

Aileme ve Değerli Hocalarım...



28201

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI SPALAX POPULASYONLARINDA GLUKOZ-6-FOSFAT  
DEHİDROGENAZ VE 6-FOSFOGLUKONAT DEHİDROGENAZ  
ENZİMLERİNİN VARYASYONLARI ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA**

**HACI RAMAZAN YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

İş bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim  
Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan.. Prof. Dr. Esref YÜKSEL..... *[Signature]*..

Üye.. Doç. Dr. Kanyahan Fişkin..... *[Signature]*.....

Üye.. Yrd. Doç. Dr. Özker Yesilada..... *[Signature]*.....

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.21..1.09..1993

*[Signature]*  
Prof. Dr. Esref YÜKSEL  
Enstitü Müdürü



**ÖZET**

Çalışmamız, *Spalax* genusunun türleşmesinin aydınlatılmasında katkıda bulunabilmek için planlanmıştır. Bu amaçla Fırat nehrinin iki tarafında kalan bölgedeki *Spalax* populasyonlarının karaciğerindeki Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G-6-PD) ve 6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz (6-PGD) enzim aktiviteleri arasındaki fark araştırılmıştır.

Araştırma bölgesindeki *Spalax* genusuna ait hayvanlar 3 populasyona ayrılarak incelenmiştir. G-6-PD ve 6-PGD enzimlerinin spesifik aktiviteleri 0.01'lik hassasiyetle ölçülerek tablo halinde verilmiştir (Çizelge 4.1).

Bu veriler ışığında bu üç populasyonda görülen ortalama spesifik aktivite farklılıkları tartışıldı.

## SUMMARY

The purpose in planing this investigation was to explain speciation problems in genus *Spalax*. For this, we examined the activities of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PD) and 6-Phosphogluconate Dehydrogenase (6-PGD) enzymes from liver of *Spalax* samples taken from both sides of river Euphrates.

The samples belonging to genus *Spalax* research area were separated into three populations. The spesific activities of G-6-PD and 6-PGD enzymes were measured with 0.01 significant level. The results were given in a table (Table 4.1).

The differences in the mean spesific activities shown in the three population were discussed in respect to the results.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı bana teklif eden, çalışmamın bütün safhalarında yakın ilgi ve desteğini bir an bile esirgemeyen, yerinde ve zamanında yaptığı uyarılarla yol göstererek bana güç ve moral veren değerli danışman hocam, Prof. Dr. Eşref YÜKSEL'e, çalışmanın belirli aşamalarında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Kayahan FİSKİN'a, Yrd. Doç. Dr.A. Ümit ERDEMLİ ye ve Yrd. Doç. Dr. M. Doğan GÜLKAC'a en içten sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, araştırmalarım esnasında yardımcı olan tüm Biyoloji elemanlarına ve çalışmalarım sırasında bana manevi yönden her zaman yardımcı olan ve rahat bir çalışma ortamı sağlayan eşim Behice YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Spalax Hakkında Genel Bilgiler.....	4
2.2. Çalışılan Enzimler Hakkında Genel Bilgiler.....	6
2.2.1. G-6-PD Molekülü Hakkında Genel Bilgiler.....	6
2.2.2. 6-PGD Molekülü Hakkında Genel Bilgiler.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	8
3.1. Araştırma Alanının Tanımı ve Spalax Örneklerinin Eldesi.....	8
3.2. Kullanılan Kimyasal maddeler.....	8
3.3. Enzim Çalışmaları.....	11
3.3.1. Dokunun işleme Hazırlanması..	11
3.3.2. Enzim Miktarlarının Tayini....	15
3.3.3. Protein Tayin Yöntemi.....	16
3.3.3.1 Bu Yöntem İçin Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması.....	16
4. BULGULAR.....	19
5. TARTIŞMA.....	22
6. KAYNAKLAR.....	25

ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 2.1. <i>Spalax leucodon</i> 'un Yandan Görünüşü.....	4
Şekil 2.2. <i>Spalax leucodon</i> 'un Önden Görünüşü.....	5
Şekil 3.1. Çalışma Alanının Yerini Gösterir Harita...	9
Şekil 3.2. Örneklerin Alındığı Yeri ve Araştırma Alanının Ayrıntısını Gösterir Harita.....	10
Çizelge 3.1. Aktivite Tayin Karışımlarının Bileşimi..	14
Çizelge 4.1. Elazığ, Malatya ve Akçadağ <i>Spalax</i> Populasyonlarının G-6-PD ve 6-PGD Enzimlerinin Spesifik Aktivitelerinin Karşılaştırılması.....	21



## 1. GIRIS

Son yirmi yilda sitogenetik ve biyokimyasal veriler, taksonomik araştırmalarda ve türleşmenin izahında oldukça yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Bu tür çalışmalar taksonomik kriterlerin yetersiz kaldığı durumlarda, türleşmenin yönünün ve zamanının belirlenmesinde oldukça önemli veriler sağlamaktadır.

Spalax genusu hayvanları rodentlerin toprak altı ekolojik nişi kullanan ekstrem örneklerindedir (1). Bu hayvanların dikkati çeken anatomik ve davranış adaptasyonları, yaşama tarzlarının gereği, kazmaya müsait ayak şekilleri ile ilişkilidir. Toprak altı yaşama bağlı olarak gözlerinin gelişiminde büyük gerileme görülür. Hariçten gözleri bulunmamaktadır (2).

Spalax genusuna dahil üyeler üzerinde özellikle 1970'li yılların sonundan itibaren yoğun olarak çalışılmaya başlanmıştır. Bu hayvanların karmaşık taksonomik durumları nedeni ile sitogenetik çalışmalar (araştırmalar) oldukça rağbet görmüştür. Daha sonraları bu çalışmalar Spalax'ların taksonomik durumları yanında türleşmelerinin ve evrimlerinin de karmaşık olduğunu ortaya koymuştur. Bugün Spalax'ın yaklaşık 30 farklı karyotipik formu Kuzey Afrika, İsrail, Türkiye, Balkanlar ve Kafkasya'dan kaydedilmiştir (3).

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (D-Glukoz 6P : NADP oksidoredüktaz, E.C.1.1.1.49) (G-6PD) ve 6- fosfoglukonat dehidrogenaz (6- fosfo-D- glukonat : NADP oksidoredüktaz (dekarboxylating) E.C.1.1.1.44) (6-PGD) enzimlerinin fizyolojik önemleri saptanarak üzerinde çok geniş

kapsamlı çalışmalar yapılmıştır.

G-6-PD, karbonhidrat metabolizmasının ikinci ana yolu olan pentozfosfat yolunun ilk enzimidir ve NADP<sup>+</sup> koenzim olarak kullanılarak D-Glukoz-6-fosfat'ın 6-Fosfoglukono- $\delta$ -lakton'a yükseltgenmesini katalizler. Enzim ayrıca bu metabolik yolun hızını ayarlayan regülatör enzim olması bakımından da değer taşır.

Koenzimi NADP<sup>+</sup> olan 6-PGD, pentozfosfat yolunda 6-fosfoglukonat'ı dekarboksilasyona uğratarak, D-ribuloz 5-fosfat'ı meydana getirir (4).

Enzimlerin hem fizyolojik hem de klinik önemlerinin anlaşılması ile özellikle insan dahil değişik tür canlılar üzerinde geniş kapsamlı çalışmalar yapılmıştır (5).

G-6-PD enzimine ilginin pekçok nedeni vardır. G-6-PD, hayvan dokularında, birçok bitki ve mikroorganizmada heksozmonofosfat yolunun ilk reaksiyonunu katalizler ki bu yol, NADPH ve pentozfosfatları üretir (4).

Son zamanlarda türleşmenin açıklanmasında çeşitli türde hayvan ve insan dokuları üzerinde protein-enzim çeşitliliği çalışılmaktadır. Bu çalışmalar daha çok Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi üzerinde yoğunlaşmıştır. Özellikle insan dokularında (6, 7, 8, 9, 10,); bakterilerle (11); ratlarla (12, 13, 14, 15, 16); tavşan ve tavukla (17); sığırla (18) çalışılmıştır.

Glukoz-6-fosfatdehidrogenaz'ın aktivitesi üzerinde de günümüze değin pek çok çalışma yapılmıştır (6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31).

6-fosfoglukonat dehidrogenaz'ın aktivitesi üzerinde de günümüze değin pek çok çalışma yapılmıştır (21, 23, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37).

Bölgemizde Yüksel (1984) tarafından Fırat nehrinin batısında(Malatya) ve doğusunda(Elazığ) yapılan çalışmada Elazığ populasyonu *Spalax ehrenbergi*, Malatya populasyonu *Spalax leucodon* olarak teşhis edilmiştir. Karyotip analizleri neticesinde *S. leucodon*'da  $2n = 60$  ve  $NF = 80$ , *S. ehrenbergi*'de  $2n = 52$  ve  $NF = 76$  olduğu tesbit edilmiştir. İki türün kromozom morfolojisi bakımından da farklı olduğu görülmüştür (38).

Gülkaç ve Yüksel (1989) tarafından yapılan bir diğer çalışmada Malatya, Yazıhan ve Arguvan'dan toplanan kör fare örnekleri *Spalax leucodon cilicicus* Mehely (1909) olarak tanımlanmıştır. Karyotipik analizlerine gelince, Tohma çayının iki yanındaki populasyonların (Malatya ve Yazıhan populasyonları)  $2n=60$  ve  $NF=80$  olarak aynı karyotipe sahip oldukları bulunmuştur. Diğer yandan, Yazıhan populasyonundan coğrafik olarak izole durumda olmayan ve Tohma çayının daha kuzeyinde yerleşen Arguvan populasyonunun diploid kromozom sayısı 60 ve  $NF=82$  olduğu görülmüştür (3).

Yukarıda zikredilen karyotip ve NF değerlerinde görülen farklılıkların enzim varyasyonlarında da görülüp görülemediğini, coğrafik engellerin *Spalax* populasyonları üzerinde ne derece etkili olduğunu test etmek ve *Spalax* genusunun türleşmesinin aydınlatılmasına katkıda bulunmak amacıyla *Spalax* genusunda özellikle Malatya, Akçadağ ve Elazığ yöresi esas alınmak kaydıyla bu tür bir çalışmaya gidilmesi uygun görülmüştür.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Spalax Hakkında Genel Bilgiler

Rodentlerin birkaç farklı tipi toprak altı ekolojik nişi kullanan özelleşmiş memeliler arasında bulunur. Kendi familyasının (Spalacidae) tek genusu olan Spalax genusu mensubları böyle rodentlerin ekstrem bir örneğidir. Genellikle toprak altı bir hayat tarzı ile sınırlanmışlardır.

Vücut renkleri mevsimsel varyasyon göstermekle birlikte, genel vücut rengi gövdenin alt tarafı ve yanlarda sarımsı kahverengi olup çok sık ve yumuşak tüylerle kaplıdır; kulak bölgesi ile gövdenin alt kısmı koyu, başın ön tarafı ise açık gri renktedir; burundan kulaklara doğru uzanan beyazımsıtrak iki çizgi bulunmaktadır; alt çeneden karına doğru uzanan kısım seyrek tüylerle kaplıdır (Şekil 2.1,2.2)(39).



Şekil 2.1. Spalax leucodon'un yandan görünüşü.

Gövde silindirik şeklinde olup, baş gövdeden biraz daha geniştir; boyun kısa ve gövde kalınlığı kadardır; ağız küt olup gözler körelmiştir ve dışarıdan gözleri görülememektedir; burunun üzerindeki deri tabakası kalın ve serttir; kulak kepçeleri körelmiş olup büyükçe olan ve orta kulağa açılan kulak açıklığı tüyler arasında görülebilmektedir; kuyruk mevcut olmayıp bu kısımda çok küçük çıplak bir çıkıntı vardır; kuvvetli yapıda olan ön ve arka ayaklarda keskin tırnaklarla sonlanan beşer parmak bulunmaktadır (Şekil 2.1, 2.2) (39).



Şekil 2.2. Spalax leucodon'un önden görünüşü.

Alt kesici dişleri diğer rodentlerle kıyaslandığında oldukça gelişmiştir; bu dişler alt çene çıkıntısının posterior ucundaki bir kemik kılıftan ileriye doğru çıkmışlardır (Şekil 2.2) (39).

Spalax, Güneydoğu Avrupa, Yunanistan, Yugoslavya,

Romanya, Bulgaristan, Türkiye, İsrail, Irak ve Kuzey Afrika'da yayılmış bulunmaktadır. Ancak Kuzey Afrika ile İsrail arasında Akdeniz sahil şeridi boyunca yayılmış olan populasyonların devamlılığı Sina'da kesilmiştir (39).

## 2.2. Çalışılan Enzimler Hakkında Genel Bilgiler

### 2.2.1. G-6-PD Molekülü Hakkında Genel Bilgiler

Enzimin çeşitli varyantlarının bulunması nedeniyle amino asit bileşimi de çeşitlilik gösterir. Maya hücresi G-6-PD'ında  $Zn^{++}$  ve diğer metallerin varlığı saptanmıştır. Sığır adrenal G-6-PD enziminin kantitatif analizi  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  metallерinin varlığını göstermiştir. İnsan eritrositi G-6-PD'nin ise bir metaloenzim olmadığı farkedilmiştir. Birçok istisna dışında mikrobiyal G-6-PD enzimlerinin monomerlerinin molekül ağırlığı 50.000-60.000 arasında değişirken memeli G-6-PD'larının monomerlerinin molekül ağırlığı 58.000-67.000 arasında değişir (5). Sıçan karaciğeri G-6-PD enziminin monomer molekül ağırlığı bazı araştırmacılar tarafından 28.000 bulunurken bazıları tarafından 64.000 olarak hesaplanmıştır (5). Sıçan karaciğeri G-6-PD enzimi ile yapılan çalışmalar bu enzimin oldukça fazla helikal yapı gösterdiğini rapor etmektedir. Sıçan karaciğeri G-6-PD enziminin piridoksal-5' -fosfat ile muamele edildiğinde inhibisyona uğradığı Gözükara (1975), tarafından gösterilmiştir. Çeşitli araştırmalardan elde edilen sonuçlara

bakılacak olursa G-6-PD enziminde katalitik aktiviteden sorumlu olan amino asitlerin sistein, tirozin, histidin ve lizin olduğu kanısına varılmaktadır (40).

### 2.2.2. 6-PGD Molekülü Hakkında Genel Bilgiler

6-PGD karbohidrat metabolizmasında pentoz fosfat yolunun bir anahtar enzimidir. Asetik asit bakterilerindeki enzimin diğer kaynaklardaki enzimlerle karşılaştırıldığında spesifik koenziminin farklı olduğu iyi bilinmektedir. Glukonobakter türlerindeki enzim NADP ve NAD'ı aynı oranlarda redükler. Halbuki memelilerdeki ve mayalaraki enzim özellikle NADP'a bağımlıdır (41).

6-PGD aktif hale gelmesi için magnezyum iyonlarına ihtiyaç gösterir ve ağır metallerle inhibe edilir. Fosfat iyonlarının çokluğunun 6-PGD aktivitesi için bir inhibitör olduğu, NADP'nın çokluğu ise 6-PGD'ı inhibe ettiği rapor edilmiştir (42).

Rat karaciğer 6-PGD'ı molekül ağırlığı 102.000 olup özdeş iki alt ünite ihtiva eder. (43). 6-PGD'in aktif merkezinde tirozin amino asidi bulunur (4).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

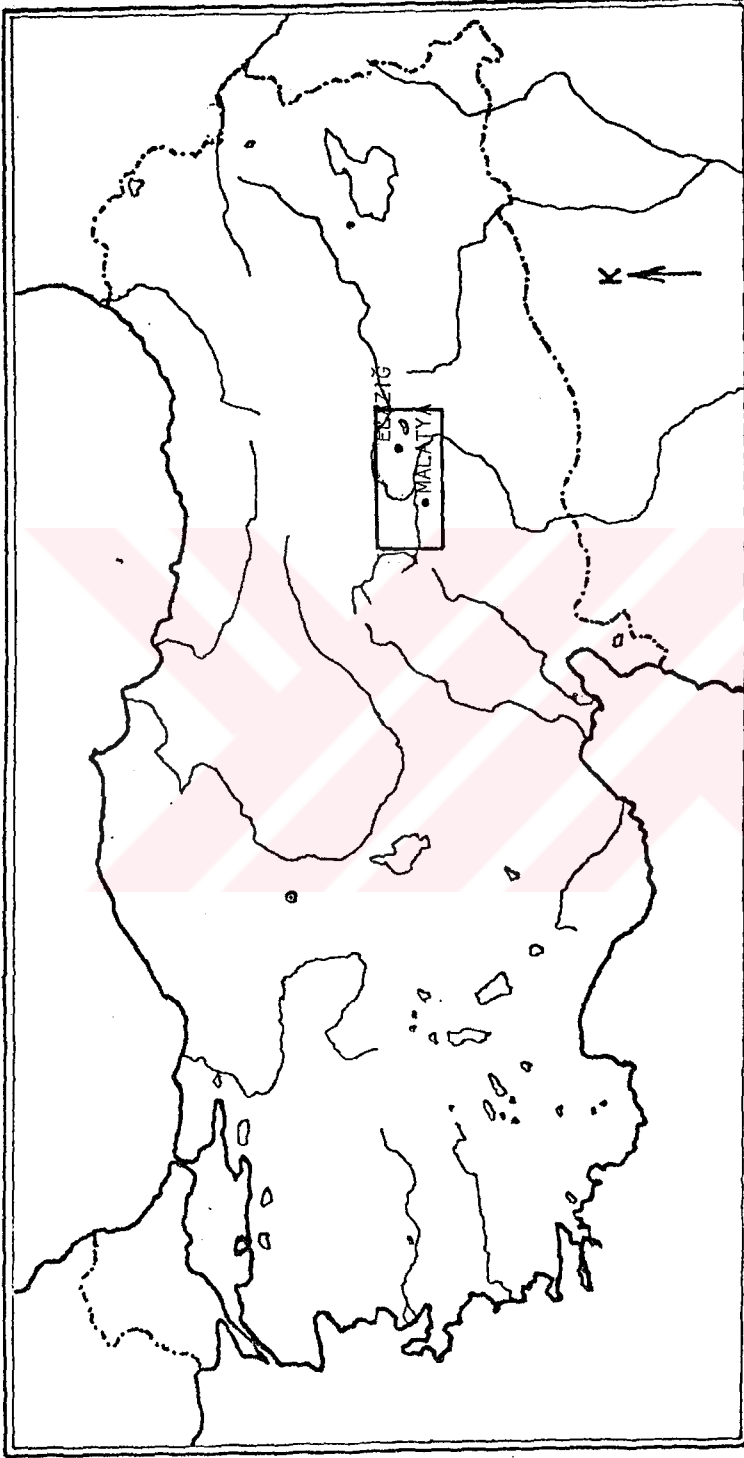
#### 3.1. Araştırma Alanının Tanımı ve Spalax Örneklerin Eldesi

Araştırmada Fırat nehrinin doğu (Elazığ) ve batı (Malatya ve Akçadağ) tarafından yakalanan kör fare örnekleri kullanılmıştır. Kör fareler yaşadıkları doğal habitatlardan canlı olarak yakalanmışlardır. Araştırmanın yürütüldüğü bölgenin deniz seviyesinden yüksekliği yaklaşık 880-1150 m arasında değişen lokalitelerinden 19 kör fare örneği toplanmıştır. Toplanan 19 kör fare örneğinden 8 tanesi Fırat nehrinin doğu (Elazığ) tarafından alınmıştır. Bunlardan 5'i dişi, 3'ü erkektir. Fırat nehrinin batı (Malatya, Akçadağ) tarafından yakalanan 11 örneğin 7'si dişi 4'ü erkektir (Şekil:3.1,3,2).

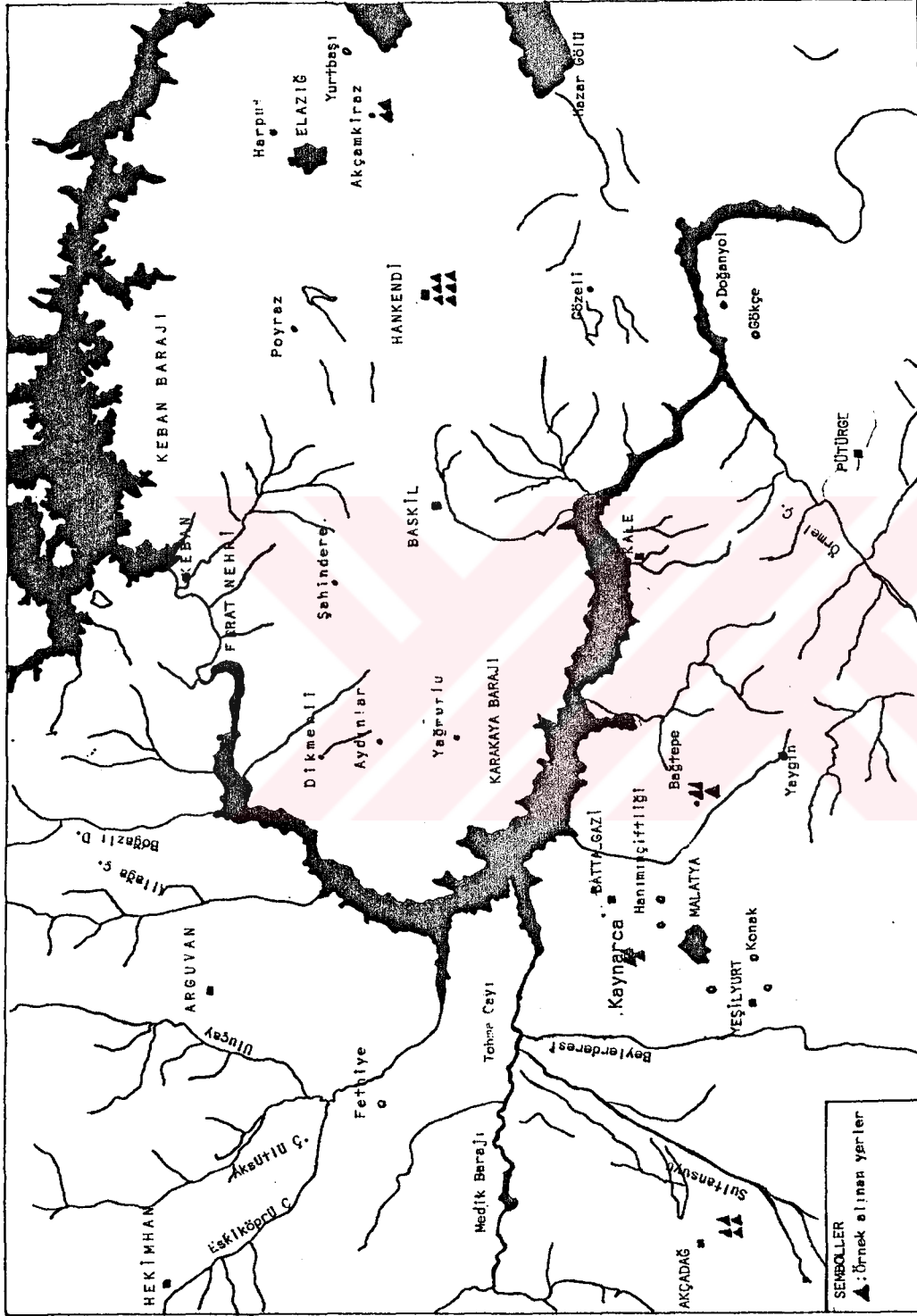
#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

KCL, NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, Na,K tartarat, Tris, HCL, KOH, Folin & phenol reagent, D-Glukoz-6-fosfat (disodium salt), Nicotinamidadenindinukleotidphosphat, Merck firmasından; MgCL<sub>2</sub>, 6-phosphogluconic acid, Sigma firmasından satın alınmıştır.





Şekil 3.1 Çalışma alanının yerini gösterir harita.



Şekil 3.2. Örneklerin alındığı yeri ve araştırma alanının ayrıntısını gösterir harita.

### 3.3. Enzim Çalışmaları

#### 3.3.1 Dokunun İşleme Hazırlanması

Çalışmalar karaciğer üzerinde yapılmıştır. Dokunun işleme hazırlanması için aşağıdaki sıra izlenmiştir :

1. Canlı olarak doğal habitatlarından yakalanan hayvanlar 2-3 gün laboratuvar şartlarına uyum sağlama-  
ları için bekletildi. Bu hayvanlar eter ile bayıltılarak ağırlıkları ve boyları ölçüldü. Hayvanlar 4-5 saat sonra boyun kemikleri kırılmak suretiyle aniden öldürülerek karın kısımları açıldı ve karaciğerleri süratle çıkarılıp 0.15 M KCL çözeltisi içeren buz içindeki beherlere konuldu. 0.15 M KCL çözeltisi ile perfüzyon işlemi yapıldı.

2. Karaciğerlerin fazla suyu kurutma kağıdı ile alındıktan sonra tartıldı ve ağırlığının 4 katı 0.15 M KCL çözeltisi ile birlikte homojenizatör tüpüne yerleştirildi. Homojenizatör tüpü, içi buz dolu başka bir plastik kabın içinde bırakıldı. Böylece, mevcut enzimlerin yıkılmasını minimuma indirmek için işlemler mümkün olduğu kadar hızlı yapıldı ve 0-4°C arasında yürütüldü.

Örneklerin karaciğer dokuları alınarak aşağıdaki işlemlerden geçirilerek değerlendirildi.

a) Karaciğerler, Status Pcu homojenizatöründe iyice parçalanana kadar dört defa yavaş yavaş aşağı yukarı hareketle homojenize edildi.

b) Homojenize karaciğer dokusu ağız kapaklı plastik tüplere konuldu ve (rotor tipi 42.1, rotor no'su 2082 olan başlıkla) Beckman Model L8-70M ultrasantrifüjünde +4 °C da 28.000 rpm'de 60 dakika döndürüldü. Ultrasantrifüjden alınan numunelerin supernatanları buz içindeki

temiz tüplere alındı. Tüplerin ağzı sıkıca kapatılarak derin dondurucuda saklandı.

c) Enzim aktivite tayini yapıldı. Aktivite tayini için aşağıdaki çözeltiler hazırlandı.

a) 0.25 M TRiS-HCl tamponu pH=8

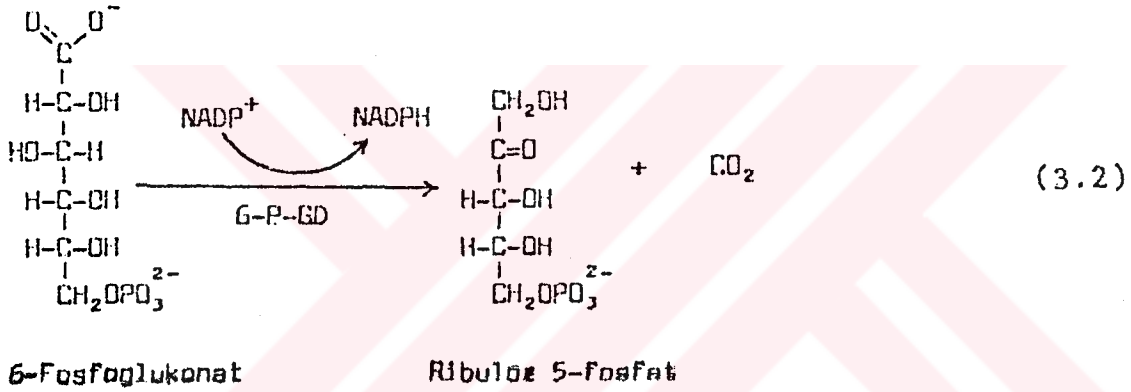
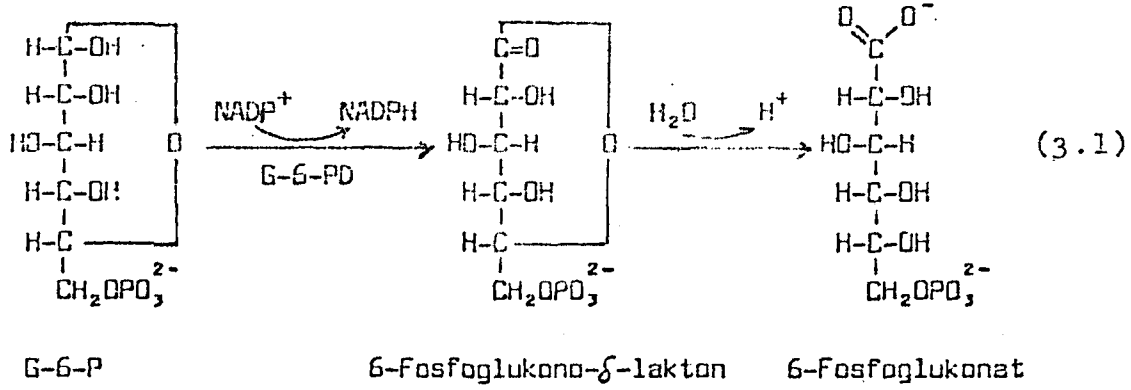
b) 0,175 M MgCl<sub>2</sub>

c) 0,015 M NADP<sup>+</sup> seyreltik KOH ile pH=5,5'a ayarlandı ve dondurucuda saklandı.

d) 0,01 M G-6-P Dondurucuda saklandı.

e) 0,01 M 6-PG Dondurucuda saklandı.

Elimizdeki supernatan örnekleri hem G-6-PD hem de 6-PGD enzimleri içerir. Eğer TRiS-HCl tamponu içinde NADP<sup>+</sup>, G-6-P ve Mg<sup>++</sup> iyonu var ise enzim denklem (3.1) gereğince G-6-P'ı 6-fosfoglukono-δ-laktone dönüştürür. Bu oldukça dayanıksız bir bileşiktir hemen moleküle 1 molekül su katılarak 6-fosfoglukonata (6-PG) dönüşür. 6-PG ikinci enzimin substratıdır. Ortam koşulları koenzim (NADP<sup>+</sup>) ve kofaktör bakımından uygun olduğundan ikinci enzim de denklem (3.2) gereğince aktivite gösterir ve sonuçta ikisinin aktivitesi birden ölçülmüş olur (5).



Bu iki enzimin aktivitelerini ayrı ayrı tayin etmek için iki ayrı enzim aktivite tayin karışımı hazırlandı (Çizelge 3.1). İkinci karışıma G-6-P ilave edilmedi. Böylece birinci karışım ile hem G-6-PD hem de 6-PGD enzimlerinin aktivitesi ölçülürken ikinci karışım ile sadece 6-PGD enziminin aktivitesi ölçülmüş oldu.

Çizelge 3.1 : Aktivite tayin karışımlarının bileşimleri

		<u>ATK (I)</u>	<u>ATK (II)</u>	
		G-6-P ve	6-PGD	
		6-PGD	için	
		için	enzim	
		enzim	aktivite	
		aktivite	tayin	
		tayin	bileşimi	Son Kon-
		bileşimi		santrasyon
<u>Cözelti ve (kons.)</u>	<u>( ml)</u>	<u>(ml)</u>	<u>(M)</u>	
TRIS-HCL pH=8 (0,25M)	24	24	0,12	
MgCl <sub>2</sub> (0,175M)	3	3	0,0104	
NADP <sup>+</sup> (0,015M)	3	3	0,0009	
6-PG (0,01M)	3	3	0,0006	
G-6-P (0,01M)	10	-	0,002	
H <sub>2</sub> O	6,5	16,5	-	
Toplam	49,5	49,5		

Enzim aktivite tayini için spektrofotometrik yöntem seçildi. Bu metod uygulama kolaylığı ve hassaslığı ile diğer metodlara tercih edilmiştir. Reaksiyon ürünü olan NADPH 340 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon verirken NADP<sup>+</sup> bu dalga boyunda herhangi bir absorpsiyon vermez.

Denemeye alınan Spalax örneklerinin karaciğer süpernatantından hem ikili hem tek aktivite tayini yapıldı. 2.97 ml aktivite tayin karışımları deney tüplerine otomatik pipet ile dağıtıldı. ikili ve tek aktivite tayin karışımlarını içeren deney tüpleri 30°C deki su banyosu

içine yerleştirildi.

Karaciğer supernatanından 0.03 ml alınıp 2.97 ml lik aktivite tayin karışımına karıştırılıp süratle spektrofotometreye (Beckman L8-70M ) yerleştirildi. 0. ve 5. dakikadaki absorbanlar okunarak aradaki farklar hesap edildi.

### 3.3.2. Enzim Miktarlarının Tayini

5 dakikadaki absorban farkları tespit edildikten sonra ml deki enzim ünite sayısı şöyle hesaplandı:

$$A = C \cdot \epsilon$$

A = absorban

C = konsantrasyon (mmol/ml)

$\epsilon$  = molar absorban

$$C = \text{milimol/ml} = 1000 \mu\text{mol/ml}$$

$$A_{340} = 1$$

$$\text{Ünite enzim/ml} = \frac{A_{340}}{5} \times \frac{1}{6220} \times 1000 \times \text{Seyreltme}$$

$$\text{Ünite enzim/ml} = \frac{A_{340}}{5} \times \frac{1}{6220} \times 1000 \times 0.03$$

Burada 1 ünite enzim, 1 mol NADPH yapımını optimal şartlarda bir dakikada sağlayan enzim miktarını gösterir. Birinci aktivite tayin karışımı ile hem G-6-PD ve

hem de 6-PGD enzimlerinin miktarı, ikinci aktivite tayin karışımı ile ise sadece 6-PGD enziminin miktarı tayin edilir. ikinci değerler birinciden çıkarılınca her numunedeki G-6-PD miktarı hesaplanmış olur.

Hesaplanan G-6-PD miktarları her örnekteki protein miktarına bölünerek her örnek için G-6-PD enziminin spesifik aktivitesi hesaplandı. Aynı işlem 6-PGD enzimi için de yapıldı (Spesifik aktivite : 1mg proteinde bulunan enzim ünite sayısı spesifik aktivite olarak tanımlanmıştır (Ünite/mg protein)) .

### 3.3.3. Protein Tayin Yöntemi

Süpernatanın 1 mililitresindeki protein miktarının tayini için Lowry ve arkadaşlarının (1953) protein tayin yöntemi uygulandı(44).

#### 3.3.3.1. Bu Yöntem için Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması

Çözelti A :

2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.1 N NaOH içerisinde).100 Volüm (100 ml)

2% Na, K Tartarat.....1 Volüm (1 ml)

1% CuSO<sub>4</sub>.....1 Volüm (1 ml)

Bu çözeltiler ayrı ayrı hazırlandı ve kullanılacak miktar deneyden hemen önce karıştırılarak çözelti A oluşturuldu.

Çözelti B :

Folin's Fenol ayıracağı.....1 Volüm (1ml)

Bidistile su.....1 Volüm (1ml)



Çözelti B, deney esnasında beklenen 10 dakika içerisinde hazırlandı.

BSA çözeltisi :

Standart protein çözeltisi olarak BSA (Bovin Serum Albumin) kullanıldı.

Lowry Protein yöntemi aşağıdaki şekilde uygulandı :

1) Her süpernatant örneğinden 0.1 ml alınarak 9.9 ml KCL ile seyreltildi (100 kat seyreltme).

2) Taze hazırlanmış A çözeltisinden her tüpe 2.5 ml konuldu.

3) 1.345 mg/ml BSA stok çözeltisi kör tüpler hariç, sırasıyla; 1. tüpe 10 µl, 2.tüpe 20 µl, 3.tüpe 30 µl, tüpün duvarlarına mikropipet yardımı ile damla damla bırakıldı.

4) Diğer tüplere ise seyreltilmiş süpernatandan 5 ve 10 µl süpernatant tüpün duvarlarına damla damla bırakıldı.

5) İki defa vortex ile karıştırıldı, 10 dakika bekletildi.

6) Kör tüpler hariç her tüpe çözelti B'den 250 µ eklendi. Tüpler ikişer kez karıştırıldı ve 45 dakika karanlıkta bekletildi.

7) 695 nm de absorbans okundu.

8) Standart BSA (Sığır serum albumin proteini) çözeltilerine de aynı işlemler uygulanarak çalışma BSA standart eğrisi çizildi.

Örneklerden elde edilen absorbans değerlerine karşılık gelen protein miktarları Standart BSA eğrisinden okunarak 1 ml'deki protein miktarı hesaplandı.

5 dakikadaki absorbans farkları tespit edildikten

sonra ml'deki enzim ünite sayısı hesaplandı. Hesaplanan G-6-PD ve 6-PGD miktarları her örnekteki protein miktarına bölünerek her örnek için G-6-PD ve 6-PGD enzimlerinin spesifik aktiviteleri hesaplandı.



#### 4. BULGULAR

Araştırma alanının çeşitli bölgelerinden toplanan kör fare örnekleri *Spalax leucodon* Nordmann (1840) ve *Spalax ehrenbergi* Nehring (1898) olarak teşhis edildi. Elde edilen sonuçlara göre araştırma alanı üç populasyon bölgesine ayrılarak incelendi. Bu populasyonlardan birincisi Fırat nehrinin doğusundaki Elazığ'da yayılmış olan populasyondur. İkinci ve üçüncü populasyonlar ise Fırat nehrinin batısında yayılmıştır. Batıdaki iki populasyondan birisi "Malatya Populasyonu", diğeri ise "Akçadağ Populasyonu" olarak isimlendirildi.

Her bölgeden toplanan kör fare örnekleri üzerinde yapılan incelemelerde kendi aralarında morfolojik bir farklılığa rastlanmamıştır. Ayrıca yapılan ölçümler sonucunda, erkeklerin tüm boy uzunlukları minimum 131 mm ile maksimum 220 mm arasında değişmekte olup ortalama tüm boy uzunlukları 177 mm olarak tespit edilmiştir. Aynı şekilde dişilerin tüm boy uzunlukları ölçüldüğünde, minimum 140 mm ile maksimum 200 mm arasında değiştiği gözlenmiş ve ortalama 166 mm olarak hesaplanmıştır. Erkeklerin vücut ağırlıkları minimum 76.86 gr ile maksimum 328.96 gr arasında değişmekte olup ortalama vücut ağırlıklarının yaklaşık 179 gr olduğu hesaplanmıştır. Dişilerin vücut ağırlıkları ise minimum 87.28 gr ile maksimum 228 gr arasında değişmekte olup ortalama vücut ağırlıkları yaklaşık 132 gr olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre erkeklerin dişilerden daha fazla geliştiği ve daha büyük olduğu dikkati çekmektedir. Bu

sonuçlar çeşitli araştışıcıların verileriyle de uyuşmaktadır (3,39,45).

Araştırmada coğrafik engellerin **Spalax** populasyonları üzerinde ne derece etkili olduğu ve karyotiplerindeki farklılıkların enzim varyasyonlarında da görölüp görölmiyeceğinin test edilmesi amaçlanmıştır. Araştırılan bu üç populasyondan Elazığ populasyonu, Malatya ve Akçadağ populasyonlarından Fırat nehri nedeniyle ayrılmaktadır. Malatya populasyonu da Sultansuyu ayı ile Akçadağ populasyonundan ayrılmaktadır.

Araştırılan bu üç populasyonun G-6-PD ve 6-PGD enzim aktivitelerinin analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

**Akçadağ Populasyonu** : Bu populasyondan alınan örneklerden Spektrofotometrik enzim aktivite yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre, G-6-PD için ortalama spesifik aktivite 1.68 Ünite/mg protein, 6-PGD için ortalama spesifik aktivite 2.19 Ünite/mg protein olarak bulundu (izelge 4.1).

**Malatya Populasyonu** : Bu populasyona dahil hayvanlardan spektrofotometrik enzim aktivite yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre; Kaynarca'da toplanan örneklerde G-6-PD için ortalama spesifik aktivite 1.44 Ünite/mg protein, 6-PGD için ortalama spesifik aktivite 2.44 Ünite/mg protein ; Bağtepe'de alınan örneklerde G-6-PD için ortalama spesifik aktivite 0.37 Ünite/mg protein, 6-PGD için ortalama spesifik aktivite 0.77 Ünite/mg protein olarak tespit edildi (izelge 4.1).

Elazığ Populasyonu : Bu populasyondan alınan örneklerden spektrofotometrik enzim aktivite yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre, Akçamkiraz'dan alınan örneklerde G-6-PD için ortalama spesifik aktivite 0.21 Ünite/mg protein, 6-PGD için ise 0.73 Ünite/mg protein; Hankendi'de toplanan örneklerde G-6-PD için ortalama spesifik aktivite 0.90 Ünite/mg protein, 6-PGD için ortalama spesifik aktivite 1.07 Ünite/mg protein olarak bulundu (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Elazığ, Malatya ve Akçadağ Spalax populasyonlarının G-6-PD ve 6-PGD enzimlerinin spesifik aktivitelerinin karşılaştırılması.

	G-6PD aktivitesi (Ünite/mg protein)	6-PGD aktivitesi (Ünite/mg Protein)
Akçadağ	1.68	2.19
Bağtepe	0.37	0.77
Malatya		
Kaynarca	1.44	2.44
Akçamkiraz	0.21	0.73
Elazığ		
Hankendi	0.90	1.07

\* Bu sonuçlar Akçadağ'da 6 örneğin, Malatya Kaynarca'daki 3 örneğin, Elazığ Hankendi'deki 6 örneğin, Elazığ Akçamkiraz'daki 2 örneğin ortalama değeri olarak verilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

**Spalax** türlerinin ve alttürlerinin türleşme problemi pek çok araştırmacı tarafından detaylı olarak incelenmesine rağmen mevcut veriler bu problemin aydınlatılmasında henüz yeterli bulunmamaktadır. Bu konuda **Spalax**'ın belirttiğimiz aşağıdaki özellikleri dikkate değerdir;

1) **Spalax**, yerleşik ve gen akımı sınırlı popülasyonlara sahiptir,

2) Tesadüfi seleksiyon işlemlerinde **Spalax**'ın hibrit zonları tüm tür sınırları ile karşılaştırıldığında çok dardır,

3) Genelde, yüksek organizasyonlu hayvanlarda etnolojik izolasyon mekanizmalarının karmaşık bir genetik yapıya sahip olduğu düşünülmektedir ve bunların dar hibrit zonunda direkt olarak seleksiyondan ziyade tür sınırları boyunca adaptif değişmelerin bir neticesi olarak ortaya çıktığı görülebilir (1).

Moleküler biyoloji günümüzde, doğadaki geniş yayımlı polimorfizmler nedeniyle hem protein hem de DNA seviyelerinde çok sayıda genetik markır (belirleyici unsurlar) sağlar (45).

Araştırma bölgemizi oluşturan alanda farklı **Spalax** türleri yaşamaktadır. Yüksel (1984) tarafından yapılan çalışmada Malatya popülasyonu **S. leucodon** ( $2n=60$ ,  $NF=80$ ) ve Elazığ popülasyonu **S. ehrenbergi** ( $2n=52$ ,  $NF=76$ ) olarak tesbit edilmiştir (38). Çizelge 4.1'den de görüleceği gibi, Malatya ve Elazığ **Spalax** popülasyonları farklı tür olmaları nedeniyle, beklendiği gibi G-6-PD ve 6-PGD enzimleri spesifik aktivite bakımından farklı-

dır. Her iki enzimin spesifik aktivitesi Akçadağ popu-  
lasyonunda da Elazığ popülasyonunkinden farklıdır.

Diğer taraftan Elazığ (Akçamkiraz ve Hankendi) ve  
Malatya (Bağtepe ve Kaynarca) yörelerinden alınan örnek-  
ler arasında enzim aktivitesi bakımından fark vardır.  
Elazığ popülasyonuna dahil Akçamkiraz'dan alınan örnek-  
lerde, Hankendi'den toplanan örneklerle göre G-6PD ve 6-  
PGD enzim yönünden düşük spesifik aktivite göstermekte-  
dir. Ayrıca Malatya popülasyonuna dahil Bağtepe'den top-  
lanan örnekler, Kaynarca'dan alınan örneklerle göre  
G-6-PD ve 6-PGD yönünden düşük spesifik aktivite göster-  
mektedir (Çizelge 4.1). Bu spesifik aktivite kaybı, ör-  
neklerin yaşlı olmasına atfedilebilir. Ancak genetik  
farklılaşma da göz ardı edilmemelidir. Söz konusu olan  
iki farklı tür olunca, enzim aktivitesinde görülen  
farklar kolayca anlaşılabilir. Ancak, burada türler  
arası fark kadar tür içi farklar da önemli görülmekte-  
dir. Bu da tür içi lokal popülasyonlarda genetik fark-  
lılaşmanın olduğunu ve gen akımının, pek çok araştırmacı  
tarafından bildirildiği gibi (46,47,48) bu türde çok  
sınırlı olduğunu göstermektedir.

Elazığ Akçamkiraz ve Malatya Bağtepe'den yakalanan  
örneklerin yaşlı bireyler olduğu arazi çalışmaları sıra-  
sında kaydedilmişti. Yine diğer yörelere göre bu yöre-  
lerde *Spalax* galerilerinin dikkat çekici biçimde az olu-  
şu bu örneklerin yaşlılık nedeniyle üreme yeteneklerinin  
azaldığını ortaya koymaktadır.

Yukarıda belirtilen verilerin ışığında yapılan de-  
ğerlendirmeler sonucu elde edilen bulgular mevcut lite-  
ratürdeki bulguları destekler mahiyettedir. Zira enzim  
aktivitesinin yaşla birlikte azaldığı iyi bilinen bir

gerçektir. Nitekim 6-PGD enzim aktivitesinin rat karaciğeri hücrelerinde (35) ve insan eritrositlerinde (37) yaşlanma ile aktivitesinin azaldığı bilinmektedir. Bununla birlikte bugüne kadar yapılan çalışmalar aktivite azalımının mekanizmasını tamamen açıklamaktan yoksundur. Ancak bu konuda bazı açıklamalar ileri sürülmektedir. Gordillo ve ark. (35)'a göre karbonil grubundaki azalma ile proteinin oksidatif inaktivasyona maruz kaldığı ve bu olaydan da ya histidin ya lizin ya da her iki amino asidin artıklarının sorumlu olduğu belirtilmektedir. Gordillo ve Machado (37) tarafından G-6-PD aktivitesinin kırmızı kan hücrelerinin yaşlarının ölçülmesinde kullanıldığı, genç hücrelerde bu aktivitenin  $26 \pm 3$  m ünite/mg protein yaşlı hücrelerde  $12 \pm 4$  m ünite/mg protein olduğu bildirilmiştir. Yine Gordillo ve ark. (35) tarafından genç ve yaşlı rat karaciğerleri üzerinde yapılan çalışmada, yaşlı ratların enzim aktivitesinin genç ratlara göre %40 civarında azalma olduğu yani yaşlanmayla birlikte %40 civarında bir aktivite kaybının bulunduğu rapor edilmiştir.

Çalışmadan elde edilen verilere göre : G-6-PD ve 6-PGD enzim aktivitelerinin ölçülmesi yolu ile, bu enzim aktivitelerinin birbirine yakın ama farklı olan türlerin ayırımında sitogenetik karakterlerle birlikte bir kriter olarak kullanılabileceği ve ayrıca aynı türün bireyleri arasında yaşlı veya genç olduğuna karar vermede bir gösterge olabileceği düşünülebilir.



## 6. KAYNAKLAR

- 1) Yüksel, E., Gülkaç, M.D., Adıyaman-Gaziantep ve Şanlıurfa Bölgeleri Spalax'ları (Rodentia: Spalacidae) Üzerine Sitogenetik inceleme. İnönü Univ. Araş. Fonu, Proje No: 86/04, (1989).
- 2) Yüksel, E., Gülkaç, M.D., Spalax leucodon'un Bazı Alttür ve Kromozomal formlarının Evolusyonu ve Filogenetik ilişkileri. Doğa Tr. J. of Biology C.14, S1, 59-68. (1990).
- 3) Yüksel, E., Gülkaç, M.D., Malatya Yöresi Kör Fareleri (Rodentia: Spalacidae) Üzerinde Sitogenetik Bir inceleme. Doğa Der. Tu Biyol. D.C.135.2 : 63-70. (1989).
- 4) Gözükkara, E.M., Biyokimya, Ofset Repromat Ltd. Şti. Ankara, S.926, (1990).
- 5) Karagözler, A.A., Fare (Mus musculus) Karaciğeri Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Enzimi Aktivitesine Yüksek Karbohidrat Diyetinin Etkisinin incelenmesi. İnönü Univ. Yay. (Yüksek Lisans Tezi). (1987).
- 6) Burka, R.E., Weaver, M.D.Z., III, M.D. ve Marks, P.A., M.D.: Clinical Spectrum of Hemolytic Anemia Associated With Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. Annals of Internal Medicine Volume 64, No.4, pp.817-825. (1966).

- 7) Crowel, S.B., Crowel, JR.E.B. and Mathew, M., Depression of Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Activity in Enteric Fever. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 78,183-186, (1984).
- 8) Fok, T.F., Lau, S.P. and Fung, K.P., Cord Blood G-6-PD Activity By Quantitative Enzyme Assay and Fluorescent Spot Test in Chinese Neonates. Paediatr.J.21, 23-25, (1985).
- 9) Vant, M.H., Elgjo, K., Norheim, A., and Bergan, A., Measurement of Enzyme Activity in Colonic Biopsies: A Test for Premalignancy in Ulcerative Colitis?. Medical Dept. (1984).
- 10) Camardella, L., Romano, M., Prisco di G. and Descalzi-Cancedda, F., Human Erythrocytes Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Labelling of A Reactive Lysyl Residue by Pridox-al- 5'- Phosphate. Biochemical and Biophysical Research Communications. Vol.103, No.4, pp.1384-1389, (1981).
- 11) Cervenansky, C. and Arias, A., Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Pleiotropic Carbohydrate - Negative Mutant Strains of Rhizobium Meliloti. Journal of Bacteriology, pp.1027-1030, (1984).
- 12) Caro, J.F. and Jacoby, S.L., Characterization of Lipid Metabolism in Freshly Isolated and Primary Cultures of Hepatocytes From Chronic Uremic Rats. J. Clin

Invest. Volume 72.882-892, (1983).

13) Makoff, R.K., Brown, J., Mullen, Y. and Clark, W.R., Normalization of Six Key Hepatic Enzymes After Fetal Pancreas Transplantation in Diabetic Rats. Diabetes, Vol.32.730-733, (1983).

14) Chang, H.L., Holten, D., and Karin, R., Distribution of the Multiple Molecular forms of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Different Physiological States. Con.J. Biochem.57,396-401. (1978).

15) Sun, J.D. and Holten, D., Levels of Rat Liver Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Messenger RNA. The Journal of Biological Chemistry. Vol.253, No.19 pp.6832-6836. (1978).

16) Kastrouni, E., Pegiou, T., Gardiki, P. and Trakattellis, A., Activity Changes of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Response To Diet and Insulin. Int J. Biochem Vol.16, No.12, pp.1353-1358. (1984).

17) Ohnishi, K.I., Constant Rate of Evolution in The Antigenicity of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Revealed By The Enzyme Inhibition Method. Comp. Biochem Physiol Vol. 80B, No.2, pp.217-222. (1985).

18) Haahsma, N. and Gortemaker, B. G. M., Automated Enzymatic Determination of ATP in Bovine Muscle Tissue. Z Lebensm Unters Forsch 173 : 362-364, (1981).

- 19) Luzzatto, L., Regulation of the Activity of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase by NADP and NADPH. *Biochim. Biophys. Acta.* 146, 18-25. (1967).
- 20) Levy, H.R., Glucose-6-Phosphate Dehydrogenases, *Advances in Enzymology*, Aton Meister (Ed) Vol.48, (1979).
- 21) Cochrane, B.J., Lucchesi, J.C. and Laurie- Ahlberg, C.C., Regulation of Enzyme Activities in *Drosophila* : Genetic Variation Affecting Induction of Glucose-6-Phosphate and 6-Phosphogluconate Dehydrogenases in Larvae. *Genetics* 105 : 601-613, (1983).
- 22) Brewel, G.J., Letter to the Editor: Sideroblastic Anemia Segregating With Glucose-6- Phosphate Dehydrogenase Deficiency *American Journal of Hematology.* 39: 2307. (1992).
- 23) Yachha, S.K., Marwaha, R.K., Narang, A. and Mohanty, D., Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Isoenzyme Pattern and Evaluation of Screening Methods for G-6-PD Deficiency in Neonatal Hyperbilirubinemia. *Indian Pediatr.*, 24,12. 1099-104, (1987).
- 24) Antonenkov, V.D. and Phanchenko, L.F., Effect of Chronic Ethanol Treatment Under Partial Catalase Inhibition on the Activity of Enzymes Related To Peroxide Metabolism in Rat Liver and Heart. *Int.j.Biochem.* Vol. 20, No.8.pp.823-828, (1988).

25) Reddy, P.P., Sandhya, G., Waghray, M., and Pushpavathi, K., Karyotypes and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase activity in Various Types of Leukemia. Indian Journal of Experimental Biology. Vol.26, pp. 645 - 646, (1988).

26) Nehal, M. and Baquer, N.Z., Changes in Hexokinase and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Red Cells During Hypo and Hyper Throidism. Biochemistry International. Vol.19, No.1, pp.193-199, (1989).

27) Torlinska, T., Ozegowski, S., Paluszak, J. and Hryniewiecki, T., In Vivo Effect of 2-Deoxy-D-Glucose on Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity in the Cytosol of Liver, Heart and Skeletal Muscle of Rats. Acta Physiol. Pol. 41,7, (1990).

28) Zimmer, H. G., Ibel, H. and Suchner, U.,  $\beta$ -Adrenergic Agonists Stimulate the Oxidative Pentose Phosphate Pathway in the Rat Heart. Circulation Research Vol.67, No.6, 1525-1534, (1990).

29) Tjomsland, G.T., Clermont, Y., Tang, X., Glucose-6-Phosphate Activity of Endoplasmic reticulum and Golgi Apparatus in Spermatocytes and spermatids of the Rat: An Electron Microscopic Cytochemical Study. Biol. Cell, 71, 33-41, (1991).

30) Delgado, C., Tejedor, M.C. and Luque, J., Differential Solubility Behaviour in Poly (Ethylene Glycol) Solutions of Glucose 6-Phosphate and 6-Phosphogluconate

Dehydrogenases from bone Marrow, Reticulocytes and Erythrocytes. *Biochemistry International*. Vol.23, No.4, pp.733-741, (1991).

31) Jonas, S.K., Benedetto, C., Flatman, A., Hammond, R.H., Micheletti, L., Riley, C., Riley, P.A., Spargo, D.J., Zonca, M., and Slater, T.F., Increased Activity of 6- Phosphogluconate Dehydrogenase and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in Purified Cell Suspensions and Single Cells from the Uterine Cervix in Cervial intra-epithelial Neoplasia. *Br.J. Cancer*, 66. 185-191, (1992).

32) Steele, M.W., Wenger, S.L., Geweke, L.O. and Golden, W. L., The Level of 6-Phosphogluconate Dehydrogenase (6-PGD) Activity in a Patient With a 1p Terminal Deletion Suggests That the Gene Locus is Not Distal to Subband. p36.3 on Chromosome 1. *Clinical Genetics* ,25: 59-62, (1984).

33) Miller, D.R., Dykhuizen, D.E., Green, L. and Hartl, D.L., Specific Deletion Occurring in the Directed Evolution of 6-Phosphogluconate Dehydrogenase in *Escherichia coli*. *Genetics*, 108: 765-772, (1984).

34) Miyashita, N. and Laurie-Ahlberg, C.C., Developmental Variation in Effects of the Second and Third Chromosomes on the Activities of the Glucose-6-Phosphate and 6-Phosphogluconate Dehydrogenases in *Drosophila melanogaster*. *Biochemical Genetics*, Vol.24, No.5, 5/6, (1986).

35) Gordillo, E., Ayala, A., Bautista, J. and Machado,

- A., Implication of Lysine Residues in the Loss of Enzymatic Activity in Rat Liver 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Found in Aging. *The Journal of Biol. Chem.*, Vol.264, No. 29, pp: 17024-17028. (1989).
- 36) Broedel, S. E. and Wolf, R.E., Genetic Tagging, Cloning, and DNA Sequence of the *Synechococcus* sp. Strain PCC 7942 Gene (gnd) Encoding 6-Phosphogluconate Dehydrogenase. *Journal of Bacteriology*, p. 4023-4031. (1990).
- 37) Gordillo, E., and Machado, A., Implication of Lysine Residues in the Loss of 6-Phosphogluconate Dehydrogenase Activity in Aging Human Erythrocytes. *Mechanisms of Ageing and Development*, 59. 291-297, (1991).
- 38) Yüksel, E., Cytogenetic Study in Spalax (Rodentia : Spalacidae) From Turkey. *Communications Serie C : Biologie Tome 2*, pp.1-12, (1985).
- 39) Gülkaç, M.D., Aşağı Fırat Havzası Spalax Populasyonları Üzerine Akarolojik Bir inceleme. İnönü Univ. Fen. Bil. Enst. Doktora Tezi, (1993).
- 40) Gözükkara, E.M., Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase from Rat Liver (II) : Hacettepe Bulletin of Natural Sciences and Engineering, 4, 1-11, (1975).
- 41) Wood, W.A., Carbohydrate Metabolism. *Methods in Enzymology Volume 89*. 291. (1982).

- 42) Marbach, A., Combined Phenotyping of Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD; EC.1.1.1.44). *Forensic Science international*, 32, 87-92, (1986).
- 43) Smith, E.L., Lehman, I.R., Handker, P., Robert L. Hill Robert J. Lefkowitz Abraham White, *Principles of Biochemistry General Aspects*. 419. (1983).
- 44) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A. L. and Rondall, J. R., Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275. (1951).
- 45) Savic, I.R., Ecology of the Mole Rat *Spalax leucodon Nordm.* in Yugoslavia: *Proc. Nat. Sci.*, 44:5-70, (1973).
- 46) Savic, I. and Soldavic, B., Studies on The Karyotype and Distribution Range of the Mole Rat (*Spalax leucodon Nordmann*) in Greece. *Caryologia*, Vol.31, n.1, 63-73, (1978).
- 47) Nevo, E., Speciation in Action and Adaptation in Subterranean Mole Rats: Patterns and Theory, *Boll. Zool.* 52, 65-95, (1985).
- 48) Yüksel, E. and Gülkaç, M.D., On the Karyotypes in Some Populations of the Subterranean Mole Rats in the Lower Euphrates-basin, Turkey, *Caryologia*, Vol.45, n.2, 175-190, (1992).



## ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Kahta'da doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Malatya'da tamamladı. 1986 yılında başladığı İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 1990 yılında Lisans öğrenimini tamamladı. Aynı yıl aynı Üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans öğrencisi olarak öğrenime başladı. Yine aynı yıl Milli Eğitim Bakanlığı'nın açmış olduğu Öğretmenlik Yeterlik Sınavını kazandı. Sekiz ay Malatya'nın Battalgazi ilçesinde Toygar İlköğretim Okulu'nda öğretmenlik yaptı. 1991'de aynı üniversitede Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı ve halen bu göreve devam etmektedir.

Evli ve bir çocuk babasıdır.