapılarak Mega 5.1 programında gerçekleştirildi. 16S rRNA gen dizisine analizlerine göre, FFN01 *Promicromonospora* sp.'nin % 99.35 benzerlik ve 9 nükleotit; *Micromonospora* cinsi üyelerinin ise % 99.3-99.7 benzerlik ve 4-12 nükleotit farklılıklarına sahip oldukları belirlenmiştir. Aynı zamanda, organizmaların *rpoB* gen bölgesinde % 81-98 benzerlik ve 2-38 nükleotit farklılığı gösterdiği de tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: 16S rRNA, *Micromonospora*, *Promicromonospora*, *rpoB*

Molecular identification of *Promicromonospora* and *Micromonospora* strains isolated from different locality by the 16S rRNA and *rpoB* gene regions

Abstract

The genus *Micromonospora* in family *Micromonosporaceae* are reported to inhabit soil, water, marine environments and sediments. Members of the *Promicromonospora* genus are characterized by the production of substrate mycelia that fragment into bacillary or coccoid elements, no branched fatty acids. The *rpoB* gene encoding the subunit of DNA-dependent RNA polymerase has been successfully used to determine phylogenetic relationships among strains in the genus *Amycolaptosis*, *Corynebacterium*, *Micromonospora*, *Nocardia* and *Streptomyces*. In study, soil samples were collected from different locality of two different countries France and Turkey. For the isolation of actinomycetes, we used sucrose-gradient centrifugation method with humic acid-vitamin (HV) agar and numerous actinomycete were isolated. Selected 38 isolates on the basis of morphological characteristics of colour groups were analysed for 16S rRNA gene sequence data compared in GenBank available sequences using the EzTaxon server, the three isolates were identified as members of *Micromonospora* and one strain of *Promicromonospora*. Partiyal *rpoB* sequence of the selected isolates were obtained using the related primers. Phylogenetic analysis was conducted using MEGA 5.1 by first generating a complete alignment of 16S rRNA and *rpoB* gene sequences of the isolates and type strains of valid species. According to the analysis, FFN01 *Promicromonospora* sp. shared 99.35% of 16S rRNA gene sequence similarity with the type strain value, corresponding to 9 nt differences and members of the genus *Micromonospora* shared 99.3-99.7% of 16S rRNA gene sequence similarity with the type strain value, corresponding to 4-12 nt differences. At the same time, these organism have also been identified that shared 81% and 98% of *rpoB* gene sequence similarity and 38 to 2 nt differences, respectively.

Keywords: 16S rRNA, *Micromonospora*, *Promicromonospora*, *rpoB*

Termofilik *Anoxybacillus flavithermus* *ptps* Geninin Ekspresyonu ve Gen Ürününün Biyokimyasal Karakterizasyonu

Fatih Ş. BERİŞ¹, Esma Akyıldız¹, Hakan Karaoğlu², Emine Akyüz Turumtay³, Gözde Girgin⁴, Terken Baydar⁴

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Ed. Fakültesi Biyoloji Bölümü, 53100, Rize

²Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, 53100, Rize

³Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Ed. Fakültesi Kimya Bölümü, 53100, Rize

⁴Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Toksikoloji Bölümü, Ankara

fatihberis@gmail.com

Özet

Fenilketonüre (FKU) veya hiperfenilalanemia (HPA), kalıtsal metabolik bir hastalık olup primer ortaya çıkış nedenlerinden biri tetrahidrobiopterin (BH4) biyosentez mekanizmasından sorumlu olan *gchI*, *ptps* ve *spr* genlerinde bozukluklardır. PTPS, dihidroneopterin trifosfatı 6-pirovoil tetrahidropterine dönüştürür. BH4'ün kimyasal olarak sentezlenmesi oldukça zordur ve karmaşık prosedürlerin kullanımını gerekli kılar. Bu nedenle, BH4 biyosentez yolunda görevli olan genlerin rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak mikroorganizmalarca üretiminin sağlanması kimyasal senteze alternatif olabilir. Çalışmamızda, termofilik *Anoxybacillus flavithermus* bakterisine ait 438 nükleotilik *ptps* geni, NCBI Gen Bank verilerinden elde edilen dejenere primerler kullanılarak PZR ile elde edildikten sonra pET28a(+) ekspresyon vektörüne klonlandı ve *E. coli* BL21(DE3)pLysS hücresine aktarıldı. 37°C'de 4 saat boyunca IPTG indüksiyonu yapılarak gen ekspresyonu sağlandı. Gen ürünü olan PTPS, ısı şoku ve Ni-NTA saflaştırma kolonu ile saflaştırıldı. Enzimin optimum pH 8,8'de, optimum sıcaklığının 65°C'de olduğu belirlendi. Enzim aktivitesi, doğal metabolik substratı olan 7,8-dihidro-*D*-neopterin-3'-trifosfatın 6-piruvoyltetrahidropterine dönüşümü ile ayrıca sepiapterinin 7,8-dihidroneopterin dönüşüm reaksiyonları ile belirlendi. Enzimin sepiapterini 7,8-dihidroneopterin dönüşümüne yeteneğinin olmadığı görüldü. Doğal substratı ile yapılan biyokimyasal karakterizasyonlar devam etmektedir. Bu çalışma TÜBİTAK 113Z811 nolu proje ile desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Anoxybacillus flavithermus*, fenilketonüre, ısıl kararlı enzim, PTPS.

Expression and Biochemical Characterization of Thermophilic *ptps* Gene from *Anoxybacillus flavithermus*

Abstract

PKU or HPA are congenital disorders due either to mutated enzyme protein such as (GTP cyclohydrolase I, GCHI, 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase, PTPS, and sepiapterin reductase, SPR) or to a deficiency of its obligatory cofactor tetrahydrobiopterin (BH4). PTPS catalyzes the second step of tetrahydrobiopterin (BH4) synthesis and converts dihydronopterin triphosphate to 6-pyruvoyl tetrahydropterin. The chemical synthesis of BH4 is difficult. It requires expensive materials, uses many synthetic steps, and requires complicated handling procedures. This makes it a good target for the development of alternate production methods with using responsible genes in microorganisms with recombinant DNA technologies. In this study, *ptps* gene from thermophilic *Anoxybacillus flavithermus*, was cloned into an expression vector, pET28a(+) and introduced in *E. coli* BL21(DE3)pLysS host cells. Gene expression was achieved by IPTG induction at 37°C. PTPS was purified by heat shock and Ni-NTA affinity chromatography techniques. We determined the optimum pH and temperature of the enzyme are 8.8 and 65°C, respectively. To biochemical characterization of the enzyme, we have used two substrate, 7,8-dihydronopterin triphosphate as metabolic substrate, and sepiapterine. PTPS cannot convert sepiapterin to 7,8 dihydronopterin. Other biochemical studies with metabolic substrate were continued. This study was supported by TUBITAK (Project No. 113Z811).

Keywords: *Anoxybacillus flavithermus*, PKU, PTPS, thermophilic enzyme.

Çeşitli Gıdalardan İzole Edilen *Yersinia* spp.'lerin Genotipik Virulans Karakterlerinin Belirlenmesi

Fatma Özdemir, Seza Arslan

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bolu

ozkardes_f@ibu.edu.tr

Özet

Yersinia cinsi, *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde yer almakta olup 11 tür içermektedir. *Yersinia* cinsi, insanlar için patojen olarak bilinen *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* ve *Y. pestis* olmak üzere 3 türü içermektedir. Patojen ve patojen olmayan *Yersinia* türleri çevreden, insanlardan, hayvanlardan ve gıdalardan olmak üzere çeşitli kaynaklardan izole edilebilmektedir. *Yersinia* türlerinin buzdolabı sıcaklığında üreyebilme yeteneği, düşük ısılarda depolanan et ve çiğ süt gibi gıdalarda bu bakterilerin gelişimini mümkün hale getirmektedir. Bu patojenlerin insanlara geçişinde kontamine gıdaların tüketilmesi önemli rol oynar. İnsanlarda *Y. pseudotuberculosis* ve özellikle *Y. enterocolitica* iyi bilinen gıda kaynaklı patojenlerdir. *Y. enterocolitica* suşlarının patojenitesi öncelikle kromozom ve plazmid üzerinde kodlanan virulans markırlarının varlığına bağlıdır. Bu çalışmada, Bolu ilinde perakende olarak satılan ve insanların tüketimine sunulan toplam 300 et ve süt ürününden 84 *Yersinia* spp. konvensiyonel kültür yöntemi ve 16S rRNA gen amplifikasyonu ile adlandırılmıştır. Tanımlamada kullanılan fenotipik ve genotipik yöntemler birbiriyle uyumlu bulunmuştur. Adlandırılan 18 *Y. enterocolitica* suşu ve diğer 66 *Yersinia* suşunda kromozom (*ail*, *ystA* ve *ystB*) ve plazmid (*yadA* ve *virF*) üzerinde kodlanan toplam 5 virulans gen bölgesinin varlığı araştırılmıştır. Bu çalışma, *Y. enterocolitica* ve diğer *Yersinia* suşlarının hiçbirinin *ail*, *ystA*, *yadA* ve *virF* genlerini taşımadığını göstermiştir. Tavuktan izole edilen *Y. enterocolitica* suşlarının ikisi ve *Y. intermedia* suşlarının sadece birisi *ystB* geni için pozitif bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: 16S rRNA, Et ürünleri, Süt ürünleri, Virulans genler, *Yersinia* spp.

Detection of Genotypic Virulence Characteristics of *Yersinia* spp. Isolated from Various Foods

Abstract

The genus *Yersinia* belongs to the family *Enterobacteriaceae* and comprises 11 species. The genus *Yersinia* includes three species; *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* and *Y. pestis*, which are known to be pathogens in humans. Pathogenic and non-pathogenic *Yersinia* species can be isolated from various sources such as the environment, humans, animals and foods. Due to their ability to survive at refrigerated temperatures, *Yersinia* species can grow in foods like meat and raw milk stored at lower temperatures. Consumption of contaminated foods plays an important role in transmission of these pathogens to humans. In humans, *Y. pseudotuberculosis* and especially *Y. enterocolitica* are well-known foodborne pathogens. The pathogenicity of *Y. enterocolitica* depends primarily on the presence of virulence markers that are encoded on chromosome and plasmid. In this study, a total of 84 out of 300 meat and milk products marketed in retail stores in Bolu and supplied for human consumption, were identified as *Yersinia* spp. by the conventional culture method and 16S rRNA gene amplification. The phenotypic and genotypic methods used for identification were in agreement with each other. The presence of five virulence genes encoded on the chromosome (*ail*, *ystA* and *ystB*) and plasmid (*yadA* and *virF*) was investigated in the 18 *Y. enterocolitica* and other 66 *Yersinia* strains identified. This study has demonstrated that none of the *Y. enterocolitica* and other *Yersinia* strains contained the *ail*, *ystA*, *yadA* and *virF* genes. Two *Y. enterocolitica* strains and only one *Y. intermedia* strain isolated from chicken meat were found to be positive for the *ystB* gene.

Keywords: 16S rRNA, meat products, milk products, virulence genes, *Yersinia* spp.

Toprak Bakterilerinden Ekstraselüler Lipaz Üretimi, İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Sümeýra Savaş Acar¹, Fatma Yılmaz², Sema Arslan³, Kubilay İnci⁴, Hilal Çark⁵

¹Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, Türkiye

^{2,3,4,5}Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas, Türkiye

fatma.yilmaz_123@outlook.com

Özet

Hücre dışı enzimlerden lipaz, deterjan, gıda, kozmetik ve ilaç üretimi gibi birçok farklı endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Bu çalışmada, ağaç kökleri üzerinden alınan toprak örneklerinde bulunan bakteriler Tween 20, Tween 40 veya Tween 80 içeren besi ortamlarında çoğaltılarak lipaz aktivitesi bakımından tarandı. Pozitif aktivite gösteren suşlar seçilerek bazı fiziksel ve biyokimyasal özellikleri belirlendi: seçilen izolatların tümünün çubuk şeklinde, Gram(-), ve fakültatif anaerob bakteriler oldukları saptandı. Belirli aralıkta pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonları kullanılarak optimum çoğalma koşulları araştırıldı. Moleküler karakterizasyon çalışmaları devam etmektedir. Bulguların tümü poster sunumunda ayrıntılı olarak yer alacaktır.

Anahtar Kelimeler: Endüstriyel enzim, Hücre dışı enzim, lipaz, *Pseudomonas*, toprak bakterileri.

Extracellular Lipase Production from Soil Bacteria, Isolation and Characterization

Abstract

Extracellular lipase enzymes are used in many different fields of industrial production, such as detergents, foodstuffs, cosmetics and pharmaceuticals. In this study, bacterial contents of soil samples, obtained from the roots of trees, were screened for lipase activity by growing them on the solid media supplemented with either Tween 20, Tween 40 or Tween 80. Some of the physiological and biochemical properties of the strains, producing positive results, were determined: all the selected isolates were found to be bacilli, Gram (-) and facultative anaerobe. Using a certain range of pH, temperature, and salt concentrations the optimum growth conditions were also investigated. Molecular characterization of the isolates is still under investigation. All the findings will be included in detail in the poster presentation.

Key Words: Extracellular enzyme, industrial enzyme, lipase, *Pseudomonas*, soil bacteria.

Toprak Bakterilerinden Ekstraselüler Pektinaz ve Amilaz Üretimi, İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Sümeysa SAVAŞ ACAR¹, Sema ARSLAN², Kubilay İNCİ³, Hilal ÇARK⁴, Fatma YILMAZ⁵

¹Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, Türkiye

^{2,3,4,5,6}Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas, Türkiye

fatma.yilmaz_123@outlook.com

Özet

Hücre dışına salınan pektinaz ve amilaz enzimleri atık su arıtımı, deri, kağıt ve tekstil sanayii, gıda ve ilaç üretimi gibi birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, içinde *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* gibi değişik bakteri türlerini barındıran toprak örneğinden amilaz ve pektinaz enzimleri izole edildi. Bu izolatlar değişik substratlı ortamlarda çoğaltıldı. Boyama ve ışık mikroskobu ile inceleme sonucunda Gram-pozitif ve Gram-negatif, *basillus* veya *kok* şekilli bakteriler gözlemlendi. Bazı biyokimyasal testler de yapıldı: izolatların tümünün katalaz pozitif olduğu sonucuna varıldı. Sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu ve oksijen varlığı gibi çeşitli optimum çoğalma parametreleri belirlendi. Pektinaz ve amilaz enzimlerinin saflığı ve molekül ağırlıkları SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat-Polyakrilamid jel elektroforezi) ile saptandı. Sonuçların tümü poster sunumunda yer alacaktır.

Anahtar Kelimeler: Amilaz, *Bacillus*, ekstraselüler enzim, pektinaz, *Pseudomonas*.

Extracellular Pectinase and Amylase Production from Soil Bacteria, Isolation and Characterization

Abstract

Summary Pectinase and amylase enzymes, secreted outside the cells, have often been used in many diverse fields of industry such as waste water treatment, leather, paper and textile industry, and manufacturing of food and pharmaceuticals. In this study, different bacteria, such as *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, were isolated from the soil samples. Isolates were grown in medium containing different substrates. Those isolates showing amylase and pectinase activities were selected. By staining and light microscopy the isolates were observed to be Gram-positive, Gram-negative, bacilli or cocci. Some biochemical tests were also performed: it was concluded that all the selected isolates were catalase positive. Various optimum growth parameters such as temperature, pH, salt concentration, and presence of oxygen were studied. Purity of pectinase amylase enzymes as well as their molecular weights were determined by SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-Polyacrilamide gel electrophoresis). All of the results will be included in the poster presentation.

Key words: Amylase, extracellular enzyme, *Bacillus*, pectinase, *Pseudomonas*.

Farklı Su Kenesi (Acari; Hydrachnidia) Türleri için Moleküler Taksonomik Yöntem: DNA Barkodlama İle Filogenetik İlişki Düzeylerinin Tartışılması

Ferruh Asçı¹, Süleyman Cenkçi¹, Şaban Kabak¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar

f_asci@aku.edu.tr

Özet

57 familya içinde 400 cinse ait 6000'den fazla su keneleri türü tanımlanmıştır. Su akarlarının sınıflandırılmasında geleneksel taksonomik yöntemler kullanılmaktadır. Yakın su akarı türlerin tanımlanmasında geleneksel taksonomik yöntemler bazen yetersiz olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada; DNA barkotlamayı gerçekleştirmek ve örnekler arasındaki filogenetik ilişkiyi göstermek amacıyla, Karamık Gölünden alınan bazı su akarı türlerine (*Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida* ve *Piona sp*) ait tek bireylerden genomik DNA manuel yöntemle ekstrakte edilmiş, sonrasında 650 bp mitokondriyal sitokrom oksidaz 1 (COI) gen parçası PCR'da çoğaltılmış ve son olarak bu çoğalmış DNA parçaları sekanslanmıştır. MEGA6 paket programı, su akarı tür içi ve tür arası filogenetik ilişkileri geliştirmek için kullanılmıştır. Her türe ait bireysel örneklerin DNA barkodlama analizleri morfolojik temelli ayırıştırmanın doğruluğunu göstermiştir. Filogenetik analizler su akarı türlerinin tür temelinde başarılı bir şekilde gruplandırmıştır. Bu öncül *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida* ve *Piona sp* türleri için bir ilktir. Bulgular DNA barkotlama yönteminin gelecekte bu grubun tartışmalı sistematik problemlerinin çözümüne büyük katkı sağlayacağı açıktır.

Anahtar kelimeler: Su Kenesi, Akar, Hydrachnidia, DNA barkodlama, COI geni

Molecular Taxonomic Method for The Different Water Mites (Acari; Hydrachnidia) Species: Discussion of Phylogenetic Relationships with DNA Barcoding

Abstract

More than 6000 water mite species with 400 genera belonging to 57 families have been described. Traditional taxonomic tools have been used to classify water mite species. The traditional classification tools are sometimes reported as inadequate in the description of the closest water mite species. In this study, the genomic DNAs of some water mite speices (*Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida* ve *Piona sp.*) obtained from Karamık Lake were manually extracted from individual specimens, subsequently 650 bp fragment of mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) was amplified by using routine PCR technique and finally the amplified PCR fragments were directly sequenced in order to perform DNA barcoding and show phylogenetic relationship among the examined specimens. MEGA6 software was used to develop the phylogenetic relationships at inter- and intra-species level. The analyses of DNA barcoding for individual sample of each water mite species are consistent with the results of classical taxonomy based on morphological characters. Phylogenetic analyses successfully grouped the specimens of water mites at species level. This pioneer study is the first for the species of *Georgella helvetica*, *Hydrodroma despiciens*, *Limnesia fulgida* ve *Piona sp.* The results indicated that DNA barcoding will be very useful in the classification of doubtful species of water mites.

Keywords: Water mites, Acari, Hydrachnidia, DNA barcoding, COI gene

Molecular characterization of *Alternaria* species isolated from *Pistacia vera* L.

Safa Jasım Ali¹, Feyza Nur Kafadar¹, Ali Jadaan Al-Aayedı¹, Selçuk Basbuğa¹, Ayhan Turan¹, Edibe Özgün¹, Kamil Sarpkaya², Fatma Konukoğlu², Canan Can¹

¹ Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep

² Gaziantep Fıstık Araştırma Enstitüsü, Gaziantep

incik@gantep.edu.tr

Özet

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) Türkiye de önemli ekonomik gelir getiren bir tarım ürünüdür. Antepfıstığında (*Pistacia vera* L.) ve diğer birçok önemli tarım bitkilerinde *Alternaria* spp. verim kaybına neden olmaktadır. Antepfıstığında

Alternaria yanıklık hastalığına karşı dayanıklılıkta populasyonun yapısıyla ilgili bilgiler çok önem taşımaktadır. Bu çalışmada *Alternaria* spp. izolatlarını karakterize etmek için doğrudan PCR-RFLP metodları kullanılmıştır. *Alternaria* spp. izolatları Türkiye'nin farklı fıstık yetiştiriciliği yapılan alanlarından olmak üzere 29 lokasyondan yerli kültürlerden elde edilmiştir. (ITS), Aktin ve (TEF) bölgelerinden özel disayn edilmiş spesifik primerler kullanılarak *Alternaria* türlerinin tespit edilip tanımlanması için PCR yapılmıştır. Sırasıyla (ITS), Aktin ve (TEF) olmak üzere yaklaşık 600 bp, 250 bp ve 280 bp ampliconlar elde edilmiştir. PCR ürünleri *Hind*III, *Pst*I, *Taq*I ve *Eco*RI endonükleaz kesim enzimleri ile elde edilmiştir. ITS ve TEF deki *Hind* III, *Taq*I ve *Eco*RI lerde yüksek polimorfizm gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pistacia vera* L., *Alternaria*, PCR-RFLP.

Molecular characterization of *Alternaria* species isolated from *Pistacia vera* L.

Abstract

Pistacia vera L. is an important crop species in Turkey with considerable economic income. *Alternaria* spp cause yield loss in *Pistacia vera* L. and many other agriculturally important plants. Information on population structure is critical in breeding for resistance to *Alternaria* blight in pistachio. This study was carried out to characterize *Alternaria* isolates through PCR-RFLP. *Alternaria* spp isolates were recovered from local cultivars from 29 locations in different pistachio growing districts of Turkey. PCR based assay was developed for the detection and identification of *Alternaria* spp. using specific primers designed from nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS), Actin and Translation Elongation Factor (TEF) regions. Approximately 600 bp, 250 bp and 280 bp amplicons were obtained for ITS, Actin and TEF, respectively. The PCR products were cut with *Hind*III, *Pst*I, *Taq*I and *Eco*RI restriction endonucleases. High level of polymorphism was observed with *Hind*III, *Taq*I and *Eco*RI on ITS and TEF.

Keywords: *Pistacia vera* L., *Alternaria*, PCR-RFLP.

***Pistacia vera* L.’den izole edilen *Aspergillus* türlerinin PCR- RFLP analizleri**

Ali Jadaan Al-Aayedı¹, Feyza Nur Kafadar¹, Safa Jasım Ali¹, Edibe Özgün¹, Ayhan Turan¹, Kamil Sarpkaya², Canan Can¹

¹ Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep

² Gaziantep Fıstık Araştırma Enstitüsü, Gaziantep

incik@gantep.edu.tr

Özet

Pistacia vera L. Batı Asya ve Orta Doğu Bölgelerinde yetişen Anacardiaceae familyasına ait yaprağını döken bir ağaçtır (Woodroof, 1967; Tous & Ferguson, 1996). Antepfıstığı üretimi Türkiye’de çoğunlukla Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde Gaziantep, Şanlıurfa ve Siirt yörelerinde geniş bahçelerde yapılmaktadır. Antepfıstığında tespit edilen çoğu hastalıklar önemli hasarlara yol açmaktadır. *Aspergillus* türleri dünya çapında çeşitli habitatlarda, yiyecekleri çürüten mikotoksinleri üretir, insan ve hayvan patojeni olarakta bilinmektedir. *Aspergillus* büyük miktarda Aflotoksin ürettiğinden Orta Doğu ülkelerinde yetiştirilen antepfıstıklarında büyük tehlike oluşturmaktadır. Bu çalışma Türkiye’nin farklı iklimatik bölgelerinden toplanan antepfıstığı meyvelerinde izole edilen *Aspergillus spp.*’lerin DNA polimorfizmlerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Toplam 27 *Aspergillus* türleri izole edilmiş ve PCR çalışmaları *Aspergillus* türlerini tespit ve teşhis için geliştirilmiştir. ITS, Aktin ve β -Tubilin gibi markerler nükleer ribosomal design edilmiş spesifik primerler kullanılmıştır. PCR ürünleri RFLP analizlerini çeşitli restriksiyon enzimleri (*Hind*III, *Pst*I, *Taq*I ve *Eco*RI) RFLP analizlerinde *Aspergillus* izolatlarında, ITS, Aktin ve β -Tubilin’lerle PCR ve RFLP’da kullanılmıştır. Düşük oranda polimorfizm tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pistacia vera* L., *Aspergillus*, PCR-RFLP

PCR - RFLP analyses of *Aspergillus* specieses isolated from *Pistacia vera* L.

Abstract

Pistacia vera L. is a deciduous tree native to Western Asia and parts of the Middle East that belongs to the family Anacardiaceae (Woodroof, 1967; Tous & Ferguson, 1996). Pistachio production in Turkey are mainly conducted in the Southeastern Anatolia region and Gaziantep, Sanliurfa and Siirt provinces have large Pistachios orchards. One of the most important types of fungal diseases that infect pistachio fruit is *Aspergillus spp.* that is a diverse genus with high economic and social impact. Species occur worldwide in various habitats and they are known to spoil food, produce mycotoxins and are frequently reported as human and animal pathogens. As the *Aspergillus* produce large amounts of Aflatoxin in many of pistachios in the countries in the Middle East, this led to great fear about its possible presence in pistachios. This study aimed to determine DNA polymorphism of *Aspergillus spp* isolated from pistachio fruits grown in different climatic regions of Turkey. PCR-RFLP A total of 27 *Aspergillus* species was isolated and PCR based assay was developed for the detection and identification of *Aspergillus spp* using specific primers designed from nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS), Actin and β -tubulin. The PCR products were subjected to RFLP analyses with several restriction enzymes namely *Hind*III, *Pst*I, *Taq*I and *Eco*RI. Low range of polymorphism were detected among *Aspergillus* isolates with ITS, Actin and β -tubulin through PCR-RFLP.

Keywords: *Pistacia vera* L., *Aspergillus*, PCR-RFLP

Tıbbi Bitkilerin Diyabet Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasında Yeni Nesil Sekanslama Teknolojisinin Kullanımı

Filiz Altan¹, Reşat Ünal¹

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Muğla

afiliz@mu.edu.tr, resatunal@mu.edu.tr

Özet

Bitki biyoteknolojisindeki ilerlemeler eşliğinde, bitki genomunun yapısı ile ilgili çalışmalar daha hızlı yol almaya başlamıştır. Son yıllarda geliştirilen yeni nesil sekanslama teknolojisi ile bitki ve diğer farklı organizma genomlarının hızlı, verimli ve yüksek doğrulukta sekanslanması sağlanmaktadır. Bu teknoloji sayesinde, elde edilen genom verileri aracılığı ile farklı popülasyonlarda genomik farklılıkların belirlenmesi, biyotik ve abiyotik streslere karşı dayanıklılık ile ilgili genomda ilgili markörlerin geliştirilmesi yönündeki çalışmalar da hız kazanmıştır. Ayrıca yeni nesil sekanslama teknolojisi ile yüksek yoğunlukta genomu kaplayan DNA markörlerinin, düşük maliyetle belirlenmesi önem arz etmektedir. Yeni nesil sekanslama teknolojisinin çok önemli bir diğer avantajı da, bu teknolojinin uygulamalarının işlevsel genomik çalışmalara çok önemli bir altyapı oluşturmuş olmasıdır. Farklı tıbbi bitkilerin, antioksidan, antilipid peroksidatif aktiviteleri, alfa glukozidaz inhibe edici etkiler, glukoz alınımları üzerindeki rolleri gibi etkileri nedeniyle, bu bitkilerin diyabet için terapötik özellikte kullanımları her geçen gün daha da ilgi uyandıran bir konu olarak karşımıza çıkmakta ve bu yönde yapılan çalışmalar artmaktadır. Monojenik diyabetin genetik olarak test edilmesinde hedeflenmiş yeni nesil sekanslama teknolojisinin kullanılabileceğinin gösterilmiş olması, bu teknolojinin diyabete terapötik bir yaklaşım sunacak bilgi birikiminin sağlanmasına zemin hazırlaması bağlamında önemli olduğunu göstermektedir. Sonuç itibarıyla yeni nesil sekanslama teknolojisi, farklı uygulamalarda bitki genetikçileri ve ıslahçıları için düşük maliyet ve yüksek güvenilirlikte istenilen çözümlere ulaşmada hızlı ve doğru bir yaklaşım olarak gözükmektedir. Bununla birlikte bu teknolojinin diyabet konusundaki yaklaşımlara yönelik önemli bir araç olarak kullanılabilir olması, tıbbi bitkilerin terapötik kullanımları konusundaki çalışmalar için önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tıbbi Bitkiler, Diyabet, Bitki Biyoteknolojisi, Yeni Nesil Sekanslama, DNA markör

The Use of Next Generation Sequencing on Investigating the Role of Medicinal Plants in Diabetes

Abstract

Due to the advances in plant biotechnology, studies on the structure of plant genomes have accelerated immensely. The rapid, fast and highly accurate sequencing of plants and other different organisms is provided through the next generation sequencing technologies developed in recent years. Thanks to this technology, via the use of genomic data obtained studies towards the identification of genomic differences in different populations, the development of biotic and abiotic markers associated with resistance to stress related genome gained a special interest. In addition, it is important to determine high density of DNA markers covering the genome through new generation sequencing technology at low cost. Another very important advantage of the new generation sequencing technology is that its applications provide a very important infrastructure for functional genomic studies. The use of different medicinal plants in diabetes for therapeutic purposes arises as a topic which gains attention and the studies towards this aim increases intensely on every day basis due to different roles of these plants such as antioxidants, antilipid peroxidative activators, alpha-glucosidase inhibitors or effectors on glucose uptake. Targeted next generation sequencing has been shown as a tool to test monogenic diabetes genetically and this finding provides infrastructure to the argument that this technology may play an important role to obtain new therapeutic approaches for diabetes. In conclusion new generation sequencing technology appears to be a fast and accurate approach for plant geneticist and plant breeders in various applications to achieve the desired results at a low cost and high reliability. Additionally, the fact that this technology can be used as an important tool to approach diabetes plays an important role for the studies on the field of therapeutic use of medicinal plants.

Keywords: Medicinal plants, Diabetes, Plant Biotechnology, Next Generation Sequencing, DNA marker

Saanen Keçilerinde HSP 60 ve HSP 70 Genlerinin Kantitatif Analizi

Selçuk Ertürk ADIYAMAN, Funda KIRAL

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın

fkargin@hotmail.com

Özet

Isı şok proteinleri (HSP) çeşitli fonksiyonları olan bir protein ailesi olup, ortak özellikleri ani sıcaklık değişiklikleri, anoksi, reaktif oksijen metabolitleri ve glukoz düzeylerinde değişiklik, yaşlanma daha bir çok stres durumunda üretilmeleridir. Bu çalışmada HSP 60 ve HSP 70 genlerine ait mRNA ekspresyonunun farklı yaşlardaki Saanen keçilerinde kantitatif olarak belirlenmesi amaçlandı. Klinik olarak sağlıklı ve aynı yetiştirme şartlarına tabi tutulan farklı iki yaş grubundaki (1-8 aylık ve 4-6 yaşlı) Saanen keçilerinden kan örnekleri alındı. Kantitatif olarak HSP 60 ve HSP70 mRNA gen ekspresyonu düzeyleri qRT-PCR cihazında SYBR green metodu kullanılarak analiz edildi. HSP 60 mRNA gen ekspresyonu grup I (1-8 aylık çepiçler)'de grup II (4-6 yaşlı anaç keçiler)'nin yaklaşık 2 katı, HSP70 mRNA seviyelerinin ise grup I (1-8 aylık çepiçler)'de grup II (4-6 yaşlı anaç keçiler)'nin yaklaşık 1,7 katı artarak eksprese olduğu belirlendi. Çalışma yaz aylarında sıcaklığın ve nemin yüksek olduğu Aydın iklim koşullarında yetiştirilen Saanen keçisi verim özellikleri ve adaptasyon yeteneklerinin belirlenmesinde HSP 60 ve HSP 70 gen ekspresyonlarının yaşa bağlı değişimlerinin de göz önünde bulundurularak yetiştiriciler için pratik öneriler geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Isı şok proteinleri, keçi, qRT-PCR, gen ekspresyonu.

Quantitative analysis of Heat Shock Protein 60 (HSP 60) and Heat Shock Protein 70 (HSP 70) genes in Saanen goats

Abstract

Heat shock proteins (HSPs) has various functions and their common features is produced in sudden changes of temperature, anoxia, reactive oxygen metabolites and changes in glucose levels, aging, a lot more stress event. In this study, we aimed to evaluate quantitative determination of HSP 60 and HSP 70 gene mRNA expression in different age Saanen goats. The blood samples taken from Saanen goats in two different age groups (1-8 months ve 4-6 years) that clinically healthy and subjected to the same growing conditions. Level of HSP 60 and HSP 70 mRNA gene expression were analyzed quantitatively using qRT-PCR with SYBR Green method. HSP 60 mRNA gene expression in group I (1-8 months) than in group II (4-6 old goats) is approximately 2 fold, HSP 70 mRNA gene expression in group I (1-8 months) than in group II (4-6 old goats) is approximately 1.7 fold was determined increasingly. This study will contribute to the development practical advice for Saanen goats growers to bred in the temperature and high humidity in the summer months where Aydın climates conditions in determining yield traits and adaptability considering that age-related changes in HSP 60 and HSP 70 gene expression.

Keywords: Heat shock proteins, goat, qRT-PCR, gene expression.

Renal insülin sinyal iletim elemanlarının tip 1 diyabetle değişimleri

Gamze Şahin, Gökhan SADİ

Biyoloji Bölümü, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Karaman, Türkiye

gamzesahin1991@hotmail.com

Özet

Diyabet; insülin hormonun yokluğu veya yetersizliği sonucu oluşan günümüz insanının yaşam şartlarından dolayı tüm dünyada hızla yayılan, karbonhidrat yağ ve protein metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır. Resveratrol ise sağlığın korunmasında önemli kuvvetli bir anti-oksidan ve anti-inflamatuar bir bileşiktir. Bu çalışmada, diyabetin böbrek dokularında insülin ve PI3K/Akt sinyal iletim yolağında bulunan ve birbirleri ile ilişkili proteinlerin gen ekspresyonu düzeylerini belirlemek ve bu değişimlerin resveratrol tarafından nasıl düzenlendiğini ortaya çıkarmak hedeflenmiştir. Erkek eşit yaşta Wistar sıçanları; diyabetik (n=12), kontrol (n=12), resveratrol verilmiş diyabetik (n=9), resveratrol verilmiş kontrol (n=12) olmak üzere dört gruba ayrıldıktan sonra iki grupta diyabet, streptozotocin'in (50mg/kg vücut ağırlığı) intraperitoneal yoldan enjekte edilmesiyle oluşturulmuştur. Diyabet oluşumunun bir hafta ardından diyabet ve kontrol gruplarına 50mg/kg resveratrol günlük tek doz olarak 3 hafta boyunca enjekte edilmiş ve böbrek dokularında *insülin Rβ*, *irs-1/2*, *pi3k*, *akt*, *mtor* gen ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı (real time) PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuçlara göre, insülin sinyal iletim yolağında bulunan; *insülin Rβ*, *irs-1* ve *akt* gen ekspresyon düzeylerinin diyabetle istatistiksel olarak arttığı, ancak *pi3k* ve *irs-2* gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca diyabetli hayvanlara resveratrol verildiğinde ise PI3K/Akt sinyal iletim yolağında bulunan elemanların böbrek dokularında gen ekspresyon düzeylerinin kontrol seviyelerine yaklaştığı tespit edilmiş, böylece diyabet araştırmalarında yeni çalışma alanları oluşturabilecek ilaç üretimi ve gen terapisi gibi yeni stratejilerin gelişmesine yardımcı olacak veriler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, resveratrol, *insülin Rβ*, *irs-1/2*, *pi3k*, *akt*, *mtor*

The changes of renal insulin signaling components in type 1 diabetes

Abstract

Diabetes; is a metabolic disorder affecting carbohydrate fat and protein metabolism due to the inability or lack of the hormone insulin and resulting from the modern human living conditions, is rapidly spreading all over the world. Resveratrol is a strong, important antioxidant and anti-inflammatory compounds in the preservation of health. In this study, it was aimed that, determining the level of gene expression of proteins associated with each other in insulin and PI3K / Akt signal transduction pathway and revealing how these changes regulated by resveratrol in diabetic renal tissues. Male Wistar rats of equal age divided into four groups; diabetic (n = 12), control (n = 12), resveratrol given diabetic (n = 9), resveratrol given control (n = 12) then, diabetes into two groups is formed by injecting streptozotocin (50 mg / kg body weight) intraperitoneally. A week after diabetes formation, diabetic and control groups, 50 mg / kg of resveratrol was injected as a single daily dose, and *nfkβ*, *cat*, *gpx*, *sod1*, *-2* and *gst-m1* gene expression levels in renal tissues by real time (real time) PCR method was determined. According to the results, in insulin signal transduction pathway; *insulin Rβ*, *irs-1* and *akt* gene expression levels increased statistically in case of diabetes, but it was determined that there was no significant change in the expression levels of *pi3k* and *irs-2* gene. Furthermore, when resveratrol was given to the diabetic animals, the gene expression levels of the elements of PI3K / Akt signal transduction pathway in the kidney tissues has been found to approached the control levels. These obtained results may form new areas to assist the production of pharmaceutical drugs and development of novel gene therapy strategies in diabetes research.

Keywords: Diabetes, resveratrol, *insulin Rβ*, *irs-1/2*, *pi3k*, *akt*, *mtor*

Hibrit Bitki Türlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Tespiti

Gökhan SEZER¹, Muhammer KARABACAK²

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Osmaniye

²Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji ABD, Kayseri

gsezer@osmaniye.edu.tr

Özet

Hibritleşme bitkiler için oldukça yaygın bir türleşme mekanizmasıdır. Hibrit bitkiler üreyebilmekte ve taksonomide hibrit olarak önemli yer teşkil etmektedir. Angiosperm türlerinin % 50'lik kısmını hibrit bitki türleri oluşturmaktadır. Hibrit bitki türleri arasında genetik çeşitlilik morfolojik ve moleküler markırlar kullanılmaktadır. Morfolojik karakterler çevre etmenlere göre değiştiğinden tek tip çevresel şartların sonuçları etkilemektedir. Bitki ata bireyiyle aynı morfolojik özelliklere sahip olabilir. Bu yüzden bitkinin morfolojik karakterleriyle ifade edilemeyen özellikleri morfolojik çalışmalarla tespit edilememektedir. Moleküler düzeyde genetik varyasyonun tespiti günümüzde Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temeline dayanmaktadır. Bitkiler üzerine yapılan çalışmalarda en uygun moleküler işaretleme teknikleri incelenmiş ve polimorfizm bakımından SSR (Simple Sequence Repeats), maliyet bakımından RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), tekrarlanabilirlik bakımından RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve SSR, ISSR teknikleri öne çıkmıştır. Ayrıca RAPD ve ISSR tekniklerinde radyoaktif madde gereksiniminin fazla olmaması ve düşük maliyet gereksinimi bu teknikleri avantajlı hale getirmektedir. Son yıllarda geliştirilen farklı moleküler markır yöntemleriyle kısa sürelerde düşük maliyetle genetik çeşitlilik analizleri yapılmaktadır. Bu çalışma ile bitkisel genetik çeşitlilik çalışmalarında kullanılan moleküler işaretleme teknikleri kıyaslanmış, bundan sonraki çalışmalar için yöntem analizleri ve önerileri sunulmuştur

Anahtar Kelimeler: Hibridleşme, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Moleküler Biyoloji, Genetik.

Determination of Hybrid Plant Species by Polymerase Chain Reaction (PCR)

Abstract

Hybridization is a common speciation mechanism in plants. Hybrid plants are reproducible and have an important area in taxonomy. Angiosperm include 50% hybrids species. Morphological and molecular markers are widely used for determination genetic diversity of hybrids. Due to morphological characters affected by environmental conditions, identification of genetic diversities are difficult. Because of hybrid species could have similar morphological characters with its parents, it is so hard to determination of genetic varieties of hybrids. Nowadays, identification of genetic varieties by molecular markers based on polymerase chain reactions (PCR). As a compare of recent studies, advisable technics are presented for polymorphism SSR (Simple Sequence Repeats), for cost RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) and ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), for repeatability RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) and SSR, ISSR. Also the technics of RAPD and ISSR become advantageous due to the requirement of radioactive material be not more and and low cost requirement. Genetic diversity analysis is carried out quickly with low cost by the methods of developed different molecular marker recently. Compared to molecular marking techniques that used in plant genetic diversity with this study and provided methods of analysis and suggestions for the future studies.

Keywords: Polymerase Chain Reaction, Molecular Biology, Genetic.

Zeytin Beta Glukosidaz Geni'nin *Pichia Pastoris*'te Ekstraselüler Ekspresyonu

Gözde Zeytun¹, Günseli Kurt Gür¹, Esra Yüca¹, Nehir Özdemir Özgentürk¹, Serpil Demir¹, Şenay Vural Korkut¹

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Davutpaşa Kampüsü, 34210 Esenler, İstanbul, Türkiye

gzd90_bio@hotmail.com

Özet

Beta-glukosidazlar (EC.3.2.1.21) glikosidler ve oligosakkaritlerin beta glukosidik bağlarının hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Bitkiler, hayvanlar, bakteriler ve mantarlarda bulunurlar. Hayvanlarda glikolipidlerin ve egzogen glikosidlerin yıkımı, mikroorganizmalarda biyokütle dönüşümü, bitkilerde koku salınımı, lignifikasyon, hücre duvarı oligosakkaritlerinin katabolizmasında önemli rol oynarlar. Beta-glukosidazların zeytinde tat ve renk oluşumunda görevli olduğu düşünülmektedir. Çeşitli rekombinant proteinlerin üretiminde kullanılan bir organizma olan *Pichia pastoris* beta-glukosidaz ekspresyonu çalışmalarında da sıklıkla kullanılmaktadır. Ökaryotik protein üretiminde gerekli olan post translasyonel modifikasyon, protein katlanması ve protein işlenmesini sağlayan *Pichia pastoris*, yüksek düzeyde protein üretiminin yanı sıra diğer ökaryotik ekspresyon sistemlerine göre daha ucuz, daha kolay ve hızlı üretilme avantajına sahiptir. Bu çalışmada; enzimin büyük miktarda üretimi için *Pichia pastoris*'te, zeytin beta-glukosidaz geninin heterolog ekspresyonu amaçlanmıştır. Beta-glukosidaz cDNA'sı, alkol oksidaz (AOX1) promotörü kontrolü altında maya mekik vektörü pPICZαB içine klonlanmıştır. Daha sonra *Pichia pastoris*'in X-33 suşuna elektro transformasyon ile aktarılmış ve transformantlar YPDS/Zeo içeren besiyerlerinde seçilmiştir. Gen spesifik primerler ile kurulan PCR reaksiyonu sonucunda genin entegrasyonu gösterilmiştir. Kültürler 28°C ve 280 rpm'de büyütülmüş ve her gün %1 metanol ilavesi yapılarak heterolog beta-glukosidaz ekspresyonu indüklenmiştir. Dördüncü gün sonunda örnekler toplanılıp ve SDS-PAGE kullanılarak analiz edilmiştir. Gelecek çalışmalarda üretilen rekombinant enzimin saflaştırılması ve biyokimyasal karakterizasyonu amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler; beta glukosidaz, heterolog ekspresyon, *Pichia pastoris*, zeytin

Extracellular Expression of Olive Beta Glucosidase in *Pichia pastoris*

Abstract

Beta-glucosidases (EC.3.2.1.21) are enzymes which catalyze the hydrolysis of glucosidic linkages of glycosides and oligosaccharides. Beta-glucosidases are found in plants, animals, bacteria and fungi. These enzymes have important roles in the catabolism of glycolipids and exogenous glycosids in animals, biomass conversion in microorganisms, scent release, lignification and catabolism of cell wall oligosaccharides in plants. Beta-glucosidases are considered to be involved in the formation the taste of olives. Methylophilic yeast *Pichia pastoris* is an organism that is used for recombinant production of various proteins. It is also frequently used for heterologous expression of beta-glucosidases. That organism has many advantages as being an eukaryotic expression system in that it allows posttranslational modifications including proteolytic processing, folding, disulfide bond formation and glycosylation. *Pichia pastoris* system is easier, less expensive, faster to use and gives higher expression levels of recombinant proteins compared to other eukaryotic expression systems. In this study it is aimed to make heterologous expression of beta glucosidase in *Pichia pastoris* for the large scale production of enzyme. Beta glucosidase cDNA was cloned into yeast shuttle expression vector, pPICZαB, under the control of alcohol oxidase (Aox1) promoter and *Pichia pastoris* strain X-33 was chemically transformed with recombinant DNA. Transformants were selected on YPDS/Zeo plate. Integration of gene was screened by PCR with gene specific primers. Cell cultures were incubated at 28°C for three days. Heterologous expression of beta glucosidase was induced by addition of 1% methanol every day. At the end of third day samples were collected and analyzed SDS-PAGE.

Keywords; beta glucosidase, heterologous expression, olive, *Pichia pastoris*,

Farklı Metal Stresi Altında *Escherichia coli*'de *cpxA* ve *cpxR* Genlerinin Rollerinin Belirlenmesi

Gülçin ÇETİN¹, Cihan DARCAN¹, Özge KAYGUSUZ¹

¹ Bilecik Şeyh Edebalı Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik

gulcin.cetin@bilecik.edu.tr

Özet

Çeşitli metaller organizmalarda canlılığın devam ettirilmesi için çok az miktarlarda kullanılırlar da yüksek konsantrasyonları hücrede zararlı etkilere yol açmaktadır. Mikroorganizmalar, ağır metalin hücre içine alınmaması, hücre içinde veya dışında tutulması, kirleticinin daha az toksik forma çevrilmesi, metalin hücre dışına aktif taşınması ve mikroorganizmanın metale karşı daha duyarsız hale gelmesi gibi direnç mekanizmaları geliştirmektedirler. Bakteriler dış çevresel uyarılara adaptasyon için iki bileşikli sistem olarak ifade edilen bir sinyal transdüksiyon sistemine sahiptirler. Bu sistemlerin sensörleri, çevrede meydana gelen değişimleri algılar ve bu sinyallerin regülatör proteinler vasıtasıyla, gerekli gen bölgelerine aktarımını sağlarlar. *E. coli*'de CpxA/CpxR iki bileşikli düzenleme sistemi zarf stresine cevap veren önemli bir düzenleme sistemidir. Bu çalışmada CpxA/CpxR iki bileşikli sistemin Cd, Cu, Zn, Mn, Ni ve Co metal stresleri altında rolleri araştırılmıştır. Bu çalışmada P1 transdüksiyon metoduna göre *E.coli*'nin W3110 suşunda *cpxA* ve *cpxR* genleri mutant hale getirilmiştir. Yabani tip ve mutant mikroorganizmalarda Cu, Co, Zn, Ni, Cd, Mn metallerinin MİK değerleri belirlenmiştir. Bu MİK sonuçları ile büyüme grafikleri ve petri damlatma deneyleri yapılarak metal stresi altında genlerin rolleri araştırılmıştır.

Sonuç olarak, yabani tip *E. coli* ile karşılaştırıldığında *cpxA* ve *cpxR* genlerinin mutant olduğu bakterilerde Mn, Cd ve Cu metallerine direnç oluşurken, Ni metalinde duyarlılık gözlenmiştir. Ayrıca Co metalinde ise *cpxA* gen mutantı etkilenmez iken *cpxR* mutantı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Zn metalinde ise *cpxA* ve *cpxR* genlerinin herhangi bir rolünün olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, Metal stresi, İki bileşikli sistem

Determination of The Roles of the *cpxA* ve *cpxR* Genes in *Escherichia coli* Under Different Metal Stresses

Abstract

Even though some metals are used in small quantities in some organisms in order to maintain their viability, the higher concentrations of metals can have harmful effects on cells. Microorganisms can develop some resistance mechanisms such as ignoring the uptake of the heavy metals into cells, keeping the metals within or outside cells, converting the polluting ones to less toxic ones, transporting the metal actively and being insensitive against the metal. Bacteria have two signal transduction component systems in order to respond to environmental inducers. The sensors of these systems detect changes occurring in the environment and provide the transfer of the necessary genes of the signal via regulatory proteins. The two component regulatory systems, which are CpxA/CpxR, are very important to respond to the envelope stress. In this study, we examined roles of this two component system (CpxA/CpxR) under Cd, Cu, Zn, Mn, Ni and Co metal stresses. We mutated the *cpxA* and *cpxR* genes in W3110 strain of the *E.coli* by using the P1 transduction method. Mutant microorganisms were exposed to Cd, Cu, Zn, Mn, Ni and Co metals and MIC values were determined. The growth graphics drawn and petri dropping tests made under metal stresses by using these MIC results.

Conclusively, Compared with wild-type *E.coli*, bacteria carrying *cpxA* and *cpxR* mutant genes developed a resistance against Mn, Cd and Cu metals whereas they were sensitive to Ni metal. Furthermore, the bacteria in which the *cpxA* gene was mutated were not affected by Co metal whereas *cpxR* gene was sensitive to Co metal. Besides, we have shown that the *cpxA* and *cpxR* genes did not have any response against Zn metal.

Keywords: *E. coli*, Metal stress, Two-Component Systems

***Scytalidium Thermophilum* Lakkaz Ve Katalaz/Fenol Oksidaz Genlerinin Pcr Tekniği İle Klonlanması Ve *Aspergillus Sojae*'de Heterolog Ekspresyonu**

Gülden Koçlar¹, Özlem Erçin Ünal² Zümrüt Begüm Ögel²

¹ Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü, Ankara

² Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

guldenkoclaravci@gmail.com

Özet

Scytalidium thermophilum, termofilik bir küf olup yemeklik mantar olan *Agaricus bisporus*'un üretilmesinde verimi artırıcı önemli bir role sahiptir. *Scytalidium thermophilum* lakkaz geni (*lccS*) ve katalaz/fenol oksidaz (*catpo*) geni önce *Eschericia coli* XL1 Blue MRF'e klonlanmıştır. Sekans analizlerine göre *lccS* dört kısa intronun böldüğü beş ekzondan oluşmaktadır. Okuma çerçevesinde 2092 baz çiftinden oluşmaktadır. Intronların dışında kalan kodlanan bölge sekansı G-C'lerce zengin olup (60.8% G+C), 21 amino asiti signal peptit ve 24 amino asiti propeptit olmak üzere 616 amino asitlik bir preproenzim sentezlemektedir. *catpo* geni ise 681 amino asitten oluşan olgun proteini kodlanmaktadır. *catpo* geninin kodladığı amino asit dizilimindeki 10 amino asidin, daha önce Novo Nordisk tarafından klonlanmış olan *Scytalidium* katalaz geninin kodladığı amino asit diziliminden farklı olduğu belirlenmiştir. Bu protein çift aktive göstermekte olup ürettiği hidrojen peroksiti (H₂O₂) indirgemesinin yanı sıra ortamda H₂O₂ veya herhangi bir kofaktör olmadan birçok fenolik maddeyi okside edebilen bir oksidaz özelliği sergilemektedir. *Aspergillus niger* glukoamilaz geninin sinyal peptit bölgesi altına takılan *lccS* ve *catpo* genlerinin, *Aspergillus nidulans* gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz promotörü kontrolünde *Aspergillus sojae* ATCC11906 (pyrG-) organizmasında heterolog ekspresyonu tanımlanmıştır. *A. sojae* transformantlarında katalaz aktivitesinde 13,206 U/gr değerine ulaşılmıştır. Maksimum lakkaz aktivitesi ise 70 U/lt olarak hesaplanmıştır. Lakkaz geninin heterolog üretimi, enzimin ökaryotik GRAS bir organizmada yüksek düzeyde ekspresyonunu sağlamak ve daha sonraki biotransformasyon ve enzim mühendisliği çalışmalarında kullanılması yönünde atılmış önemli bir adımdır. Ayrıca *catpo* geninin daha sonra yapılacak olan yönlendirilmiş mutasyon çalışmaları için kullanılması tasarlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Scytalidium thermophilum*, gen klonlama, katalaz, fenol oksidaz, lakkaz

Pcr Cloning And Heterologous Expression Of *Scytalidium Thermophilum* Laccase And Catalase/Phenol Oxidase Genes In *Aspergillus Sojae*

Abstract

Scytalidium thermophilum is a thermophilic fungus with an important role in the composting process of mushroom cultivation. *Scytalidium thermophilum* laccase gene (*lccS*) and catalase/phenol oxidase gene (*catpo*) were cloned into *Eschericia coli* XL1 Blue MRF. This laccase gene (*lccS*) has an open reading frame of 2092 bp. It is composed of five exons punctuated by four small introns. The coding region, excluding intervening sequences is very GC-rich (60.8% G+C) and encodes a preproenzyme of 616 amino acids: a 21 amino acid signal peptide and a 24 amino acid predicted propeptide. The *catpo* gene encoding a mature protein of 681 amino acids. It was observed that 10 amino acids of the protein was different from the amino acid sequence of the *S.thermophilum* catalase gene formerly cloned by Novo Nordisk. This protein shows bifunctional oxidase activity beyond catalase activity which requires oxygen and oxidizes various phenolic compounds in the absence of hydrogen peroxide (H₂O₂) or any other cofactor used. Heterologous expression of *lccS* and *catpo* were observed under the control of the glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase promoter of *Aspergillus nidulans* and the secretion signal of the glucoamylase gene of *Aspergillus niger*. Catalase activity of the transformants reached at a level of 13,206 U/g. The maximum laccase activity was determined as 70 U/L. High level expression of laccase gene is important in a GRAS eucaryotic host for further biotransformation and enzyme engineering studies. Also *catpo* gene will be used for future site directed mutagenesis studies.

Keywords: *Scytalidium thermophilum*, gene cloning, catalase, phenol oxidase, laccase

Mısırdada (*Zea mays* L.) LTR RT Polimorfizmi Üzerine Demir Toksisitesinin Belirlenmesi

Mahmut Sinan Taspınar¹, Esmada Yigider¹, Esra Arslan², Güleray Agar², Murat Aydın³

¹Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology, Erzurum, Turkey

²Atatürk University, Faculty of Science, Department of Biology, Erzurum, Turkey

³Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Erzurum, Turkey

gagar@atauni.edu.tr

Özet

Demir, bitki metabolizmasında özellikle fotosentez olayında rolü olan bir mikroelement. Önemli özellikleri olmasına rağmen, büyük miktarlarda alındığı zaman oldukça fitotoksik bir forma (Fe^{2+}) dönüşmektedir. Fe^{2+} , bitkilerde büyümeyi, fotosentez, lipid metabolizması, nükleik asit biyosentezi, üreme ve verim gibi gelişme süreçlerini kısıtlamaktadır. Ayrıca, Uzun Uç Tekrar Retrotranspozonlarının (LTR RTs) farklı organizmalarda abiyotik ve biyotik stres koşullarında aktive olduğu bilinmektedir. LTR RT'ler, aktiviteleri ve mutajenik potansiyellerinden ötürü genom bütünlüğünün korunmasında bir tehdit oluşturabilmektedir. Mısırdada (*Zea mays* L.) LTR RT polimorfizmi üzerine demir toksisitesinin etkisi henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada mısır fidelerinde demirin (Fe^{2+}) etkisini IRAP (*Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism*) tekniğı kullanarak belirledik. Mısır genomuna ait beş LTR RT (*Nikita*-E2647, N57 (*Nikita*), Sukkula, Wltr2105 ve Stowaway) çalışıldı. IRAP profil değişimleri GTS (band profillerindeki değişimin sayısal ölçümü) değerine bakılarak ölçüldü. Artan $FeSO_4$ konsantrasyonu GTS değerinde azalmaya yol açtı. En yüksek GTS değeri (%30,4) 50 mg/l $FeSO_4$ 'te gözlenirken, en düşük değer (%15,8) 300 mg/l $FeSO_4$ dozunda gözlenmiştir. Sonuçlar, demir sülfatın ($FeSO_4$) tüm dozlarının (50, 100, 200 ve 300 mg/l) doza bağlı olarak LTR RT'lerin hareketlenmesine yol açtığını ve polimorfizme sebep olduğunu göstermiştir. Bu sonuca bağlı olarak demir stresi altında bazı LTR RT'lerin polimorfizmindeki artışın strese karşı bitki savunma sisteminin bir parçası olabileceğı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Demir, IRAP, LTR RT Polimorfizmi

Determination of Iron Toxicity on LTR RTs Polymorphisms in Maize (*Zea mays* L.)

Abstract

Iron is a micronutrient that has a role on plant metabolism especially photosynthesis in plants. Although it has essential features, it converts to most phytotoxic form (Fe^{2+}) when is taken up in major quantities by plants. In plants, Fe^{2+} limits various developmental processes such as photosynthesis, lipid metabolism, nucleic acid biosynthesis, production and yield. Also it is known that Long Terminal Repeat Retrotransposons (LTR RTs) might be activated by abiotic and biotic stresses in different organisms. LTR RTs could represent a threat to the integrity of host genomes because of their activity and mutagenic potential. The impact of Fe^{2+} (iron) toxicity on LTR RTs polymorphisms on *Zea mays* L. is unknown yet. In this study, we determined the action of Fe^{2+} in *Zea mays* seedlings, using IRAP (*Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism*) assay. Five LTR RTs (*Nikita*-E2647, N57 (*Nikita*), Sukkula, Wltr2105 and Stowaway) of maize genome, were investigated. Changes in IRAP profiles were measured as Genomic template stability (GTS), which is a qualitative measurement that reflects changes in band patterns. Increased $FeSO_4$ concentration caused decreasing GTS value. The highest GTS value (30,4 %) observed in 50 mg/l $FeSO_4$ treatment, while the lowest GTS value (15,8 %) observed in 300 mg/l $FeSO_4$ treatment. The results indicated that all doses of $FeSO_4$ (50, 100, 200 and 300 mg/l) have an impact on LTR RTs mobilization and cause polymorphism in a dose-dependent manner. So, it should be concluded that the increase of polymorphism of some LTR RTs under iron stress may be a part of the defense system against the stress.

Keywords: IRAP, Iron, LTR RT Polymorphism

Usnik asitin HeLa (İnsan Servikal Kanser) Kanser Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkisinin Belirlenmesi

Özel Çapık¹, Güleray Ağar¹, Zeynep Ülker Akal², Hamit Emre Kızıl³

¹Atatürk Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı, 25240, Erzurum

²Fatih Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Bilim Dalı, 34500, İstanbul

³Bayburt Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, 69000, Bayburt

gagar@atauni.edu.tr

Özet

Usnik asit (UA), birkaç liken türünden üretilmiş bir dibenzofuran türevidir. UA'in, antifungal, antiviral, antiprotozoal, anti proliferatif, antitümör ve anti inflamatuvar gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak UA'nın, HeLa (İnsan Servikal Kanser) kanser hücreleri üzerine sitotoksik ve antiproliferatif etkisini belirten çok az çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada beş farklı konsantrasyondaki (12,5, 25, 50, 100, 200 µM) UA'in, 24 saat boyunca, 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübasyon ortamında kültürü yapılmış HeLa hücreleri üzerine sitotoksik ve antiproliferatif etkisi sırasıyla laktat dehidrogenaz (LDH) ve water soluble tetrazolium salts (WST- 1) metodu kullanarak belirlenmiştir. LDH sonuçlarına göre, 12,5 - 25 µM lık konsantrasyonlardaki UA'nın kanser hücresi üzerine önemli sitotoksik etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. WST-1 sonuçlarında ise en düşük konsantrasyonlardaki (12,5 - 25 µM) UA'nın kanser hücreleri üzerine en yüksek antiproliferatif etkiyi göstermiştir. Sonuçlarımız usnik asitin, hücre proliferasyonunu ya da canlılığını önemli derecede inhibe ettiğini ve hücre sitotoksitesini ise önemli derecede arttırdığını göstermiştir. Bu bulgular UA HeLa tedavisinde ve ilaç endüstrisinin yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Proliferasyon, Sitotoksite, Usnik asit

Determination of Cytotoxic and Antiproliferative the Effects of Usnic Acid on HeLa (Human Cervix Carcinoma) Human Cancer Line

Abstract

Usnic acid (UA), produced by several lichen species, is a derivative of dibenzofuran. UA has been reported to show a wide variety of biological activities, including antifungal, antiviral, antiprotozoal, anti proliferative, antibiotic, antitumor and anti-inflammatory. However, with regard to cytotoxicity, anti-proliferative effects of the UA on HeLa cancer cells have done very little study. In this study, at five different concentrations (12.5, 25, 50, 100, 200 µM) of usnic acid until 24 h, at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO₂ incubation atmosphere, cytotoxicity and proliferative effects of (UA) on cultured HeLa cells were determined by using lactate *dehydrogenase* (LDH) release assay and water soluble tetrazolium salts (WST- 1) assay, respectively. According to LDH results, at 12.5 µM and 25 µM concentrations has been observed that have significant cytotoxic effects of UA on HeLa cancer cells. In WST-1 results, at lowest concentrations(12.5-25M) of UA has been indicated causing the highest antiproliferative effects on cancer cells. Our results showed that UA significantly inhibited cell proliferation or viability and increased cell cytotoxicity. These findings suggest that UA can be useful in the treatment of HeLa and pharmaceutical industry.

Key words: Cytotoxic, Proliferation, Usnic acid

Çeşitli Çay Özütlerinin Antioksidan ve Antikanser Aktiviteleri

Gürkan Aykutoğlu¹, Gökhan Dervişoğlu¹, Gülden Koçlar¹, Bülent Kaya¹

¹ Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

gurkanay10@gmail.com

Özet

Çeşitli çay (*Camellia sinensis*'den elde edilmiş beyaz çay, yeşil çay, siyah çay) özütlerinin antioksidan ve antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Çay özütleri çayların suda kaynatılıp soğutulmasından sonra kurutulmasıyla elde edilmiştir. Beyaz, yeşil ve siyah çay sıcak suda 10 dakika bekletilerek demlenmiş olup toplam fenolik içeriği (TPC) ve flavonoid içeriği (TFC) deneyleri 200 µg/ml konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir. TPC galik asit TFC ise kuersetin kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanarak, en yüksek TPC ve TFC içerikleri beyaz çayda daha sonra sırasıyla yeşil çay ve siyah çayda gözlenmiştir. DPPH radikal giderme kapasitesi değişik konsantrasyonlarda (200, 100, 50, 25, 12,5 µg/ ml) ölçülmüştür. 200 µg/ml konsantrasyonda yeşil ve beyaz çay özütleri birbirine yakın, siyah çay özütü ise en düşük DPPH radikal giderme kapasitesi göstermiştir. Siyah, yeşil ve beyaz çay İnsan prostat kanser hücrelerine (PC-3) 500 µg/ml konsantrasyonda 48 saat uygulanmıştır. Herbir çay ekstraktının hücrelerde oluşturduğu reaktif oksijen türevleri (ROS) ölçülmüştür ve sırasıyla siyah, yeşil ve beyaz çayın kontrol grubuna göre yüksek ROS oluşturduğu bulunmuştur. Çay özütleri PC-3 hücrelerine 500, 250, 100, 50 µg/ml konsantrasyonda 48 saat uygulanmış ve özütlerin hücre büyümesini inhibisyonu WST-1 assay ile ölçülmüştür. Üç çay örneğinin de artan doza bağlı olarak hücre büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, antikanser aktivite, çay özütü, PC-3

Antioxidant and Anticancer Activity of Various Tea Extracts

Abstract

Antioxidant and anticancer activity of various tea (white tea, green tea and black tea of *Camellia sinensis*) extracts were investigated. Tea infusion was performed with hot water for 10 minutes to obtain water extracts of white, green and black tea. The total phenolic content (TPC) and the flavonoid content (TFC) assays were performed at 200 µg/ml concentrations. TPC was quantified as gallic acid equivalents (GAE).and TFC was measured as quercetin equivalent. The TPC and TFC content were highest in white tea, green tea and black tea extract respectively. DPPH radical scavenging activities were measured at different concentrations (200, 100, 50, 25, 12,5 µg/ ml). At 200 µg/ml concentrations, green and white tea extract showed similar DPPH radical scavenging activities and they were higher than black tea extract. Human prostate cells (PC-3) were treated with all three tea extracts to observe the reactive oxygen species (ROS). The highest increase in reactive oxygen species were observed on PC-3 treated with black tea, green tea and white tea respectively. To analyze the effects of black, green and white tea extracts on PC-3 cell proliferation, WST-1 cell proliferation assay was assessed. The extracts were applied to cells at the concentrations of 50, 100, 250 and 500 µg/ml for 48 h. As a result, all tea extracts inhibited cell proliferation in dose dependent manner. When the doses of the extracts increase, cell growth inhibition rate increases.

Keywords: Antioxidant activity, anticancer activity, tea extracts, PC-3

Toprak İzolatı *Bacillus subtilis*'in Amilaz ve Selülaaz Aktivitesinin Araştırılması

Hatice Aysun Mercimek¹, Gülcihan Güzeladağ¹, Filiz Uçan², Melis Sümengen Özdenefe³, Afet Arkut⁴, Fikret Büyükkaya Kayış⁵

¹Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kilis

²Kilis 7 Aralık Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kilis

³Near East University The Faculty of Engineering Department of Biomedical Engineering, Nicosia, KKTC

⁴Cyprus International University The Faculty of Health Sciences Department of Nutrition and Dietetics, Nicosia, KKTC

⁵Adıyaman Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Adıyaman

mersimek@hotmail.com

Özet

Ticari olarak kullanılan enzimlerin %59'unu proteazlar, %28'ini karbohidrazlar, %3'ünü lipazlar ve %10'unu ise diğer enzim grupları oluşturmaktadır. Bu endüstriyel piyasada, karbohidrazlar grubuna giren amilaz ve selülaazlar önemli biyoteknolojik ürünlerdir. Son yıllarda, biyoteknolojik enzimlerin üretim proseslerinde maliyeti düşük yöntemlerle fazla miktarda üretim, daha stabil ve yüksek katalitik aktivitede ürün eldesi ve istenmeyen yan ürün oluşmaması gibi avantajlardan dolayı bakteri kaynaklı enzimlerin üretimi tartışılmaktadır. Bu amaçla çalışmamızda, 80°C'de 10 dakika ön işlemden geçirilmiş kontamine Kilis ili toprağından izole edilen *Bacillus* türlerinden ekstraselüler amilaz ve selülaazın üretimi incelenmiştir. 4 farklı *Bacillus* izolatının CMC ve M9-Niştasta Agarına inokülasyon sonrası kolonilerin etrafında oluşan şeffaf zon çapına göre enzim sentezleme yetenekleri saptanmıştır. P19 nolu izolatın CMC ve M9-Niştasta Agarda sırasıyla 2.0 ve 2.2 cm'lik zon çapıyla diğer izolatlardan daha yüksek bir aktivite gösterdiği saptanmıştır. VITEK identifikasyon sistemi ile *Bacillus subtilis* olarak tanımlanan bu izolat kullanılarak ekstraselüler amilaz ve selülaaz üretimine devam edilmiştir. Niştasta ve CMC içeren sıvı besi ortamlarında 37°C'de 180 dev/dak çalkalamak koşulu ile bir gece inkübe edilen kültürlerden elde edilen süpernatantlar enzim preparatı olarak değerlendirilmiştir. Kısmi olarak saflaştırılmış enzimlerin spesifik aktiviteleri dakikada 1µmol glukoz açığa çıkaran enzim miktarı (U/mg) olarak hesaplanmıştır. Amilaz ve selülaaz enzimine ait spesifik aktivite sırasıyla 73,14 ve 6,43 U/mg olarak belirlenmiştir. Sonuçlarımız izolatımızdan kısmi olarak saflaştırılan amilazın spesifik aktivitesinin selülaaza göre yaklaşık 11.5 kat daha fazla olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Amilaz, *Bacillus subtilis*, Selülaaz

The Investigation of Amylase and Cellulase Activity of *Bacillus subtilis* Isolated from Soil

Abstract

59%, 28%, 3% and 10% of the enzymes used as commercially constitute proteases, carbohydrases, lipase and the other enzyme groups, respectively. In this industrial market, amylase and cellulases that enter carbohydrase enzyme groups are important biotechnological products. In recent years, due to the advantages such as the maximum production with the cost-efficient methods, the obtainment of product that has high catalytic activity and is more stable, and the nonformation of the undesirable by-products in the production processes of biotechnological enzymes, the production of bacterial enzymes has discussed. For this purpose, in our study, the production of extracellular amylase and cellulase from *Bacillus* strains that were isolated from the pretreating Kilis soil for 80°C at 10 minutes, was investigated. According to the diameter of the clear zone around their colonies after inoculation on CMC and M9-Starch Agar, the ability to synthesize the enzyme of four different *Bacillus* isolates were determined. With the zone diameters (2.0 and 2.2 cm) that were observed on CMC and M9-Starch Agar, P19 isolate was detected to have the higher activity than the other isolates. The production of extracellular amylase and cellulase was continued by using this isolate defined as *Bacillus subtilis* with VITEK identification system. The obtained supernatants from the shaking cultures that were incubated for an overnight at 37°C and 180 rpm were evaluated as enzyme preparate. The specific activities of the partially purified enzymes were calculated as the amount of enzyme which liberates 1µmol glucose per minute (U/mg). The specific activities of amylase and cellulase enzymes were determined as 73.14 and 6.43 U/mg, respectively. Our results were showed that the specific activity of the amylase was approximately 11.5 times more, compared with cellulase.

Keywords: Amylase, *Bacillus subtilis*, Cellulase

Koyun Karaciğeri Sorbitol Dehidrogenaz Enziminin Saflaştırılması ve Enzim Aktivitesi Üzerine Bazı Fenolik Bileşiklerin Etkisinin İncelenmesi

Hatice Esra ASLAN¹, Şükrü BEYDEMİR¹

¹ Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum

haticeesra.aslan@ogr.atauni.edu.tr

Özet

Sorbitol dehidrogenaz enzimi, hiperglisemi durumunda aktif olan ve diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynayan poliöl yolunun ikinci enzimidir. Bu enzimin diyabetik komplikasyonların ortaya çıkmasında ve ilerlemesindeki rolünü açıklamak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla çalışmamızda koyun karaciğerinden SDH enzimi saflaştırılmıştır. Enzim sırasıyla; homojenat hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi, DE-52 Selüloz iyon değişim, CM-Selüloz C-50 iyon değişim ve Sephadex G-100 jel filtrasyon kromatografisi yöntemleri kullanılarak saflaştırılmıştır. Enzimin saflığını kontrol etmek için sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yapılmıştır. Saflaştırılan enzimin aktivitesi üzerinde bazı fenolik bileşiklerin etkileri araştırılmıştır. Çalışmada belirtilen yöntemler kullanılarak SDH enzimi koyun karaciğerinden 0,185 EÜ/mg spesifik aktivite, %0,53 verimle yaklaşık 9,07 kat saflaştırılmıştır. Enzimin saflığını kontrol etmek için SDS-PAGE yapılmıştır ve jelde tek bant görülmüştür. Böylece enzimin saf olarak elde edildiği ispatlanmıştır. Kullanılan fenolik bileşiklerin tümünün sorbitol dehidrogenaz enzimi üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sorbitol dehidrogenaz, koyun karaciğeri, saflaştırma

Purification of Sorbitol Dehydrogenase Enzyme From Sheep Liver And Investigation of Some Phenolic Compounds Effects on the Enzyme Activity

Abstract

Sorbitol dehydrogenase (SDH) enzyme is active in case of hyperglycemia and plays an important role in the development of microvascular complications of diabetes. SDH is the second enzyme of the polyol pathway. Several studies have been performed to explain the role in the development and progression of diabetic complications of the enzyme. For this purpose, SDH enzyme was purified from sheep liver in our study. Enzyme was purified preparation of homogenates, ammonium sulfate precipitation, DE -52 Cellulose ion Exchange, CM-cellulose C-50 ion exchange and Sephadex G-100 gel filtration chromatography techniques, respectively. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS- PAGE) was performed to check the purity of the enzyme. The effects of some of the phenolic compound on the activity of purified enzyme were investigated. Using the mentioned methods SDH enzyme was purified approximately 9,07 fold with a yield 0,53% and 0.185 EU / mg specific activity in the study. A single band was observed in the gel by SDS-PAGE. All of the used phenolic compounds showed inhibitory effects on the enzyme sorbitol dehydrogenase.

Keywords: Sorbitol dehydrogenase, sheep liver, purification

Kardiyovasküler Hastalarda HDL ve Trigliserid Seviyesinin Serum GST Aktivitesi ve Total Tiyoil Miktarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Hatice Esra ASLAN¹, Yeliz DEMİR¹, Mesut IŞIK¹, Şükrü BEYDEMİR¹

¹ Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum

haticeesra.aslan@ogr.atauni.edu.tr

Özet

Glutasyon S transferazlar (GST) detoksifikasyon enzimlerinin geniş bir kısmını temsil eder. GST enzimi çeşitli zararlı metabolitleri suda daha kolay çözünür hale getirir ve bu metabolitlerin atılımı kolaylaştırır. Tiyoil grupları enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla serbest radikalleri yakalamak için görev yapan hücresel antioksidanlardır. Bu amaçla çalışmamızda, GST aktivitesi ve total tiyoil miktarı, HDL (düşük), HDL (normal), trigliserid (normal) ve trigliserid (yüksek) gruplarının serumlarında spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Buna göre; HDL seviyesi düşük olan grupta total tiyoil miktarı, HDL seviyesi normal olan gruptan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Trigliserid seviyesi normal olan grupta total tiyoil miktarı, HDL seviyesi düşük olanlara göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Trigliserid seviyesi yüksek olanlarda total tiyoil miktarı trigliserid seviyesi normal olanlara göre yüksek olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,05$).

Anahtar Kelimeler: Glutasyon S-Transferaz, HDL, Trigliserid

Investigation Of Effect On Serum GST Activity and Total Thiol Amount of HDL and Triglyceride Level In Cardiovascular Patients

Abstract

The glutathione S-transferases (GST) represent a major group of detoxification enzymes. GST enzyme makes soluble the various harmful metabolites in water, easily and excretion of this metabolite is facilitated. Thiol groups are cellular antioxidants which work in order to catch free radicals by the enzymatic reactions. For this purpose in our study, GST activity and the total thiol amount was determined spectrophotometrically in the serum of HDL (low), HDL (normal), triglyceride (normal) and triglyceride (high) groups. According to this, total thiol amount in the group with low HDL level has been determined statistically higher than the group with normal HDL level. This situation, it was found statistically significant ($p < 0.05$). Total thiol amount in the group with normal triglyceride level has been determined statistically lower than the group with low HDL level ($p < 0.05$). Total thiol amount in the group with high triglyceride level has been determined statistically higher than the group with normal triglyceride level ($p < 0.05$).

Keywords: Glutathione S-transferase, HDL, Triglyceride

Hypera postica Gyllenhal, 1813 (Coleoptera: Curculionidae) Türünün Sindirim Sistemindeki Bakteriyel Floranın İncelenmesi

Hatice Öğütçü¹, Yasemin Erbey¹, Mahmut Erbey¹, Medine Güllüce², Mehmet Karadayı², Selma Sezen²

¹Ahi Evran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bağbaşı, KIRŞEHİR

²Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, ERZURUM

e-mail: hogutcu@ahievran.edu.tr

Özet

Curculionidae (Coleoptera) familyası bireyleri birkaç istisnanın dışında tümü fitofagdır. Bitkilerin kök, gövde, yaprak veya meyva gibi kısımları ile beslenmektedirler. Dişi böcek konukçu bitki üzerinde rostrumuyla delikler açar. Bu deliklerin içine genellikle birer tane yumurta bırakır. Yumurtadan çıkan larva bulunduğu yerde beslenmeye başlar. En çok zarar verdiği dönem larva dönemidir. Pupa dönemini aynı bitki üzerinde veya toprakta geçirdikten sonra çıkan ergin zarara devam eder. Böceklerin gerek larva gerekse ergin dönemlerinde bağırsak sistemleri ve diğer vücut bölgelerinde bir çok mikroorganizmayı içerdikleri bilinmektedir. Çalışma materyalimiz olan familya bireyi ekonomik ve ekolojik öneme sahiptir. Bu nedenle familyaya ait bireylerin sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmaların ve özellikle de bakteri florasının bilinmesi zararlı olan bu gruba karşı yapılacak biyolojik mücadeleye doğrudan katkı sağlayacaktır. Bu çalışmada izole edilen bakterilerin; hücre ve koloni morfolojisi, hareketlilik ve Gram özelliği, katalaz, oksidaz, hemoliz, metil kırmızısı, voges-proskauer, sitrat, üç şekerli demir agar testi, NaCl ve sıcaklık toleransı olmak üzere; morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testleri yapılmıştır. Bu testlerin yanısıra izolatların 16s rRNA gen bölgesi moleküler karakterizasyonu belirlemek için kullanılmıştır. Moleküler analiz sonucunda *Hypera postica* türünün sindirim kanalından elde edilen izolatların *Bacillus pumilus* olduğu belirlenmiştir. Bu böcek türü bitkilerde önemli zararlar oluşturmaktadır. Bu bağlamda teşhisi yapılan bakteri türlerinin böceklerle karşı biyolojik kontrol amaçlı kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Curculionidae, *Hypera postica*, mikrobiyal flora, *Bacillus pumilus*

Teşekkür: Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, No: Fen.4003/2.13.002, 201, 2013'lu proje ile desteklenmiştir.

Determination of the Bacterial Flora in the Digestive Tract of *Hypera postica* Gyllenhal, 1813 (Coleoptera: Curculionidae)

Abstract

Except several species, all members of the Curculionidae (Coleoptera) family are phytophagous. These members eat various parts of plants such as roots, stems, leaves or fruits. The female insect taps the host plant via its rostrum and generally lays an egg into these holes. After hatching, the larvae feed themselves with the host plant, which is the most harmful period for the plant. The harmful effects on the host plant also carry on during the pupa and maturity stages that occur on the plant or near soil regions. In this respect, it is known that insects have specific microbial communities in their digestive tract and other body parts. Therefore this specific family member of the present study has a significant economical and ecological importance. Thus, determination of the microorganisms, especially bacterial flora, in the digestive tract of the family members will contribute the biological combat with these harmful groups. In this study, cell and colony morphologies, motility, Gram property, catalase, oxydase, hemolysis, methyl red, voges-proskauer, citrat, the triple sugar iron agar assay, NaCl and temperature tolerance assays were done as morphological, physiological and biochemical tests for the isolates. Besides, 16s rRNA gene region was used for molecular characterization. According to the identification results, the isolates from the digestive tract of *Hypera postica* were identified as *Bacillus pumilus*. This insect causes significant harms on plants. In this regard, it is considered that this identified bacterial strain can be used as a biological control agent against harmful insects.

Keywords: Curculionidae, *Hypera postica*, microbial flora, *Bacillus pumilus*

Tip 1 Diyabetin Neden Olduğu NFκB Down-Regülasyonunun Renal Antioksidan Enzim Ekspresyonları Üzerine Etkisi

Hicret Ash YALÇIN¹, Gökhan SADI¹

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye
hicretasliyalcin@gmail.com

Özet

Diyabet; insanlar arasında yaygın olarak görülen, insülin hormonunun yokluğu, yetersizliği veya etkisizliği nedeniyle hiperglisemi ile birlikte özel komplikasyonlara yol açan bir hastalıktır. Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-apoptotik etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiş, çeşitli bitkiler tarafından çeşitli hastalıklara karşı üretilen polifenolik bir bileşiktir. Bu çalışmada, böbrek dokularında diyabet ve oksidatif stres kaynaklı değişimlerin moleküler etkilerinin detaylı bir şekilde ortaya çıkarılması amacıyla streptozotocin ile oluşturulmuş deneysel diyabet modellerinde, diyabetin böbrek dokularında meydana getirdiği değişimler, antioksidan enzimlerin gen ekspresyonu düzeyinde belirlenmiştir. Ayrıca kuvvetli bir antioksidan olan resveratrolün doku antioksidan enzimlerinin gen ekspresyon düzeylerini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Erkek eşit yaşta Wistar sıçanları; diyabetik (n=12), kontrol (n=12), resveratrol verilmiş diyabetik (n=9), resveratrol verilmiş kontrol (n=12) olmak üzere dört gruba ayrıldıktan sonra iki grupta diyabet, streptozotocin'in (50mg/kg vücut ağırlığı) intraperitoneal yoldan enjekte edilmesiyle oluşturulmuştur. Diyabet oluşumunun bir hafta ardından diyabetik ve kontrol gruplarına 50mg/kg resveratrol, günlük tek doz olarak enjekte edilmiş, ve böbrek dokularında *nfκβ*, *cat*, *gpx*, *sod1*, -2 ve *gst-m1* gen ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı (real time) PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Yapılan çalışmada antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını düzenleyici etkileri gösterilen ve bir transkripsiyon faktörü olan *nfκβ*'nin ekspresyon düzeylerinin böbrek dokularında diyabetle baskılandığı, bu baskılamının ise *cat*, *gpx*, *sod1*, ve *gst-m1* gibi antioksidan enzimlerin ekspresyon düzeylerini anlamlı ölçüde up-regüle ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, böbrek dokularında diyabet etkisiyle oluşan oksidatif stresin meydana getirdiği değişimler üzerine resveratrolün olumlu etkileri ortaya çıkarılmıştır. Sonuç olarak, antioksidan enzimler ile *nfκβ* gen transkripsiyon düzenleyicisinin diyabet aracılı oksidatif stres durumunda ilişkili olarak düzenledikleri ortaya çıkarılmış, böbrek dokularının oksidatif şartlarda antioksidan enzimlerini nasıl düzenlediğine dair bulgular elde edilmiştir. Elde edilen veriler gen terapisi veya dokuda oluşan strese karşı konulabilmesi için gerekli dozlarda sağlanabilecek antioksidanlarla yapılacak tedavilerin gelişmesinde rol oynayacak niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, resveratrol, *nfκβ*, *cat*, *gpx*, *sod1*, *sod2*, *gst-m1*

Nfκb Down-Regulation Could Suppress The Expression of Renal Antioxidant Enzymes in Type 1 Diabetes

Abstract

Diabetes; is a disease with specific complications caused by hyperglycemia due to the ineffectiveness or the lack of the hormone insulin, widely seen among the people. Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) is a polyphenolic compound produced by various plants against various diseases and its antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic effects have been shown in several studies. In this study, to reveal the molecular effects of diabetes and oxidative stress-induced changes detailly, changes caused by diabetes in the kidney tissue was determined at the level of gene expression of antioxidant enzymes with experimental models of diabetes have been created with streptozotocin. In addition, it was investigated as a strong antioxidant how resveratrol affects the tissue, in the levels of gene expression of antioxidant enzymes. Male Wistar rats of equal age divided into four groups; diabetic (n = 12), control (n = 12), resveratrol given diabetic (n = 9), resveratrol given control (n = 12) then, diabetes into two groups is formed by injecting streptozotocin (50 mg / kg body weight)intraperitoneally. A week after diabetes formation, diabetic and control groups, 50 mg / kg of resveratrol was injected as a single daily dose, and *nfκβ*, *cat*, *gpx*, *sod1*, -2 and *gst-m1* gene expression levels in renal tissues by real time (real time) PCR method was determined. In the study, the expression level of the transcription factor Nfκβ which shows regulation effects on gene expression of antioxidant enzymes, is suppressed in diabetic renal tissues, and it was determined that, this suppression significantly up-regulate the levels of *cat*, *gpx*, *sod1*, and *gst-m1* antioxidant gene expressions. Also, it was revealed the positive effects of resveratrol.on the changes brought by oxidative stress caused by diabetes in the kidney tissue. Finally, it was revealed that gene transcription regulators of Nfκβ antioxidant enzymes are arranged in relation to the case of diabetes-mediated oxidative stress and the result that how regulate the antioxidant enzymes in oxidative conditions of the renal tissues was obtained. The obtained data can play a role in development of the gene therapy or the treatment of the antioxidants which may be provided in the required dose to counteract occurring oxidative stress in tissue.

Keywords: Diabetes, resveratrol, *nfκβ*, *cat*, *gpx*, *sod1*, *sod2*, *gst-m1*

***Acinetobacter baumannii* suşlarının Moleküler Epidemiyolojisinin Tespiti**

Sümeysra Savaş Acar¹, Alper Karagöz¹, Gülşen Hazırolan², Mehmet Parlak³, Yasemin Bayram³, Hilal Cark⁴

¹ Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, Türkiye

² Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

³ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilimdalı, Van, Türkiye

⁴ Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas, Türkiye

hilal.cark@hotmail.com

Özet

Acinetobacter baumannii hastanelerde özellikle de yoğun bakım ünitelerinde mortalite ve morbiditeyi arttıran, hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedenidir. *Acinetobacter* izolatlarının klonal ilişkisi epidemiyolojik tiplendirmenin altın standardı olarak tanımlanan PFGE yöntemi ile araştırıldı. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının *ApaI* ile kesilen genomik DNA'sına yapılan PFGE yöntemi ile 4 farklı ana klon görüldü. Suşların 3'ü özgül genotip profili gösterirken, Kümeleşme oranı %92,68 olarak belirlendi. Bu çalışmanın amacı Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde izole edilen 40 örneğe ait *Acinetobacter baumannii* izolatının, klonal ilişkilerini ve epidemiyolojik özelliklerini değerlendirmektir. Sonuç olarak *Acinetobacter baumannii* izolatlarının YYÜ hastanesinde oldukça yaygın olduğu görüldü, bu bakterinin neden olduğu direnç mekanizmalarına yönelik saptayabildiğimiz epidemiyolojik verilerin bu hastanede ileriye yönelik araştırmalar ve tedavi yöntemleri açısından yararlı olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Moleküler epidemiyoloji, *Acinetobacter baumannii*, PFGE

Investigation of Molecular Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* Isolates

Abstract

Acinetobacter baumannii is a significant cause of hospital acquired infection which raises the rate of mortality and morbidity in health care settings especially in Intensive Care Units. The clonal relationship of *Acinetobacter* isolates was analysed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) method, that is defined as the gold standard of epidemiological typing. In the PFGE analysis of *Acinetobacter baumannii* isolates for genomic DNA that was restricted with *ApaI*, 4 different major clons have been found. Three of them were found distinguishable and 92.68% of the isolates had an indistinguishable pulsotype. The aim of this study is to evaluate the clonal correlation and epidemiologic features of 40 *Acinetobacter* isolated from various specimens of hospitalized patients at the clinical microbiology laboratory of Yuzuncu Yıl University Medical Faculty. As a result, it is obvious that *Acinetobacter baumannii* isolates are quite common in YYU hospital. The determined epidemiologic data relevant to resistance mechanisms caused by this bacteria is supposed to be helpful for the prospective studies and treatment methods of the hospital.

Keywords: Molecular epidemiology, *Acinetobacter baumannii*, PFGE,

***Acinetobacter baumannii*' nin MALDI-TOF MS (Bruker) Yöntemi ile Optimizasyonu**

Gülşen Hazirolan¹, Sümeyra Savaş Acar², Alper Karagöz², Mehmet Parlak³, Cennet Rağbetli³, Hilal Çark⁴

¹ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

² Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara, Türkiye

³ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilimdalı, Van

⁴ Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas, Türkiye
hilal.cark@hotmail.com

Özet

Acinetobacter türleri Gram negatif, nonfermenter, oksidaz negatif kokobasillerdir. Özellikle yoğun bakım kliniklerinde, sıklıkla hastane enfeksiyonu etkeni olarak sorun oluşturmaktadır. *A.baumannii*, hastane ortamında uzun süre canlılığını koruyabilme özelliğine sahip olduğundan, enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve çevresel bulaşın önlenmesi önem arz etmektedir. Çalışmamızda yoğun bakım ünitelerinde ve diğer kliniklerde yatmakta olan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 40 *A. baumannii* şuşunun protein dizileri değerlendirilerek, şuşlar arası ilişki incelenmiştir. Suşların tanımlanmasında klasik yöntemler ve MALDI TOF MS (Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight Mass Spectrometry) yöntemi kullanılmıştır. Suşlara etanol-formik asit ekstraksiyonu uygulanmıştır. MALDI TOF MS ile elde edilen dendogramda 4 farklı küme tespit edilmiştir. Kümelerde sırası ile 12,4,9 ve 15 suş saptanmıştır. 4. kümedeki 3 suş hariç suşların birbirleri ile benzerlikleri mesafe düzeyleri 0.4 ve altında bulunmuştur. Suşların birbirleriyle ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda özellikle yoğun bakım ünitelerinde izolasyon önlemlerinin ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, Maldi- ToF MS (Bruker), optimizasyon

Optimization of Maldi- ToF MS (Bruker) Methods for *Acinetobacter baumannii*

Abstract

Acinetobacter baumannii is Gram negative, nonfermentative, oxidase negative coccobacillus. Expecially in intensive care units, *A. baumannii* causes hospital acquired infections subsequently. *A. baumannii* has ability to survive on hospital environment. Applying infection control precautions and preventing environmental contamination is important for *A. baumannii* infections. In this study we evaluated 40 *A. baumannii* isolate that identified from clinical samples of hospitalized (intensive care units and other clinical services) patients. We assessed protein sequences and analysed relationship of isolates. *A. baumannii* isolates identified by conventional methods and MALDI TOF MS(Matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight Mass Spectrometry) ethanol formic acid technique was applied to isolates. Protein sequences of strains were evaluated. Dendograms of spectral profiles of strains were created. Four different clusters of *A. baumannii* were detected. In this clusters 12, 4, 9, and 15 isolate were determined respectively. The distance level is detected 0.4 or lower than 0.4 for all isolates except for three isolates which were in cluster 4. Regarding to relationships of isolates, it is significant to practise isolation and infection control measures in hospitals, particularly in intensive care units.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Maldi- ToF MS (Bruker), optimization.

***Plantanus orientalis* Yaprak Bileşenlerinin Analitik Teknikler ile Belirlenmesi**

İşıl Kutbay¹, Funda Şentürk Akfırat²

¹ Gebze Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Kocaeli

² Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli

kutbay@gtu.edu.tr

Özet

Plantanus orientalis (*Plantaceae*) bitkisi dünyanın Asya, Avrupa ve Doğu Akdeniz bölgelerinde doğal olarak bulunan çok yıllık bir ağaçtır. Bu ağaçlar süs bitkisi olarak yaygın şekilde yetiştirilir ve tıbbi bitki olarak ta çok değerlidir. Doğal atık olarak görülen bu bitkinin yaprakları, bol miktarda bulunur, kolay elde edilir ve ucuzdur. Bu çalışmada, *P. orientalis* bitki yaprakları sonbahar döneminde Türkiye'nin Alanya bölgesinden elde edildi. Örneklerin tümü analitik tekniklerin öncesinde havada kurutuldu. Kurutulan yapraklar, X-ışını kırınımı (XRD) ve Zayıflatılmış Toplam Yansıma- Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi (ATR-FTIR) kullanılarak analiz edildi. X-ışını kırınımı analizi ile yaprak numunelerinin kristal fazı ve kimyasal kompozisyonları; whewellite ($C_2CaO_4.H_2O$), schertelite ($Mg(NH_4)_2H_2(PO_4)_2.4H_2O$), silikon oksit (SiO_2), amid ($C_{13}H_{17}N_7O_3$), ester ($C_{37}H_{68}O_8$), benzen ($C_{28}H_{40}O_{10}$) olarak tespit edildi. ATR-FTIR analizi sonuçlarına göre, yaprak numunelerinin karakteristik değerleri; (P-O), (C=O), (Cl=O), (C-O), (P-O-H), (C-H), (N-H), (O-C=O), (K-N=O), (Ca-C=O), (N=H), (C=H), (N=O), (O-H), (C≡H), (N≡N), (Si-O-Si) fonksiyonel grupları olarak saptandı. *P. orientalis* yapraklarının sahip olduğu kimyasal bileşenler ve fonksiyonel gruplar bitkinin çeşitli tıbbi özelliklerinden sorumludur. Geliştirilmiş bitki ekstraktı işlemleri kullanarak yapraklardan elde edilen nanopartiküller çeşitli bitki, insan ve hayvan hastalıkları ve patojenlere karşı biyomateryal, biyosorbent ve nanoilaç olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: ATR-FTIR, *Plantanus orientalis*, Yaprak, XRD

Determining of Leaves Constituents in *Plantanus orientalis* by Analytical Techniques

Abstract

Plantanus orientalis (*Plantaceae*) is woody perennial tree, a native of Asia, Europe, and Eastern Mediterranean regions of the world. It is commonly cultivated and highly valued as an ornamental and medicinal tree. Its leaves as a natural waste is available in abundance, easy to obtain and cheap. In the present study, *P. orientalis* leaves were obtained from Alanya region of Turkey at the autumn period. All of the specimens were dried in air before using analytical techniques. The leaves were analyzed by using X-ray diffraction (XRD), Attenuated Total internal Reflectance- Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). From X-ray diffraction pattern, crystalline phase and chemical compositions of the leaf specimens were identified as whewellite ($C_2CaO_4.H_2O$), schertelite ($Mg(NH_4)_2H_2(PO_4)_2.4H_2O$), silicon oxide (SiO_2), amide ($C_{13}H_{17}N_7O_3$), ester ($C_{37}H_{68}O_8$), benzene ($C_{28}H_{40}O_{10}$). According to ATR-FTIR analysis results, characteristic peak values of the leaf specimens were detected functional groups as (P-O), (C=O), (Cl=O), (C-O), (P-O-H), (C-H), (N-H), (O-C=O), (K-N=O), (Ca-C=O), (N=H), (C=H), (N=O), (O-H), (C≡H), (N≡N), (Si-O-Si). The chemical compositions and the functional groups are responsible for various medicinal properties of *P. orientalis* leaves. Nanoparticles obtained from the leaves by using developed plant extract process can be used as biomaterial, biosorbent and nanomedicine against various plant, human, and animal diseases or pathogens.

Keywords: ATR-FTIR, Leaf, *Plantanus orientalis*, XRD

(E)-7-(4-Sübstitüestiril)-2-(4-Sübstitüefenil)İmidazo[1,2-a]Piridin Bileşiklerinin Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitelerinin ve DNA Etkileşiminin İncelenmesi

Leyla Arslan¹, Leyla Açık¹, Zeynel Seferoğlu², Ergin Yalçın², Burcu Aydın²

¹Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

² Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara

leyla.arslan97@gmail.com

Özet

Non benzodiazepinlerin kimyasal üç ana sınıfı vardır. İmidazopiridinler bunların içerisinde en önemlilerinden biridir. Özellikle imidazo[1,2-a]piridinler (IPs) farmakolojik olarak önemli moleküllerin vazgeçilmez birer parçasıdır. İmidazo[1,2-a]piridin türevleri, çeşitli anksiyolitik ilaçlar olarak kullanılan alpidem, necopidem ve saripidem; uykusuzluk tedavisinde kullanılan zolpidem gibi ilaçların yanı sıra diğer antiviral, antikanser, anti-inflamatuar gibi farmakolojik açıdan önemli etkileri olan moleküllerin ana iskeletini oluşturmaktadır. Bu çalışmada (E)-7-(4-Sübstitüestiril)-2-(4-Sübstitüefenil)imidazo[1,2-a]piridin bileşiklerinin çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri, antioksidan aktiviteleri ve DNA etkileşimlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla maddelerin *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* RSKK 96029, *Enterococcus hirae* ATCC 9790 *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* NRRL-Y 12968 patojen mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri kuyu difüzyon yöntemiyle incelenmiştir. Maddelerin herhangi bir antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin olmadığı tespit edilmiştir. Maddeler ile plazmit DNA arasındaki etkileşim agaroz jel elektroforezi yöntemiyle incelenmiştir. Maddelerin konsantrasyona bağlı olarak DNA'yı parçalama şeklinde etki gösterdiği bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarla bu maddelerin antikanser ajan olma potansiyeli araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: (E)-7-(4-Sübstitüestiril)-2-(4-Sübstitüefenil)imidazo[1,2-a]piridin, antioksidan, antimikrobiyal, DNA etkileşimi

Investigation of Antioxidant, Antimicrobial Activity and DNA Interactions (E)-7-(4-Sübstitüestiril)-2-(4-Sübstitüefenil)Imidazo[1,2-a]Pyridine Componenets

Abstract

There are three main classes of non benzodiazepines. Imidazopyridines are one of the most important class within these compounds. In particular, imidazo [1,2-a] pyridines (IPS) are indispensable components of pharmacologically important molecules. Imidazo [1,2-a] pyridine derivatives are consisted of various anxiolytic drugs such as alpidem, necopide and saripidem; insomnia drug zolpidem as well as main structure of the molecules which have important pharmacological activities such as antiviral, anticancer, anti-inflammatory. In this study antimicrobial activities against several pathogen microorganisms, antioxidant activities and DNA interactions of the (E)-7-(4-Sübstitüestiril)-2-(4-Sübstitüefenil)imidazo[1,2-a]pyridine compounds were investigated. For that purpose, the antimicrobial activities of the compounds against pathogen microorganisms *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* RSKK 96029, *Enterococcus hirae* ATCC 9790 *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida tropicalis* NRRL-Y 12968 were studied by using agar well diffusion method. The compounds had not any antimicrobial and antioxidant activity. The interaction between compounds and plasmid DNA was analyzed by agarose gel electrophoresis. It was found that compounds caused DNA destruction activity. The advanced studies should make to rate these compounds as anticancer agent.

Key Words: (E)-7-(4-Sübstitüestiril)-2-(4-Sübstitüefenil)imidazo[1,2-a]pyridine antioxidant, antimicrobial, DNA interaction

Moksifloksasin Antibiyotiğinin Genotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Lale Dönbak¹, Ahmet Kayraldız¹, Ayşe Yavuz Kocaman², Mehmet Arslan³ Mahmut Nagac¹, Şakire Karadaş¹, Yasin Uzun¹, Akif Emre İshak¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş

²Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hatay

³Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksek Okulu, Hemşirelik Bölümü, Ardahan

mahmutnagac@gmail.com

Özet

Moksifloksasin florokinolon sınıfından sentetik yapıda, geniş spektrumlu bir antibakteriyel ajandır. Bu çalışmada; moksifloksasin antibiyotiğinden hazırlanan dozların, insan periferik lenfositlerinde genotoksik aktiviteye sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla, insan periferik lenfositleri, 2,5, 5, 10 ve 20 µg/ml olmak üzere dört moksifloksasin dozu ile 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmiş ve bu işlemin hücrelerde kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormallliği (KA), anormal hücre (AH), mikronükleus (MN), poliferasyon indeksi (PI), mitotik indeks (MI), ve nükleer bölünme indeksi (NBI) düzeylerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, SPSS (17.0) paket programı kullanılarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Moksifloksasin ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde, tüm dozlarda KA ve AH frekansının kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı saptanmıştır. Benzer şekilde, yüksek moksifloksasin dozları ile muamele edilen hücrelerde KKD ve MN frekanslarındaki artışın istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). PI ve NBI değerleri moksifloksasin muamelesinden etkilenmemiştir ($p>0,05$). Buna karşılık MI değeri muamele edilen hücrelerde kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada moksifloksasinin insan periferik lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Genotoksisite, Kardeş kromatid değişimi, Kromozomal anormallikler, Mikronükleus, Moksifloksasin

Evaluation of Genotoxic Effect of Moxifloxacin Antibiotic

Abstract

Moxifloxacin is a broad spectrum antibacterial agent belong to the fluoroquinolone group. In this study, possible genotoxic activity of moxifloxacin was investigated in human peripheral lymphocytes. The cells were treated with four doses of moxifloxacin (2.5, 5, 10, 20 µg/ml) for 24 and 48 hours. The effects of this treatment were determined by analyzing the levels of sister chromatid exchanges (SCEs), chromosomal aberrations (CA), abnormal cells (AC), micronucleus (MN), proliferation index (PI), mitotic index (MI), and nuclear division index (NDI). Obtained data were compared with the control group by using SPSS (17.0) software programme. The CA and AC frequencies were found to be significantly elevated in the cells treated with all concentrations of moxifloxacin for 24 and 48 h. Similarly, the increase in the SCE and MN level in the cells treated with the highest doses of moxifloxacin were statistically significant ($p<0.05$). Treatment of moxifloxacin did not affect PI and NBI values ($p>0.05$). In contrast, MI values were found to be significantly decreased in treated cells. The results of this study demonstrated that moxifloxacin has genotoxic and cytotoxic effects in human peripheral lymphocytes.

Keywords: Chromosomal aberrations, Genotoxicity, Micronucleus, Moxifloxacin, Sister chromatid exchanges

Sucuktan bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve moleküler karakterizasyonu

Medine Güllüce¹, Mükerrerem Kaya², Güzin Kaban², Mehmet Karadayı¹, Özlem Barış¹, Aybike Kamiloğlu³, Halime Genç³, Kübra Fettahoğlu³

¹ Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Erzurum

² Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum

³ Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum

gullucem@atauni.edu.tr

Özet

Geleneksel fermente bir Türk et ürünü olan sucuk, yaygın bir şekilde tüketilen ve et endüstrisinde ekonomik açıdan önemli paya sahip olan et ürünlerinden biridir. Gıda endüstrisinde, üretim prosesleri sırasında kimyasal katkı maddelerinin kullanımının tüketicide oluşturduğu endişelerden dolayı doğal katkı maddelerine olan ilgi son yıllarda artış göstermiştir. Bundan dolayı sucuk gibi et ürünlerinde bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin (LAB) koruyucu kültür ve/veya onların bakteriyosinlerinin doğal antimikrobiyal ajan olarak kullanıma imkanları üzerine araştırmalara yönelilmiştir. Bu çalışmada, farklı üreticilerden temin edilen sucuk örneklerinden laktik asit bakterileri izole edilmiş ve izolatların bakteriyosin üretme potansiyelleri belirlenmiştir. Bakteriyosin üretme potansiyeline sahip izolatlar moleküler olarak tanımlanmıştır. İzolatların gıda kaynaklı patojenlere (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*) karşı antagonistik aktiviteleri ise agar-spot ve kuyu difüzyon teknikleri ile test edilmiştir. LAB izolatlarından 6'sının bakteriyosin ürettiği belirlenmiş ve 4 izolat *Lactobacillus plantarum*, 2 izolat ise *L. plantarum* subsp. *plantarum* olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak, sucuktan izole/identifiye edilen bakteriyosin üretici laktik asit bakteri suşlarının saf veya ham bakteriyosin preparatı elde etmek için iyi bir kaynak olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: LAB, Doğal gıda katkısı, Bakteriyosin, Sucuk

Teşekkür: Bu çalışma, Türkiye Cumhuriyeti – Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından TAGEM-13/ARGE/6 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Isolation and molecular characterization of bacteriocin producing lactic acid bacteria from sucuk

Abstract

Sucuk, a traditional Turkish fermented meat product, has a significant economic share in the meat industry as one of the most commonly consumed product groups. Recently, there has been an increasing interest in natural food additives in the food industry due to consumer's concerns about chemical additions during the production processes. Thus, recent researches have focused on the possibility of using bacteriocin producing lactic acid bacteria (LAB) as protective cultures and/or their bacteriocins as natural antimicrobial agents in such meat products as sucuk. In the present study, lactic acid bacteria from various sucuk samples collected from different producers were isolated and their bacteriocin producing potentials were determined. Bacteriocinogenic isolates were identified by using molecular techniques. Determination of antagonistic and antimicrobial activities against food-borne pathogenic strains (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) was done by using agar-spot and well diffusion assays. 6 of LAB isolates were determined as bacteriocinogenic and these were assigned to as 4 *Lactobacillus plantarum* and 2 *L. plantarum* subsp. *plantarum*. In conclusion, it was reached that the isolated/identified bacteriocin-producing lactic acid bacteria strains from sucuk samples have a significant potential to prepare pure or crude bacteriocin preparations.

Keywords: LAB, Natural food additives, Bacteriocin, Sucuk

***Scytalidium thermophilum* Katalaz-Fenol Oksidaz (CATPO) Yanal Kanalının Aktivitedeki Rolü**

Yonca Yuzugullu¹, Melis Zengin¹, Sinem Balcı¹, Günce Göç¹, Yonca Avcı Duman²

¹Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Kocaeli

Özet

Scytalidium thermophilum, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayan ve bunun yanı sıra farklı tipte fenolik maddeleri okside edebilen bir katalaz enzimi üretir (CATPO). “Hem” grubu içeren *S. thermophilum* katalaz-fenol oksidaz (CATPO) enzimi, homotetramer bir yapıya sahip olup her bir monomeri iyi derecede korunmuş bir yapı göstermektedir. Aktif bölgede bulunan “Hem” grubu, protein yapısı içine gömülü halde bulunmaktadır ve aktif bölgeden reaksiyon substratı ile ürünlerin giriş ve çıkışları üç kanal vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Bu kanallardan biri olan ana kanalın peroksit molekülünün aktif bölgeye ulaşmasında başlıca rol oynadığı düşünülmektedir. Yanal kanal ise aktif merkeze distal asparajin kalıntısı üzerinden yaklaşımakta olup küçük üniteli katalazlardaki NADP(H) bağlanma bölgesiyle ilişkilidir. Bu kanalın rolü tam olarak bilinmemekle birlikte reaksiyon ürünlerinden olan su molekülünün bu kanalı kullanarak protein yapısını terk ettiği varsayılmıştır. Devam eden çalışmanın bir parçası olarak, CATPO varyantının çeşitli mutasyonları (Val228, Leu321, Glu316, Val536, Ile313 ve Ile314) gerçekleştirilmiştir. Bu mutantlardan V228C, V228I ve I313F’nin yabanıl tip CATPO enziminde olduğu gibi *d* tipi “Hem” grubu içerdiği gözlenirken V228G ve V228A mutant proteinlerinin ise *d* tipi “Hem” yerine *b* tipi “Hem” grubu içerdiği spektroskopik yöntemlerle bulunmuştur. Yapılan kinetik çalışmalarda I313F, V228I ve V228C mutantlarında katalitik aktivitede artış gözlenirken fenol oksidaz aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Bununla birlikte V228A mutantının katalaz ve oksidaz aktivitesinde azalma gözlenmiştir. V228G mutantı da V228A’ya benzer şekilde katalitik aktivite profiline sahip olmakla beraber oksidaz aktivitesinde gözle görülür bir artış tespit edilmiştir. Bu çalışmada yanal kanalda bulunan önemli amino asit kalıntılarının katalitik aktivitedeki rolü araştırılmış olup katalitik aktivitede önemli değişiklikler kaydedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Katalaz, Fenol oksidaz, Yanal kanal, *S. thermophilum*

Role of Lateral Channel in Activity of Catalase-Phenol Oxidase (CATPO) from *Scytalidium thermophilum*

Abstract

Scytalidium thermophilum produces a catalase with phenol oxidase activity (CATPO) that catalyses the decomposition of hydrogen peroxide into oxygen and water and also oxidizes various phenolic compounds. The haem-containing catalase of *S. thermophilum* consists of a homotetramer in which each subunit contains a core region with the highly conserved catalase structure. The active site haem group deeply buried inside the molecular structure requires the movement of substrate and products through three long channels. Among them, the main channel is believed to be a primary route for the access of peroxide to the active site. The lateral or minor channel approaches the haem from above, adjacent to the essential asparagine, and emerges on the enzyme surface at a location corresponding to the NADP(H)-binding pocket in catalases that bind a nicotinamide cofactor. The function of this channel remains unknown, although molecular-dynamics simulations suggest that water can exit the protein through this channel. As part of ongoing study, CATPO variants with mutations of Val228, Leu321, Glu316, Val536, Ile313 and Ile314 were produced. Spectroscopic studies with different CATPO variants have shown that V228C, V228I and I313F contained haem *d*, while V228A and V228G had haem *b* in the active center. In terms of their catalytic activity, I313F, V228C and V228I presented an increase in catalase activity but a decrease in phenol oxidase activity. On the other hand, V228A exhibited both reduced catalatic and oxidase activities. V228G has a similar catalatic activity profile as V228A, but has much higher oxidase activity. In this study, the role of important lateral chain residues in catalytic activity has been investigated and it’s been suggested that the dimensions or volume of the channel were critical in determining the rate of either H₂O₂ or phenolic compound (catechol) movement into the active site.

Keywords: Catalase, Phenol oxidase, Lateral channel, *S. thermophilum*

Biyoteknolojinin Tarımda Kullanımı

¹Merve Dilek Geboloğlu

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Van

mervegebologlu@yyu.edu.tr

Özet

Biyoteknolojinin amacı, biyolojik sistem ve ürünleri kullanarak, yeni ürünler elde etmek veya var olan ürünü geliştirmektir. Tıp, endüstri, tarım, gıda, çevre gibi alanlarda biyoteknolojiden faydalanarak birçok yararlı ürün elde edilmektedir. Biyoteknolojik çalışmalardaki esas amaç insan yaşamını kolaylaştırmaktır. Biyoteknolojinin en yaygın uygulama alanlarından biri tarımsal biyoteknolojidir. Tarımda, konvansiyonel girdilerin azaltılması, verim ve kalitelerinin artırılması, hastalık-zararlılara karşı dayanıklılığın geliştirilmesinde biyoteknolojiden yararlanılmaktadır. Tarımsal biyoteknoloji; bitki biyoteknolojisi, hayvansal biyoteknoloji, enzim ve mikrobiyal biyoteknoloji olarak 3 gruba ayrılır. Bitki biyoteknolojisi bitki ıslahı ile başlamış, modern ıslah tekniklerinin geliştirilmesini ve tarımsal üretimde verimliliğin artırılmasını amaçlamıştır. Doku kültürü, rekombinant teknolojileri ve enzim teknolojisi bitki biyoteknolojisinin önemli çalışma alanlarıdır. Haploid bitkilerin elde edilmesi, çoğaltılması zor veya az bulunan bitkilerin çoğaltılmasında, embriyo kurtarmada ve virüsten ari bitkilerin elde edilmesinde doku kültürü yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Rekombinant teknolojisi kullanılarak, hastalık-zararlılara karşı dayanıklılık genlerinin bitkilere aktarımı ile verimde artış ve ihtiyaç duyulan pestisitlerde azalma gözlemlenmektedir. Hayvansal biyoteknoloji, genetik olarak üstün hayvanlar elde etmek, et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlerin verimini-kalitesini arttırmak için kullanılmaktadır. Rekombinant DNA teknolojileri, markörler, yapay tohumlama, embriyo transferi, mikroenjeksiyon ile gen transferi, klonlama tekniklerinden bu amaçları gerçekleştirmek için yararlanılmaktadır. Enzimler, biyokimyasal olayların merkezinde, moleküllerin parçalanmasını, kimyasal enerjinin korunmasını ve dönüştürülmesini sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Enzimlerden bu özellikleriyle rekombinant DNA teknolojisinde faydalanılmaktadır. Enzimler, raf ömrünü arttırmak için kullanılabilir. Hayvan beslenmesi için önemli besinlerden olan silaj da mikrobiyal aktivite ürünüdür.

Anahtar Kelimeler: Biyoteknoloji, Rekombinant Teknoloji, Tarım

Applications of Biotechnology in Agriculture

Abstract

The aim of biotechnology is to obtain new products and improve the existing product by using biological methods and products. Many useful products are obtained utilizing the biotechnology such as medicine, industry, agriculture, food and environment. The main purpose of biotechnological studies is to facilitate human life. Agricultural biotechnology is one of the most common applications of biotechnology. Biotechnology is used to reduce the conventional inputs, increase the yield and quality and improve the resistant to diseases and pests in agriculture. Agricultural biotechnology divide into 3 fields. These are; plant biotechnology, animal biotechnology, enzyme-microbial biotechnology. Plant biotechnology has begun with plant breeding. It is aimed to improve the modern breeding techniques and increase the productivity. Tissue culture, recombinant technology, enzyme technology are important working area of plant biotechnology. Tissue culture techniques are used for haploid plant production, the propagation of plants which have rare or difficult to reproduction, embryo rescue and produce the virus free plants. Use of recombinant technology, pest resistance genes transferred to plants, so increase in yield and reduction in pesticides 'will be needed' occurs. Animal biotechnology is used to obtain genetically superior animals, and improve the quality-yield of animal products like eggs, meat, milk. Recombinant technologies, markers, artificial insemination, embriyo transfer, gene transfer by microinjection, clonning techniques are methods that used to achieve these goals. Enzymes, are the biological catalyzer that centre of biochemical reactions. Enzymes provide the fragmentation of molecules, protect and conversion of chemical energy. Enzymes are used in Recombinant technology with these properties. Enzymes can be used to increase the shelf-life. Silage is one of the most important nutrients for animal nutrition. Silage is the prduct of the microbial activity.

Keywords: Biotechnology, Recombinant Technology, Agriculture

HDL ve LDL Seviyesi Farklı Olan Grupların Serumlarında Asetilkolinesteraz ve Protein Karbonil Düzeyinin Belirlenmesi

Mesut Işık, Hatice Esra Aslan, Yeliz Demir, Şükrü Beydemir

Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Erzurum

mesutisik16@gmail.com

Özet

Oksidan sistemin lehinde bozulan antioksidan sistem dolayısıyla oluşan oksidatif stress sonucu birçok hastalık meydana gelebilmektedir. Bu dengenin bozulması ile oluşan hastalıklar arasında Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıkları da yer almaktadır. Yüksek seviyede protein-karbonil gruplarının varlığı da bu hastalıklarda gözlemlenmektedir. Protein karbonil içeriği seviyesi, protein oksidasyonunda en yaygın olarak kullanılan bir markıdır. Asetilkolinesteraz nörotransmitter asetilkolini hızlıca hidroliz ederek tam bir geçici sinaptik aktivasyon sağlayan kolinerjik iletimin anahtar bir bileşenidir. Bu nörotransmitter asetilkolin kan damarları içinde esnekliği sağlar. Çalışmada, asetilkolinesteraz ve protein-karbonil seviyelerinin HDL-LDL'ye bağlı değişimleri incelenmiştir. Protein-karbonil seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur. Asetilkolinesteraz aktivitesinde ise düşük HDL grubu ile normal HDL grubu arasında anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur ($P < 0,05$).

Anahtar Kelimeler: Asetilkolinesteraz, HDL, Oksidatif Stres, Protein Karbonil

Determination of Acetylcholinesterase Activity And Protein Carbonyl Groups Level in Serum of Groups With Different HDL ve LDL Levels

Abstract

Oxidative stress, an imbalance toward the pro-oxidant side of the pro-oxidant/antioxidant homeostasis, occurs in several human diseases. Among these diseases are those in which high levels of protein carbonyl groups have been observed, including Alzheimer's disease and some cardiovascular disease. Protein carbonyl content is actually the most general indicator and by far the most commonly used marker of protein oxidation. Acetylcholinesterase is a key component of cholinergic transmission: it allows a precise temporal control of synaptic activation, by rapidly hydrolyzing the neurotransmitter acetylcholine. This neurotransmitter acetylcholine provides flexibility in the blood vessels. In this study, we investigated acetylcholinesterase and protein carbonyl levels to evaluate the HDL-LDL related changes. No statistically significant difference in Protein carbonyl level was found among the all groups. When A statistically significant difference in acetylcholinesterase activity was found between HDL-low and HDL-normal groups ($P < 0,05$).

Keywords: Acetylcholinesterase, HDL, Oxidative Stress, Protein carbonyl

Limon Suyu *Saccharomyces cerevisiae*'de Krom Hasarını Azaltır mı?

M. İsmail Can¹, Abdullah Aslan²

¹ Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Aksaray

² Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Elazığ

is_mail_can@hotmail.com

Özet

Güçlü oksidatif etkileri olduğu bilinen potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$), aynı zamanda kanserojen etkilere de sahip olabilmektedir. Limon suyunun (LS) ise güçlü antioksidan etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada 7 ayrı grup oluşturulmuştur: i: Kontrol grubu, ii: Pozitif kontrol ($K_2Cr_2O_7$) grubu, iii: 5 mM $K_2Cr_2O_7$ + LS grubu, iv: 10 mM $K_2Cr_2O_7$ + LS grubu, v: 15 mM $K_2Cr_2O_7$ + LS grubu, vi: 20 mM $K_2Cr_2O_7$ + LS grubu, vii: 25 mM $K_2Cr_2O_7$ + LS grubu. Sterilizasyon işleminin ardından LS (% 25) ve farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$, *Saccharomyces cerevisiae* kültürlerine eklenmiştir ve 37°C'de 1 saat, 3 saat, 5 saat ve 24 saat (gün boyu) geliştirilmiştir. *S. cerevisiae* hücre gelişmesi spektrofotometreyle tespit edilmiştir. Total protein değişimi SDS-PAGE ile belirlenmiştir ve biüret metoduyla hesaplanmıştır. Bizim sonuçlarımıza göre, farklı gelişme sürelerinde pozitif kontrol grubuna kıyasla, LS verilen gruplarda hücre gelişmesi artmıştır. Biüret sonuçlarına göre, LS verilen maya gruplarında, pozitif kontrol grubuna göre protein yoğunluğu daha fazla miktarda ölçülmüştür. Sonuç olarak, limon suyunun artan oksidatif hasara karşı koruyucu bir etkisi vardır ve *S. cerevisiae*'de hücre gelişimini artırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Limon suyu, Oksidatif hasar, *S. cerevisiae*, SDS-PAGE, biüret

Is Lemon Juice Reduced the Chromium Stress in *Saccharomyces cerevisiae*?

Abstract

It is known that potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) has harmful effects, it also may has carcinogen effects. It is thought that lemon juice (LJ) has antioxidant effects. In this study, seven groups were composed. i: Control group, ii: Positive control ($K_2Cr_2O_7$) group, iii: 5 mM $K_2Cr_2O_7$ + LJ group, iv: 10 mM $K_2Cr_2O_7$ + LJ group, v: 15 mM $K_2Cr_2O_7$ + LJ group, vi: 20 mM $K_2Cr_2O_7$ + LJ group, vii: 25 mM $K_2Cr_2O_7$ + LJ group. After sterilization, LJ (25%) and different concentration of $K_2Cr_2O_7$ were inserted to *Saccharomyces cerevisiae* cultures and the cultures were developed at 37°C for 1h, 3h, 5h and 24 hours (overnight). *S. cerevisiae* cell growth was determined by spectrophotometer, total protein alteration was identified by SDS-PAGE electrophoresis and calculated with biuret method. With respect to our studies results; cell growth rised in LJ groups to which LJ was taken in proportion to the positive control group at different growing times. According to biuret results, protein intensity in LJ groups more than positive control's. As a result LJ has a protective role for decrease the oxidative damage and increased cell growing in *S. cerevisiae*.

Keywords: Lemon juice, Oxidative damage, *S. cerevisiae*, SDS-PAGE, biuret

Ratlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Karaciğer Hasarına Karşı Deve Dikeni (*Silybum marianum* L.)'nin, Koruyucu Etkisinin TUNEL Yöntemi ile Tespit Edilmesi

M. İsmail Can¹, Abdullah Aslan², Tuncay Kuloğlu³

¹ Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Aksaray

² Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Elazığ

³ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ

is_mail_can@hotmail.com

Özet

Deve dikeni (DD) yaprak ve çiçek ekstraktı yüzyıllardır karaciğer, safra kesesi ve dalak bozukluklarında kullanılmaktadır. Son çalışmalar, DD'nin kanseri önleme ihtimali üzerinde odaklanmıştır. Bu çalışmanın amacı, ratlarda karbon tetraklorür (CCl₄) uygulaması yoluyla oluşturulan karaciğer hasarına karşı DD'nin koruyucu bir rolü olup olmadığını araştırmaktır. Çalışmada 28 adet erkek Wistar albino (n=28, 8 haftalık) rat kullanılmıştır. Ratlar canlı ağırlıklarına göre dört gruba ayrılmıştır. Gruplar: (i) Negatif Kontrol: Normal su tüketen, CCl₄ ve deve dikeni verilmeyen grup; (ii) Pozitif Kontrol: Normal su tüketen, CCl₄ verilmeyen fakat deve dikeni verilen grup; (iii) CCl₄ Grubu: Normal su tüketen ve CCl₄ verilen grup (2 ml/kg CA, ip); (iv) CCl₄ + deve dikeni Grubu: CCl₄ (2 ml/kg CA, ip) ve deve dikeni verilen grup şeklinde ayarlanmıştır. Doku apoptotik indeksi TUNEL metodu yoluyla belirlenmiştir. CCl₄ +DD grubundaki apoptotik indeks (TUNEL sonuçları) CCl₄ grubuna göre azalış göstermiştir. Bu sonuçlar, DD bitkisinin karaciğer üzerinde koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, DNA hasarı, Karaciğer, TUNEL metodu

The Determination Protective Effect of Thistle (*Silybum Marianum* L.) by TUNEL Method Against to with Carbon Tetrachloride (Ccl₄)-Induced Liver Damage In Rats

Abstract

The leaf and flower extracts of thistle (T) have been used for liver, gall bladder and spleen disorders for centuries. Recent studies have focused on the possible effects of thistle in preventing cancer. The aim of this study was to examine whether thistle plays a protective role against the damage in the liver via the administration of carbontetrachloride (CCl₄) to rats. 28 male Wistar albino (n=28, 8 weeks old) rats have been used in the study. The rats were divided into 4 groups according to their live weights. The groups were: (i) Negative Control (NC): Normal water consuming group to which no CCl₄ and thistle (T) is administered; (ii) Positive Control (PC): Normal water consuming group to which no CCl₄ is administered but T is administered; (iii) CCl₄ Group: Normal water consuming and group to which CCl₄ is administered (2 ml/kg live weight, ip); CCl₄ + T group: CCl₄ and T administered group (2 ml/kg live weight, ip). Tissue apoptotic index was examined via TUNEL method. It was observed in the CCl₄+T group that the apoptotic index (TUNEL results) decreases in comparison with the CCl₄ group. These results show that thistle plant has a protective effect on liver.

Keywords: Apoptosis, DNA damage, Liver, TUNEL method

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (FÜBAP) tarafından F.F. 13.19 nolu proje ile desteklenmiştir.

Türkiye İçin Endemik Olan *Centaurea fenzlii* Reichardt. ' in Doku kültüründe Mikro Üretimi

Nalan Türkoğlu¹, Neşe Eray², Sevda Demirel³, Nurhan Keskin⁴

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Van

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

⁴Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

neseeray@yyu.edu.tr

Özet

Centaurea cinsi Türkiye'de 112 endemik taksona, %60 endemizm oranına sahiptir. Türkiye' de endemik olup soyu tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olan türler 1994 yılında Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'nda yayınlanmıştır. *Centaurea fenzlii* bu kitapta az tehdit altında olan türler kategorisine alınmıştır. Bu çalışmada soyu tükenme tehlikesi altında olan *Centaurea fenzlii* endemik türünün doku kültüründe mikroüretim olanakları araştırılmıştır. MS (Murashige and Skoog), B5 (Gamborg's), WH (White) ortamlarına 2 mg/L NAA (NaftelenAsetikAsit) ve 1mg/ L BA (Benzil Adenin), 1 mg/L 2,4-D (2,4- Diklorofenoksiasetik Asit) ve 1mg/ L BA , 2 mg/L 2,4-D ve 1mg/ L NAA hormon kombinasyonları uygulanmış, bir aylık aseptik fidelerden yaprak, gövde, kök eksplantları alınmıştır. Bu eksplantların bir kısmı karanlıkta bir kısmı 16 saat ışık 8 saat karanlık fotoperiyodunda 25°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Sonuç olarak, üzerinde sürgün gelişen, beyazımsı sarı renkli, gevrek olmayan büyük kalluslar karanlık ortamda MS ortamının 2 mg/L NAA ve 1 mg/L BA ile kombine edilmiş kültüründe, yaprak eksplantlarından gelişmiştir. Üzerinde sürgün gelişmeyen, koyu sarı renkli, büyük kalluslar ise en iyi karanlıkta B5 ortamının 2 mg/ L 2,4-D ve 1 mg/L NAA ile oluşturulmuş kültüründe, yaprak eksplantlarından meydana gelmiştir. Tüm uygulamalar içerisinde en fazla sürgün sayısı MS 2 mg/L NAA 1mg/L BA ortamında, karanlık koşullarda, kallus üzerinde eksplant başına 5 sürgün oranıyla elde edilmiştir. WH ortamı tüm hormon konsantrasyonlarda kallus ve sürgün oluşturma açısından verimsiz olmuştur. Yaprak eksplantları gövde ve kök eksplantlarına göre hem kallus hem de sürgün vermede daha başarılı olmuştur. Karanlıkta ve aydınlıkta kalluslar üzerinde gelişen sürgünler hormonsuz MS ortamına alınmış ancak bu hormonsuz ortamda köklenme gerçekleşmemiştir.

Anahtar Kelimeler: *Centaurea*, Doku Kültürü, Endemik

Micropropagation of An Endemic Species for Turkey *Centaurea fenzlii* Reichardt. in Plant Tissue Culture

Abstract

The genus *Centaurea* has 112 endemic taxa and a 60% rate of endemism in Turkey. Turkey's endemic species facing the danger of extinction was published in Red data book of Turkish plants in 1994. *Centaurea fenzlii* was taken into the category of endangered species in this book. In this study, micropropagation facilities in tissue culture of *Centaurea fenzlii* which facing the danger of extinction was investigated. Murashige and Skoog medium, White medium, Gamborg's medium supplemented with 2 mg/L NAA and 1mg/ L BA, 1 mg/L 2,4-D and 1mg/ L BA , 2 mg/L 2,4-D and 1mg/ L NAA hormone combinations were prepared. Leaf, shoot, root explants were taken from one month aseptik seedlings. The cultures were maintained at 25°C and subjected to 16 hour light/ 8 hour dark cycle. Some cultures were maintained at 25°C in darkness to compare If light is an important condition for callus formation or not. As a result, the shoots growing, whitish yellow color, runny and not larger calluses developed from leaf explants on MS medium combine with 2 mg/L NAA and 1 mg/L BA in darkness. Dark yellow, big calluses without shoot were formed from leaf exsplants on Gamborg's medium containig 2 mg/ L 2,4-D and 1 mg/L NAA in darkness. Maximum number of shoots in all applications obtained on MS medium combine with 2 mg/L NAA and 1mg/L BA in darkness and average number of shoots for per explant was 5 . WH environment was inefficient in terms of creating callus and shoots in all hormone concentrations. Leaf explants according to stem and root explants were more successful in making both shoot and callus production. The growing shoots on calluses both darkness and light conditions were taken to hormone free MS medium for rooting but root formation didn't happen.

Keywords: *Centaurea*, Endemic, Tissue Culture

NDM-1 Varyantı Üzerinden Oluşturulan Alanin Mutasyonlarının Homoloji Modellemesi

¹Ömer Karpuz¹, Azer Özad Düzgün¹, Ayşegül Saral², Ayşegül Çopur Çiçek³, Cemal Sandallı⁴

¹Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

²Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Artvin

³Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Rize

⁴Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Rize

omerkarpuz@gmail.com

Özet

NDM-1, son zamanlarda keşfedilmiş yeni bir metallo-β-laktamaz enzimdir. Bu enzim, aztreonam hariç bütün β-laktam antibiyotiklere karşı bakterilere direnç kazandırmaktadır. Dünyanın birçok yerinde görülmeye başlanması ve her geçen gün yeni varyantlarının ortaya çıkması endişelere yol açmaktadır ve geniş spektrumlu bu antibiyotiklere karşı inhibitörlerin bulunması ihtiyacını doğurmuştur. NDM-1'in şu ana kadar 16 varyantı bulunmaktadır ve bu varyantlar bir veya birkaç amino asit ile birbirlerinden farklılık gösterirler. Hâlihazırdaki projemizde, PZR metoduyla *bla*_{NDM-1} geni tanımlanmış ve *bla*_{NDM-1} geni TOPO-100 ekspresyon vektörüne klonlanmıştır. NDM-1 üreticisi rekombinant ekspresyon vektörü TOPO-100/*bla*_{NDM-1} kalıp DNA olarak kullanılarak NDM-2 (P28), NDM-3 (D95), NDM-4 (M154), NDM-5 (V88), NDM-7 (D130) ve NDM-9 (E152) varyantlarının oluşmasına neden olan pozisyonlardaki amino asitler için alanin mutasyonları oluşturulmuştur. Alanin mutasyon varyantlarının enzimin üç boyutlu yapısında ve buna bağlı aktivitelerindeki değişimler belirlenmiştir. Bu araştırmalarla birlikte, NDM-1 için homoloji modellemesi ve doklama çalışmaları ve özellikle varyantlar arası değişimler göz önüne alınarak potansiyel inhibitörler bulmak amacıyla yapılmıştır. Modeller 9.14 ve SWISS-MODEL ile üçüncül yapılar incelenmiştir. Pyrx üzerinden Autodock Vina ve DOCK ile doklama analizleri yapılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Doklama, Homoloji Modelleme, NDM-1

Homology Modeling of Alanine Mutations Produced through NDM-1 Variant

Abstract

NDM-1(New Delhi metallo-β-lactamase 1), is a new metallo beta lactamase enzyme that recently found in bacteria. The peculiarity of this enzyme is that it induces resistance to all of the β-lactam antibiotics other than aztreonam. Increasing presence of this enzyme all around the world and its upcoming new variants in recent years causes worries and shows the urgent need of searching for inhibitors to save the broad spectrum of antibiotics. NDM-1 has 16 different variant till now and the differences are only one or a few amino acids in its sequence. In our ongoing project, *bla*_{NDM-1} gene defined by PCR method and it was cloned into the TOPO 100 expression vectors. Using TOPO-100/*bla*_{NDM-1}, which is a recombinant expression vector and NDM-1 producer, as DNA pattern, alanine mutations were created at the positions that causes differentiation in variants of NDM-2 (P28), NDM-3 (D95), NDM-4 (M154), NDM-5 (V88), NDM-7 (D130) and NDM-9 (E152). Later on determination of the changes in 3D structure of the enzyme and its activities of the mutant variants related to these structural changes were completed. Along with these studies, homology modeling and virtual screening through docking studies of the NDM-1 with a focus on the differentiated regions within the variants has been studied to uncover the potential inhibitors. Modeller9.14 and SWISS-MODEL were used to obtain the tertiary structure. Autodock Vina through Pyrx and DOCK were employed for docking analysis.

Keywords: Docking, Homology Modeling, NDM-1

Web Tabanlı ve Masaüstü Biyoinformatik Araçlar ile Yapılan Tek Nükleotit Farklılık Analizlerinin Manuel Yöntemler ile Karşılaştırılması

Osman Mutluhan Uğurel¹, Ebru Çayır¹, Dilek Turgut-Balık¹

¹Biyomühendislik Bölümü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul- Türkiye

osmanugurel@gmail.com

Özet

Moleküler biyolojinin ilerleyen bilgisayar teknolojisiyle olan multi-disipliner işbirliği biyoteknolojide büyük gelişmelere ortam sağlamıştır. Bu gelişmelerden biri de nükleik asit dizilerinin analizinin yapılması için gerekli biyoinformatik araçların geliştirilmesidir. Yüksek maliyetli laboratuvar çalışmalarından önce farklı platformda geliştirilen bu yazılımlar ile *in silico* çalışmaların yapılması, sağlık, çevre, tarım, ve gıda güvenliği başta olmak üzere birçok çalışmaya ışık tutacaktır. *Mycoplasma gallisepticum* (MG) ve *Mycoplasma synoviae* (MS) kanatlı endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara sebep olan, klinik olarak da oldukça önemli iki patojendir. MG ve MS'ye ait farklı gen bölgeleri ile açık erişimli veritabanlarından (EMBL, DDBJ, NCBI) indirilerek, web tabanlı ve masaüstü araçlar kullanılarak analiz edilmiş ve tek nükleotid düzeyinde farklılıklar bulunmuştur. Bu sonuçlar manuel yöntemler ile yapılan değerlendirmeler ile karşılaştırılarak yapılan çalışmanın doğruluğu gözden geçirilmiştir. Bu çalışma sonucunda *in silico* olarak tespit edilen, tek nokta farklılıkları potansiyel biyobelirteç olarak, gelecekte bu patojenlerin tanısı için *in vitro* çalışmaların önünü açacaktır.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik araçlar, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, tek nükleotit farklılıkları, biyobelirteç

Comparison of Web and Desktop Bioinformatic Tools with Manual Methods for Single Nucleotide Difference Analysis

Abstract

Multi-disciplinary cooperation of molecular biology and advanced computer technology has led to major development in biotechnology. One of these improvements is developing bioinformatic tools which are necessary to perform analysis of nucleic acid sequences. Before high-cost laboratory studies, making *in silico* studies with softwares developed in different platforms will shed light in many studies particularly health, environment, agriculture, and food safety. *Mycoplasma gallisepticum* (MG) and *Mycoplasma synoviae* (MS) are clinically quite important pathogens causing huge economic losses in the poultry industry. Different gene regions of MG and MS has been downloaded from open access databases (EMBL, DDBJ, NCBI) and analyzed using web and desktop tools. The single nucleotide differences have been found. These results were compared with the assessments made by manual methods for confirmation of the study. As a result of this study, the use of *in silico* determined single nucleotide differences could be potentially used as biomarkers and would lead to future *in vitro* studies for the diagnosis of these pathogens.

Key words: Bioinformatic tools, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, single nucleotide difference, biomarker

***Escherichia coli*'de envZ ve ompR Genlerinin Farklı Metal Stresinde Rollerinin Araştırılması**

Özge KAYGUSUZ¹, Gülçin ÇETİN¹, Cihan DARCAN¹

¹ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik

ozgekaygusuz@gmail.com

Özet

Mikroorganizmalar çevrede bir çok stres faktörüne maruz kalmaktadır. Bu stres faktörlerinden biri de ağır metal stresidir. Bir mikroorganizma ağır metal stresine adapte olabilmek ve dayanıklılık sağlamak için bazı proteinlerin sentezini artırma veya azaltma yoluna gidebilmektedir. Bakteriler dış çevresel uyarılara adaptasyon için iki bileşikli sistem olarak ifade edilen bir sinyal iletim yolunu kullanırlar. Yapılan çalışmalarda *E. coli*'de bulunan iki bileşikli sistemlerin birçoğu karakterize edilmiş ve temel olarak çeşitli stres faktörlerine cevaptan sorumlu oldukları belirlenmiştir. Bu iki bileşikli sistemlerden birisi olan EnvZ/OmpR de EnvZ sensör, OmpR ise EnvZ'nin fosforladığı bir regülatördür. Sensör olan EnvZ, çevresel değişiklikleri algılar ve sinyali cevap regülatörü olan OmpR'ye iletir. Bu çalışmada EnvZ/OmpR iki bileşikli sisteminin Cd, Cu, Zn, Mn, Ni ve Co metal stresindeki rolleri araştırılmıştır. Çalışmada P1 transdüksiyon metoduna göre *E. coli*'nin W3110 suşunda *envZ* ve *ompR* genleri mutant hale getirilmiştir. Yabani tip *E. coli* ve mutant mikroorganizmalarda Cu, Co, Zn, Ni, Cd, Mn metallerinin MİK değerleri belirlenmiş ve bu MİK değerleri ile büyüme grafikleri, petri damlatma deneyleri ile metal stresi altında genlerin rolleri araştırılmıştır.

Sonuç olarak; yabani tip *E. coli* ile karşılaştırıldığında *envZ* ve *ompR* genlerinin mutant olduğu suşların Co, Cu, Cd ve Ni metallerine karşı duyarlı olduğu, Mn metaline karşı dirençli olduğu ve Zn metaline karşı genin herhangi bir rolünün olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, Metal stresi, İki bileşikli sistem

Investigation of The Roles of The *envZ* and *ompR* Genes of *Escherichia coli* in Different Metal Stresses

Abstract

Microorganisms are exposed to various stress factors in their environment. One of these stress conditions is metal exposure. Microorganisms can increase the synthesis of some proteins in order to adapt to a heavy metal stress and ensure the durability. Heavy metal resistant microorganisms try to maintain their viability and avoid the impacts of heavy metals by using one or more of the resistance systems. Bacteria use two signal transduction component systems in order to adapt to environmental conditions. In studies, many of the two-component systems of *E.coli* have been characterized and it has been determined that mainly these systems were shown to be responsible for the responses against various stress factors. In these systems, EnvZ is a sensor, OmpR is the regulator phosphorylated by EnvZ. EnvZ senses the environmental changes and it transfers these signals to the regulator OmpR. In this study, we aimed to examine the effects of EnvZ/OmpR component system on Cd, Cu, Zn, Mn, Ni and Co stresses. We mutated the *envZ* and *ompR* genes in W3110 strain of the *E.coli* by using the P1 transduction method. We exposed the mutant microorganisms with Cd, Cu, Zn, Mn, Ni and Co metals and we determined the MIC results. The growth graphics drawn and petri dropping tests made under metal stresses by using these MIC results.

Conclusively, Compared with wild-type *E.coli*, bacteria carrying *envZ* and *ompR* mutant genes were sensitive to Mn, Cd and Cu metals whereas they were resistant against Mn metal. Besides, we have found that the bacteria carrying these genes did not have any response against Zn metal.

Keywords: *E. coli*, Metal stress, Two-Component Systems

Üniversite Öğrencilerinin Moleküler Biyoloji Dersinde Kullandığı Bilişsel Öğrenme Stratejileri

Özlem Sadi¹

¹ Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Eğitim Bilimleri Bölümü, Karaman

oturksadi@hotmail.com

Özet

Özdüzenleyici öğrenme, öğrencilerin kendi bilişlerini düzene sokmak için kullandıkları stratejileri (çeşitli bilişsel ve üstbilişsel stratejilerin kullanımı) ve kendi öğrenmelerini kontrol etmek için kullandıkları kaynak yönetimi (zaman ve çalışma çevresi yönetimi) stratejilerini kapsamaktadır. Bu çalışmanın konusu olan bilişsel stratejiler tekrarlama, düzenleme, çıkarımda bulunma, özetleme, sonuç çıkarma, imgeleme, aktarma ve genişletme stratejilerinden oluşmaktadır. Bilişsel öğrenme stratejileri sınıftaki akademik performansla ilişkili önemli olarak tanımlanan tekrarlama, genişletme ve düzenleme stratejileridir. Dolayısıyla, örnek olay yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışmanın amacı başarı ortalamasının istenilen düzeyde olmayan Moleküler Biyoloji dersinde, üniversite öğrencilerinin bu derste tercih ettikleri bilişsel öğrenme stratejilerini belirlemektir. Çalışma, moleküler biyoloji dersini almakta olan 28 üniversite öğrencisiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmada veri toplamak amacıyla, Pintrich, Smith, Garcia ve McKeachie (1991) tarafından geliştirilen MSLQ (Öğrenmede Güdüsel Stratejiler Ölçeği) kullanılmıştır. MSLQ, Sungur (2004) tarafından Türkçeye uyarlanmıştır. MSLQ kullanılırken çalışmanın amacına uygun olarak sadece bilişsel öğrenme stratejilerini ölçen maddeler çalışmaya dahil edilmiştir. Verileri analiz etmek amacıyla, betimsel analiz yöntemleri kullanılmıştır. Bulgular, en fazla ortalamanın tekrarlama stratejisinde ve en az ortalamanın ise eleştirel düşünme stratejisinde olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Bilişsel stratejiler, Moleküler Biyoloji

University Students' Cognitive Learning Strategies in Molecular Biology Course

Abstract

Self-regulated learning is defined as the strategies that students use to regulate their cognition (use of various cognitive and metacognitive strategies) as well as the use of resource management strategies which students use to manage and control their environment and also their learning. Cognitive self-regulated learning strategies are one type of learning strategy that serves to support learners in becoming more successful (Wolters, 1998). Rehearsal, elaboration and organisational strategies are important cognitive strategies related to academic performance in the classroom and include recalling information, words or lists and understanding a piece of text or a lecture. Therefore, this study is based on case study method with a purpose of describing low achievement university students' cognitive learning strategies in molecular biology course. The study was conducted with 28 university students who taking Molecular Biology course. The Motivated Strategies for Learning Questionnaire (MSLQ), developed by Pintrich, Smith, Garcia and McKeachie (1991) was used to collect the data. The Turkish version of the Motivated Strategies for Learning Questionnaire was translated and adapted into Turkish by Sungur (2004). In accordance with the purpose of the study, only related subscales of learning strategies section (cognitive strategies) were used to assess students' learning strategies. Descriptive statistics was carried out to define the mean scores of rehearsal, elaboration, organization and critical thinking strategies. Results showed that students have the highest mean score in rehearsal and the lowest mean score in critical thinking strategies.

Keywords: Cognitive strategies, Molecular Biology

***Listeria monocytogenes*'in Klasik Yöntemlerle Belirlenmesi**

Pınar Şanlıbaba^{1*}, Başar Uymaz²

- 1 Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA
2 Yrd. Doç. Dr. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bayramiç Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Programı, ÇANAKKALE

* Pinar.Sanlibaba@ankara.edu.tr

Özet

Listeria monocytogenes çevreye geniş ölçüde yayılabilen, buzdolabı sıcaklığında gelişebilen, soğutma, dondurma, ısıtma ve kurutma işlemleri gibi olumsuz koşullar altında bile canlılığını koruyabilen halk sağlığı açısından önemli bir patojendir. Süt ürünleri, pastörize edilmemiş peynir, az pişmiş tavuk, soslu sandviç, şarküteri etleri ve sebzeler Listeriosis bakımından aracı gıdalardır. Gıdalarda *L. monocytogenes* 'in belirlenmesinde sıfır-tolerans politikası geçerlidir. Bu nedenle pek çok ülkenin gıda kanunları *L. monocytogenes* 'in 25 g gıdada hiç olmamasını öngörmektedir. Bazı Batı Avrupa ülkeleri ise, güvenli gıda için 0,01 g gıdada hiç *Listeria* olmamasını önerir. *L. monocytogenes*'in belirlenmesinde ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme ve selektif katı besiyerinden izolasyon olmak üzere temel olarak üç aşama bulunmaktadır. Son 30 yıldır *L. monocytogenes* 'in belirlenmesi amacıyla pek çok sayıda zenginleştirme ve izolasyon besiyeri geliştirilmiş ve bunların karşılaştırılmaları üzerine çok yoğun araştırmalar yapılmıştır. Günümüzde *L. monocytogenes* 'in belirlenmesi için geçerli olan referans metotlar ABD Gıda ve İlaç Kuruluşu (FDA), Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF), Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO) ve ABD Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından önerilmiştir. Bu metotlar, farklı selektif zenginleştirme sıvı besiyerleri ve farklı ön zenginleştirme işlemleri içermektedir. Her 4 yöntemin de son aşaması selektif katı besiyerlerinden izole edilen 5 tipik *Listeria* kolonisinin biyokimyasal, fizyolojik ve serolojik olarak *Listeria* bakımından doğrulanmasıdır. Bu testlerin yapılması için şüpheli koloniler önce Tryptone Soya Yeast Extract agar besiyerinde ara kültüre alınır. Daha sonra kültürler, gerekirse biyokimyasal ve/veya serolojik olarak doğrulanır.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, izolasyon, gıda

Classical Methods for Detection of *Listeria monocytogenes*

Abstract

Listeria monocytogenes which can be spread widely environment, can grow at refrigerator temperature, has retained its vitality even under adverse conditions such as drying, chilling, freezing, heating is an important pathogen in terms of public health. Dairy products, unpasteurized cheese, undercooked chicken, hot dogs, deli meats and vegetables are foods that in term of Listeriosis. Zero-tolerance policy is valid for detection of *L. monocytogenes* in foods. Therefore, many countries food laws foresee total absence of *L. monocytogenes* in 25 g food. In some Western European countries, they are suggested that there is no *Listeria* in 0.01 g for safe food. There are basically three stages determining of *L. monocytogenes*, including the pre-enrichment, the selective enrichment and isolation of the selective solid media. Last 30 years, a number of enrichment and isolation medium was developed for determining of *L. monocytogenes* and very intensive research were made for comparing them. Today, the reference methods for determining of *L. monocytogenes* have been suggested by the US Food and Drug Administration (FDA), the International Dairy Federation (IDF), the International Standards Organization (ISO) and the US Department of Agriculture (USDA). These methods include different selective enrichment broth and different enrichment processes. All four of the last phase of the methods, 5 typical *Listeria* colonies isolated from the selective solid medium are confirmed in terms of biochemical, physiological and serologically. First, suspected colonies are cultured in Tryptone Soya Yeast Extract Agar for doing these tests. Then, the cultures are verified for biochemical and/or serological if necessary.

Key words: *Listeria monocytogenes*, Isolation, Food

Biyomühendislik Çalışmalarındaki Yeni Yaklaşım: Modifiye Bakteriyosin

Pınar Şanlıbaba^{1*}, Başar Uymaz²

1 Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA

2 Yrd. Doç. Dr. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bayramiç Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Programı, ÇANAKKALE

* Pinar.Sanlibaba@ankara.edu.tr

Özet

Bakteriyosinler, bakteriler tarafından üretilen protein tabiatında antimikrobiyal bileşikler olup özellikle gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni bakterilere karşı bakterisidal veya bakteriyostatik etki göstermektedirler. İlk bakteriyosin Gratia tarafından 1925 yılında bulunmuştur ve bakteriyosin terimi ilk olarak *Escherichia coli* tarafından üretilen colicin'i tanımlamak amacıyla 1953 yılında kullanılmıştır. Gıdaların korunmasında bakteriyosinlerin kullanımını kısıtlayan temel sorun bu bileşiklerin üretici suşlar tarafından düşük verimde üretiliyor olmasıdır. Bakteriyosin üretimi, aktivitesi ve stabilitesini etkileyen faktörler sırasıyla; besiyerinin bileşimi, üretici bakterinin gelişme fazı, besiyeri başlangıç pH'sı, fermentasyon şekli, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, ısıl işlem, proteolitik enzimler ve depolama koşullarıdır. Bakteriyosinlerin gıda sistemlerinde antimikrobiyel ajan olarak kullanılabilmesi için; güvenilirlik, kalite ve sağlık olmak üzere 3 önemli kriterin göz önünde bulundurulması gerekir. Biyomühendislik çalışmaları, bakteriyosin çözünürlüğünü ve kararlılığını geliştirmek, antimikrobiyel aktivitesini ve spektrumunu artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bakteriyosinlerin ribozomal doğası ve genetik organizasyonu, bakteriyosinlerin genetik modifikasyonlarını kolaylaştırmaktadır. Mutant ve hibrit oluşumu ile sonuçlanan farklı yaklaşımlar, özellikle patojen bakterilere karşı uyarlanmış yeni bakteriyosinlerin keşfine izin verebilmektedir. Son yıllarda biyomühendislik çalışmalarının odağını nisin oluşturmaktadır. Yasal olarak gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilen ilk bakteriyosin olan nisin, günümüzde 50'den fazla ülkede süt ve süt ürünleri, konserve ürünler ve hazır çorba gibi gıdaların korunmasında kullanılmaktadır. Genetiği modifiye edilmiş bakteriyosinler gelecekte gıdaların güvenliği ve kalitesini artırmak adına umut vaat etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyosin, biyomühendislik, genetik modifikasyon

New Approaches in Bioengineering Study: Modified Bacteriocin

Abstract

Bacteriocins named antimicrobial compounds of the natural protein structure produced by bacteria exhibit bactericidal and bacteriostatic effect against foodborne pathogens and spoilage bacteria especially. First bacteriocin was found in 1925 by Gratia and term of the bacteriocin was used in 1953 firstly for identifying colicin produced by *Escherichia coli*. The main problem that restricts the use of bacteriocins in protecting the food is that these compounds are produced in low yield by the manufacturer strains. Influencing factors of production, activity and stability of the bacteriocin are respectively; composition of medium, growth phase of the producer bacteria, initial pH of medium, fermentation mode, incubation temperature and time, heat treatment, proteolytic enzymes and storage conditions. The three key criterias including reliability, quality and health should be taken into consideration to be used of bacteriocins as antimicrobial agents in food systems. Bioengineering work is used to improve solubility and stability of the bacteriocin, increase the antimicrobial activity and spectrum. Ribosomal nature and genetic organization of bacteriocins facilitates genetic modifications of bacteriocins. Different approach resulting in the mutant and hybrid formation is to allow discovery of new bacteriocins adapted in particular against pathogenic bacteria. In recent years, nisin constitutes focus of the study bioengineering. The first bacteriocin nisin legally allowed to be used as a food additive is used in the preservation of foods such as milk and dairy products, canned goods and ready-made soups by more than 50 countries today. Genetically modified bacteriocins are promising future to improve safety and quality of food.

Key words: Bacteriocin, Bioengineering, Genetic modification

***Spirulina platensis* mikroalginin fikosiyanin özütlenmesinden arta kalan biyokütlesinin üzerinde azo boya moleküllerinin biyosorpsiyonunun denge ve kinetik çalışmaları**

R.Aysun Kepekçi¹, Fatih Deniz²

¹ Gaziantep Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gaziantep

² Sinp Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Sinop

raysunkepekci@gmail.com

Özet

Bu çalışmada, fikosiyanin özütlenmiş *Spirulina platensis* 'in kalan biyokütlesinin model azo boya olan C.I. Basic Red 46'yı ortadan kaldırma kapasitesi ve mekanizması incelenmiştir. Biyosorpsiyon verileri Freundlich, Langmuir ve Dubinin-Radushkevich isotherm modelleri ile araştırılmıştır. Langmuir modelinin biyosorpsiyon dengesinin verilerini temsil etmek için daha uygun olduğu bulunmuştur. Fikosiyanin özütlenmiş biyokütlenin boyayı ortadan kaldırma potansiyeli herhangi bir muamele görmemiş olan *Spirulina platensis* 'inkine (25.46 mg g^{-1}) çok yakındır. Biyosorbent için boya biyosorpsiyon kapasitesi 23.06 mg g^{-1} olarak bulunmuştur. Dubinin-Radushkevich modeli, boyanın muhtemelen fiziksel biyosorpsiyon yoluyla ortadan kaldırıldığını göstermiştir. Yalancı birinci dereceden, yalancı ikinci dereceden, lojistik ve partiküller arası difüzyon modelleri biyosorpsiyon kinetiğinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Lojistik model deneysel kinetik verilere en iyi uyumu göstermiştir. Partiküller arası difüzyon modeli bu biyosorpsiyon sürecinin birden fazla mekanizmayı içeren karmaşık bir süreç olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, sonuçlar fikosiyanin özütlenmesinden kalan bu atık mikroalg biyokütlesinin boyanın ortadan kaldırılması için düşük maliyetli bir biyosorbent olarak kullanılabileceğini önermektedir.

Anahtar kelimeler: Azo boya; Biyosorpsiyon; Fikosiyanin özütlenmesi; *Spirulina platensis*

Equilibrium and kinetic studies of azo dye molecules biosorption on phycocyanin-extracted residual biomass of microalga *Spirulina platensis*

Abstract

The capability and mechanism of a model azo dye, C.I. Basic Red 46 removal by phycocyanin-extracted residual biomass of *Spirulina platensis* were investigated in this study. The biosorption data were analyzed using Freundlich, Langmuir and Dubinin-Radushkevich isotherm models. Langmuir model was found to be more adequate to represent the data of biosorption equilibrium. The dye biosorption capacity was obtained as 23.06 mg g^{-1} for the biosorbent. The dye removal potential of phycocyanin-extracted biomass was very close to that of the virgin *Spirulina platensis* (25.46 mg g^{-1}). Dubinin-Radushkevich model displayed that the dye was probably to be removed mainly via physical biosorption. The pseudo-first-order, pseudo-second-order, logistic and intra-particle diffusion models were used for the evaluation of biosorption kinetics. The logistic model presented the best fit to the experimental kinetic data. The intra-particle diffusion model showed that this biosorption process was a complex process involving more than one mechanism. Thus, the results suggest that this waste microalga biomass can be used as a low-cost biosorbent for dye removal.

Keywords: Azo dye; Biosorption; Phycocyanin extraction; *Spirulina platensis*

Geo7₁ Endoksilanazın Kağıt Hamuru Ağartılmasında Kullanımının Araştırılması

Sabriye Çanakçı¹, Gözde Göçmen¹, İlhan Deniz², Hüseyin Kırıcı², Ali Osman Beldüz

¹ Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Trabzon

² Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Trabzon

sabriye@ktu.edu.tr

Özet

Mikroorganizmalardan elde edilen enzimlerin, endüstriyel sanayide kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Endüstriyel açıdan önemli olan enzimlerden biri olan ksilanaz enzimi büyük öneme sahiptir. Yapılan çalışmaların sonucunda kağıt hamurunun ağartılmasında öncelikle ksilanaz ile muamele yapılması durumunda istenilen parlaklığın elde edilmesi için kullanılacak olan kimyasal miktarının oldukça düştüğü ortaya çıkarılmıştır. Bu amaçla çalışmamızda Kızılçam ve Okaliptus kraft kağıt hamurları kullanılarak ilk basamağı Geo7₁ endoksilanaz enzim delignifikasyonu olan "XOQP" ağartma dizini yapıldı. Enzim delignifikasyonunda Kızılçam kraft hamuru için optimum muamele şartları, %10 hamur konsantrasyonu, 30U/g Geo7₁ endoksilanaz enzimi, pH 7,0 ve 70°C'de 2 saat olarak belirlenirken, Okaliptus Kraft hamuru için %5 hamur konsantrasyonu, 30U/g Geo7₁ endoksilanaz enzimi, pH 7,0 ve 70°C'de 2 saat olarak belirlendi. Her bir enzim muamelesi kontrol grubu için enzim ilavesiz aynı şartlar altında gerçekleştirildi. Okaliptus ve Kızılçam kağıt hamurları ile yapılan Geo7₁ endoksilanaz optimizasyonu sonucunda sırasıyla; 5,54 birim ve 4,81 birim kappa numarasında düşüş belirlendi. Ağartma dizini sonucunda Kızılçam kraft hamurunda %73,51'lük delignifikasyon oranı ile kappa numarası 49,27'dan 13,05'e, Okaliptus kraft hamurunda %66,27'lik delignifikasyon oranı ile kappa numarası 19,42'den 6,55'e düşürülmüştür. Bunun sonucunda ağartma dizini uygulanmış hamurlardan deneme kağıtları üretilerek fiziksel ve optik direnç analizleri yapıldı. Kontrol ve enzim grupları karşılaştırıldığında Geo7₁ endoksilanaz enzimi uygulanmış kağıt hamurlarında parlaklıkların artış ve fiziksel özelliklerinde direnç artışı olmuştur. Sonuçlarımız kağıt ve kağıt hamuru sanayisinde yerli kaynaktan üretilen ksilanaz enzimi kullanımı ile dışa bağımlılığı azaltabileceğini ve çevreye zararlı kimyasalların kullanımını azaltacağını, maliyeti düşüreceğini ve kaliteli kağıt üretilebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzim Ağartması, Tcf Ağartma, Ksilanaz,

Investigation Of a Geo7₁ Xylanase For Bleaching Of Paper Pulp

Abstract

Utilization of enzymes from microorganisms is increasing day by day in industry. Xylanase enzyme that is one of the enzymes in industrial areas has great importance in industry. As a result of studies have revealed that, The amount of chemical usage decreases for obtained of desired brightness in case of the pulp treatments with xylanase enzyme before the bleaching sequence of pulp. For this reason, "XOQP" bleaching sequence which the first step is Geo7₁ endoxylanase delignification was performed in our studies. Pine and eucalyptus kraft pulp were used in the experiments. Optimization conditions of pine pulp was determined as a 10% consistency, 30UI/g Geo7₁ endoxylanase, pH 7,0, 70°C, 2 hour. Optimization conditions of eucalyptus pulp was determined as a 5% consistency, 30UI/g Geo7₁ endoxylanase, pH 7,0, 70°C, 2 hour. Control samples were subjected to the same treatment conditions without enzyme addition. Geo7₁ endoxylanase treatment as the first stage reduced the kappa number of pine and eucalyptus by 4,81 and 5,54 units. Thus the final XOQP bleached pulp showed a kappa number of 13,05 (reduction of 73,51%) for pine pulp and kappa number of 6,55 (reduction of 66,27%) for eucalyptus pulp. Using the Geo7₁ endoxylanase treatment, the ISO brightness of pulp and pulp properties was increased when compared to non-enzymatic treated bleached pulp prepared using identical conditions. Our results indicate that, usage of the xylanase enzyme produced from domestic source can reduce external-source dependency, the use of harmful chemicals into the environment, also can reduce cost and can produced quality paper.

Keywords: Enzyme Treatment, TCF Bleaching, Xylanase

***Geobacillus thermodenitrificans* AK53 Ksilanaz Geninin Klonlanması, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu**

Muhammad Irfan¹, Halil İbrahim Güler², Ali Osman Beldüz³, Aamer Ali Shah¹, Sabriye Çanakçı³

¹Quaid I Azam Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Fakültesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Islamabad, Pakistan

²Artvin Çoruh Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 08000 Artvin, Türkiye

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080 Trabzon, Türkiye

belduz@ktu.edu.tr

Özet

Bu çalışmada ksilanaz enzimini kodlayan *Geobacillus thermodenitrificans* AK53 xyl geni, izole edildi, klonlandı ve *E.coli* BL21 suşunda ekspres edildi. İyon-Değişim kromatografisi ile 7.3 kat yoğunlaştırılan ve saflaştırılan GthAK53Xyl enziminin biyokimyasal özellikleri belirlendi. Kinetik çalışmalar sonucunda, enzimin D-Ksiloz için K_M değeri 4.34 mgmL^{-1} , V_{max} değeri ise $2028.94 \mu\text{molmg}^{-1}\text{min}^{-1}$ olarak bulundu. Optimum sıcaklık 70°C ve optimum pH 5.0 olarak belirlenen Ksilanaz enziminin geniş pH aralığında aktivitesini kaybetmediği görüldü. Ekspres edilen proteinin amino asit dizilimi Genbank'ta karşılaştırıldı ve en yüksek benzerliği *Geobacillus thermodenitrificans* JK1 (JN209933) ve *Geobacillus thermodenitrificans* T-2 (EU599644) suşları ile gösterdi. Zn^{2+} , Mg^{2+} and Mn^{2+} iyonlarının enzimin aktivitesi için gerekli olduğu belirlenirken; Co^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} ve Cu^{2+} iyonlarının enzim üzerinde inhibitör etkiye neden olduğu bulundu. Enzimin selülitik aktivite göstermediği ve hücre içinde ksilanazı parçalamadığı belirlendi. Enzimin buğdaydan elde edilen ksilan üzerine etkisi sonucu ksilobioz ve ksilopentoz oluştuğu gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, enzimin endüstriyel skalada verimli ksiluloz üretimi için gerekli olan kinetik ve stabilite parametrelerine sahip, metal dirençli bir enzim olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Geobacillus thermodinitrificans*, karakterizasyon, ksilanaz, rekombinant ksilanaz

Teşekkür: Bu çalışma TUBİTAK Bilimsel Araştırma Merkezi ve Pakistan Yüksek Eğitim Kurulu tarafından desteklenmiştir.

Cloning, Purification and Characterization of a Cellulase free Xylanase from *Geobacillus thermodenitrificans* AK53

Abstract

In the following study, *Geobacillus thermodenitrificans* AK53 xyl gene encoding xylanase was isolated, cloned and expressed in *Escherichia coli*. Its biochemical properties were determined after purifying GthAK53Xyl to 7.3-fold homogeneity by Ion exchange column chromatography. The kinetic studies showed enzyme's K_m value for D-xylose to be 4.34 mgml^{-1} and V_{max} value to be $2028.94 \mu\text{molmg}^{-1}\text{min}^{-1}$. The optimum operating temperature of enzyme was found out to be 70°C and optimum operating pH was found to be 5.0 but it remains active over a broad range of pH. The expressed protein showed highest sequence similarity with the xylanase of *Geobacillus thermodenitrificans* JK1 (JN209933) and *Geobacillus thermodenitrificans* T-2 (EU599644). Divalent cations (Zn^{2+} , Mg^{2+} and Mn^{2+}) were found to be required for its activity however Co^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{2+} and Cu^{2+} bivalent metal ions showed inhibitor effect on the enzyme. Enzyme has no cellulolytic activity and degraded xylan in an endo fashion. The action of the enzyme on xylan from oat spelt produced xylobiose and xylopentose. The reported results are suggestive of a xylanase exhibiting desirable kinetics, stability parameters and metal resistance required for the efficient production of xylulose at industrial scale.

Keywords: Xylanase, *Geobacillus thermodinitrificans*, characterization, thermostable, GthAK53Xyl (recombinant xylanase)

Acknowledgement: This study was financially supported by TUBITAK Scientific and Research Council of Turkey and Higher Education Commission of Pakistan.

İnsan Eritrositlerinde Hidrojen Peroksitle Meydana Getirilen Hemolize Karşı Lamiaceae Familyasından Bazı Bitkilerin Aseton Ekstraktlarının İyileştirici Etkisi

Seda Balkan¹ and Bilal Balkan²

¹Kırklareli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kırklareli

² Kırklareli Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Kırklareli

balkan.seda@hotmail.com

Özet

İnsan eritrositlerinde *in vitro* olarak hidrojen peroksitle (H₂O₂) meydana getirilen hemolize karşı Lamiaceae familyasına ait *Ajuga laxmannii* (Murray) Benth., *Lamium maculatum* L.var., *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*, *Sideritis montana* L. subsp. *montana* and *Teucrium chamaedrys* L.subsp. *chamaedrys*'in aseton ekstraktlarının iyileştirici etkisi araştırılmıştır. 20-25 yaşları arasında, sağlıklı beş vericiden sodyum sitratlı tüplere kan örnekleri eritrosit süspansiyonu hazırlamak için alınmıştır. Eritrosit süspansiyonları 37°C'de 30 dakika bitki ekstraktları (2000-31.25 µg/ml) ile inkübe edildikten sonra eritrosit hasarına yol açmak için H₂O₂ (1.3 M) ile 3 saat muamele edilmiştir. Daha sonra *in vitro* hemoliz deneyi ölçümleri 540 nm'de spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Hemolizin değeri % inhibisyon olarak ifade edilmiştir. Maksimum hemoliz inhibisyon değerleri *T. chamaderys*'in 62.5 µg/ml, *A. laxmannii*'nin 31.25 µg/ml ve *L. maculatum*'un 125 µg/ml'deki ekstraktında sırası ile %84, % 83 ve % 82 oranlarında belirlenmiştir.

Anahtar kelime: Bitki ekstraktı, Eritrosit, Hemoliz, Hidrojen peroksit.

The Ameliorative Effect of Acetone Extracts from Some Species of the Lamiaceae Family against Hydrogen Peroxide Induced Hemolysis of Human Erythrocytes

Abstract

The ameliorative effects of acetone extracts from *Ajuga laxmannii* (Murray) Benth., *Lamium maculatum* L.var., *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*, *Sideritis montana* L. subsp. *montana* and *Teucrium chamaedrys* L.subsp. *chamaedrys* of the Lamiaceae family on hydrogen peroxide (H₂O₂) induced hemolysis of human erythrocytes were studied *in vitro*. Venous blood samples from five healthy donors, 20-25 year old, were collected in sodium citrate vials for the preparation of erythrocytes suspensions in phosphate buffer . Erythrocytes suspensions were treated for 3 h with H₂O₂ (1.3 M) to induce erythrocytes damage after they were subsequently incubated at 37°C for 30 min. with the acetone extracts of plants (2000-31.25 µg/ml). And then they were measured by *in vitro* hemolytic assay. The absorbance of hemoglobin released was read by spectrophotometer at 540 nm. The extent of hemolysis was expressed as % inhibition. The maximum inhibition was noted as % 84, %83 and % 82 at 62.5 µg/ml extract of *T. chamaderys*, 31.25 µg/ml extract of *A. laxmannii*, and 125 µg/ml extract of *L. maculatem*, respectively.

Key words: Erythrocytes, Hemolysis, Hydrogen peroxide, Plant extract.

Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Kronik Böbrek Yetmezlikli Hastalarda Genetik Hasarın Mikronükleus Testi İle Belirlenmesi

Sevcan Mamur^{1,2}, Deniz Yüzbaşıoğlu², Fatma Ünal², Kadriye Altok³, Serpil Müge Değer³

¹Biyoloji Bölümü, Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Polatlı, Ankara, Türkiye

²Genetik Toksikoloji Laboratuvarı, Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³Nefroloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye

smamur@gazi.edu.tr

Özet

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalığı, böbrek fonksiyonlarında şiddetli ve geri dönüşümsüz bir azalma ile karakterize olan nefrolojik bir sendromdur. Günümüzde kronik böbrek yetmezliği hastası sayısı kayda değer bir şekilde artmaktadır. KBY'nın olası bir sonucu kanser riskinde artış olup bu risk genomik hasarın artışıyla ilişkilendirilmektedir. Diyabet, kronik böbrek yetmezliğine yol açan en önemli nedendir. Yapılan taramalara göre, diyabeti olan KBY'li hastalarda genetik hasarı inceleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, hemodiyalize giren 26 diyabetik ve 32 diyabetik olmayan KBY'li hastadaki olası genetik hasar mikronükleus (MN) testiyle araştırılmıştır. Sonuçlara göre, hemodiyalize giren diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastalar arasında MN frekansı bakımından anlamlı fark yoktur. Buna karşın, nükleer bölünme indeksi (NBİ) diyabetik KBY'li hastalarda diyabetik olmayan hastalara göre anlamlı oranda azalmıştır ($p=0,047$). Elde edilen sonuçlar, hemodiyalize giren KBY'li hastalarda diyabetin mikronükleus frekansını etkilemediğini, fakat hücre proliferasyon belirteci olan nükleer bölünme indeksini azalttığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, kronik böbrek yetmezliği, mikronükleus testi (MN), nükleer bölünme indeksi (NBİ).

Evaluation of Genetic Damage In Chronic Kidney Failure Patients With Diabetes and Without By Micronucleus Test

Abstract

Chronic kidney failure (CKF) disease is a nephrological syndrome characterised by severe and irreversible reduction in kidney function. Today, the number of patients with CKF is rising remarkably. The possible consequence of CKF is an elevated risk in cancer and this risk is related to an elevated level of genomic damage. Diabetes is the most important factor leading to CKF. To the best of our knowledge, there is not enough study on genomic damage in chronic kidney failure disease with diabetes. In this study, we evaluated the possible genomic damage in 26 diabetic and 32 non-diabetic CKF patients on going haemodialysis by using micronucleus (MN) test. The results showed that there was no significant difference in the frequency of MN in CKF patients with and without diabetes ongoing haemodialysis. On the other hand, nuclear division index (NDI) significantly decreased in diabetic CKF patients versus non-diabetic CKF patients ($p=0,047$). These results suggest that diabetes did not affect the frequency of MN in hemodialysis patients with CKF, but it decreased nuclear division index which is the cell proliferation indicator.

Keywords: Chronic kidney failure, haemodialysis, micronucleus test (MN), nuclear division index (NDI).

***In Vitro* Ortamdan Çevresel DNA Analizi ile Bakteri Teşhisi**

Sevgi Kaynar¹, Hijran Yavuzcan², Hasan Hüseyin Atar¹, Emre Keskin¹

¹Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü Evrimsel Genetik Laboratuvarı
Dışkapı/ANKARA

²Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Dışkapı, ANKARA

sevgiikaynar@hotmail.com

Özet

Çevresel DNA tekniği, sucul ortamlarda yaşayan canlı türlerinin su ortamına bıraktığı epidermis hücreleri, türe veya dışkı örneklerinden elde edilen DNA parçalarının kullanılmasını temel almaktadır. Alınacak olan su örneklerinin çevresel DNA temelli analizi, canlılara ihtiyaç duymadan tür bazında tespiti olanaklı kılmaktadır. Sucul ortamların sahip olduğu farklı fiziksel ve kimyasal altyapıyla artan biyoçeşitlilik, bakteri türlerinin farklı fizyolojik özellikler göstermesine sebep olmaktadır. Bu bulgularla birlikte moleküler tekniklerin gelişmesiyle, kültürü yapılamayan bakteri türleri keşfedilmiş ve özellikle pek çok deniz bakterisinin bu gruba ait olduğu belirtilmiştir. Bu canlı grupları diğer organizmalarla simbiyotik ilişki içinde olup geniş alanlara yayılmaktadır ve pek çok tür sucul ortamlarda yetiştirilen organizmalarda patojeniteye sebep olmaktadır. Bu bağlamda çevresel DNA'nın moleküler tekniklerle analizi, araştırma sonuçlarının doğruluk değerini yükseltmekle birlikte *in vitro* ortamda yetiştiriciliği yapılan canlıyı strese sokmadan bakteri suşlarının tür seviyesinde tanımlanmasını mümkün kılmaktadır. Bu çalışmada, *in vitro* yetiştiricilik ortamından alınan 50 ml su örnekleri peristaltik pompa kullanılarak 0,47 mm çapında 0,2 µm gözenekli selüloz nitrat filtreden geçirilmiştir. Çevresel DNA örneklerini barındıran membrandan, bakteriden DNA ekstraksiyon protokolü kullanılarak izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bakteri türlerine özgü DNA barkodlama bölgesi olan 16S rRNA geni, PCR işlemi ile evrensel 27F ve 1492R primer çifti kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR işlemi bittikten sonra örnekler saflaştırılmış ve dizi analizi yapılmıştır. Sonuçlar referans kütüphanesindekiler ile karşılaştırılmış, bakteriyel tür tespiti gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, çevresel DNA yöntemi ile *in vitro* yetiştiricilik ortamından alınan su örneklerinden, baskın bakteri türlerinin teşhisinin başarı ile yapılabildiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: 16S rRNA, Bakteriyel analiz, Çevresel DNA, DNA barkodlama,

Bacteria Identification with eDNA to *In Vitro* Media

Abstract

Environmental DNA (eDNA) technique is based on usage of DNA fragments obtained from aquatic medium by organisms' epidermal cells, urine and feces samples. eDNA based analysis species level analysis of water samples will be conducted without the need of organisms. The increasing biologic variance that is caused by physical and chemical infrastructure that aquatic environments have, especially causes occurrence of different physiologic properties of bacteria species. With these information and the advancement of molecular techniques, unculturable bacteria types are discovered and especially many marine bacteria are found to be members of this group. These bacteria have symbiotic relationship with other organisms while spreading wide areas and causes pathogenicity in many organisms that are cultured in aquatic environments. In this context, eDNA analysis with molecular techniques have improved the accuracy of research results and made it possible to identify bacteria strains at species level without causing any stress to host organism. In this study, water samples of 50 ml were taken from culture media and filtered by 0.47 mm diameter 0.2 µm pore sized cellulose nitrate filter using a peristaltic pump. The filter that contains eDNA samples are isolated by bacteria DNA extraction protocol. 16S rRNA gene which is the most commonly used DNA barcoding region of bacterial strains has been amplified using universal 27F and 1492R primer pairs with PCR. Results were compared with reference databases and bacterial strains were identified at species level. Obtained results shows that identification of dominant bacteria strains could be performed by eDNA method with water samples taken from *in vitro* culture medium.

Keywords: 16S rRNA, Bacterial analysis, DNA barcoding, eDNA

.S. cerevisiae’da Gcr1p’nin Fazla Sentezinin Üreme Hızı ve Endüstriyel Metabolitlerin Üretimine Etkilerinin Genetik ve Biyokimyasal Analizi

Sezai Türkel, Mevlüt Ulaş

Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa

sturkel@uludag.edu.tr

Özet

S. cerevisiae transkripsiyon faktörü Gcr1p çok fonksiyonlu bir transkripsiyon faktörü olup glikolitik enzim genleri, rRNA, ribozomal proteinler ve hücre döngüsü ile ilgili birçok olayı kontrol eder. *GCR1* geni delesyonunun standart maya suşu olan BY serisi maya suşunda letal etkili olduğu da bulunmuştur. Bu çalışmada Gcr1p’nin aktive edilebilen *CUP1* promotorundan fazla sentezinin *S. cerevisiae*’da üreme hızına, endüstriyel metabolitler olan trehaloz, gliserol ve etanol üretimine etkileri yabanıl tip standart *S. cerevisiae* suşu olan BY4741 suşu kullanılarak incelendi. Ayrıca trehaloz, gliserol ve etanol sentezi yolları için gerekli olan *TPS1*, *GPD1* ve *ADH1* geni delesyonlu suşlarda da Gcr1p fazla sentezinin metabolik etkileri biyokimyasal olarak incelendi. Gcr1p fazla sentezinin standart yabanıl tip mayada ve $\square gpd1$ mutant suşunda üreme hızında kısıtlı bir artışa neden olduğu bulundu. Gcr1p fazla sentezinin yabanıl tip suşta trehaloz miktarında 2-kat artışa yol açmasına rağmen $\square tps1$, $\square gpd1$ ve $\square adh1$ mutant suşlarında farklı şekilde etki ettiği belirlendi. Benzer şekilde, yabanıl tip maya suşunda Gcr1p fazla sentezinin ozmotik stres koşullarında gliserol biyosentezinde de artışa neden olduğu bulundu. $\square adh1$ mutant suşunun üreme hızının çok düşük olduğu ve Gcr1p fazla sentezinin bu mutant suşta üreme hızını etkilemediği görüldü. Buna ek olarak, $\square adh1$ mutant suşunda bazı *HXT* genleri transkripsiyonlarının yabanıl tip suşa göre yaklaşık 10-kat azaldığı bulundu. Elde edilen sonuçlar glikolitik yolun kontrolünde $NAD^+/NADH$ oranının belirleyici bir faktör olduğunu ve hücreye alınan glukozun $NAD^+/NADH$ dengesi sağlanmadığında trehaloz, glikojen veya gliserole metabolize edildiğini göstermektedir. Bu araştırma projesi TÜBİTAK (Proje no:113Z925) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Saccharomyces cerevisiae*, Glikoliz, trehaloz, etanol, üreme hızı

Genetic and Biochemical Analysis of the Effects of Gcr1p Over-production on the Growth Rate, and on the Production of Industrial Metabolites in *S. cerevisiae*

Abstract

Transcription factor Gcr1p is a multi-functional regulator that controls many cellular processes such as glycolytic genes, rRNA and ribosomal protein expressions, and cell cycle related events. Deletion of *GCR1* gene is lethal in BY series of yeast strain. In this research, the effects of Gcr1p over-production from inducible *CUP1* promoter on the growth rate, and on the biosynthesis of industrial metabolites trehalose, glycerol and ethanol was investigated in standart wild type yeast strain BY4741. In addition, the metabolic effects of Gcr1p over-production on trehalose, glycerol and ethanol biosynthesis in *TPS1*, *GPD1* and *ADH1* deletion strains were also investigated using biochemical methods. The over-production of Gcr1p resulted in increased growth rate in the wild type and $\square gpd1$ mutant strain in a limited range. Our results indicate that trehalose content in the wild type yeast increased 2-fold upon Gcr1p over-production. Unlike wild type yeast, trehalose content in $\square tps1$, $\square gpd1$ and $\square adh1$ mutant strains were affected at different levels by Gcr1p over-production. Likewise, Gcr1p over-production also resulted in increased gliserol biosynthesis in the wild type yeast strain under osmotic stress conditions. We have found that the growth rate of $\square adh1$ mutant is very slow and the Gcr1p over-production does not affect its growth rate. Furthermore, we have also showed that the transcription of certain *HXT* genes is 10-fold lower in $\square adh1$ mutant yeast strain than the wild type. Our results suggest that the $NAD^+/NADH$ ratio is the critical and major factor that controls glycolytic pathway. When $NAD^+/NADH$ ratio changed, glucose metabolized to trehalose, glycogen or glycerol in the yeast cell.

Bu araştırma projesi TÜBİTAK (Proje no:113Z925) tarafından desteklenmiştir.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, Glycolysis, Trehalose, Ethanol, Growth rate

***Theileria annulata* Enolaz Enziminin Uygun Stabilizatörler Kullanılarak Depolama Koşullarının Belirlenmesi**

Sinem Yakarsönmez¹, Özkan Danış², Özal Mutlu³, Başak Yüce Dursun², Murat Topuzoğulları¹, Ekrem Akbulut⁴, Emrah Sarıyer¹, Dilek Turgut-Balık¹

¹ Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, 34210, İstanbul

² Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 34722, İstanbul

³ Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 34722, İstanbul

sinem.ykrsnmz@gmail.com

Özet

Tropikal sığır theileriosis; *Theileria annulata*’nın meydana getirdiği ve Hyalomma cinsi keneler tarafından bulaştırılan bir parazitik hastalıktır. Bu hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan buparvaquon’a karşı *Theileria annulata*’nın direnç geliştirmekte olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada; sığırlarda theileriosisin tedavisinde alternatif olarak kullanılabilecek bir ilaç geliştirmek amacıyla *Theileria annulata* enolaz (TaENO) hedef olarak seçilmiştir. Enolaz, 2-fosfoglisirik asidin fosfoenol piruvata dönüşmesini katalizleyerek *T. annulata*’nın glikoliz yolağında önemli bir role sahiptir. Bu çalışmanın amacı; inhibisyon çalışmalarında kullanılan TaENO enzimin uygun stabilizatörler kullanılarak depolama koşullarının belirlenmesidir. Bundan dolayı, TaENO enzimi *E. coli* BL21(DE3) hücreleri içerisinde 0,5 mM IPTG eklenerek ekspresyonu yapılmıştır ve affinite kromatografisi yapılarak saflaştırılmıştır. Ancak; saflaştırma prosedürünü takiben enzim aktivitesinin hızlı bir şekilde kaybolduğu görülmüştür. Sığır serum albümin (BSA) ve gliserol bu çalışmada stabilizatör olarak seçilmiştir. Enzim çözeltileri üç set olarak hazırlanmıştır. İlk sette enzim çözeltisine stabilizatör eklenmemiştir. Diğer setlerde, enzim sırasıyla son konsantrasyonu 2 mg/ml ve %10 olacak şekilde BSA ve gliserol ile muamele edilmiştir. Her setteki enzim çözeltileri 30’ar çözeltiye bölünmüştür. Her setteki 10 çözelti, her biri 4 °C, - 20 °C ve -80 °C’de olacak şekilde saklanmıştır. TaENO enzim aktivitesi belirlenen zamanlarda 240 nm’de ölçülmüştür. Reaksiyonlar 1,5 mM MgCl₂ içeren 50 mM Tris/HCl (pH:7,4) tampon çözeltisinde, substrat olarak 1 mM 2-PGA kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, enzim aktivitesi %10 gliserol ile muamele edilerek -20 °C’de depolanan enzim solüsyonunda 14 gün boyunca stabil kalmıştır.

Anahtar Kelimeler: BSA, Depolama, Enolaz, Gliserol, *Theileria annulata*

Bu proje Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenmektedir. (Proje No: TAGEM-14/AR-GE/17)

Determination of the Storage Conditions of *Theileria annulata* Enolase Enzyme Using Appropriate Stabilizers

Abstract

Tropical bovine theileriosis is a parasitic disease caused by *Theileria annulata* and transmitted by ticks of the genus Hyalomma. It is known that *Theileria annulata* has developed resistance against buparvaquon which is a commonly used for the treatment of the disease. In this study; *Theileria annulata* enolase (TaENO) was chosen as a target for the purpose of developing a drug to be used alternatively on theileriosis treatment in cattle. Enolase has an important role in glycolytic pathway of *T. annulata*; catalyzes the conversion of 2-phosphoglycerate to phosphoenolpyruvate. The aim of this study is determination of the storage conditions of TaENO using appropriate stabilizers to use the enzyme when needed in the inhibition studies. Therefore; *Theileria annulata* enolase was expressed in *E. coli* BL21(DE3) cells with 0,5 mM IPTG and purified by affinity chromatography. But it was observed that the enzyme activity was quickly lost following the purification procedure. Bovine serum albumin (BSA) and glycerol were choosen as stabilizers in this study. Enzyme solutions were prepared as three sets. In the first set, no stabilizer was added to the enzyme solution. In the other sets, the enzyme was treated with BSA and glycerol with the final concentration of 2 mg/ml and 10%, respectively. Enzyme solutions from each set were then divided into 30 aliquots. 10 aliquotes from every set was stored at apiece of 4 °C, - 20 °C and -80 °C. TaENO enzyme activity was measured at 240 nm for a time of period. Reactions were performed by using 1 mM 2-PGA as substrate in 50 mM Tris/HCl (pH:7,4) buffer including 1,5 mM MgCl₂. As the results; the enzyme activity has remained stable for 14 days in the enzyme solution treated with 10% glycerol, stored at -20 °C.

Keywords: BSA, Storage, Enolase, Glycerol, *Theileria annulata*

This project is supported by General Directorate of Agricultural Research and Policies from Ministry of Food, Agriculture and Livestock. (Project No: TAGEM-14/AR-GE/17)

***Calluna vulgaris* Bitkisinin Genotoksik Etkisinin Değerlendirilmesi**

Şule Gökçe¹, Nazik Güzel¹, Dilay Gürkan¹, Şakire Karadaş¹, Mahmut Nagaç¹, Ahmet Biber¹, Yasemin Peruze Şendur¹, Ahmet Kayraldız¹, Lale Dönbak¹

1. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Kahramanmaraş
krizantem034@hotmail.com

Özet

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Halk arasında “funda” ya da “süpürge çalısı” diye adlandırılan *Calluna vulgaris*, fundagiller (*Ericaceae*) familyasından olup birçok hastalığın tedavisinde faydalanan bir bitkidir. Bu çalışmada; *Calluna vulgaris*’in yapraklarından hazırlanan ekstraktın, insan periferik lenfositlerinde kromozomal anormalliklere (KA), kardeş kromatid değişimine (KKD) ve mikronukleus (MN) oluşumuna etkisi incelenerek bitki ekstraktının genotoksik aktiviteye sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Ayrıca mitotik indeks (MI), proliferasyon indeksi (PI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) belirlenerek bitki ekstraktının sitotoksik etkisi de değerlendirilmiştir. Bu amaçla insan periferik lenfositleri 0,16; 0,32; 0,65 ve 1,30 µl/ml’lik yaprak ekstraktıyla 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, SPSS (17.0) paket programı ile kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. *C. vulgaris* bitkisinin yaprak ekstraktı ile muamele edilen hücrelerde tüm dozlarda KKD değerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı gözlenmiştir. Bitki ekstraktının 1,30 µg/ml konsantrasyonuyla 24 saat, 0,32, 0,65 ve 1,30 µg/ml konsantrasyonuyla 48 saat muamele edilen hücrelerde KA ve MN frekanslarının önemli düzeyde arttığı saptanmıştır. *C. vulgaris* yaprak ekstraktı ile muamelenin PI, MI ve NBI değerlerini etkilemediği belirlenmiştir (p>0,05). Elde edilen sonuçlara göre bu çalışmada, *C. vulgaris* yaprak ekstraktının sitotoksik etki göstermediği ancak orta düzeyde genotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Calluna vulgaris*, Genetik hasar, Genotoksisite, Sitotoksisite

Determination of Genotoxic Activity of *Calluna vulgaris*

Abstract

Various plants is used as tea, spice or medical purposes in our country as well as among the people all over the world for many years. *Calluna vulgaris*, called “heather” or “brom bush” among the people, is a plant of the Ericaceae (*Ericaceae*) family and is used in the treatment of many diseases. The aim of the present study was to investigate the effects of *Calluna vulgaris* leaf extract on the level of sister chromatid exchange (SCE), chromosomal aberration (CA) and micronucleus (MN) in human peripheral lymphocytes for determining the genotoxic activity. Cytotoxic effect of the leaf extract was also evaluated by using mitotic index (MI), proliferation index (PI), and nuclear division index (NDI). Human peripheral lymphocytes were treated with 0,16; 0,32; 0,65 and 1,30 µg/ml of *Calluna vulgaris* extract for 24 and 48 h. Obtained results were compared with control group by SPSS (17.0) package programme. All doses of plant extract were significantly elevated the SCE level in treated cells as compared to control group. CA and MN were found to be markedly increase in the cells treated with 1.30 µg/ml concentration for 24 h and 0.65 and 130 µg/ml concentrations for 48 h. The treatment of *C. vulgaris* leaf extract did not effect MI, PI and NDI values (p>0,05). The results of this study demonstrated that *C. vulgaris* leaf extract did not have cytotoxic effect but it showed genotoxic activity in human lymphocytes.

Key words: *Calluna vulgaris*, Cytotoxicity, Genetic damage, Genotoxicity

Biyoetanol Üretiminde Lignoselülozik Atıkların Farklı Hidroliz Metodlarının Araştırılması

Fatma SUMER, Taner SAR and Meltem Yesilcimen AKBAS*

Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze, Kocaeli

akbas@gtu.edu.tr

Özet

Yenilenebilir enerji kaynaklarından mikroorganizmalar ile biyoetanol üretimi düşük maliyetli materyallerden olması gereklidir. Etanol üretimi için en yaygın kullanılan substrat, öncelikle mısır ve patates gibi tarımsal ürünlerden elde edilen lignoselülozdur. Seçilen hammaddenin başarılı bir şekilde enzim veya asit ile hidrolize edilerek fermente edilebilen şekerlere dönüştürülmesi gerekmektedir. Asit ile hidroliz yöntemine kıyasla, enzim ile hidroliz yönteminin maliyeti oldukça yüksektir. Bu çalışmada, lignoselülozik materyal olarak patates ve mısır işleme atığının farklı asit ve/veya enzimlerle hidroliz edilerek fermente edilebilen şekerlere dönüştürülmesi ve bu hidroliz yöntemlerinin etanol üretimine olan etkileri incelendi. Seyreltik asit uygulaması ile en fazla şeker elde edilerek etanole dönüştürülmesi sağlandı.

Anahtar Kelimeler: Lignoselülozik atık, asit hidrolizi, enzimatik hidroliz, biyoetanol

Investigation of Different Hydrolysing Methods for Lignocellulosic Wastes for Bioethanol Production

Abstract

Bioethanol production from renewable energy sources by microorganisms is required to be from low cost materials. The most common substrate used for ethanol production is lignocellulose from agricultural crops, primarily corn or potatoes. The fermentable sugar content of the selected raw materials for the hydrolysing should be accomplished by enzyme or acid hydrolysis. The cost is quite high by hydrolysis with enzymes, compared to acid hydrolysis. In this work, the mixture of potato and corn processing waste was hydrolyzed with different acid and/or enzymes into fermentable sugars for bioethanol production. The dilute acid treatment method yielded the highest fermentable sugar levels and ethanol production.

Keywords: Lignocellulosic waste, acid hydrolysis, enzyme hydrolysis, bioethanol

***Saccharomyces cerevisiae*'da Çeşitli Sinyal İletim Yolaklarının *NTH1* Geni Ekspresyonuna Etkilerinin Analizi**

Tülay Turgut Genç¹, Mehmet Şerafeddin Solak², Burak Servili¹, Sezai Türkel³

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Çanakkale

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çanakkale

³Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa

tturgut@hotmail.com

Özet

Trehaloz *Saccharomyces cerevisiae* için önemli bir depo karbonhidratı olup stres şartlarında maya hücrelerinin korunmasını sağlar. Trehaloz aynı zamanda hekzokinaz enzimine etki ederek maya hücrelerine glukoz girişini de kontrol eder. Stres koşullarından çıkışta veya trehaloz miktarı fazla olduğu zaman *NTH1* geni tarafından kodlanan nötral trehalaz enzimi trehalozu hidroliz ederek iki molekül glukozu ayrıştırır. Trehaloz miktarının dengede kalabilmesi ve biriken trehalozun hızlı şekilde hidroliz edilerek maya hücrelerinin normal metabolik aktivitelerine dönmesi için nötral trehalaz enzimi gereklidir. Bu çalışmada *NTH1* geni ekspresyonuna ve depo karbonhidrat metabolizmasına çeşitli sinyal iletim yolaklarının etkileri incelendi. TOR sinyal iletim yolu üreme koşulları normal olduğu zaman *S. cerevisiae*'da çeşitli hücrel ve metabolik yolakları aktive eder. Hücrel stresler ve kafein ise TOR sinyal iletim yolağını baskılamaktadır. *S. cerevisiae* özellikle azot açlığı durumunda veya RAS genlerindeki mutasyon dolayısıyla mitoz bölünme yerine pseudohifsel üreme olarak adlandırılan şekilde de üreme gösterebilir. *S. cerevisiae* sigma suşu $\Sigma 1278b$ bu özelliği dolayısıyla pseudohif oluşturan bir suştur. Sigma suşunda RAS geni mutasyonu olduğu ve RAS-cAMP sinyal yolağının konstitüf olarak yüksek miktarda aktif olduğu bilinmektedir. Araştırma sonuçlarımız sigma suşunun ozmotik strese çok duyarlı olduğunu, trehaloz ve glikojen içeriğinin de normal *S. cerevisiae* suşu olan BY4741'e göre çok düşük seviyede olduğunu göstermektedir. Sigma suşunda *NTH1* geni ekspresyonunun düşük seviyede yapıldığı bulunmuştur. TOR sinyal iletim yolağını bloke eden kafeinin üreme ortamına eklenmesi ile *NTH1* geni ekspresyonunun BY4741 suşunda yaklaşık 8-katlık bir artışa neden olurken, sigma suşunda önemli etkisi olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *NTH1* geni transkripsiyonunun TOR ve Ras-cAMP sinyal iletim yolakları tarafından kontrol edildiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Trehalaz, Glikojen, *Saccharomyces cerevisiae*, TOR yolağı

Analysis of the Effects of Various Signal Transduction Pathways on the Expression of *NTH1* Gene in *Saccharomyces cerevisiae*

Abstract

Trehalose is an important storage carbohydrate for *Saccharomyces cerevisiae*. It protects yeast cells from physiological stresses. Trehalose also controls glucose transport to yeast cells by acting on hexokinase. When trehalose is over accumulated or during the recovery stage of the yeast cells from stress, neutral trehalase enzyme which is encoded by *NTH1* gene degrades trehalose to restore normal growth conditions. Hence trehalase enzyme is essential for balanced levels of trehalose and for normal metabolic activities of the yeast. In this research the effects of various signal transduction pathways on the expression of *NTH1* gene and on the storage carbohydrates were investigated. TOR signaling pathway activates many cellular processes and signaling pathways under normal growth conditions in yeast. Caffeine treatment and certain stress conditions inhibits TOR pathway. *S. cerevisiae* cells also goes to pseudohypheal growth instead of budding in response to nitrogen starvation by activating Ras-cAMP pathway. $\Sigma 1278b$ strain of *S. cerevisiae* forms pseudohyphea due to its hyper active Ras-cAMP pathway. Our results indicate that sigma strain of *S. cerevisiae* has much lower level of trehalose and glycogen than the normal BY4741 strain of *S. cerevisiae*. In addition, the expression level of *NTH1* gene is much lower than BY4741 strain indicating that expression of *NTH1* gene is regulated by Ras-cAMP pathway. Moreover, presence of caffeine in the growth medium resulted with 8-10 fold activation of *NTH1* gene in the normal yeast strain but not in the sigma strain of *S. cerevisiae*. These results suggest that *NTH1* gene expression is regulated by TOR pathway and also by Ras-cAMP pathway in yeast.

Keywords: Trehalase, Glycogene, *Saccharomyces cerevisiae*, TOR pathway

***Pistacia* spp. Türlerinde *Alternaria* Yanıklığı Etmeni *Alternaria* Patojenlerinin Major Alerjen Geni *Alt_a_1*'e Göre Populasyon Genetik Analizleri**

Ünal Sevinç¹, Hilal Özkılınç²

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik ve Malzeme Mühendisliği
Anabilim Dalı, Çanakkale

² Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Çanakkale

unalsevinc90@gmail.com

Özet

Alternaria cinsi içerisinde, ‘alternata tür-grubu’ altında yer alan, *A. alternata*, *A. tenuissima* ve *A. arborescens* gibi bazı türler birçok bitki için önemli patojenlerdir. Bu türler aseksüel üremektedir ve morfolojik karakterleri oldukça benzerdir. Türkiye’nin dört coğrafik bölgesindeki Antepfıstığının yabani ve kültür türlerinden elde edilmiş bu patojen gruba ait bir koleksiyonun genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri, alerjen gen bölgelerinden biri kullanılarak araştırılmıştır. *Alternaria* cinsi üyeleri, alerjen genleri taşımaktadır ve proteinlerinin insanlarda alerjik reaksiyonlarla ilgili olduğu bilinmektedir. Bunlar içerisinde ‘majör alerjen a1 (*Alt_a_1*)’ geni özellikle *Alternaria* cinsi için moleküler ve filogenetik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Koleksiyondaki 162 izolat ve 7 referans izolat ile toplamda 169 örnek için *Alt_a_1* geninin iki ekzon ve bir intron kısmını içeren kısmi baz dizilemesi yapılmıştır. *Alt_a_1* dizilemesinde görülen mutasyonlara göre belirlenen 15 haplotip için genetik uzaklık temelli Neighbour-Joining ağacı, minimum evrim yaklaşımı ile Parsimony ağacı ve olasılık temelli Maximum Likelihood ağaçları elde edilmiştir. Benzer topolijeleri sunan bu ağaçlar, birden fazla genetik grubun ve filogenetik hatların varlığına işaret etmiştir. Coğrafik bölge ve konukçu türü ile mutasyonlar ve ağaçlardaki dallanmalar arasında bir ilişki görülmemiştir. Özellikle aseksüel organizmalarda varyasyonu belirlemek üzere kullanılabilecek kodlayıcı bölgeler sınırlı sayıdadır ve *Alt_a_1* bölgesi, alternata-tür grubu için varyasyonu ortaya çıkarabilmektedir. Ancak morfolojik tür ayrımını sağlama konusunda yeterli değildir. Bu çalışma TUBITAK 112O554 numaralı proje ile desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Alt_a_1*, *Alternaria*

Population genetics analyses of *Alternaria* pathogens causing *Alternaria* Blight of *Pistacia* spp. based on major allergen gene *Alt_a_1*

Abstract

Some species within *Alternaria* genus and belong to ‘alternata species-group’ such as *A. alternata*, *A. tenuissima* ve *A. arborescens* are important pathogens for many plants. These species reproduce asexually and present morphologically very similar characters. A collection of *Alternaria* pathogens from pistachio and wild *Pistacia* species from four geographic regions of Turkey was investigated to reveal genetic diversity and phylogenetic lineages based on one of the allergen genes. Members of *Alternaria* genus carry *Allergen* genes that their corresponding proteins are known as related with allergic reactions in human. Among these genes, ‘major allergen a 1 (*Alt_a_1*)’ is widely used for molecular and phylogenetic analysis of this genus. Partial gene sequences of *Alt_a_1* region representing its two exons and one intron were performed for 169 samples including 162 isolates of the collection and 7 reference isolates. Neighbour-Joining tree based on genetic distance, Parsimony tree based on minimum evolution and Maximum Likelihood tree based on likelihood probability were obtained for 15 haplotypes distinguished according to the mutations in *Alt_a_1* sequences. These trees presenting similar tree topologies indicated more than one genetic groups and phylogenetic lineages. No association was observed between geographic region or host species and mutations or tree clustering. There are limited number of coding regions to exhibit variation especially in asexually reproducing organisms and *Alta1* region exhibits variation within alternata species group but does not resolve morphological discrimination. This study is supported by TUBITAK 112O554 project.

Keywords: *Alt_a_1*, *Alternaria*

Moleküler Biyoloji ve Genetik Çalışmalarında yaygın kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu Kullanım Hataları

Gökhan SEZER¹, Yasemin ÇELEBİ SEZER²

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Fen edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Osmaniye

³Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Osmaniye

gsezer@osmaniye.edu.tr

Özet

Moleküler biyoloji başta olmak üzere bir çok alanda çok yaygın kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) tekniğinin uygulamalarında bir çok hata oluşmaktadır. Bu hatalar teknik alet ve cihaz, kimyasal malzeme ve kişisel uygulama hatalarından kaynaklanmaktadır. PCR öncesi saf DNA izolasyonu ve sonrasında görüntüleme esnasında meydana gelen problemler de mevcuttur. Bu hataların başında homojen karıştırılmamış DNA çözeltisi, iyi optimize edilmemiş ve kullanım ömrü tamamlanmış kimyasallar ve kişisel kaynaklı pipetleme hataları gelmektedir. Bilimsel çalışmalar sürecinde sıklıkla karşılaşılan bu hatalar neticesinde yüksek seviyede kimyasal malzeme sarfiyatı ve çok uzun zaman kayıpları yaşanmaktadır. Yaptığımız çalışma PZR çalışmalarında meydana gelebilecek bu problemlerle karşılaşan bilim insanları için ipuçları ve çözüm önerilerini içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Moleküler Biyoloji, Genetik.

Mistakes of Polymerase Chain Reaction (PCR) commonly used in Molecular Biology and Genetic Studies

Abstract

Many faults occur in the applications of Polymerase chain reaction (PCR) technique which is most common in some areas like molecular biology especially. There are mistakes due to technical appliances and instruments, chemical material and personal application. Problems are also available occurring from isolation of pure DNA before PCR and during monitoring. These mistakes are in particular DNA solution which was not mixed homogeneously, chemicals that were not optimised well or had not enough shelf-life and pipetting mistakes done by person. As a result of these errors during scientific researches, chemicals could be used in high amounts and waste of time may be seen. In this study, there are solution suggestions and clues for researchers who meet problems in PCR studies.

Keywords: Polymerase Chain Reaction, Molecular Biology, Genetic.

İnsan Periferal Lenfositlerinde Tavanic (Levofloksasin) Antibiyotiğinin Genotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi

İbrahim Halil Kenger¹, Yasemin Eldemir¹, Demet Bilgi¹, Şule Gökçe¹, Kubra Kurt¹, Zeliha Yıldırım², Ahmet Kayraldız¹, Lale Dönbak¹

1. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş
yasemineldemir47@gmail.com
2. Gaziantep Üniversitesi, İslahiye Meslek Yüksek Okulu, Laborant ve Veteriner Sağlığı Bölümü, İslahiye

Özet

Bu çalışmada, kinolon grubu bir antibiyotik olan levofloksasinin olası genotoksik etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, levofloksasin'in dört farklı (12,50; 50 ve 100 µg/ml) konsantrasyonu ile 24 ve 48 saat süreyle muamele edilen insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormalliliği (KA), mikronükleus (MN), poliferasyon indeksi (PI), anormal hücre (AH), mitotik indeks (MI), mikronükleuslu binükleer hücre (MNBN) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) düzeyi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, SPSS (17.0) paket programı kullanılarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Levofloksasin farklı dozlarıyla (12,50; 25; 50 ve 100 µg/ml) ile 24 ve 48 saatlik muamelenin KKD frekansını etkilemediği gözlenmiştir. Buna karşılık 100,00 µg/ml'lik en yüksek levofloksasin dozu ile muamele edilen hücrelerde KA ve AH oranında kontrol grubuna kıyasla önemli bir artış olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde 25, 50, ve 100 µg/ml'lik levofloksasin ile 24 ve 48 saatlik muamelenin MN ve BNBN değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Levofloksasin ile muamelenin mitotik indeks, proliferasyon indeksi ve nükleer bölünme indeksini etkilemediği saptanmıştır. Sonuç olarak; bu çalışmada levofloksasinin genotoksik etkili olabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Genotoksisite, Kardeş kromatid değişimi, Kromozomal anormallikler, Levofloksasin, Mikronükleus

Evaluation of Genotoxic Effects of Tavanic (levofloxacin) Antibiotic in Human Peripheral Lymphocytes

Abstract

In this study, genotoxic effect of levofloxacin, an antibiotic in quinolone group, was investigated. With this aim, the levels of sister chromatid exchange (SCE), chromosome abnormalities (CA), micronucleus (MN), proliferation index (PI), abnormal cell (AB.C), mitotic index (MI), binuclear cells with micronucleus (BNMN) and nuclear division index (NDI) were investigated in human peripheral lymphocytes treated with four different concentrations (12.50, 25, 50, 100 µg/ml) for 24 and 48 hours. Obtained results were compared with control group by using SPSS (17.0) package software. It was observed that treatment with different doses of levofloxacin for 24 and 48 h has no effect on the SCE frequency. In cells treated with the highest dose of levofloxacin (100,00 µg/ml) a significant increase was determined in CA and AB.C rate, as compared to control group. Similarly, treatment with 25.00, 50.00, and 100.000 µg/ml of levofloxacin for 24 and 48 h significantly induced the level of MN and BNMN in comparison to control group. It was determined that levofloxacin treatment has no effect on mitotic index, proliferation index, and nuclear division index. As a result, it has been proved in this study that levofloxacin may have genotoxic effect.

Keywords: Genotoxicity, Chromosomal aberration, Levofloxacin, Sister chromatid exchanges, Micronucleus.

Kardiyovasküler Hastalarda HDL, Triglicerit ve Kolesterol Seviyesinin Paraoksonaz-1 enzimi ile MDA Düzeyi Üzerine Etkisi

Yeliz Demir¹, Mesut Işık¹, Hatice Esra ASLAN¹, Ali Araz¹, Şükrü Beydemir¹

¹ Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum

yeliz.demir1@ogr.atauni.edu.tr

Özet

Paraoksonaz (Ariesteraz, EC 3.1.8.1, PON1), Ca^{2+} bağımlı, yüksek yoğunluklu lipoproteine (HDL) ile ilişkili serum esterazdır ve çoğunlukla karaciğerden sentezlenir. 354 aminoaside sahip bu enzim paraoksonaz, ariesteraz ve diokson aktivitelerini içeren üç aktivite ölçüm yöntemine sahiptir. PON1 enzimi LDL'yi (kötü bir kolesterol) oksidasyondan korur ve antioksidan özelliği sayesinde hidrojen peroksit içeren radikalleri nötralize eder. PON1 koroner kalp hastalıkları riskinin azaltılmasında önemli bir rol oynar. Bu çalışmanın amacı, Kardiyovasküler hastaların serumunda PON1 aktivitesi ve malondialdehit (MDA) düzeyinin belirlenmesidir. Yapılan istatistiksel sonuçlara göre, HDL düzeyi normal olan hastalara oranla HDL düzeyi düşük olan hastalarda paraoksonaz aktivitesi önemli derecede azalmıştır ($p<0,01$). Kontrolle kıyaslandığında; Triglicerit seviyesi yüksek, HDL düzeyi düşük olan hastalarda paraoksonaz aktivitesi düşmüştür ($p<0,05$). Normal seviyede HDL düzeyine sahip hastalarda MDA düzeyi ise; istatistiksel olarak triglicerit ve kolesterol seviyesi yüksek olanlara göre daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Anahtar Kelimeler: Koroner kalp hastalığı, MDA, Paraoksonaz

The Effects of HDL, Triglycerides, Cholesterol Levels on Paraoxonase-1 Enzyme and MDA Level in Cardiovascular Patients

Abstract

Paraoxonase (arylesterase, EC 3.1.8.1, PON1) is a Ca^{2+} dependent, high-density lipoprotein (HDL)-associated serum esterase and is mainly synthesized from liver. With 354 amino acids, the enzyme has three activities including paraoxonase, arylesterase and diazoxon activities. PON1 enzyme protects LDL (a bad cholesterol) from oxidation and neutralizes radicals including hydrogen peroxide by its antioxidant property. PON1 plays an important role in reducing the risk of coronary heart disease (CHD). The aim of this study was to determinate the PON1 activity and malondialdehyde (MDA) level in the serum of patients with cardiovascular patients. According to statistical results, activity of paraoxonase 1 was significantly decreased in patients with low HDL levels compared to patients with normal HDL levels ($p< 0.01$). Activity of paraoxonase 1 was decreased in patients with low HDL levels and high triglycerides levels compared to control ($p< 0.05$). MDA levels was found istatistically lower in patients with normal HDL levels than in patients with high triglycerides and cholesterol levels ($p<0.05$).

Keywords: Coronary Heart Disease, MDA, Paraoxonase

***Escherichia coli*' de Eksprese Edilen Rekombinant İnsan Paraoksanaz-1 Geninin Saflaştırılması, Yeniden Katlandırılması ve Karakterizasyonu**

Yeliz Demir¹, Şükrü Beydemir¹

¹ Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum

yeliz.demir1@ogr.atauni.edu.tr

Özet

Antioksidan ve anti-aterogenik özelliklere sahip yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili bir enzim olan paraoksanaz 1 (PON1) insanda aterosklerotik lezyonların oluşumunu önler. Sunulan bu çalışmada, rekombinant hPON1 geni, küçük ubiquitin ilişkili bir modifikör (SUMO) füzyon protein ekspresyon sistemi kullanılarak üretildi. hPON1 geni hazır insan karaciğeri cDNA'sından amplifiye edildi, pET SUMO ekspresyon vektörüne klonlandı ve *Escherichia coli* BL21 (DE3)'de eksprese edildi. Eksprese edilen füzyon SUMO-hPON1 proteinin çoğu inklüzyon cisimleri şeklinde oluştu ve 6xHis afinite kolonu kullanılarak doğal ve denature edici şartlar altında saflaştırıldı. Daha sonra, biyoaktif protein elde etmek için yükseltgeyici şartlarda tek adımda kolon makriksi üzerinde proteinin yeniden katlandırılması işlemi yapılarak enzim saflaştırıldı. Inklüzyon cisimcikleri üre, guanidine hidroklorit ile solubilize edildi ve Triton X-100 ile *in vitro* olarak yeniden katlandırıldı. Saflaştırma sonrası, 0,045 mg/ml protein çözünen fraksiyonda; 0,108 mg/ml protein inklüzyon cisimciklerinden elde edildi. rhPON1 aktivitesi için; sırasıyla optimum sıcaklık, pH, ve iyonik şiddet 40 °C, 10,0, ve 100 mM olarak belirlendi. rhPON1 için K_m ve V_{max} kinetik parametreleri Lineweaver–Burk grafiği kullanılarak sırasıyla 0.94 mM and 110.01 EU/ml olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Klonlama, Paraoksanaz, Rekombinant DNA

Purification, Refolding and Characterization of Recombinant Human Paraoxonase-1 Gene Expressed in *Escherichia coli*

Abstract

A high density lipoprotein (HDL)-linked enzyme with anti-oxidant and anti-atherogenic properties, paraoxonase-1(PON1), prevents the formation of atherosclerotic lesions in humans. In the present study, recombinant hPON1 gene was produced using a small ubiquitin-related modifier (SUMO) fusion protein expression system. To that end, hPON1 gene was amplified from human liver-ready cDNA, cloned into the expression vector pET SUMO, and expressed in *Escherichia coli* BL21 (DE3). The predominance of the expressed fusion SUMO-hPON1 protein was inclusion bodies and purified using 6xHis affinity chromatography under natural and denaturing conditions. Subsequently, the enzyme was purified and refolded directly on the affinity matrix under redox conditions to obtain a bioactive protein in a single step. The inclusion bodies were solubilized with urea, guanidine hydrochloride; and Triton X-100 and refolded *in vitro*. After purification, 0.045 mg/ml protein in soluble fraction and 0.108 mg/ml protein from inclusion body were obtained. Optimum temperature, pH, and ionic strength for rhPON1 activity were determined as 40 °C, 10.0, and 100 mM, respectively. The kinetic parameters K_m and V_{max} for rhPON1 were determined as 0.94 mM and 110.01 EU/ml, respectively by using Lineweaver–Burk plots.

Keywords: Cloning Paraoxonase, Recombinant DNA

Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh fidelerinde 24-Epibrassinolid ve bor uygulamalarının *CycD3;1*, *TCH4* ve *KOR* gen ekspresyonları üzerine etkilerinin semi-quantitative RT-PCR ile analizi

Yonca Surgun¹, Betül Bürün²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Muğla

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla

yoncasurgun@gmail.com

Özet

Brassinosteroidler (BR'ler), bitki hücre uzaması ve/veya hücre bölünmesinde önemli rol oynamaktadır. Bor (B) bitkiler için esansiyel bir element olmasına rağmen, fazlası toksiktir. Bu çalışmada, yüksek borik asit (BA) konsantrasyonları altında 24-Epibrassinolid (EBL)'in hücre döngüsü (*CycD3;1*) ve hücre duvarı ile ilgili (*TCH4* ve *KOR*) genlerin ekspresyonu üzerine etkisi *Arabidopsis thaliana* (L.) fidelerinin kök ve yaprak dokularında semi-quantitative RT-PCR kullanılarak araştırılmıştır. *A. thaliana* fideleri hidroponik kültürde dört hafta yetiştirildikten sonra, BA (50 ve 100 mg L⁻¹) ve/veya EBL (0.01 ve 1 µM) içeren sıvı kültür ortamlarına aktarılmış ve 60 saat kültüre devam edilmiştir. Kök dokusunda, BA uygulamaları *CycD3;1* geninin ekspresyonunu azaltırken, 0.01 µM EBL uygulamaları bu genin ekspresyonunu tek başına yapılan borik asit uygulamalarına nazaran artırmıştır. 1 µM EBL tek başına ya da BA uygulamaları ile birlikte *CycD3;1* geninin ekspresyonunun anlamlı şekilde azalmasına neden olmuştur. Diğer taraftan, 1 µM EBL uygulaması *KOR* ve *TCH4* genlerinin mRNA seviyesinde önemli artışlar meydana getirmiştir. Yaprak dokusunda, yapılan uygulamalar sonucu *CycD3;1* ve *KOR* genlerinin ekspresyon seviyelerinde istatistiki farklılıklar gözlenmemiştir. BA uygulamaları *TCH4* geninin ekspresyon seviyesini kontrole göre önemli bir şekilde artırmıştır. Sonuç olarak, bulgular EBL'in yüksek bor stresi altında genel olarak seçilen genlerin ekspresyonlarını pozitif regüle ettiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Brassinosteroid, bor, hücre döngüsü, hücre duvarı, gen ekspresyonu, semi-quantitative RT-PCR

Analysis of effects of 24-Epibrassinolide and boron treatments on the expression of *CycD3;1*, *TCH4* and *KOR* genes in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh seedlings using semi-quantitative RT-PCR

Abstract

Brassinosteroids (BRs) play pivotal roles in plant cell elongation and/or cell division. Although boron (B) is an essential element for plants, excess B is toxic. In this study, we investigated the effects of 24-Epibrassinolide (EBL) on expression of cell cycle (*CycD3;1*) and cell wall-related (*TCH4* and *KOR*) genes in leaf and root tissues of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh seedlings under high concentrations of boric acid (BA) using semi-quantitative RT-PCR. *A. thaliana* seedlings were grown in a hydroponic culture for four weeks, and then transferred to liquid media containing BA (50 and 100 mg L⁻¹) and/or EBL (0.01 and 1 µM) and incubated for 60 hours. In root tissues, BA treatments decreased the expression of *CycD3;1* gene, whereas 0.01 µM EBL treatments increased the expression level of this gene when compared with plants exposed to BA alone. 1 µM EBL alone or in combination with BA treatments significantly led to down regulation of *CycD3;1* gene. On the other hand, application of 1 µM EBL resulted in significant increase of mRNA levels of *KOR* and *TCH4* genes. In leaf tissues, no significant differences were observed in the expression levels of *CycD3;1* and *KOR* genes as a result of all treatments. BA treatments increased the expression levels of *TCH4* gene significantly when compared to control. To conclude, the results showed that EBL in general positively regulate the expression of selected genes under high B stress.

Keywords: Brassinosteroid, boron, cell cycle, cell wall, gene expression, semi-quantitative RT-PCR

*Bu çalışma, Yonca Surgun'un Doktora Tez çalışmasının bir bölümüdür.

Endoplazmik Retikulum Stresinin İndüklediği Apoptoz Mekanizması

Yüksel Ögünç¹, Zerrin İncesu²

¹⁻² Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD Eskişehir

yukselogunc@anadolu.edu.tr

Özet

Endoplazmik retikulumda (ER), katlanmamış ya da hatalı katlanmış proteinlerin birikmesi ve endoplazmik retikulum homeostazının bozulması durumunda ortaya çıkan hücresel cevap *ER Stresi* olarak tanımlanmaktadır. ER stresi oluşuktan sonra, hücrede homeostazi yeniden sağlamak ve stresten en az zararla kurtulmak için katlanmamış protein cevabı (UPR) olarak tanımlanan ve bir takım hücre içi sinyal yollarından oluşan olaylar dizisi aktiflenmektedir. Bu hücresel yanıt, Protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (PERK), Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 6 (ATF6) ve İnositol gerektiren enzim-1 (IRE1) olmak üzere üç transmembran reseptör aracılığı ile düzenlenir. UPR'yi en iyi gösteren genler CHOP, Grp78, Grp94, fare tümör hücresi DNAJ proteini (MTJ1) ve Hem oksijenaz 1 (HMOX1) dir. Bu genlerin ekspresyonunun tespiti ile hücredeki stres izlenebilmektedir. ER, lümende biriken katlanamamış proteinlerin katlanmasını sağlamak için kapasitesini artırır. Katlanmaya destek olan yardımcı moleküllerin sentezini artırır. Yanlış katlanan proteinler düzeltilemezse ER yükünü azaltmak için yıkıma gönderir. ER stresi uzun sürerse ya da hücre adaptasyonu sağlayamazsa çevre dokuya zarar vermemek için apoptozla yönelir. ER-stresinin indüklediği apoptoz yolağında CHOP, MAP kinaz kaskadı, Bax/Bak, IRE1 ve kaspaz-12 gibi birçok molekül görev alır.

Anahtar Kelimeler : Apoptoz, Endoplazmik Retikulum Stresi, Katlanmamış Protein Cevabı

Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Apoptosis Mechanism

Abstract

In endoplasmic reticulum (ER) the cellular response is called *ER Stress* in the case of the accumulation of unfolded or misfolded proteins and changes in ER homeostasis. After the ER stress occurs, intracellular signal transduction pathways – cumulatively called the unfolded protein response (UPR)- were activated in order to restore homeostasis in cell and minimal damage to relieve stress. This cellular response was regulated via three transmembrane receptors, which are Protein kinase RNA (PKR)-like ER Kinase (PERK), Activating Transcription Factor 6 (ATF6) and Inositol-requiring enzyme-1 (IRE-1). The genes of CHOP, Grp78, Grp94, mouse tumor cell DNAJ protein (MTJ1) and Hem oxygenase 1 (HMOX1) were related to UPR. The stress in the cell could be monitorized by the determination of these gene expression. Synthesis of helper molecules increase to fold the unfolded or misfolded proteins properly in endoplasmic reticulum. If unfolded proteins are not corrected, they should be destroyed to decrease the load of ER. If ER stress for a long time or fails to provide cell adaptation is directed to apoptosis for avoiding damage to the surrounding tissue. Several molecules, including CHOP, MAP kinase cascade, Bax/Bak , IRE1 and caspase-12 are related to the ER stress-induced apoptosis pathway.

Keywords: Apoptosis, Endoplasmic reticulum stress, Unfolded protein response

Kanserde Apoptoz Yolağının Doğal Bileşikler İle Hedeflenmesi

Yüksel Öğünc¹, Zerrin İncesu²

¹⁻² Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD Eskişehir

yukselogunc@anadolu.edu.tr

Özet

Dünyada ölümle sonuçlanan hastalıklar içinde ikinci sırada yer alan kansere her yıl 2,6 milyon kişi yakalanmaktadır. Son araştırmalar gösteriyor ki; birçok kanser tipi antiapoptotik proteinler, büyüme faktörleri ve tümör süpresör gibi proteinleri kodlayan genlerin fonksiyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır. Başarılı bir kanser ilacı hücreyi öldürmeli ya da hücrenin normal hücrelere zarar vermesini önlemelidir. Bu ideal durum hücrede apoptoz olarak adlandırılan programlı hücre ölümünün uyarılmasıyla mümkündür. Farklı tümör hücrelerinde çeşitli doğal bileşiklerin apoptozu indüklediği bulunmuştur. Bcl-2 ailesi proteinleri apoptozun önemli regülatörlerindendir. Bcl-2 ailesinin Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim ve Hrk gibi proapoptotik üyelerinin yanı sıra Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1 ve Mcl-1 gibi antiapoptotik üyeleri de vardır. p53, NF- κ B, PI3K/Akt yolağındaki sinyal modülatörleri ekstrinsik ve intrinsik apoptoz yolağını düzenlemektedir. Doğal bileşikler yoluyla bu regülatörler aktive ya da inaktive edilerek, hücrenin apoptoza yönelmesi sağlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler : Antiapoptotik proteinler, Apoptoz, Doğal bileşikler, Proapoptotik proteinler.

Targeting of Apoptotic Pathway with Natural Compounds in Cancer

Abstract

Every year 2.6 million people suffer from cancer which is in the second place in the field of diseases resulting in death in the world. Recent studies have been shown that carcinogenicity is because of dysfunction of genes that encode several proteins such as anti-apoptotic proteins, growth factors and tumor suppressor proteins. An effective cancer drug should kill the cancer cells or prevent the cancer cells without damaging the healthy cells. This ideal situation is only possible with the induction of programmed cell death called apoptosis in cells. Various natural compounds were found to induce apoptosis in different types of tumor cells. Proteins belonging to the Bcl-2 family are important regulators of apoptosis. Bcl-2 family consists of proapoptotic proteins such as Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim and Hrk as well as antiapoptotic proteins such as Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1 ve Mcl-1. Extrinsic and intrinsic apoptosis pathways are regulated by signal modulators involved in p53, NF- κ B, PI3K/Akt pathways. These signal modulators are activated or inactivated by natural compounds that lead the cells to apoptosis.

Keywords: Antiapoptotic proteins, Apoptosis, Natural compounds, Proapoptotic proteins.

JABS

IJNES



Nobel International Journals

www.nobel.gen.tr

BİBAD

TABAD