



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

FARKLI EKOLOJİK NİŞE SAHİP ÖRÜMCEKLERDE TRANSKRİPSİYONEL VE
TRANSLASYONEL YAKLAŞIMLAR

SİMGE ÖZARSLAN

Ağustos 2021

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

FARKLI EKOLOJİK NİŞE SAHİP ÖRÜMCEKLERDE TRANSKRİPSİYONEL VE
TRANSLASYONEL YAKLAŞIMLAR

SİMGE ÖZARSLAN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Hakan DEMİR

Ağustos 2021

Simge ÖZARSLAN tarafından **Prof. Dr. Hakan DEMİR** danışmanlığında hazırlanan “**Farklı Ekolojik Nişe Sahip Örümceklerde Transkripsiyonel ve Translasyonel Yaklaşımlar**” isimli bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Osman SEYYAR, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Hakan DEMİR, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Musa KAR, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Prof. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

SİMGE ÖZARSLAN

ÖZET

FARKLI EKOLOJİK NİŞE SAHİP ÖRÜMCEKLERDE TRANSKRİPSİYONEL VE TRANSLASYONEL YAKLAŞIMLAR

ÖZARSLAN, Simge
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Bölümü

Danışman : Prof. Dr. Hakan DEMİR

Ağustos 2021, 33 sayfa

Bu çalışmada, farklı ekolojik nişlere sahip olan Araneidae familyasından *Araneus diadematus* ve Lycosidae familyasından *Alopecosa pulverulenta* türleri arasında ki total protein ve RNA miktarları karşılaştırılmıştır. Ağ yapan ve yapmayan bu örümcek türlerinde transkripsiyonel ve translasyonel yaklaşımlar ile protein ve gen yapısı hakkında temel düzeyde ön bilgiler elde edilmiştir ve moleküler düzeyde biyokimyasal analizleri yapılarak incelenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda ağ yaparak avlanan *Araneus diadematus* türü örümceğin ağ yapmadan avlanan *Alopecosa pulverulenta* türü örümceğe göre protein miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Örümcek, total RNA, total protein, ekolojik niş

SUMMARY

DETERMINATION OF PROTEIN AND RNA LEVELS BY BIOCHEMICAL ANALYZES IN DIFFERENT HUNTING STRATEGIES SPECIES

ÖZARSLAN, Simge

Nigde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor

: Prof. Dr. Hakan DEMİR

August 2021, 33 pages

In this study, by comparing the total protein and total RNA levels of the spider species, *Araneus diadematus* from Araneidae family and *Alopecosa pulverulanta* from Lycosidae family with different ecological niche to obtain basic information with transcriptional and translational approaches, will be examined by biochemical analysis at the molecular level. It has been determined that the amount of protein is higher in the *Araneus diadematus* spider than in the spider *Alopecosa pulverulanta* spider.

Keywords: Spider, Total RNA, total protein, ecological niche

ÖN SÖZ

Yapılan bu tez çalışmasının amacı farklı ekolojik nişlere sahip ve ağ yaparak avlanan ve gezerek avlanan örümcek türleri arasındaki moleküler düzeyde farklı protein ve RNA düzeylerine bakarak bu farklar arasında genel düzeyde bilgi elde etmektir.

Çalışma sonucunda ağ yaparak avlanan *Araneus diadematus* ve ağ yapmadan avlanan *Alopecosa pulverulanta* türleri arasında ki total protein ve RNA miktarları karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ağ yaparak avlanan örümcek türünde diğerine göre daha fazla miktarda protein ve RNA miktarı olduğu belirlenmiştir.

Yüksek Lisans tezimin yürütülmesinde çalışmalarına yön veren bilgi ve deneyimini esirgemeyen ve bana her türlü desteği sağlayan kıymetli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Hakan DEMİR'e, tez çalışmam esnasında bana her türlü desteği veren Değerli hocam Sayın Prof. Dr. Osman SEYYAR'a ve laboratuvar çalışmalarımız esnasında desteğini ve yardımlarını gördüğüm Sayın Dr. Cihan DÜŞGÜN'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmaya, FEB 2017/33 HİDEP numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR	xi
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	3
2.1 Tanımı	3
2.2 Örümceklerin Morfolojik Özellikleri	4
2.3 Örümcek Ağı	7
2.4 Transkripsiyon	8
2.4.1 Transkripsiyonun aşamaları	10
2.4.1.1 Başlangıç	10
2.4.1.2 Uzama	11
2.4.1.3 Sonlanma	11
2.5 Protein Sentezi (Translasyon)	12
2.5.1 Translasyon için gerekli bileşenler	12
2.5.2 Translasyon aşamaları	13
2.5.2.1 Amino asit aktivasyonu	13
2.5.2.2 Uzama	13
2.5.2.3 Sonlanma (termination)	14
2.5.3 Translasyon sonrası modifikasyonlar	14
2.6 Genetik İfadenin Düzenlenmesi	14
2.7 Tez Çalışmasında Kullanılan Örümcek Türleri	15
2.7.1 <i>Araneus diadematus</i> (Clerck, 1757)	15
2.7.2 <i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck, 1757)	16
2.8 Örümceklerde Total Protein ve Total RNA	17
BÖLÜM III MATERYAL VE METOD	18

3.1 Örneklerin Toplanması	18
3.2 Dokuların Homojenizasyonu	18
3.3 Total Protein Belirlenmesi	21
3.3.1 Total protein belirlenmesi metodu için gerekli çözeltiler	21
3.3.2 Total protein tayini	22
3.4 Total RNA Eldesi.....	22
3.4.1 Total RNA eldesi için gerekli çözeltiler	23
3.4.2 Total RNA eldesi	24
BÖLÜM IV BULGULAR	26
4.1 Örneklerin Total Protein Miktarı	26
4.2 Örneklerin Total RNA miktarları	27
BÖLÜM V SONUÇLAR.....	28
KAYNAKLAR	30
ÖZGEÇMİŞ	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Total protein miktarları.....	26
Çizelge 4.2. Örneklerin total RNA miktarları.....	27



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Bir yer örümceğinin dorsal ve ventralden görünüşü.	4
Şekil 2.2. Örümceğin keliser yapısı	5
Şekil 2.3. Kitapsı akciğer yapısı	6
Şekil 2.4. Örümcek göz yapısı	7
Şekil 2.5. <i>Araneus diadematus</i> türünün genel görünümü	16
Şekil 2.6. <i>Alopecosa pulverulanta</i> türünün genel görünümü.....	17
Şekil 3.1. Örümcek toplamada kullanılan atrap.....	18
Şekil 3.2. Örneklerin tartılmasında kullanılan hassas terazi	19
Şekil 3.3. Örneklerin homojenizasyonu.....	20
Şekil 3.4. Homojenize edilen örneklerin süzülmesi	21
Şekil 4.1. Total protein miktarı	26
Şekil 4.2. Total RNA miktarı.....	27

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
g	Gram
mg	Miligram
M	Molar
mM	Milimolar
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
nm	Nanometre

Kısaltmalar

DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit

BÖLÜM I

GİRİŞ

Örümcekler, dünyanın birçok ekosistemine adapte olduğundan dünya üzerinde geniş bir yayılım alanına sahiptirler. Farklı avlanma stratejilerine ve farklı ekolojik nişlere sahip olan örümcekler hakkında bugüne kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Son 50 yıl içerisinde ilgi odağı olan örümcekler üzerine çalışmalar daha çok faunistik, sistematik ve ekolojik ağırlıklıdır. Örümceklerle ilgili yapılan moleküler ve biyokimyasal çalışmaların sayısının ise oldukça az olduğu dikkat çekmektedir ve bu çalışmalar daha çok örümcek ağları ve onun ipeğinin ayrıntılı yapısı ile ilgilidir. Farklı örümceklerin ürettiği örümcek ipekleri birbirlerinden farklı bileşime ve özelliklere sahip olabilmektedirler. Örümcek ipeği farklı amino asit dizilerinden oluşan protein yapısında bir malzemedir. Proteinin yapısında moleküllerin düzenli bir şekilde konumlandığı kristal bölgeler ve moleküllerin düzenli bir şekilde konumlanmadığı amorf bölgeler bir arada bulunmaktadır. Örümcek ipeklerinin karakterizasyonları, mekanik özellikleri, içerdikleri moleküler yapılar, karmaşık içerikleri hakkında ayrıntılı çalışmalar yapılmıştır (Martel vd., 2008; Saravanan, 2006; Sheu vd., 2004; Trancik vd., 2006; Vehoff vd., 2007). Dünyada örümcekler üzerine yapılan çalışmalar sürerken, örümcek faunası açısından oldukça zengin olan ülkemizde benzeri güncel çalışmaların yapılması önem kazanmaktadır (İde vd., 2011). Örümceklerin ürettiği ağlar, örümceğin kullanım amacına göre farklı özellikler gösterirler ve genelde “glisin, alanin, serin, tirozin” aminoasitlerinden oluşmuş protein yapılıdır (Fukushima, 2000). Örümceklerin yaptıkları ağ, bilinen doğal ve sentetik liflerden çok daha güçlüdür. Ağın hammaddesi, örgülü helezonik aminoasit zincirlerinden oluşan keratindir. Örümcek ağları uzun aminoasit zincirlerinden meydana gelen spidroin 1 ve spidroin 2 olarak adlandırılan protein yapılardan meydana gelirler (Eisoldt vd., 2011; Ene vd., 2009). Protein sentezi sonrası proteinlerin ve nükleik asit gibi önemli biyolojik moleküllerin fonksiyonel hale gelmesinde fosforillenme ve metillenme gibi reaksiyonlar önemli rol oynamaktadırlar. Proteinlerin sentez sonrası modifikasyonları onların sinyal iletiminde önemli olmasını ve hücre dışı olaylara hızlı ve organize bir şekilde ardışık olarak toplu cevap verilmesini mümkün kılar. Proteinlerin etkileşimi, transkripsiyonun regulasyonu (Clarke, 2003), hücrel stres cevabı, proteinlerin tamiri ve yaşlanması (Kujubu vd., 1993), T hücre aktivasyonu (Cimato vd., 1997), nükleer transport (Vemuri ve Philipson,

1988), nöronal farklılaşma iyon kanalı fonksiyonu, sitokin sinyalini içeren pek çok anahtar hücresel olaylarda önemli bir rol üstlenmektedir (Chen vd., 2004).

Canlıların farklı ortam koşullarına karşı tepkilerinin moleküler düzeyde belirlenmesinde RNA analizlerinin yapılması önem taşımaktadır. RNA analizleri, farklı yaşam koşullarına sahip olan canlılarda üretilen proteinlerin özelliklerinin belirlenmesinde ön bilgi sağlayıcı nitelik taşımaktadır. Örümceklerin adaptasyon ve çevre tolerans mekanizması ile ilgili olarak gen yazılımı ve canlının yapısal özelliklerini belirleyen proteinlerin, canlının ortam koşullarına uymalarını sağlanması ile ilgili biyokimyasal bilgileri sunması açısından bu araştırmaları yapmak önemlidir. Farklı yaşam koşullarında üretilen farklı gen yapısı ve proteinlerinin belirlenmesinde, toplam RNA ve protein seviyelerindeki farklılığın araştırılması moleküler düzeyde değerli bilgilerin edinilmesini sağlamaktadır. Örümcekler üzerine transkripsiyonel ve translasyonel bir yaklaşım olarak toplam RNA ve protein miktarlarının araştırıldığı bir çalışmaya literatürde henüz rastlanılmamıştır. Bu çalışmada ağ yapan ve ağ yapmayan farklı avlanma stratejilerine sahip örümcek türlerinin transkripsiyonel ve translasyonel ifadeleri ile gen ve protein boyutu hakkında genel düzeyde ön bilgiler edinebilmek için, total RNA ve total protein seviyeleri karşılaştırılarak farklı türler arasındaki moleküler düzeyde benzerlik ya da farklılıklar biyokimyasal analizlerle saptanması amaçlanmıştır.

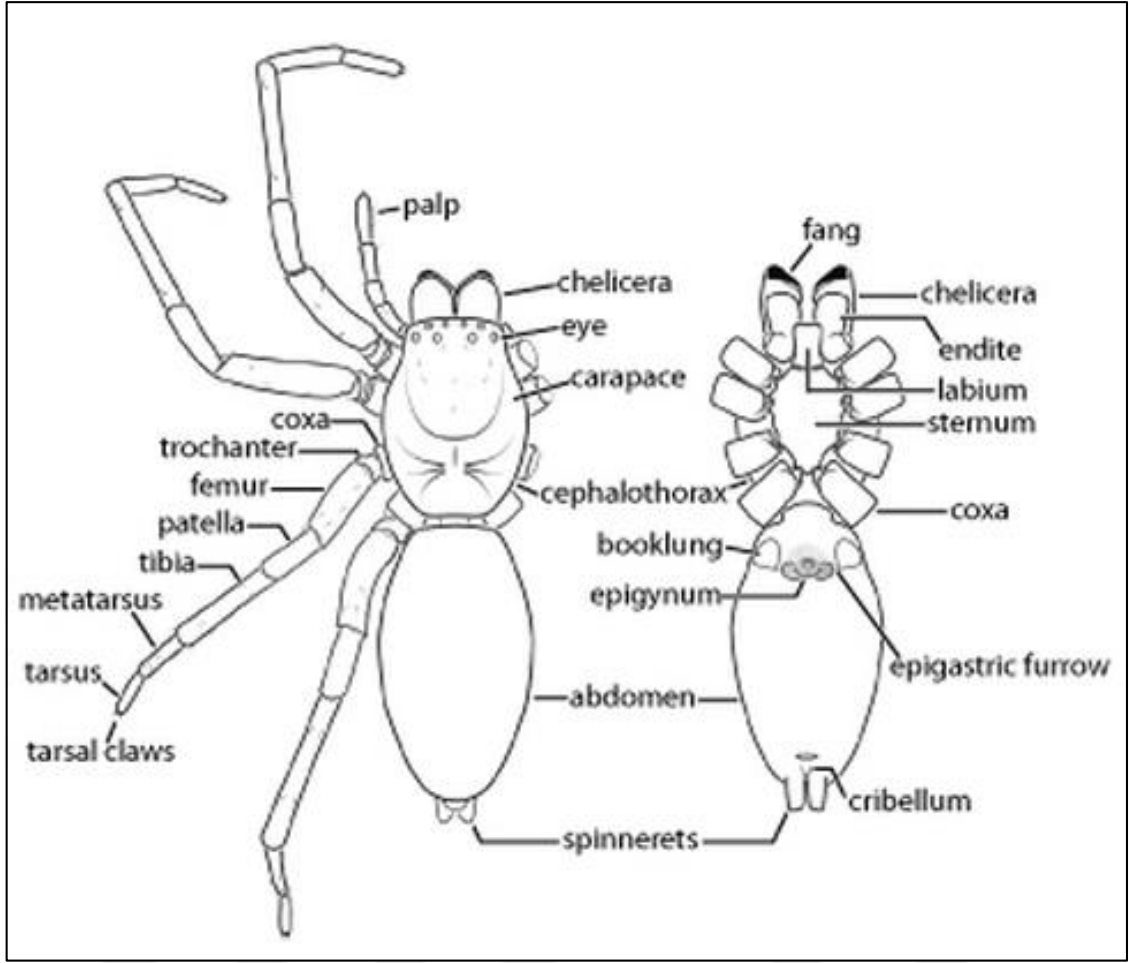
BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Tanımı

Örümcekler, Eklembacaklılar şubesinin Arachnida sınıfı içerisinde yer alan en büyük takımlardan biridir. Son verilere göre dünya üzerinde 129 familya içerisinde 4217 cinse bağlı 49463 türü bilinmektedir (World Spider Catalog, 2021). Örümceklerin vücutları Sefalotoraks (prosoma) ve abdomen (opisthosoma) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Sefalotoraks abdomene pedisel adı verilen bir bel bölgesi ile bağlanmıştır. Pedisel çok ince yapılı olup sindirim, dolaşım ve trake sistemi üyeleri içerisinde geçer. Örümcekler de boyut 1-35 cm'ye arasında değişiklik gösterir. Ağız bölgesinde bir çift keliser ve pedipalp bulunur. Bunları uç kısımları tarak şeklinde dişlere sahip bir çift çengelli dört çift yürüme bacağı takip eder. Bacaklar koksa, trokanter, femur, patella, tibia, metatarsus, tarsus ve tırnaklardan oluşur. Örümceklerde bacaklar üzerinde uzun ve hassas duyu tüyleri olan trikobotriumlar bulunur. Trikobotriumlar yerleşmesi, ölçüleri ve sayıları sistematikte kullanılır. Dizilişi sınıflandırmada önemli bir yer tutan basit yapılı gözler baş bölgesinde 2-4 çift arasında bulunabilir. Bazı mağara türlerinde gözler tamamen redükte olmuştur. Median gözler koyu renkli olup bunlara gece gözleri denir. Açık renkli olanlara ise gündüz gözleri denir. Yumuşak ve oval şekilli olan abdomenin ventral kısmında solunum delikleri (stigma), ağ bezleri, anüs ve genital organları yer alır (Babaşoğlu, 1999).

Örümcekler, dünyanın birçok biyotopa uyum sağlamış olup bu sayede çok farklı ekosistemlerde yaşayabilen canlı grubu halini almışlardır. Yüksek dağ zirvelerinden derin vadilere, akarsu veya göl içlerine kadar değişik habitatlarda rastlamak mümkündür. Örümcekler yırtıcı olup bir kısmı serbest dolaşarak avlanırken diğer bazıları ördükleri ağlar sayesinde yaşarlar (Babaşoğlu, 1999).



Şekil 2.1. Bir yer örümceğinin dorsal ve ventralden görünüşü.

2.2 Örümceklerin Morfolojik Özellikleri

Örümcekler yırtıcı olup besinlerini böcek, küçük yapılı amfibi, reptil, sürüngen, kuş ve memeli gibi omurgalılar oluştururlar. Avlanmak için bazı örümcekler tuzak ağları kurarken bir kısmı da avlarını kovalayarak veya üzerlerine sıçrayarak yakalar. Yakalanan av önce kelisteler ile zehirlenerek felç edilir. Sonra sindirim aracılığı ile iç organlar eritilerek emici mide ile emilir. Deriye sadece avın boş kabuk kısmı kalır (Stowe, 1978).

Örümceklerin böceklerden kanatlarının olmaması, sekiz bacaklı olmaları, antenlerinin yokluğu ve pedipalplerinin bulunması ile ayrılır. Pedipalpler dışarıdan bakıldığında bacağına benzediğinden bunlara duyu bacakları da denir. Palpler üzerinde çok sayıda duyu tüyleri olup, dokunma, tat alma ve çevreyi koklama gibi görevler yaparlar. Erkeklerde ise üreme dönemlerinde kopulasyon organı olarak da iş görürler. Örümceklerde trake sistemi

kitap akciğer tipindedir. Kitap yaprakları şeklindeki deri kıvrımlarından dolayı bu ismi almışlardır.

Örümceklerin yemek borusu dar olduğun bu şekilde beslenmek zorundadırlar. Keliserler avı delmeye ve zehir akıtmaya yarar. Keliserlerin uç kısmı yanlarda delikli olup zehir bu delikten sızar. Keliserin bir diğer görevi ise delik açma ve küçük cisimleri taşıma işlerinde kullanılmasıdır.



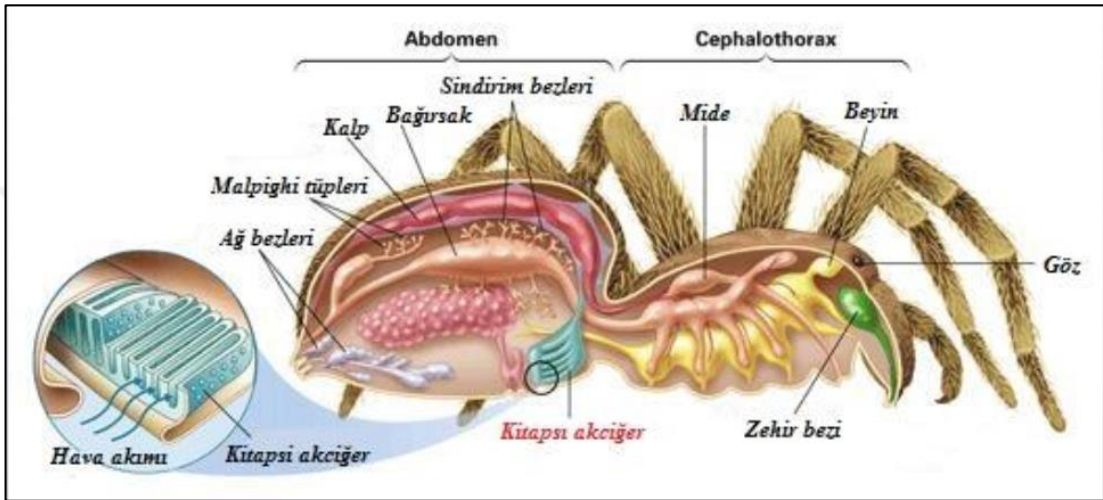
Şekil 2.2. Örümceğin keliser yapısı (URL-1, 20 Temmuz 2021)

Örü memeleri, abdomende yer alan 4-5. çift bacakların şekil değiştirmesi sonucu oluşarak abdomenin ventral tarafında yerleşir. Genellikle abdomenin en ucundadırlar. Bunların sayısı ve yapıları familyalarda değişebilmektedir. Örü memelerinin içerisinde yer alan ağ borularından çıkan salgı hava ile temas ettiğinde sertleşerek iplikçik şeklini alır.

Örümcekler ayrı eşeyli canlılardır. Örümceklerde sosyalite yoktur dense de bazı türlerde birkaç bireyin bir arada yaşadıkları litaratüre geçmiştir. Örümceklerde en ilgi çekici hususlardan biri de erkeklerde pedipalplerin eşleşme organı vazifesi görmesidir. Erkek önce bir sperma ağı örerek üzerine bir damla spermatozoon sıvısı bırakır. Sonra ters

dönerek bu sıvıyı şırıngaya çeker gibi pedipalplerin şişkin kısmına doldurur. Bundan sonra dişiye aramaya çıkar.

Dişi örümceklerde cinsiyet açıklığı epigastriyal yarıklar üzerinde yerleşen epijin sahasında bulunur. Epijinin morfolojik özellikleri (çıkıntılarının bulunması, medial levhaların şekli, çukurların yerleşmesi gibi) erkek ferdin karmaşık yapıdaki çiftleşme organına tam uyum gösterir (Babaşoğlu, 1999).



Şekil 2.3. Kitapsı akciğer yapısı (Memişoğlu, 2019)

Örümceklerde dişi eşey genellikle erkeklerden daha iridir. Bu nedenle bazı erkekler önce dişilerin açlığını gidermeyi düşünür. Dişiye bir böcek sunup açlığı gidererek yaklaşmak daha kolay olur (düğün dansı). Dans evresi sonunda dişi uygun görürse erkek yaklaşır. Örümcek, sonbaharda sarımsı beyaz renkli kokon adı verilen ipek bir koza içine bıraktığı yumurtalarına karşı çok şefkatli olmasına rağmen dişilerin yumurtaları veya yavruları yediği de olur. Bu durum yumurtaların döllenmemiş olduğunu gösterebilir. Yumuşak ve çok küçük olan bu yumurtalarla dolu kozayı bir dala, taş altına duvar yarığına, ağaç kovuğuna veya çalılıklar arasına emin bir yere yapıştırır. Kokon, anne örümcek tarafından çevrilerek alttaki yavrularında hava alması sağlanır. İlkbaharda doğan yavrular ana-babalarına benzerler. Doğduktan birkaç gün sonra iyi bir ağ kurup kendi kendilerine beslenirler. Çoğu türlerde, yavrular erişkinliğe erdiği zaman babaları çoktan ölmüş olacaktır. Zira erkek örümcekler erişkinlikten sonra birkaç yıl yaşarlar. Sonbaharda döllen yumurtalardan yavrular bahar aylarında çıkarken yaz başlarında döllen yumurtalardan 20-60 gün içinde yavru çıkar (Babaşoğlu, 1999).



Şekil 2.4. Örümcek göz yapısı (Rhoads, 2019)

2.3 Örümcek Ağı

Örümceklerde açık dolaşım sistemi görülür. Hemen hemen her yerde rastlanan örümcek ağı, aslında bir sanat şaheseridir. Yapılış maksadı avlanmak olan ağ, bir nevi tuzaktır. Fakat her örümcek türü ağ yapmaz. Ancak bütün örümcekler ağ tellerinden yumurtalarının etrafını saran kozalar yaparlar. Bazıları da ağ bezlerini, yaprakları yapıştırmakta, yuvalarının içini döşemede, açtıkları çukurun çevresini kapatmakta vs. işlerde kullanırlar. Ağ kurmayan bu tür avcı örümcekler de, arkalarında ağdan bir iz bırakarak, rüzgârla sürüklenmekten korunurlar. Erkekler, dişileri bulmakta da bu izlerden faydalanırlar (Ene vd., 2009).

Karın altlarının arka taraflarında üç çift ağ organları bulunur. Her birinin dışarıya ayrı bir çıkışı vardır. Bezlerden meydana gelen yapışkan ve sıvı iplik maddesi, havayla temas edince sertleşir. Her ağ memeciğinde 100 kadar ince ve küçük kanalcıklar bulunur. Bu ince kanalcıklardan sızan iplikçikler bir araya gelerek büküldükleri zaman tek iplik durumuna gelirler. Esnek ve yapışkandırılar. Bir sinek ne kadar sert çarpsa da kopmazlar. Ağ yapmak isteyen örümcek, ağ organlarını bacaklarının bir kısmı ile bastırarak ağ maddesinin akışını başlatır. Örümcekler, iplik deliklerinden çıkan tellerin hepsini toplayıp bir tek tel halinde kullandıkları gibi bunlardan ayrı ayrı incecik tel de yaparlar (Saravanan, 2006).

Düşme esnasında bir yere taktığı ağ telini, kendisi yere varıncaya kadar uzatabilir. Genç örümcekler, ağ tellerinin sayesinde uzun mesafelere uçabilirler. Bunun için telin bir ucunu bir yere bağlayarak kendilerini hava akımlarına bırakırlar. Böylece yerlerinden havalanan örümcekler, karada 5 km, denizde ise yüzlerce km uzaklara savrulabilirler. Okyanuslardaki ıssız adalarda yaşayan örümcekler, hep böyle havadan gelmişlerdir. Sonbaharda bol bol rastlanan ağ telleri de uçan genç örümceklerden kalmıştır.

Ağ yapacak olan bir örümcek, önce yüksekçe bir yere tırmanarak, ağın ucunu bulunduğu kısma yapıştırarak ipek iplik yardımıyla aşağı süzülür. Gözüne kestirdiği bir dala ulaşarak bağlantı kurar. Sonra o iplik üzerinde gidip gelerek ağı kalınlaştırır. Daha sonra vücudundan çıkmakta olan ipliğin bir ucunu ilk ipliğe tutturarak kendisini boşluğa bırakır. Ağa bağlı halde bir yere varınca, o ucu vardığı yere yapıştırır. Bu yolla birkaç gidiş gelişle ağın kaba iskeleti meydana gelir. Bundan sonra iskeletin merkezi çevresinde dairevi halkalar yaparak ağı tamamlar.

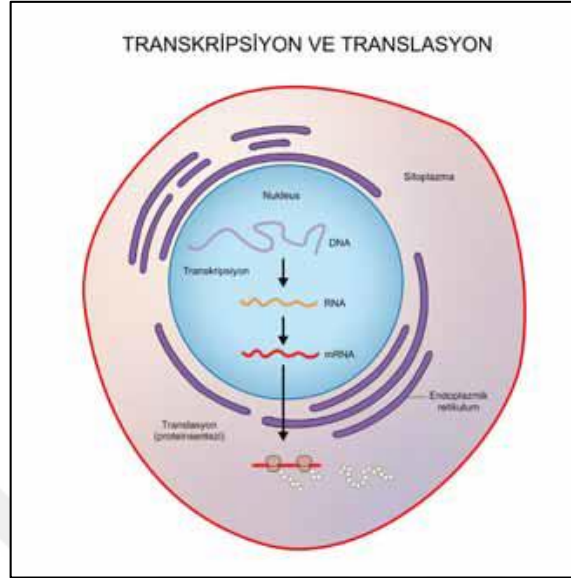
Ağ örümü çoğunlukla gece olur. Örülmesi en fazla 60 dakika alır. Ağın ortasında spiral ve yapışkan bir yer vardır. Diğer iplikçikler kurudur. Bir sinek ağı konsa hemen yapışır. Kurtulmak için çırpındıkça daha da yapışır. İkaz iplikçigi ile avın yakalandığını anlayan örümcek gelerek avını zehirler. İkaz iplikçığının bir ucu ağı bağlı, diğer ucu ise daima kendisindedir.

Ağlar, genellikle yere dik vaziyettedir. Maksat, uçan arı ve sinekleri yakalamaktır. Her örümcek türünün, kendisine has ağ örme stili vardır. Ancak dikkati çeken nokta, ağlarda geometrik inceliklerin her zaman varlığıdır. Ağ örme işi örümceklerin, doğuştan kazandıkları bir sanattır. Küçük bir örümcek, daha önce hiç ağı görmemiş ve örmemiş olmasına rağmen büyüklere benzer ağlar örer (Saravanan, 2006).

2.4 Transkripsiyon

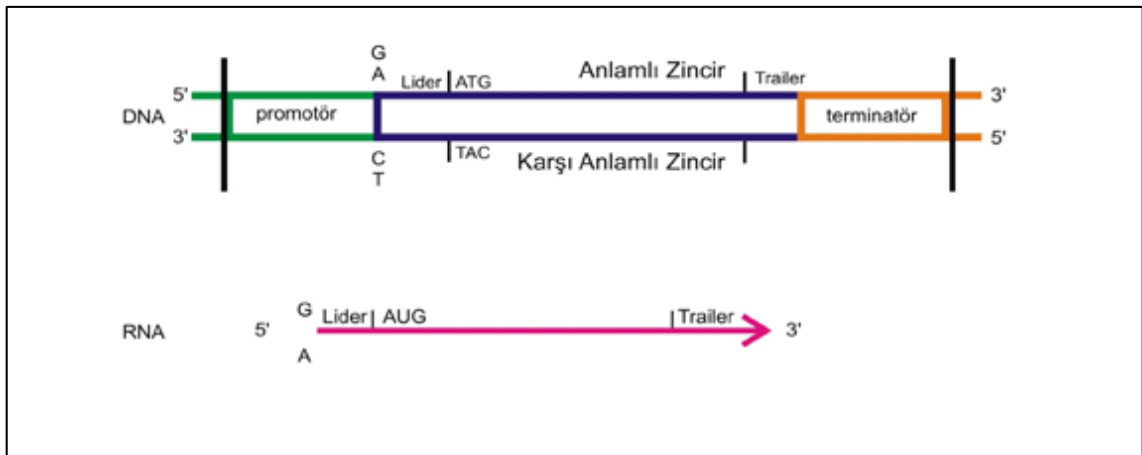
Transkripsiyon yazılma, kopyalanma demektir. Yapısal genlerdeki bilginin haberci RNA (“messanger”, mesajcı RNA) yani mRNA halinde kopyasının çıkarılmasıdır. Kısaca transkripsiyon DNA’dan mRNA sentezidir. Protein sentezi hücre sitoplazmasındaki granürlü endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Protein sentezinin gerçekleşmesi için DNA’daki bilgiye gereksinim vardır ama DNA hücrenin çekirdeğindedir ve çekirdek

dışına çıkamaz. Dolayısıyla DNA'daki bilginin sitoplazmaya aktarılması mRNA aracılığıyla yapılmaktadır. Şekil 1 de protein sentezi (translasyon) ve transkripsiyon birlikte görülmektedir (Cavadas vd., 2017).



Şekil 2.5. Translasyon ve transkripsiyonun görüntüsü (Pike, 1991)

Promotör başlangıç bölgesi, transkripsiyonun başlaması ile ilgili işaretleri taşıyan bölgedir. Terminatör bölge ise transkripsiyonun sonlanması ile ilgili işaretleri taşıyan bölgedir. Transkripsiyon birimi, tek bir RNA molekülü oluşumuyla, anlatımını yapan bir DNA parçasıdır. Bir transkripsiyon biriminin sınırları promotörden terminatöre kadar uzanır.



Şekil 2.6. Transkripsiyon birimi (Glyde vd., 2017)

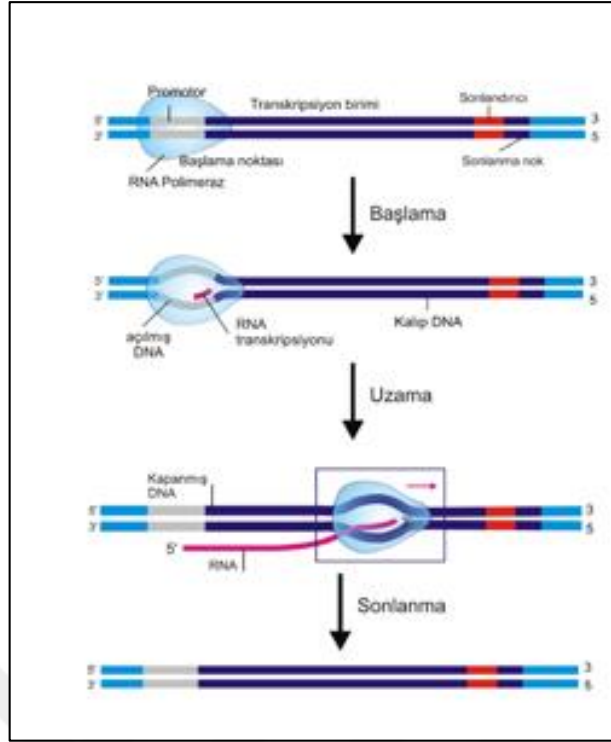
Çoğu ökaryotik gende, prokaryotlardan farklı olarak, intronlar bulunur. Aynı zamanda ökaryotik organizmaların transkripsiyonda fonksiyonel enzimi (RNA polimeraz enzimleri) büyük (molekül ağırlıkları ≥ 500.000 dalton) ve karmaşık yapılı proteindir. Transkripsiyonda, DNA'nın bir ipliğini kalıp olarak kullanan RNA polimeraz enzimi 4 çeşit NTP (nükleotit trifosfat)'ı kullanarak RNA molekülü oluşumunu kataliz eder ve DNA baz dizisinin RNA halinde kopyasını çıkartır (Glyde vd., 2017).

2.4.1 Transkripsiyonun aşamaları

Transkripsiyon kısaca hücrede bulunan RNA polimeraz enziminin, transkripsiyona uğrayacak genin başlangıç bölgesine (promotor bölgesi) bağlanmasıyla başlar. Enzim nükleotidler arasında fosfodiester bağı oluşumunu kataliz eder ve ipliğin uzamasını sağlar, belli tamamlanma noktalarına gelince transkripsiyon sona erer. Aşağıda transkripsiyonun aşamaları 3 kısımda ayrıntılı olarak incelenmiştir (Pike, 1991).

2.4.1.1 Başlangıç

DNA üzerinde yer alan başlangıç bölgelerine promoter bölge adı verilir. Transkripsiyon promoter bölgenin RNA polimeraz tarafından tanınması ve bağlanması ile başlar. RNA polimeraz kalıp DNA molekülünde özel işaretleri (dizileri) tanır ve bağlanır. Transkripsiyonun başlamasıyla ilgili işaretleri taşıyan başlatıcı nükleotid dizisi, promotör bölgedir. Polimeraz promotöre bağlanarak bir kompleks oluşturur (Triezenberg, 1995).



Şekil 2.7. Transkripsiyonun başlangıcı (Triezenberg, 1995)

2.4.1.2 Uzama

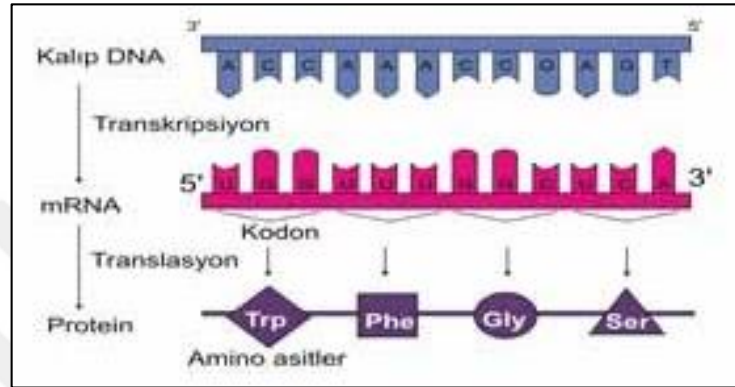
DNA çift zinciri açılır ve RNA polimerazlar DNA'ya bağlandıktan sonra transkripsiyon başlar. RNA polimeraz ilerledikçe DNA çift sarmalı açılmaya devam eder. Aslında uzama sırasında, enzim ön tarafındaki DNA bölgesini çözer. RNA polimeraz DNA polimerazlarda olduğu gibi bir primere gerek duymaz (Triezenberg, 1995).

2.4.1.3 Sonlanma

Transkripsiyon kalıp DNA üzerinde sonlanma noktalarına ulaştıktan sonra durur. Sonlanma aşaması sentezlenen RNA zincirinin ayrılması ile ilgili süreçtir, sentezlenen RNA kolaylıkla kalıp DNA'dan ayrılabilir. RNA polimeraz genin (veya genlerin) tamamının kopyasını çıkardığında, sentezi durdurur ve RNA ürününü serbest bırakır. Tüm RNA'lar sentezlendikten sonra bunlar üzerinde sonradan modifikasyonlar yapılır (Triezenberg, 1995).

2.5 Protein Sentezi (Translasyon)

Protein sentezi (Translasyon), DNA'daki bilginin mRNA'aracılığıyla kopyalanıp (transkripsiyon), daha sonra sitoplazmadaki ribozomlarda (granürlü endoplazmik retikulum aracılığıyla) polipeptid biçimine çevrilmesidir. Ökaryot bir hücrenin hangi proteinleri sentezleyebileceğine ait bilgi çekirdekteki DNA'larda saklıdır (Triezenberg, 1995).



Şekil 2.8. Protein sentezi (Triezenberg, 1995)

2.5.1 Translasyon için gerekli bileşenler

- Aminoasitler (aa)
- tRNA
- Aminoasil-tRNA-sentetaz: Aa'lerin kendi tRNA'larına bağlanmasını sağlayan enzimdir.

Her aminoasit ve tRNA için kendine özgü aminoasil-tRNA-sentetaz enzimi vardır ve böylece kodlama hataları engellenmiş olur.

- mRNA
- Ribozom

Protein sentezi olurken ribozomlar, belli bir süratle mRNA üzerinde ve mesajın sonuna yönelik devamlı hareket halindedirler. Hareketteki bu devamlılık protein sentezinin aralıksız olarak devamını sağlar. Poliribozomlar mRNA üzerinde bir yöne doğru ilerlerken, aksi yönde oluşan ve gittikçe büyüyen polipeptid zinciri de protoplazma boşluğuna bırakılır. Ribozomlarda tRNA'ların bağlandığı A ve P olmak üzere iki bölüm

vardır. A bölgesindeki kodona uygun aminoasit-tRNA'lar bağlanır. P bölgesindeki kodona peptidil-tRNA oturur.

Başlangıç, uzama ve sonlanma faktörleri

- Enerji kaynakları (ATP ve GTP)

2.5.2 Translasyon aşamaları

Translasyon aşamaları aşağıdaki sıra ile gerçekleşir.

- Amino asitlerin aktivasyonu
- Başlangıç kompleksinin oluşması
- Zincir uzaması-sentez
- Terminasyon ve salınım
- Katlanma ve posttranslasyonel işlemler.

2.5.2.1 Amino asit aktivasyonu

Sitoplazmada serbest halde bulunan aminoasitlerin tRNA lar tarafından mRNA da bulunan uygun kodonlara göre taşınmalarıdır. Aminoasitlerin tRNA ya bağlanmadan önce ATP (Adenozin trifosfat) kullanılarak her aminoasit için özgül olan aminoasit t-RNA sentetaz enzimi ile aktive edilmeleri gerekmektedir. Ayrıca, bu süreç enerji gerektiren bir sentez sürecidir (Triezenberg, 1995).

2.5.2.2 Uzama

Protein sentezinde ilk peptid bağı oluşumundan son peptid bağı oluşumuna kadar meydana gelen reaksiyonları kapsar. (Başlangıçtaki olayların tersine, uzama mekanizması prokaryot ve ökaryotlarda iyi korunmuştur). Bu evrede de protein yapısındaki uzama faktörleri fonksiyon yapmaktadır. Amino asitler arasında peptid bağı meydana gelir (Triezenberg, 1995).

2.5.2.3 Sonlanma (termination)

Sentezi tamamlanan polipeptidin serbest kalması için gerekli reaksiyonlardır. Sonlanma aşaması aminoasıl tRNA nın bitim kodonundan birinin gelmesiyle başlar. DUR kodonlarına geldiğinde, polipeptit zinciri ile tRNA arasındaki bağı kırarak zincirin translasyon kompleksinden ayrılmasını sağlar. Serbest bırakma (salıverme) faktörleri (RF), devreye girer ve translasyonu sonlandırır. Polipeptid zincirindeki son amino asit ile bağılı olduğu tRNA arasındaki bağlantısını koparır. Serbest kalan son tRNA molekülü ve polipeptid zinciri ribozomdan ayrılır; ribozomun büyük alt birimi de mRNA'dan ve küçük alt birimden ayrılır (Triezenberg, 1995).

2.5.3 Translasyon sonrası modifikasyonlar

- N-ucu ve C-ucundaki amino asitler çoğunlukla uzaklaştırılır ya da değışime uğrar.
- Bazen karbohidrat yan zincirleri takılabilir.
- Polipeptit zincirlerinde kırpılma yapılabilir.
- Sinyal dizileri proteinden uzaklaştırılır.
- Polipeptit zincirleri çoğu kez metallerle kompleks yapar

2.6 Genetik İfadenin Düzenlenmesi

Vücuttaki her hücre aynı DNA'ya sahiptir. Hücre kendisi için gerekli olan protein sentezi için bu bilgiyi kullanır. Herhangi bir organizmadaki gen kontrolü hücredeki ve çevresindeki değışikliklerle ilişkilidir, sürekli üretilmeyen bir ürünün yapımının indüklenmesi ile olur. İndüklenebilir sistem- hücre ürünü yalnızca ihtiyacı olduğunda oluşturur. Gen ekspresyon sistemleri pozitif ya da negatif kontrol altında çalışabilir ve her tip genelde İndüklenebilir ya da baskılanabilir sistemlerle bağılıdır. Baskılanabilir sistemde ürün miktarı fazlalaşınca artık ürünün sentezine gerek kalmaz ve sentez baskılanır.

Gen kontrolleri represör ve aktivatör denilen iki proteinle sağlanır.

- 1) Represör proteinler
- 2) Aktivatör protein

Ökaryotlarda dokular arası gen aktivitesinde farklılıklar vardır. Hücreler büyüme gelişme esnasında farklılaşır. Farklılaşma nedeni hücre ve dokulardaki selektif gen aktivitesidir. Bazı genler gelişimin belli aşamalarında çalışırken ,bazı genler zaman zaman açılır kapanır, bazıları ise hiç aktif olmayabilir. Omurgalılarda hormonların gen aktivitesinde önemi büyüktür. Kimi enzimler ancak ortamda kendi substratları olunca sentezlenirler yani (indüklenenebilen enzimler)'dir, bazı enzimlerin ise son ürünlerinin konsantrasyonu artınca sentez işlemine son verilir. Son ürünlere korepresör denir (Triezenberg, 1995).

2.7 Tez Çalışmasında Kullanılan Örümcek Türleri

Bu tez çalışmasında farklı ekolojik nişe sahip ve ağ yaparak avlanan Araneidae familyasından *Araneus diadematus* türü ile gezici olarak avlanan Lycosidae familyasından *Alopecosa pulverulanta* örümcek türleri kullanılmıştır.

2.7.1 *Araneus diadematus* (Clerck, 1757)

Üst alem:	Eukaryota (Ökaryotlar)
Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Alt alem:	Eumetazoa (Gerçek dokulular)
Şube:	Arthropoda (Eklem bacaklılar)
Alt şube:	Chelicerata (Keliserliler)
Sınıf:	Arachnida (Örümceğimsiler)
Takım:	Araneida
Alt takım:	Araneomorphae
Üst familya:	Araneoidea
Familya:	Araneidae
Cins:	<i>Araneus</i>
Tür:	<i>Araneus diadematus</i> Clerck 1757

Holarktik bölgede geniş yayılım gösteren bu tür Antartika kıtası hariç neredeyse tüm kıtalarda bulunur. Ormanlarda ağaç ve çalılar üzerinde, step alanlarda çalimsı ve otsu bitkileri kullanarak tekerlek şeklinde avlanma ağları kurarlar. Evlerin bahçelerinde de bu türün bireylerine rastlandığından Bahçe Örümceği olarak da bilinmektedir. Vücutları genellikle dişilerde 13–18 mm, erkeklerde ise 5.5–12 mm kadardır.



Şekil 2.5. *Araneus diadematus* türünün genel görünümü (URL-2, 15 Temmuz 2021)

2.7.2 *Alopecosa pulverulenta* (Clerck, 1757)

Üst alem:	Eukaryota (Ökaryotlar)
Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Alt alem:	Eumetazoa (Gerçek dokulular)
Şube:	Arthropoda (Eklem bacaklılar)
Alt şube:	Chelicerata (Keliserliler)
Sınıf:	Arachnida (Örümceğimsiler)
Takım:	Araneida
Alt takım:	Araneomorphae
Familiya:	Lycosidae
Cins:	<i>Alopecosa</i>
Tür:	<i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck, 1757)

Dünya üzerinde Avrupa, Kafkaslar ve uzak doğu ülkelerine kadar geniş yayılış alanına sahiptir. Açık ormanlık alanlarda ve steplerde otsu alanlarda bol miktarda bulunurlar.

Avlanma ağı kurmayıp avlarını gezerek ararlar. Kurt Örümceği olarak bilinen Lycosidae familyasına ait bir türdür. Vücutları genellikle dişilerde 7–12 mm, erkeklerde ise 6–8 mm kadardır.



Şekil 2.6. *Alopecosa pulverulenta* türünün genel görünümü (URL-3, 16 Temmuz 2021)

2.8 Örümceklerde Total Protein ve Total RNA

Yapılan literatür taramasında *Araneus diedamatus* ve *Alopecosa pulverulenta* türleri için yapılmış olan herhangi bir Total Protein ve Total RNA çalışmalarına rastlanmamıştır.

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOD

3.1 Örneklerin Toplanması

Örümcekler atrap, pens ve aspiratör kullanılarak doğadan toplanmıştır. Toplanan örümcek örnekleri canlı olarak laboratuvara getirilmiştir ve çalışmalara başlayıncaya kadar canlı olarak saklama kaplarında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Örümcek toplamada kullanılan atrap

3.2 Dokuların Homojenizasyonu

Dondurulmuş (-80°C) örümcek örnekleri 0,1 g gelecek şekilde hassas terazi ile tartıldı. Daha sonra örnekler 2mM (pH: 7,4) fosfat tamponu eklendi.



Şekil 3.2. Örneklerin tartılmasında kullanılan hassas terazi

Hazırlanan örnekler homojenizatörde 5 dk boyunca homojenizasyon işlemine tabii tutularak homojenizasyon işlemi tamamlandı.



Şekil 3.3. Örneklerin homojenizasyonu

Homojenizasyon işleminin ardından örnekler vakum aracılığıyla süzöldü. Daha sonra örnekler 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra tüplerdeki süpernatandan 1 mL alınarak steril ependorf tüplerine konuldu ve total protein ve total RNA işlemleri yapılincaya kadar +4°C'de tutuldu. Örnekler 3 paralel şekilde hazırlandı.



Şekil 3.4. Homojenize edilen örneklerin süzülmesi

3.3 Total Protein Belirlenmesi

3.3.1 Total protein belirlenmesi metodu için gerekli çözeltiler

Örümcek türlerinden elde edilen süpernatantların 1 μL 'sinde protein miktarını belirlemek için Lowry yöntemi kullanıldı. Protein tayini için kullanılan çözeltiler ve hazırlanışı şu şekildedir (Lowry vd., 1951).

A çözeltisi

- %2'lik Na_2CO_3 'ın 0,1 N NaOH'teki çözeltisi: 100 hacim
- %2'lik NaK-Tartarat çözeltisi: 1 hacim
- %1'lik CuSO_4 çözeltisi: 1 hacim

2 g Na_2CO_3 + 0,4 g NaOH bir behere konulur ve distile su 100 mL'ye tamamlandı.

2 g NaK tartarat bir behere konulur ve distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

1 g CuSO_4 bir behere konulur ve distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

A çözeltisi, yukarıda belirtilen üç çözeltinin belirtilen hacim (100:1:1) oranlarıyla karıştırılarak deneyin başlamasından hemen önce taze olarak hazırlandı.

B çözeltisi

- Folin Fenol Belirteci: 1 hacim
- Distile su: 1 hacim

B çözeltisi için folin fenol belirteci ve distile su belirtilen hacim (1:1) oranlarıyla karıştırılarak hazırlandı.

3.3.2 Total protein tayini

1. Her deney için 2 kör ve örnek içeren tüpler hazırlandı.
2. Hazırlanan bütün tüplere 2,5 mL A çözeltisi eklendi.
3. Hazırlanmış olan doku süpernatantlardan örnek tüplerine, 40 µL homojenatlar tüpün duvarlarına damlacıklar şeklinde bırakıldı.
4. Hazırlanan tüpler 2 kez vortekslendi.
5. 10 dakika bekletildi.
6. 1:1 oranında hazırlanmış olan Folin Fenol Ayıracı (**B çözeltisi**) tüp tüplere (kör dâhil) 250 µL eklendi.
7. Tüpler tekrar vortekslenir ve renk oluşumu için karanlıkta **45 dakika** bekletildi.
8. 45 dakikanın bitiminde örnekler karanlık ortamdan çıkarılır ve 695 nm'deki absorbans değişimi spektrofotometrik olarak okundu.

3.4 Total RNA Eldesi

Total RNA eldesi Chomczynski ve Sacchi'nin uyguladığı metoda göre uygulandı (Chomczynski ve Sacchi, 1987).

3.4.1 Total RNA eldesi için gerekli çözeltiler

RNAzol çözeltisinin hazırlanması:

RNAzol çözeltisi için ihtiyaç duyulan kimyasallar LiCl (Lityum Klorür) ve β -merkaptetanoldür.

RNAzol çözeltisinin hazırlanması için öncelikle 4 M LiCl (Lityum Klorür) çözeltisi hazırlanır. LiCl (Lityum Klorür) çözeltisi aşağıdaki belirtildiği gibi hazırlandı;

- 100 mL 4 M LiCl (Lityum Klorür) çözeltisi hazırlandı.
- $4M = \frac{m}{MA \times V} = \frac{m}{42,39 \times 0,1}$ $m = 16,956$ g LiCl
- 16,956 g LiCl bir behere konuldu ve üzeri distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

LiCl (Lityum Klorür) çözeltisi hazırlandıktan sonra β -merkaptetanol hazırlandı. β -merkaptetanol sıvı olduğu için önce stok solüsyonun molaritesi hesaplandı. Stok solüsyonun molaritesi;

$$M = \frac{\% \times d \times 10}{MA} = \frac{98 \times 1,12 \times 10}{78,13} = 14,048 \text{ M } \beta\text{-merkaptetanol}$$

Stok solüsyonda bulunan Stok solüsyonda bulunan β -merkaptetanol'ün molaritesi hesaplandı. Daha sonra ihtiyacımız olan 10mM (0,01M) stok solüsyon çözeltisi hazırlandı. 10mM (0,01M) β -merkaptetanol çözeltisi için gerekli miktarın hesaplanması;

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$0,01M \times 0,1L = 14,048 \times V_2$$

$$V_2 = 0,0000711 \text{ L} = 0,0711 \text{ mL} = 71,1 \mu\text{L}$$

71,1 μL β -merkaptetanol alınıp distile su ile 100 mL'ye tamamlanması ile 10mM (0,01M) β -merkaptetanol çözeltisi hazırlanmış oldu.

RNAzol çözeltisi için hazırlanan LiCl (Lityum Klorür) ve β -merkaptoetanol çözeltileri temiz bir erleninde 1:1 oranında karıştırılarak RNAzol çözeltisi hazırlandı.

%75'lik etanol çözeltisi:

- Temiz bir erlen içerisine 75 mL saf etanol konuldu.
- Daha sonra üzerine 25 mL distile su eklenerek çözelti hazırlanmış oldu.

Kullanılan diğer kimyasallar:

- İzopropanol
- Kloroform

3.4.2 Total RNA eldesi

Total RNA eldesi üç aşamada gerçekleştirildi. Bu aşamalar Ekstraksiyonu Presipitasyon, Yıkama ve Yeniden Çözme olarak adlandırılır.

A) Ekstraksiyon

- Homojenize edilen dokulardan 75 μ L alındı.
- Alınan örneğin üzerine 800 μ L RNAzol ilave edildi.
- RNAzol ilavesinden sonra 80 μ L kloroform eklenip hızlı bir şekilde 15 saniye çalkalandı.
- Daha sonra örnekler 5 dk buz küvetinde bekletildi.
- Hazırlanan homojenatlar 12000 g'de 4°C'de 5 dk santrifüj edildi.

B) Presipitasyon

- Ekstraksiyonda yapılan santrifüj işleminden sonra elde edilen renksiz üst tabaka dikkatli bir şekilde steril bir santrifüj tüpüne transfer edildi.
- Alınan süpernatanın üzerine 400 μ L isopropanol ilave edilir ve tüpler vortekslenerek 4°C'de 15 dk bekletildi.
- Hazırlanan bu tüpler 12000 g'de 4°C'de 15 dk santrifüj edildi.

C) Yıkama ve Yeniden Çözme

- Presipitasyon aşamasında elde edilen süpernatant uzaklaştırılır ve kalan RNA peleti 800 μ L %75'lik etanol ile vortekslenerek yıkandı.
- 10500 g'de 8 dk 4°C'de santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra, RNA peleti kurutma kağıdı ile kurutuldu.
- RNA peleti 15 μ L distile H₂O'da yeniden çözöldü. (deney şartlarına uygun olarak 2 mL'ye tamamlandı.)
- RNA içeren tüpler spektrofotometre'de okuma yapılmadan önce 10 dk 65°C'de ısıtılıp hemen buz küvetine alındı.
- Kör olarak distile H₂O kullanıldı.
- Örneklerin 260 nm'deki absorbands değışimi spektrofotometrik olarak okundu.

BÖLÜM IV

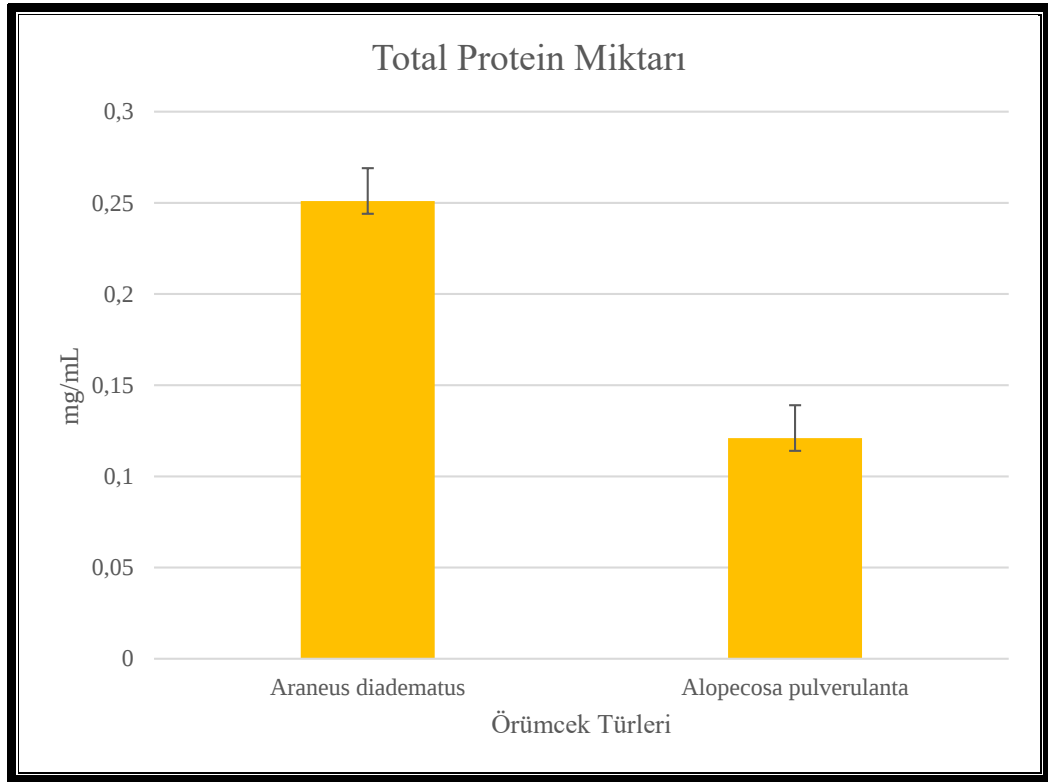
BULGULAR

4.1 Örneklerin Total Protein Miktarı

Örümcek türlerinden elde edilen süpernatantların protein miktarını belirlemek için Lowry yöntemi kullanıldı. *Araneus diadematus* örümcek türünün protein miktarları Çizelge 4.1.'de gösterilmektedir. *Araneus diadematus* türünün protein miktarı $0,251 \pm 0,018$ mg/mL olarak belirlenmiştir. *Alopecosa pulverulanta* türünün ise protein miktarı $0,121 \pm 0,007$ mg/mL olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Total protein miktarları

Örümcek Türleri	Total Protein Miktarı
<i>Araneus diadematus</i>	$0,251 \pm 0,018$ mg/mL
<i>Alopecosa pulverulanta</i>	$0,121 \pm 0,007$ mg/mL



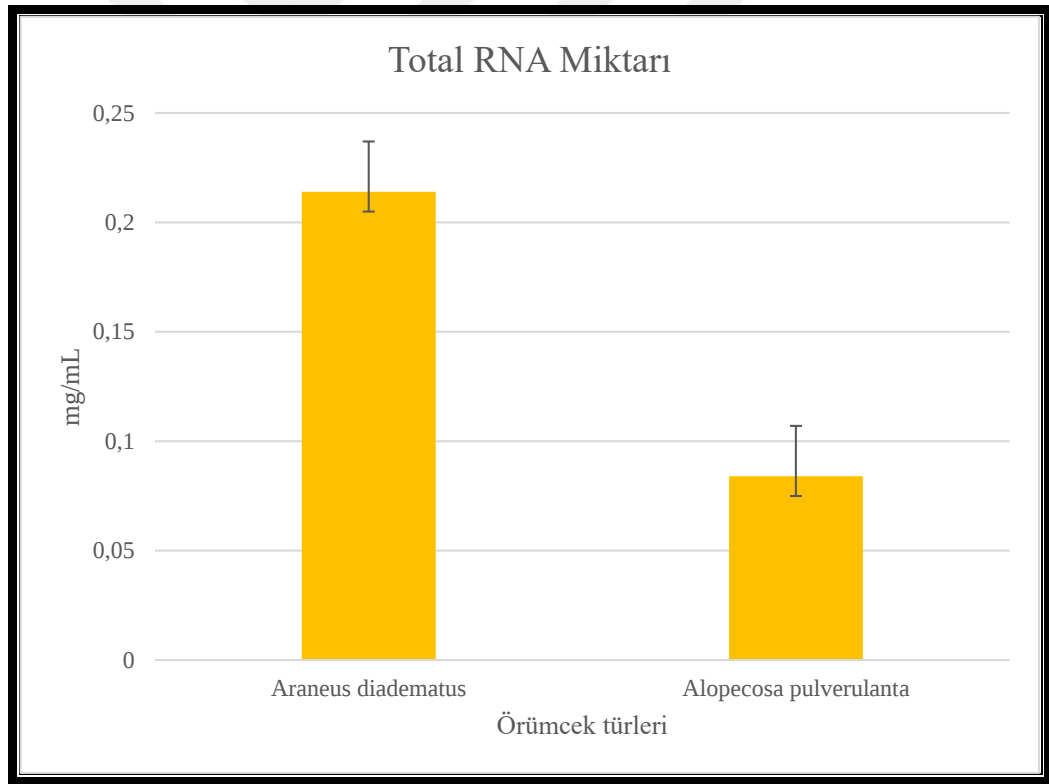
Şekil 4.1. Total protein miktarı

4.2 Örneklerin Total RNA miktarları

Örneklerin total RNA eldesi sonucu *Araneus diadematus* türünün total RNA miktarı $0,214 \pm 0,023$ mg/mL olarak belirlendi. *Alopecosa pulverulenta* türünün total RNA miktarı ise $0,084 \pm 0,009$ mg/mL olarak belirlendi. Sonuçlar Çizelge 4.2.'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.2. Örneklerin total RNA miktarları

Örümcek Türleri	Total RNA miktarı
<i>Araneus diadematus</i>	$0,214 \pm 0,023$ mg/mL
<i>Alopecosa pulverulenta</i>	$0,084 \pm 0,009$ mg/mL



Şekil 4.2. Total RNA miktarı

BÖLÜM V

SONUÇLAR

Canlıların farklı ortam koşullarına karşı tepkilerinin moleküler düzeyde belirlenmesinde RNA analizlerinin yapılması önem taşımaktadır. RNA analizleri, farklı yaşam koşullarına sahip olan canlılarda üretilen proteinlerin özelliklerinin belirlenmesinde ön bilgi sağlayıcı nitelik taşımaktadır. Örümceklerin adaptasyon ve çevre tolerans mekanizması ile ilgili olarak gen yazılımı ve canlının yapısal özelliklerini belirleyen proteinlerin, canlının ortam koşullarına uymalarını sağlanması ile ilgili biyokimyasal bilgileri sunması açısından bu araştırmalar ciddi derecede önem taşımaktadır. Örümcekler üzerine transkripsiyonel ve translasyonel bir yaklaşım ile toplam RNA ve protein miktarlarının araştırıldığı detaylı bir çalışmaya literatür taramasında rastlanılmamıştır. Sadece, Özpolat (2017) yapmış olduğu yüksek Lisans tezinde *Araneus quadratus* ve *Drassodes lapidosus* türlerinde total protein ve total RNA seviyelerini karşılaştırılarak, bu örümcek türleri arasındaki benzerlikler ya da farklılıkları moleküler düzeyde biyokimyasal analizler yapılarak incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda ağ yaparak avlanan *Araneus quadratus* türü örümceğin ağ yapmadan avlanan *Drassodes lapidosus* türü örümceğe göre protein miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Saravanan (2006), yaptığı çalışmada örümcek ağının yapısı ve özellikleri hakkında bilgiler vermiştir. Bu bilgilere göre örümcek ağı %80 su, amino asitler, glikoproteinler, yağlar, tuzlar ve moleküler ağırlıkta bileşiklerden oluşmaktadır. Kalan %20'lik kısım ise filamentlerden oluşmaktadır. Filamentler, glikoproteinlerin miktarı gen ekspresyonu ile belirlenmektedir. Bu bilgi ağ üretmek için yüksek amino asit ve yüksek protein sentezi olduğunu göstermektedir. Yaptığımız çalışma sonucunda elde edilen bilgiler bu verilerle paralellik göstermektedir.

İde vd. (2011), yaptıkları çalışmada örümcekler ağlarının karakteristik özelliklerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada örümcek ağlarının gizlenme, beslenme, dinlenme, yumurtaları koruma ve avlanma gibi farklı tiplerde oldukları ortaya konmuştur. Ayrıca bütün örümcek ağ tiplerinin farklı miktarlarda protein içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada avlanma amacıyla ağ yapan *Araneus diadematus* türü örümcek kullanılmıştır ve total protein miktarı belirlenmiştir. (İde vd., 2011), yaptığı

çalışmadan yola çıkarak gelecek çalışmalar için farklı tiplerde ağ üreten örümcek türleri için de bu analizlerin yapılması yeni verilerin bu alandaki bilgilere katkı sağlayacağı söylenebilir.

Bu çalışmada farklı ekolojik nişlere sahip ağ yapan ve ağ yapmayan farklı avlanma stratejilerine sahip örümcek türlerinin transkripsiyonel ve translasyonel ifadeleri ile gen ve protein boyutu hakkında genel düzeyde ön bilgiler edinebilmek için, total RNA ve total protein seviyeleri karşılaştırılarak farklı türler arasındaki moleküler düzeyde benzerlik ya da farklılıklar biyokimyasal analizlerle saptanmıştır. Bu amaçla ekolojik nişlere sahip olan iki örümcek türü seçilmiştir. Seçilen farklı ekolojik nişlere sahip örümcek türlerinden biri ağ yaparak avlanırken diğeri ise ağ yapmadan avlanan örümcek türüdür. Ağ yapan örümcek türü *Araneus diadematus* iken ağ yapmadan avlanan örümcek türü *Alopecosa pulverulanta* olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ağ yapan *Araneus diadematus* türünün total protein oranı ağ yapmadan avlanan örümcek türü *Alopecosa pulverulanta*’dan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca total mRNA oranı ise *Araneus diadematus*’da *Alopecosa pulverulanta*’dan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak ağ yaparak avlanan örümcek türünün ağ yapmadan avlanan örümcek türüne göre daha fazla transkripsiyon ve translasyon yaptığı yorumuna ulaşılmıştır. Bu sonuç ağ yapan örümcek türlerinin ağ yapmayan örümcek türlerine göre da fazla protein sentezi yapıp daha fazla gen ekspresyonu yaptığı bilgisini ortaya koymaktadır. Elde edilen bilgiler ışığında daha detaylı moleküler çalışmalar yapmak bu çalışmanın devam niteliğinde yeni sonuçlar elde etmeye ışık tutacaktır. Bunun yanı sıra farklı tiplerde ağ yapan örümcekler ile hem ağ yapıp hem koşucu olarak avlanan örümcek türlerinin de çalışılması ileriye yönelik yeni çalışma alanları oluşturabilir.

Sonuç olarak farklı avlanma stratejilerine sahip olan örümcek türleri arasında yapılan çalışmada ağ yaparak avlanan örümcek türünün transkripsiyonel ve translasyonel olarak gezici olarak avlanan örümcek türüne göre daha fazla RNA ve protein ürettiği gözlenmiştir. Çeşitli faktörlerin total RNA ve dolayısıyla total protein miktarı üzerine etkisi olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada bir örümceğin ağ yapma kapasitesine sahip olmasının protein yapıda olan ağı üretebilmek için daha fazla transkripsiyon yaptığı ve bunun sonucu olarak daha fazla protein ürettiği yapılan bilimsel çalışmalar ile ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

Babaşoğlu, A., Örümcekgiller (Arachnida), *Kültür Kitapevi*, Niğde, 1999.

Cavadas, M. A. S., Cheong, A. and Taylor, C. T., "The regulation of transcriptional repression in hypoxia", *Experimental Cell Research* 356(2), 173-181, 2017.

Chen, Y.-F., Zhang, A. Y., Zou, A.-P., Campbell, W. B. and Li, P.-L., "Protein methylation activates reconstituted ryanodine receptor Ca^{2+} release channels from coronary artery myocytes", *Journal of Vascular Research* 41(3), 229-240, 2004.

Chomczynski, P. and Sacchi, N., "Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction", *Analytical Biochemistry* 162(1), 156-159, 1987.

Cimato, T. R., Ettinger, M. J., Zhou, X. and Aletta, J. M., "Nerve Growth Factor-specific Regulation of Protein Methylation during Neuronal Differentiation of PC12 Cells", *The Journal of Cell Biology* 138(5), 1089-1103, 1997.

Clarke, S., "Aging as war between chemical and biochemical processes: protein methylation and the recognition of age-damaged proteins for repair", *Ageing Research Reviews* 2(3), 263-285, 2003.

Eisoldt, L., Smith, A. and Scheibel, T., "Decoding the secrets of spider silk", *Materials Today* 14(3), 80-86, 2011.

Ene, R., Papadopoulos, P. and Kremer, F., "Combined structural model of spider dragline silk", *Soft Matter* 5(22), 4568-4574, 2009.

Fukushima, Y., "Secondary structural analysis in the solid state for analogous sequential polypeptides of glycine-rich sequence of spider dragline silk", *Polymer Bulletin* 45(3), 237-244, 2000.

Glyde, R., Ye, F., Darbari, V. C., Zhang, N., Buck, M. and Zhang, X., "Structures of RNA Polymerase Closed and Intermediate Complexes Reveal Mechanisms of DNA Opening and Transcription Initiation", *Molecular Cell* 67(1), 106-116, 2017.

İde, S., Bayarı, S. H., Türkeş, T., Mergen, Y. O., Çelik, Ö., Bütün, V., Sargon, M. F., Kocatepe, N. and Kriechbaum, M., "Structural characterization of a variety of spider silks from Turkey using different biophysical techniques", *Journal of Spectroscopy* 25(3-4), 155-167, 2011.

Kujubu, D. A., Stimmel, J. B., Law, R. E., Herschman, H. R. and Clarke, S., "Early responses of PC-12 cells to NGF and EGF: Effect of K252a and 5'-methylthioadenosine on gene expression and membrane protein methylation", *Journal of Neuroscience Research* 36(1), 58-65, 1993.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., "Protein measurement with the Folin phenol reagent", *Journal of Biological Chemistry* 193(1), 265-275, 1951.

Martel, A., Burghammer, M., Davies, R., DiCola, E., Panine, P., Salmon, J.-B. and Riek, C., "A microfluidic cell for studying the formation of regenerated silk by synchrotron radiation small-and wide-angle X-ray scattering", *Biomicrofluidics* 2(2), 024104, 2008.

Memişoğlu, A. S., Hayvanlarda Solunum Sistemi,
<http://kisi.deu.edu.tr//asli.memisoglu/Genel%20Biyoloji%20II/7-Hayvanlarda%20solunum%20sistemleri.pdf>, 10 Temmuz 2021.

Özpolat, M. H., Farklı örümcek türlerinde biyokimyasal analizlerle protein ve RNA seviyelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde, s. 23-24, 2017.

Pike, J. W., "Vitamin D3 receptors: structure and function in transcription", *Annual review of nutrition* 11(1), 189-216, 1991.

Rhoads, G., What Do Spider Eyes Look Like? How Many Eyes Does a Spider Have?
<https://owlcation.com/stem/Spider-Eyes>, 11 Temmuz 2021.

Saravanan, D., "Spider silk-structure, properties and spinning", *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management* 5(1), 1-20, 2006.

Sheu, H.-S., Phyu, K. W., Jean, Y.-C., Chiang, Y.-P., Tso, I.-M., Wu, H.-C., Yang, J.-C. and Ferng, S.-L., "Lattice deformation and thermal stability of crystals in spider silk", *International Journal of Biological Macromolecules* 34(5), 267-273, 2004.

Stowe, M. K., "Observations of two nocturnal orbweavers that build specialized webs: *Scoloderus cordatus* and *Wixia ectypa* (Araneae: Araneidae)", *Journal of Arachnology* 2(1), 141-146, 1978.

Trancik, J. E., Czernuszka, J. T., Bell, F. I. and Viney, C., "Nanostructural features of a spider dragline silk as revealed by electron and X-ray diffraction studies", *Polymer* 47(15), 5633-5642, 2006.

Triezenberg, S. J., "Structure and function of transcriptional activation domains", *Current opinion in genetics & development* 5(2), 190-196, 1995.

URL-1,
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/69/Kaldari_Phidippus_audax_01.jpg, 20 Temmuz 2021.

URL-2, https://tr.wikipedia.org/wiki/Araneus_diadematus, 15 Temmuz 2021.

URL-3,
<http://www.eakringbirds.com/eakringbirds3/arachnidsinfocusalopecosapulverulenta.htm>, 16 Temmuz 2021.

Vehoff, T., Glišović, A., Schollmeyer, H., Zippelius, A. and Salditt, T., "Mechanical properties of spider dragline silk: humidity, hysteresis, and relaxation", *Biophysical Journal* 93(12), 4425-4432, 2007.

Vemuri, R. and Philipson, K. D., "Protein methylation inhibits Na⁺-Ca²⁺ exchange activity in cardiac sarcolemmal vesicles", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 939(3), 503-508, 1988.

ÖZGEÇMİŞ

Simge ÖZARSLAN yılında’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 2012 yılında Niğde Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünde lisans eğitimine başladı. 2016 yılında Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünden mezun oldu. 2017 yılında Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında tezli yüksek lisans öğrenimine başladı. 2019 yılında Arnavutköy Polis Meslek Yüksek Okulunu kazandı ve Polislik eğitimi aldı. 2020 yılında APEM’den mezun oldu ve İstanbul /Tuzla ilçesine Polis olarak atandı. Halen Tuzla Şifa Şehit Fadıl Şişman Polis Merkezinde görev yapmaktadır.

