

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) ETİLEN RESEPTÖR GENLERİNİN
KLONLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

Halime ÜNLÜ

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin PADEM

**DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
ISPARTA-2010**

TEZ ONAYI

Halime ÜNLÜ tarafından hazırlanan “**Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) Etilen Reseptör Genlerinin Klonlanması ve Karakterizasyonu**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Süleyman Demirel Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin PADEM 
Süleyman Demirel Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:
Prof. Dr. Dursun EŞİYOK
Ege Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı 

Doç. Dr. Hakan AKTAŞ 
Süleyman Demirel Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Yaşar KARAKURT 
Süleyman Demirel Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Muhammet TONGUÇ 
Süleyman Demirel Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Prof. Dr. Mustafa KUŞCU

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Sinyal İletimi.....	4
2.2. Sinyal Molekülleri-Fitohormonlar.....	5
2.3. Etilen.....	7
2.3.1. Etilenin tarihçesi.....	7
2.3.2. Etilenin kimyasal yapısı.....	8
2.3.3. Etilen biyosentezi.....	9
2.3.4. Etilen sinyal iletim yolu.....	12
2.3.5. Etilen reseptörleri.....	13
2.3.6. Etilen reseptörlerinin sınıflandırılması.....	15
2.3.6.1. Yapılarına göre.....	15
2.3.6.2. Yapıları ve DNA sekans benzerliklerine göre.....	16
2.3.7. Etilenin bağlanması.....	17
2.3.8. Etilen sinyal iletimi.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Bitkisel materyal.....	24
3.1.2. Primer dizaynı.....	24
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Hıyar meyvelerinin elde edilmesi ve etilen uygulanması.....	25
3.2.2. RNA izolasyonu.....	25

3.2.3. RNA kalite ve kantitesinin belirlenmesi.....	26
3.2.3.1. Spektrofotometrik yöntem.....	26
3.2.3.2. Elektroforetik yöntem.....	26
3.2.4. DNaz uygulaması.....	27
3.2.5. cDNA sentezi	27
3.2.6. Etilen reseptörlerinin kısmi cDNA'larının izolasyonu.....	28
3.2.7. PCR ürünlerinin jelden çıkartılması	29
3.2.8. cDNA parçalarının klonlanması	30
3.2.8.1. TOPO-TA klonlama kiti ile klonlama	30
3.2.8.2. pGEM-T Easy klonlama kiti ile klonlama	32
3.2.9. Tam uzunluktaki etilen reseptör genlerinin izolasyonu	34
3.2.9.1. RACE Ready cDNA sentezi	34
3.2.9.2. RACE için PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) kontrolü	34
3.2.9.3 RACE (cDNA Uçlarının Hızlı Amplifikasyonu).....	35
3.2.10. Sekanslama ve sekans analizleri.....	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	73
6. KAYNAKLAR.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	88

ÖZET

Doktora Tezi

HIYARDA (*Cucumis sativus* L.) ETİLEN RESEPTÖR GENLERİNİN KLONLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Halime ÜNLÜ

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin PADEM

Bu çalışmada, hıyar bitkisinde etilen alımında ve sinyal iletiminde rol alan 5 etilen reseptörünü kodlayan genlerin tam nükleotid sekansları izole edilerek karakterizasyonları yapılmıştır. Hazırlanan dejenere primerlerle yapılan PCR sonucunda elde edilen kısmi cDNA fragmanlarına 3' ve 5' RACE analizi uygulanarak *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* şeklinde isimlendirilen tam uzunluktaki genler elde edilmiştir. Sekanslama sonucunda *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1*, ve *CS-ETR2-2* genlerinin sırasıyla 2936, 2894, 2271, 2857 ve 2904 bazdan oluştukları tespit edilmiştir.

Bu genlerden *CS-ETR1-1* ve *CS-ETR1-2* genlerinin sırasıyla 2364 ve 2361 nükleotidin meydana getirdiği 787 ve 786 amino asitten oluşan proteinleri kodlayan birer ORF'ye sahip oldukları gözlenmiştir.

CS-ERS1 olarak adlandırılan gen ise, 1701 nükleotidin meydana getirdiği 566 amino asidin oluşturduğu bir proteini kodlayan tahmini ORF'den meydana gelmiştir.

İzole edilen iki ETR2 benzeri genlerden biri olan *CS-ETR2-1* 2136 nükleotidin oluşturduğu 711 amino asitlik bir proteini kodlayan ORF'den meydana gelmiştir. ETR2 benzeri diğer gen olan *CS-ETR2-2* geni 2472 nükleotid tarafından kodlanan 823 adet amino asitten oluşan bir proteini kodlayan bir ORF içerdiği tespit edilmiştir.

Tüm izole edilen genler diğer türlerden izole edilmiş olan ETR ve ERS genleriyle yüksek derecede benzerlik göstermişlerdir. Tam uzunluktaki amino asit sekansları göz önüne alındığında, *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2* ve *CS-ERS1*' in birbirlerine daha yakın olduğu ve alt aile I'de yer alabileceklerini, buna karşılık *CS-ETR2-1* ile *CS-ETR2-2*'nin alt aile II'de yer alabilecekleri ortaya konulmuştur. İzole edilen genler, watersoking gibi etilenin neden olduğu fizyolojik bozukluklara karşı daha dayanıklı ve olgunlaşma bakımından değişiklik gösterebilen çeşitler geliştirmek amacıyla ıslah programlarında kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: Hıyar, etilen, reseptör, gen
2010, 90 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE CLONING AND CHARACTERIZATION OF ETHYLENE RECEPTOR GENES IN CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.)

Halime ÜNLÜ

Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin PADEM

In the study, the full length nucleotide sequences encoding five ethylene receptor genes involved in ethylene perception and signal transduction were isolated and characterized from cucumber fruit. As a result of PCR amplification with degenerate primers prepared from conserved regions of previously isolated ETR genes of cDNAs obtained via RT-PCR of total RNA from cucumber fruit, five partial cDNAs were determined. After extension of their 3' and 5' ends via 3' and 5' RACE analysis, five full length genes called *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1* and *CS-ETR2-2* were obtained. Upon cloning and sequencing, it was determined that *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1*, and *CS-ETR2-2* genes were 2936, 2894, 2271, 2857 and 2904 bases in length, respectively.

Among those, the genes *CS-ETR1-1* and *CS-ETR1-2* contained a predicted open reading frame (ORF) formed from 2364 and 2361 nucleotides encoding proteins of 787 and 786 amino acids respectively.

CS-ERS1 had a predicted ORF generated from 1701 nucleotides encoding a protein of 566 amino acids.

One of the two isolated ETR2-like genes, *CS-ETR2-1* contained an ORF encoding a protein formed from 2136 nucleotides and 711 amino acids. The other ETR2-like gene *CS-ETR2-2* had an ORF of 2472 nucleotides in length encoding a protein of 823 amino acids.

All isolated genes showed highly significant similarity to previously isolated ETR and ERS genes from other species. With respect to full length amino acid sequences, it seems that *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2* and *CS-ERS1* are more close to each other and may be in subfamily I but *CS-ETR2-1* and *CS-ETR2-2* may be placed in subfamily II due to their close homology. The isolated genes could be used in breeding programs to develop cultivars with altered ripening behavior and more tolerant to ethylene related physiological disorders such as watersoaking.

Key Words: Cucumber, ethylene, receptor, gene
2010, 90 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, çalışma imkanı sağlayan ve bana destek olan danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin PADEM'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında çok değerli katkı ve yardımlarını aldığım Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Dursun EŞİYOK (Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü) ve Prof. Dr. Nilgün GÖKTÜRK BAYDAR'a teşekkürü bir borç bilirim.

1684-D-08 nolu proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca ikinci bir danışman gibi beni yönlendiren ve tezimin her aşamasında yardım ve katkılarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Yaşar KARAKURT'a, ayrıca laboratuvar çalışmalarımındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Muhammet TONGUÇ'a teşekkür ve şükranlarımı bildiririm.

Yaptığım çalışma boyunca maddi ve manevi desteklerini sürekli yanımda hissettiğim aileme ve özellikle eşim Yrd. Doç. Dr. Hüsnü ÜNLÜ'ye sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Halime ÜNLÜ
ISPARTA, 2010

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Etilenin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.2. Yang Döngüsü (Metiyonin Döngüsü), ACC'den etilen ve diğer ürünlerin oluşumu.....	10
Şekil 2.3. Arabidopsis'te etilenin üçlü yanıt etkisi.....	12
Şekil 2.4. İki elemanlı sistem.....	14
Şekil 2.5. Arabidopsis'e ait etilen reseptörler.....	14
Şekil 2.6. Etilen reseptörlerinin üçlü yanıtta etkileri.....	16
Şekil 2.7. MAPK sinyal iletim yolu şeması.....	20
Şekil 2.8. Etilen sinyal iletimi.....	23
Şekil 4.1. <i>CS-ETR1-1</i> reseptör proteininin domeyn organizasyonu.....	61
Şekil 4.2. <i>CS-ETR1-2</i> reseptör proteininin domeyn organizasyonu.....	62
Şekil 4.3. <i>CS-ERS1</i> reseptör proteininin domeyn organizasyonu.....	64
Şekil 4.4. <i>CS-ETR2-1</i> reseptör proteininin domeyn organizasyonu.....	69
Şekil 4.5. <i>CS-ETR2-2</i> reseptör proteininin domeyn organizasyonu.....	70
Şekil 4.6. Hıyar meyvesinden ve diğer türlerden izole edilen <i>ETR1</i> benzeri etilen reseptörlerinin filogenetik ağacı.....	71
Şekil 4.7. Hıyar meyvesinden ve diğer türlerden izole edilen <i>ETR2</i> benzeri etilen reseptörlerinin filogenetik ağacı.....	72

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fitohormon reseptörleri.....	7
Çizelge 2.2. Etilen sinyal iletim yolundaki genlerin regülasyonu.....	11
Çizelge 2.3. Etilen sinyalinde fonksiyonu olan bazı bitki MAPKKK, MAPKK ve MAPK'ları.....	20
Çizelge 3.1. PCR koşulları.....	28
Çizelge 3.2. PCR koşulları.....	29
Çizelge 3.3. RACE PCR kontrolü için uygulanan protokol.....	35
Çizelge 4.1. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS-ETR1-1</i> etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı.....	38
Çizelge 4.2. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS-ETR1-2</i> etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı.....	39
Çizelge 4.3. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS-ERS1</i> etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı.....	40
Çizelge 4.4. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS-ETR2-1</i> etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı.....	41
Çizelge 4.5. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS-ETR2-2</i> etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı.....	42
Çizelge 4.6. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS ETR1-1</i> reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları.....	43
Çizelge 4.7. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS ETR1-2</i> reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları.....	45
Çizelge 4.8. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS ERS1</i> reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları.....	47
Çizelge 4.9. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS ETR2-1</i> reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları.....	49
Çizelge 4.10. Hıyar meyvesinden izole edilen <i>CS ETR2-2</i> reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları.....	51
Çizelge 4.11. Hıyar bitkisinin meyvelerinden izole edilen etilen reseptör genlerinin toplam nükleotid, 5' kodlamayan, 3' kodlamayan ve poli (A) kuyruğunu oluşturan nükleotid sayıları ve genlerin ORF	

bölgelerindeki amino asit sayıları.....	54
Çizelge 4.12. Hıyar meyvesinden elde edilen etilen reseptör genleri ile diğer türlerden izole edilen reseptör genlerinin nükleotid sekanslarının karşılaştırılması.....	55
Çizelge 4.13. Hıyar meyvesinden elde edilen etilen reseptör genleri ile diğer türlerden izole edilen reseptör genlerinin amino asit sekanslarının karşılaştırılması.....	56
Çizelge 4.14. ETR1 ve benzeri reseptör genlerinin çoklu aminoasit sekans karşılaştırmaları.....	58
Çizelge 4.15. ETR2 ve benzeri reseptör genlerinin çoklu aminoasit sekans karşılaştırmaları.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BLAST	The Basic Local Alignment Search Tool
bp	Baz çifti
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
IPTG	İzopropil- β -D-thiogalaktozid
LBA	Lauria-Bertani agar
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar
X-gal	5-bromo-4-kloro-3-indolil β -D-galaktopiran

1. GİRİŞ

Türkiye’de 59.000 ha’lık alanda 1.678.770 ton hıyar üretilmekte ve bu üretim değeri ile ülkemiz Çin ve İran’dan sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Anonymous, 2010a). Ülkemiz dünya hıyar üretiminin % 4’lük kısmını karşılamaktadır (Boran ve Binici-Altıntaş, 2009). 90 tür ve 750 cinse sahip olan hıyar Asya orijinli bir sebzedir (Tatlioglu, 1993). Kabakgiller familyasının en popüler üyelerinden biri olup yazlık sebzeler grubunda yer alır. Üretimin % 65-70’i sofralık ve turşuluk olarak yaz aylarında açık tarla koşullarında yapılırken, kış aylarında ise örtüaltında yıl boyunca yetiştirilmektedir (Vural vd., 2000).

Hasat edildikten sonra da aktif bir metabolizmaya sahip olmaları nedeniyle sebzeler kolay bozulabilen ürünler içerisinde yer alırlar. Tüketiciye sunulan sebzelerin kalitesi çeşitlere, yetiştirme koşullarına, muhafazaya ve depolama koşullarına bağlıdır (Ergun ve Ergun, 2007). Ürünlerin yetiştirilmesi, hasat edilmesi, pazara hazırlanması ve nihayet satış sırasında bazı dış etkilere maruz kalarak üründe kalite kayıpları ve hatta bozulmalar ve çürümeler meydana gelebilir. Bütün hatalarımızdan ortaya çıkan zararlara karşı önlem alınamazsa ürünlerin büyük bir bölümü satış özelliğini kaybedebilir. Nitekim yapılan araştırmalarda üretilen ürünlerimizden sebzelerde % 26 oranında zararlanma meydana geldiği tespit edilmiştir (Günay, 2005a)

Hıyar, içerdiği yüksek su sebebiyle uzun süreli muhafazaya uygun bir sebze değildir (Günay, 2005b). Hıyar, üşüme zararına karşı çok hassas olması ve kısa sürede sararmaya başlaması nedeniyle, meyvelerinin saklanma sıcaklıkları son derece kısıtlıdır (Şalk vd., 2008). Hıyarın muhafazasında çeşitlere göre değişmekle birlikte genellikle 10-13 °C arasındaki sıcaklıklar ve % 90±5 oransal nem kullanılarak 10-15 günlük bir depolama sağlanabilmektedir (Salunke and Kadam, 1998; Tan, 2005).

Hasattan sonra meyve ve sebzenin kalitesinin korunmasında önemli bir faktör olan etilen, bitkide sentezlenen doğal bir bitki hormonudur. Büyüme ve gelişme olaylarında etkili olan etilen, olgunlaşmada da önemli rol oynamaktadır (Anonim, 2010).

Bir bitki hormonu olan etilen yaşlanma, meyve olgunlaşması ve meyve sapının meyveden ayrılması gibi fizyolojik olayları ve su eksikliği, mekanik yaralanma ve patojen istilası gibi çevresel streslere karşı bitkinin fizyolojik cevaplarını koordine etmektedir (Abeles et al., 1992; Lelievre et al., 1997). Sebzelerde genel olarak etilen üretim oranı düşük miktarlarda olmakla birlikte etilene maruz kaldıkları durumlarda değişik nedenlerle kalite kaybına uğramakta ve satış kaliteleri düşmektedir. Bu yüzden sebzeler etilene duyarlı ürünler arasında yer almaktadırlar. Sebzeler etilene maruz kaldıkları durumda gelişme, olgunlaşma ve yaşlanma hızlanmakta ve bu olayla bağlantılı olarak raf ömründe ve kalitesinde azalma söz konusu olmaktadır (Kasım ve Kasım, 2007). Ayrıca etilenin Cucurbitaceae familyasına ait sebzelerde ‘watersoaking’ adı verilen bir fizyolojik bozukluğa neden olduğu ortaya konulmuştur (Karakurt and Huber, 2002; 2004; Mao et al., 2004; Lima et al., 2005; Huber, 2008).

Son yıllarda meyvelerin olgunlaşması ve diğer olaylarda etilenin rolü çalışma konuları arasında yoğun bir ilgi görmüştür. Etilenin; solunum hızını arttırması, otokatalitik etilen üretimini, klorofilin parçalanmasını, karotenoid sentezini, nişastanın şekere dönüşümünü ve hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin aktivitelerini arttıran genlerin ekspresyonunu koordine etmek suretiyle meyve olgunlaşmasını düzenlediği düşünülmektedir (Gray et al., 1992, Theologis, 1993). Etilen mutantları kullanılarak etilen sinyal iletimi konusunda *Arabidopsis thaliana* ve domateste önemli ilerlemeler kaydedilmiş ve etilen reseptör homologlarını kodlayan bazı genler tespit edilmiştir (Guzman and Ecker, 1990; Kieber and Ecker, 1993). Etilen reseptörünün genetik manipulasyonu, özellikle kontrollü atmosferde depolama gibi faktörlerin etkili olmadığı meyve ve sebzelerde etilen üretimini kontrol etmek ve olgunlaşmayı geciktirmek için önemli bir alternatif olabilir.

Bu çalışma, hıyar meyvesinde ‘watersoaking’ fizyolojik bozukluğunu önlemek ve olgunlaşmayı geciktirmek amacıyla etilen reseptörlerinin tespit edilip klonlanması ve karakterize edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Böylece etilen reseptörlerinin tam nükleotid dizilişlerinin çıkarılması ile ileride antisens RNA teknolojisi gibi teknikler kullanılarak yapılması düşünülen genetik transformasyon çalışmalarında kullanılabilecek olan DNA sekansları elde edilmiştir. Genetik yolla meyve ve

sebzelerin hasat sonu ömürlerinin uzatılması, meyve ve sebzelerin uzak pazarlara taşınmasını kolaylaştıracadı gibi, hasat sonu ürün kayıplarının da büyük ölçüde azaltılması sağlanabilecektir. Meyve ve sebzelerin hasat sonu ömürlerinin uzatılması için kullanılan değişik uygulamaların ve kimyasal maddelerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri ve bu kimyasallara yapılan harcamaların ortadan kalkması söz konusu olacaktır (Abeles et al., 1992; Gray et al., 1992). Yine etilenin olumsuz etkisi nedeniyle birlikte depolanamayan ve taşınamayan türler, kabakgiller familyasındaki türlerle depolanabilecek ve böylece depolama ve taşınma masrafları önemli ölçüde azaltılmış olacaktır.

Ayrıca bu çalışma sonucunda elde edilmiş olan reseptör genlerinin sekansları diğer bitki türlerinde yapılacak olan çalışmalarda kaynak materyal olarak kullanılabilir. Bu açıdan bu çalışmanın bundan sonraki yapılacak olan konu ile ilgili diğer çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Sinyal İletimi

Çok hücreli organizmalardaki hücreler, yer aldıkları doku içindeki organizasyonlarını, bölünme ve büyümelerini düzenlemek, fonksiyonlarını koordine etmek için birbirleriyle ilişki kurmaya ihtiyaç duyarlar (Güneş, 2006). Küçük gruplar halindeki hücreler, kendi aralarındaki özel bağlantı kompleksleri aracılığı ile metabolik cevaplarını düzenleyebilirler. Bazı durumlarda, bir hücre üzerindeki özel bir proteinin, komşu hücre üzerindeki almacına bağlanması, komşu hücrenin farklılaşmasını tetikler. Hücreler arasındaki iletişim, hücreler arası sinyal iletimi olarak ifade edilen bir fenomenle gerçekleşir (Kobaoğlu, 2007).

Hücreler arası bilgi ve iletişim, çok sayıda farklı molekülle sağlanır. Sinyal molekülleri (ligandlar) olarak adlandırılan bu moleküller uyarı oluşturmak isteyen hücre veya onun etrafındaki hücreler tarafından üretilirler. Salgılanan bu ligandlar, hedef hücrenin zarında, sitoplazmasında veya nükleus zarında yer alan ve reseptör olarak adlandırılan bir proteine bağlanarak istenen etkinin oluşmasını sağlar (Güneş, 2006).

Sinyal üretilmesi, algılanması ve iletilmesi, tüm diğer organizmalar gibi, bitkilerde de büyüme ve gelişme için çok büyük önem taşımaktadır. Bitkilerde sinyalin algılanma ve iletim mekanizmaları ve sinyal moleküllerinin büyük çoğunluğu hala belli değildir. Büyüme ve gelişme regülatörlerinin etkisine cevap veren genlerin belirlenmesi ve ayrıca ışık, ağırlık, yaralanma, dokunma vs. gibi etkenlere karşın cevap mekanizmasını oluşturan genlerin belirlenmesi için yeni genetik ve moleküler yaklaşımlar uygulanmaktadır. Bitkilerde sinyallerin iletim mekanizmaları konusundaki veriler hayvanlara göre daha azdır (Sadıqov, 2001).

2.2. Sinyal Molekülleri-Fitohormonlar

Bitkilerin yaşadıkları alan ve şartlar nasıl olursa olsun, içinde buldukları çevreyi tanıma ve o ortama adapte olma işlevini çeşitli fizyolojik olaylar sayesinde gerçekleştirirler. Hayatlarını devam ettirebilmek için topraktan mineralleri üst aksama taşıma, fotosentezi gerçekleştirme, su alımı ve kullanımını düzenleme gibi faaliyetlerde bulunmak zorundadırlar (Tör, 1998). Bütün bu işlemler içsel ve dışsal sinyal moleküllerini algılayan ve bunlara cevap veren gelişmiş özel dokular sayesinde gerçekleştirilir (Tör, 1998; Fujita et al., 2006). Bitkiler tepkilerini koordine etmek amacıyla karmaşık bir sinyal ağı kullanırlar (Yıldız Aktaş ve Güven, 2005; Stamm and Kumar, 2010).

Bitkiler, büyüme ve şekillenmeyi düzenlemek amacıyla dokularda iletilen kimyasal uyarıcıları kullanırlar (Osborne and McManus, 2005; Kacar vd., 2006).

Bugüne kadar yapılan araştırmalarda, kimyasal yapıları birbirinden tümüyle ayrı olup bitkilerin büyümesinde uyarıcı ve engelleyici etki gösteren birçok kimyasal bileşik ortaya çıkarılmıştır. Bu bileşiklerin birçoğu bitki bünyesinde doğal olarak oluşmaktadır (Ağaoğlu vd., 1995). Bitki büyüme ve gelişimini düzenleyen bu bileşiklere 'fitohormon' adı verilir (Schmelz et al., 2003; Gray, 2004).

Bitki hücreleri, mikroorganizmalar, böcekler, bitki hormonları, su, toprak yapısı, ışık ve benzeri çevre etmenlerini içine alan çok farklı biyotik ve abiyotik sinyaller tarafından etkilenmektedirler (Ricart and Millner, 1997; Walley et al., 2007). Bitkiler bu kadar geniş kapsamlı olan ve sürekli değişen sinyallere karşı uygun tepkiler vermektedirler (Minorsky, 2003). Hormonların bitki büyüme ve gelişiminde farklı etkileri söz konusudur; bunlar teşvik edici, önleyici veya modifiye edici şeklinde olabilirler (Gaspar et al., 2003; Tiryaki, 2004).

Hücre düzeyinde hormon etkisi, hormon ve hormona ait reseptörün bir araya gelmesi ile başlar (Granner and Olgun, 2004). Reseptör hormonu tanır, onu bağlar ve sinyal iletir. Böylece kimyasal tepkimeler meydana gelerek sinyal, hücre zarından hücre

çekirdeğine iletilir. Sonuç olarak hedef hücreler tepki vererek hücredeki ilgili genin yanıt vermesi sağlanır (Cooper, 2000; Graham et al., 2004).

Bitkilerde hormonal tepkiler, hormonun sentez, algılama veya sinyal iletimi gibi farklı aşamalarında meydana gelebilir (Jackel, 2009; Santner and Estelle, 2009).

Morfolojik mutantlar hormonların; spesifik hareketlerini ortaya koymada (Kof et al., 2002), bitki fizyolojisi ve gelişmesinde nasıl çalıştıklarını anlamak için büyük önem taşımaktadırlar. Aynı zamanda mutant bitkiler, kompleks hormon sinyal akış ağlarında görev alan komponentlerin ve genlerin tespit edilip klonlanması ile çalışmalara büyük katkılar sağlamaktadırlar (Gazzarrini and McCourt, 2003; Tiryaki, 2004).

Bitki gelişiminde belirli ve önemli fizyolojik gelişimlerin oluşumunda ve düzenlenmesinde görev alan bitki hormonlarının henüz kesin olarak belirlenememiş kimi fonksiyonları yanında, kimi fizyolojik olaylarda da aynı yönde etkili oldukları bilinmektedir (Kacar vd., 2006).

Bitki hormonları, son yıllarda brassinosteroidler, salisilik asit, poliaminler, jasmonatlar, bitki steroid hormonları gibi birçok yeni bitki hormonları keşfedilmiş olsa da, klasik olarak beş ana gruba ayrılır; oksinler, giberellinler, sitokininler, absisik asit ve etilen (Vivanco and Flores, 2000; Sadıqov, 2001; Cooper and Hausman, 2006). Bu klasik hormonlar arasında sinyal iletimi en iyi anlaşılmış olan bitki hormonu etilendir (Ecker, 1995; Fordham-Skelton and Lindsey, 2000; Savaldi-Goldstein and Fluhr, 2000). Fitohormonların hemem hemen tüm grupları için reseptörler belirlenmiş durumdadır (Çizelge 2.1.) (Sadıqov, 2001; Romanov, 2002).

Çizelge 2.1. Fitohormon reseptörleri (Bishopp et al., 2006)

Hormon	Reseptör	İzole edildiği organizma
Oksin	TIR1	Arabidopsis At3g62980
	AFB1/LRF1	Arabidopsis At4g03190
	AFB2/LRF2	Arabidopsis At3g26810
	AFB3	Arabidopsis At1g12820
Giberellin	GID1	<i>Oryza sativa</i>
Sitokinin	CRE1/WOL/AHK4	Arabidopsis At2g01830
	AHK3	Arabidopsis At1g27320
	AHK2	Arabidopsis At5g35750
Absisik asit	FCA	Arabidopsis At4G16280
Etilen	ETR1	Arabidopsis At1g66340
	ETR2	Arabidopsis At3g23150
	ERS1	Arabidopsis At2g40940
	ERS2	Arabidopsis At1g04310
	EIN4	Arabidopsis At3g04580

2.3. Etilen

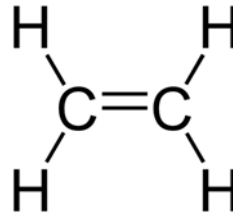
2.3.1. Etilenin tarihçesi

Etilen pratik anlamda eski Mısırlılar tarafından incirlerin olgunlaşmasını teşvik etmek amacıyla kullanılmıştır (Galil, 1968). Çinliler kapalı odalarda tütsü yakarak armutların olgunlaşmalarını teşvik etmeye çalışmışlardır (Anonymous, 2009). 1864 yılında cadde lambalarından sızan gazın yakınındaki ağaçlarda, uzakta olan ağaçlara göre daha fazla yaprak dökülmesinin meydana geldiği, ayrıca bitkilerde büyümenin gerilediği, bitkilerin kıvrıldığı ve gövdelerde anormal şekilde kalınlaşmanın meydana geldiği tespit edilmiştir (Arteca, 1996). 1901 yılında ise Rus bilim adamı Dimitry Nikolayevich Neljubow bu gazın etkili komponentinin etilen olduğunu ve bunun etiyolleşmiş bezelye fidelerinde morfolojik değişikliklere neden olduğunu ortaya koymuştur (Lu et al., 2001). Portakal meyvelerinden üretilen gazın muz meyvelerini olgunlaştırmasıyla ilk kez etilenin bitki dokularının doğal bir ürünü olduğu 1910

yılında Cousins tarafından rapor edilmiştir (Sisler and Yang, 1984). 1917’de Doubt etilenin absisyonu teşvik ettiğini keşfetmiştir (Doubt, 1917). 1924 yılında Denny limonlarda yaptığı bir çalışmada etilenin çok küçük miktarlarda etkili olabilen meyve olgunlaştırıcı bir ajan olduğunu bildirmiştir (Denny, 1927). 1934 yılında Gane, bitkilerin etilen sentezlediğini rapor etmiştir (Gane, 1934). 1935 yılında Crocker ve arkadaşları etileni, meyve olgunlaşmasından sorumlu bitki hormonu olarak tanımlamışlardır (Michener, 1938). Burg ve Thimann (1959) etileni gaz kromatografisi ile incelemişler ve bu inceleme sonucunda etileni fizyolojik özellikleri bakımından bitki büyüme düzenleyicisi olarak adlandırmışlardır. Adam ve Yang 1979 yılında etilen biyosentez yolunu keşfetmişlerdir (Bradford, 2008).

2.3.2. Etilenin kimyasal yapısı

Etilen alken sınıfına giren bir gazdır ve doymamış bir hidrokarbon olup, karbonları arasında, çift bağ içerir (Şekil 2.1.) (Arshad and Frankenberger, 2002). Etilenin kapalı formülü C_2H_4 ’tür ve açık formülü $H_2C=CH_2$ şeklinde gösterilebilir. Etilenin IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) adı ‘eten’dir (Tüzün, 1996). Etilen renksiz, yanıcı bir gazdır ve tatlı bir kokuya sahiptir. Etilen kaynama noktası -103.71 °C, erime noktası -169.15 °C, donma noktası -181 °C ve molekül ağırlığı 28.05 olan bir gazdır (Zimmermann and Walzl, 2009). Yoğunluğu 0,978 g/dm³ olan etilen lipidlerde suya oranla yaklaşık 14 kat daha yüksek derecede çözünebilir (Arshad and Frankenberger, 2002).

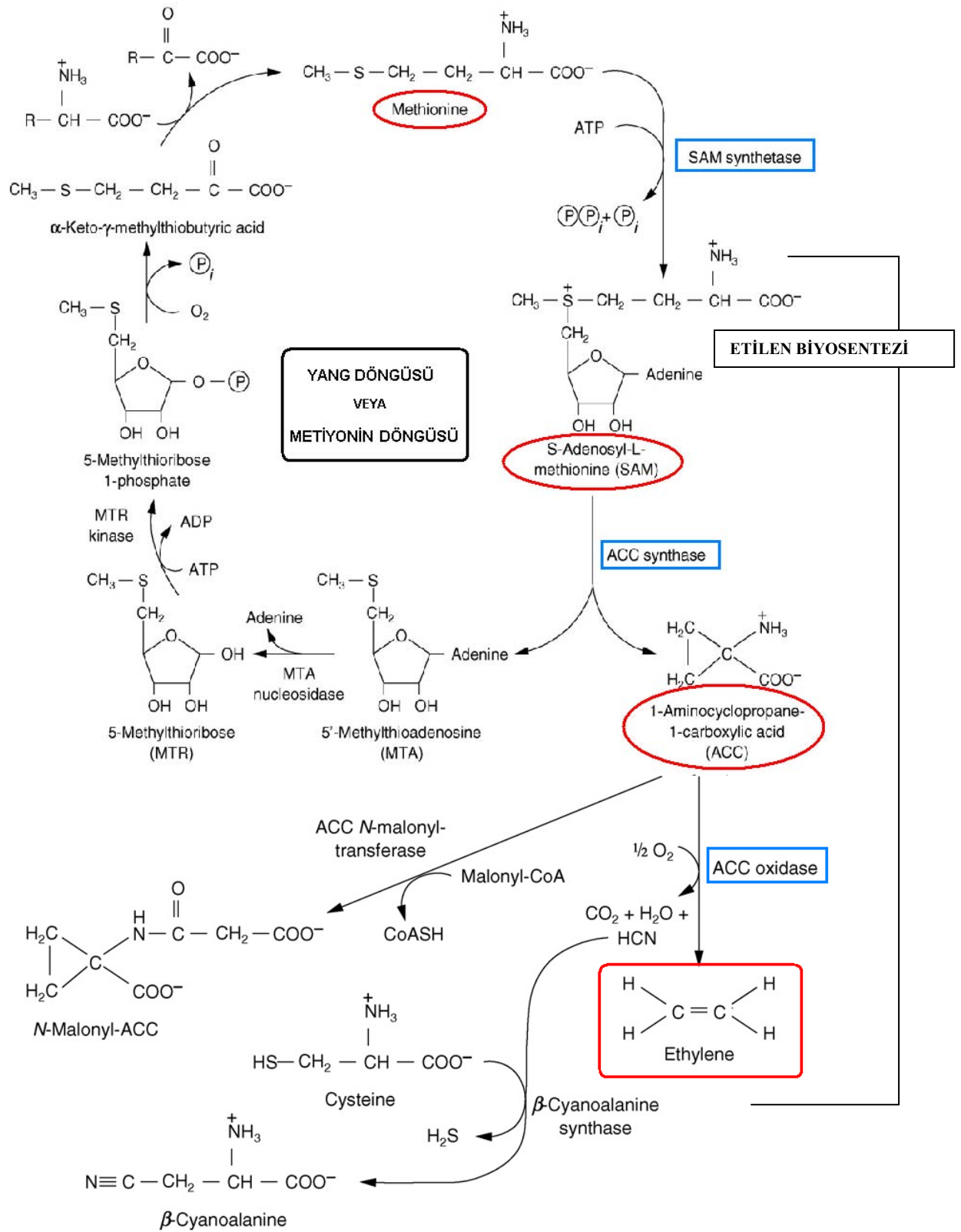


Şekil 2.1. Etilenin kimyasal yapısı (Palavan-Ünsal, 1993)

2.3.3. Etilen biyosentezi

Etilen biyosentez yolunda 2 spesifik aşama bulunmaktadır. Bunlardan ilki SAM (S-adenozil-L-Metiyonin)'in ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit)'ye dönüşümü, diğeri ise ACC'nin etilene dönüşümüdür (Bradford, 2008).

L-metiyonin etilenin öncü maddesi olarak kabul edilmiştir. Bu aminoasit önce ATP ile aktive olarak metiyonin adenziltransferaz enziminin katalizörlüğünde S-adenozilmetiyonini (SAM) meydana getirir (Ravanel et al., 1998). Birinci aşama SAM'in 1-aminosiklopropan-1-karboksilik aside (ACC), ACC sentaz (ACCS) enziminin etkinliğinde dönüşmesidir. Yapılan deneyler, SAM'den ACC meydana geliş hızının, etilen biyosentez hızını belirleyici özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. ACC'nin etilene dönüşümü, ACC oksidaz (ACCO) katalizörlüğünde gerçekleşmektedir (Palavan-Ünsal, 1993). Bazı spesifik durumlarda etilen ACCS ve ACCO *de novo* sentezini teşvik ederek kendi üretimini (oto-katalitik biyosentez) düzenleyebilir (Yang and Hoffman, 1984) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Yang Döngüsü (Metiyonin Döngüsü), ACC'den etilen ve diğer ürünlerin oluşumu (Bradford, 2008)

ACC sentaz ve ACC oksidaz enzimlerini kodlayan genlerin birçok farklı türlerde klonlanıp karakterize edilmesi sonucunda bu enzimlerin içsel (meyve olgunlaşması gibi) ve dışsal (yaralanma gibi) uyarılarda farklı şekillerde ifade edilen çoklu gen aile üyeleri tarafından kodlanıldığını göstermiştir (Kende, 1993; Zarembinski and Theologis, 1994; Johnson and Ecker, 1998; Taiz ve Zeiger, 2008). Örneğin, domateste tespit edilen 3 ACS gen izoformundan ikisinin (*Le-ACS2* ve *Le-ACS4*) meyve olgunlaşması boyunca etilen sentezlenmesi tarafından pozitif olarak, birinin de (*Le-ACS6*) negatif olarak etkilendiği tespit edilmiştir (Nakatsuka et al., 1998). Yine domateste bulunan ACO gen izoformlarından *Le-ACO1* ile *Le-ACO3* meyve olgunlaşmasının erken evrelerinde ifade olurken *Le-ACO1* olgunlaşma sırasında da ifade olmaya devam etmiştir (Bouzayen et al., 1993). Çizelge 2.2.'de bazı türlerdeki ACS ve ACO genlerinin içsel ve dışsal faktörlere karşı olan farklı ifadeleri verilmiştir.

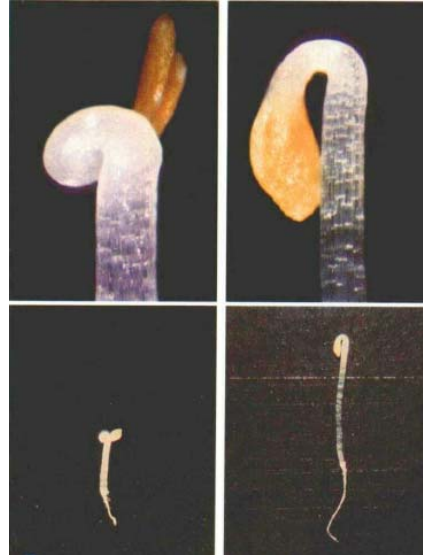
Çizelge 2.2. Etilen sinyal iletim yolundaki genlerin regülasyonu (Johnson and Ecker, 1998)

ORGANİZMA	Regülasyon
ACC sentaz	
Arabidopsis	- Oksin tarafından hızlı bir şekilde uyarılır (<i>ACS4</i>) - Düşük seviyelerdeki sitokinin tarafından uyarılır (<i>ACS5</i>)
Domates	- Bitkinin su içerisinde kalması sırasında hızlı bir şekilde uyarılır (<i>ACS3</i>) - Bitkinin su içerisinde kalması sırasında yavaş bir şekilde uyarılır, ozon tarafından uyarılır (<i>ACS2</i>)
Balkabağı	- 20 dakikalık oksin uygulaması uyarmaktadır (<i>accA</i>) - Yaralanma uyarmaktadır
Fasulye	- Oksin uyarmaktadır (<i>ACS1</i>) - Etilenin tek başına etkisi yok ancak oksin ile kombinasyonunda sinerjistik etkiye sahiptir (<i>ACS2</i>)
ACC oksidaz	
Arabidopsis	- Etilen uyarmaktadır (<i>ACO2</i>)
Domates	- Çiçek gelişimi uyarmaktadır (<i>ACO1-3</i>) - <i>ACO1</i> yaralanma ile uyarılmaktadır, <i>ACO1</i> ve <i>ACO3</i> yaşlanma boyunca artmaktadır
Brokkoli	- Hasat sonrası uyarılmaktadır (<i>ACC Ox1</i>) - Hasat sonrası generatif organlar tarafından uyarılmaktadır (<i>ACC Ox2</i>)
Balkabağı	- Yaralanma hızlı bir şekilde uyarmaktadır, dıştan uygulanan etilen uyarıyı hızlandırmaktadır.
Kavun	- Etilen, yaralanma, tuz, kuraklık ve olgunlaşma uyarmaktadır (<i>ACO1</i>)

2.3.4. Etilen sinyal iletim yolu

Etilen sentezlendikten sonra; sinyali algılanır, iletilir ve böylece spesifik biyolojik tepkiler meydana gelir (Wang et al., 2002).

Etilen sinyal yolundaki elemanları ortaya çıkarmada, karanlıkta çimlendirilmiş ve etilene maruz bırakılmış birçok farklı dikotil bitki türlerinin fidelerinde oluşan morfolojik değişimler kullanılmıştır (Ecker, 1995). Model bitki olan *Arabidopsis*'le yapılan çalışmalarda tohumlar karanlıkta 3 gün süreyle etilenli ve etilensiz ortamda büyütülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda etilen varlığında etiyoletim fidelerinin üçlü bir tepki olarak; kök ve hipokotil uzamasının engellenmesi, hipokotilin kalınlaşması ve tepede abartılı eğrilikler şeklinde farklı bir morfoloji gösterdikleri saptanmıştır (Şekil 2.3.) (Bleecker et al., 1988; Guzman and Ecker, 1990; Chen et al., 2005).



Şekil 2.3. *Arabidopsis*'te etilenin üçlü yanıt etkisi (Guzman and Ecker, 1990)

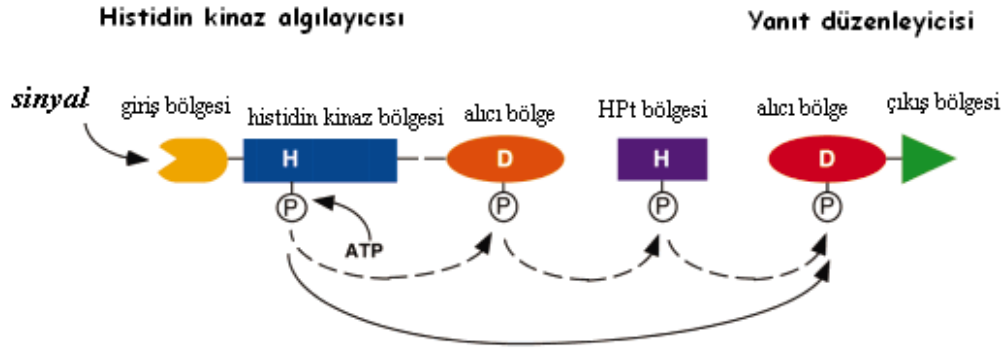
Son 10 yılda moleküler ve genetik yöntemlerin geliştirilmesi ve model bitki olarak *Arabidopsis thaliana* kullanılarak etilen sinyal alımı ve iletim yoluna ait biyokimyasal bileşenleri ile ilgili birçok bilgi elde edilmiştir (Chaves and Mello-Farias, 2006). Bu yaklaşımla beraber birçok etilene duyarsız mutantlar belirlenmiştir. Bu mutantların bazıları; *etr1* (Bleecker et al., 1988; Chang et al., 1993), *etr2* (Sakai et al., 1998), *ein2* (Guzman and Ecker, 1990; Alonso et al., 1999), *ein3* (Roman et al., 1995; Chao et al., 1997), *ein4*, *ein5*, *ein6* (Roman et al., 1995)'dir. Etilen

yokluğunda bazı mutantların üçlü tepkiyi engelleyebildiği de tespit edilmiştir. Bunlar *ctr1* (Kieber et al., 1993) ve *ran1*'dir (Hirayama et al., 1999). Bu mutantların genetik ve moleküler analizleri etilen sinyal yolunun belirlenmesinde önemli rol oynamıştır (Chen et al., 2005).

2.3.5. Etilen reseptörleri

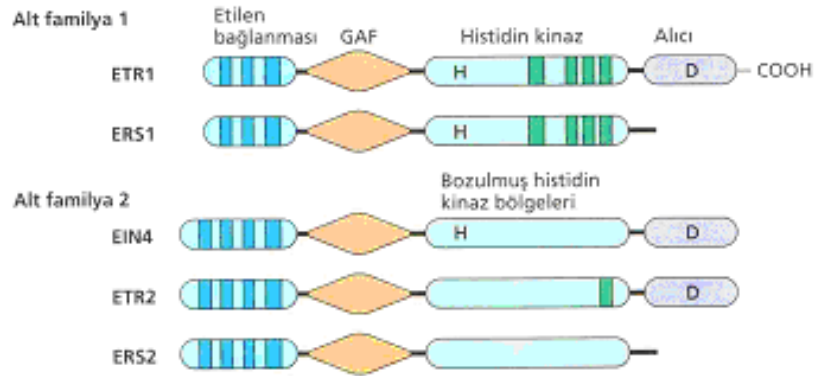
Sinyal alımı, plazma membranının yüzeyinde ya da nukleusta gerçekleşmektedir. Fakat bitkilerdeki etilen sistemi değişiklik göstermektedir. Endoplazmik retikulumda sinyal alımı söz konusudur (Chen et al., 2002; Grefen et al., 2008; Jackel, 2009). Bu durum, etilen alımında herhangi bir sorun oluşturmamaktadır çünkü etilen, hem sitoplazmik hem de lipid bölgelerinden rahatlıkla geçebilmektedir (Abeles et al., 1992). Aslında reseptörün endoplazmik retikulumda yer almasının bazı avantajları söz konusudur. Örneğin endoplazmik retikulum; lipid metabolizması, savunma ve stres yanıtları, protein sentezi ve kalsiyum depolanması gibi hücresel fonksiyonların gerçekleştiği yerdir (Staehelin, 1997). Ayrıca endoplazmik retikulum endomembran ağı aracılığı ile diğer organellere de bağlanmaktadır, dolayısıyla organeller arasında ve diğer sinyal yolları arasındaki iletişimi kolaylaştırmaktadır (Etheridge et al., 2005).

Etilen bitkiler tarafından reseptörler aracılığı ile algılanmaktadır. Etilen reseptörleri fitohormon reseptörleri arasında en iyi karakterize edilmiş reseptörlerdir (Klee and Tieman, 2002). Bu reseptörler, çevresel sinyallere karşı bakteriler tarafından kullanılan iki elemanlı sisteme benzerlik göstermektedirler (Stock et al., 2000). İki elemanlı sistemler histidin kinaz algılayıcısı ve bir yanıt düzenleyicisinden oluşmaktadır (Chang et al., 1993; Müller-Dieckmann et al., 1999). *Histidin kinaz algılayıcısı*; sinyal alan amino-ucu giriş bölgesi ve sinyal ileten karboksil-ucu histidin protein kinaz bölgesi olarak 2 kısımdan oluşmaktadır (Imamura et al., 1998). Yüzlerce kinaz algılayıcılarının sekans karşılaştırmaları sonucunda histidin protein kinaz bölgesinin korunmuş olduğu, buna karşılık giriş bölgelerinin ilişkisiz birimler olarak görüldüğü belirtilmektedir. *Yanıt düzenleyicisi* ise; korunmuş alıcı modülden ve bunu takip eden cevaplara aracılık eden değişken bir çıkış bölgesinden oluşmaktadır (Şekil 2.4.) (Chang and Stadler, 2001).



Şekil 2.4. İki elemanlı sistem (Chang and Stadler, 2001)

1993 yılında ilk defa bir bitki hormonunun (etilen) reseptörü (ETR1) klonlanmıştır (Chang et al., 1993). Daha sonra Arabidopsis'te yapılan çalışmalarda ETR1 reseptörü gibi etilen sinyalinde negatif düzenleyici olarak hareket eden 4 etilen reseptörü [ETR2 (Sakai et al., 1998); ERS1 (Hua et al., 1995); ERS2 (Hua et al., 1998) ve EIN4 (Hua et al., 1998)] daha tespit edilmiştir (Şekil 2.5.). Bu reseptörlerin işlevsel kısımları; amino-ucu etilen bağlayan bölge, GAF bölgesi, histidin protein kinaz bölgesi ve bazı familyalarda 2 elemanlı sistemin ikinci yarısını oluşturan karboksil-ucu alıcı bölgedir (Hua and Meyerowitz, 1998).



Şekil 2.5. Arabidopsis'e ait etilen reseptörler (Taiz ve Zeiger, 2008)

Reseptörler arasında en çok korunmuş olan kısım amino-ucu bölgedir. Bu bölgenin ETR1 ve ERS1'de etilenin bağlanabilmesi için yeterli olduğu bildirilmektedir (Schaller and Bleeker, 1995; Rodriguez et al., 1999).

2.3.6. Etilen reseptörlerinin sınıflandırılması

2.3.6.1. Yapılarına göre

Algılayıcı Bölge (Etilen Bağlanması): Etilen bağlanması amino-ucu hidrofobik bölgesinde gerçekleşmektedir. Burada ETR1 ve ERS1 reseptörleri 3 hidrofobik membran uzantıya sahip iken (Gamble et al., 1998; Moussatche and Klee, 2004), EIN4, ETR2 ve ERS2 reseptörleri 4 membran uzantısına sahiptirler (Klee, 2004). Amino-ucu bölgesi dimerizasyon ve bakır bağlanmaya aracılık etmektedir. Çeşitli proteinlerin arasından korunmuş olan GAF bölgesi (Aravind and Ponting, 1997), etilen bağlanma bölgesini hızlı bir şekilde karboksil-ucuna bağlar. Ancak GAF bölgesinin etilen sinyalindeki fonksiyonu henüz bilinmemektedir (Klee, 2004; Binder, 2008).

Kinaz Bölge: Kinaz bölgesi, histidin kinaza homolog sekansa sahiptir. Histidin kinazın katalitik çekirdeği olarak ifade edilen 5 alt bölgeye (veya katalitik aktivite için gerekli olan elementlere) sahiptir (Klee, 2004). ETR1 ve ERS1 bütün bu alt bölgeleri içerirken, yani iyi korunmuş histidin kinaz bölgesine sahip iken (Wang et al., 2003), EIN4, ETR2 ve ERS2 reseptörlerinde bu alt bölgelerin bazıları eksiktir. Yani bu reseptörler dejenere olmuş histidin kinaz bölgesine sahiptirler (Klee, 2004).

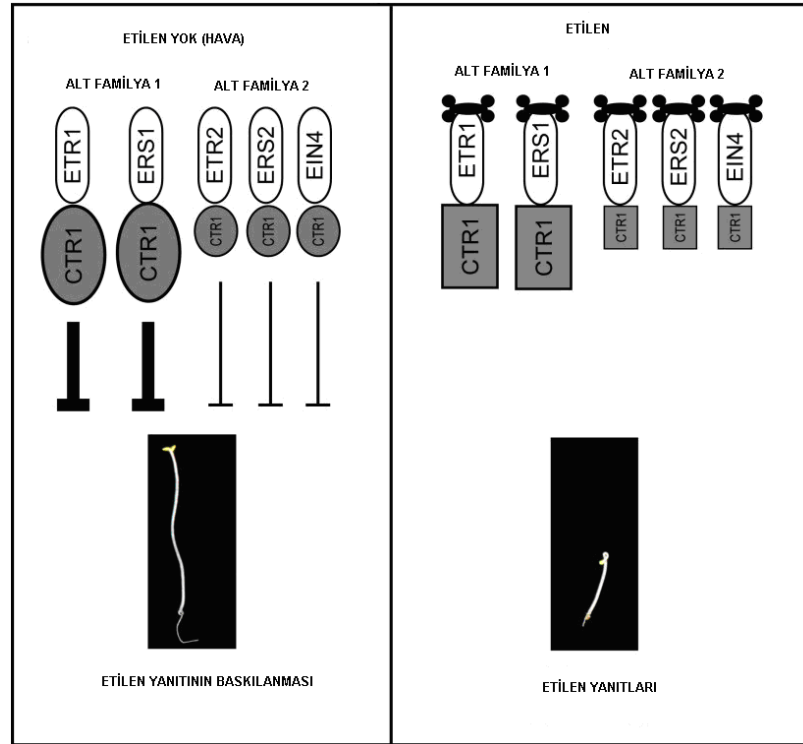
Alıcı Bölge: Bu bölge bakterilerdeki iki elemanlı alıcı bölgeye benzer. İki elemanlı diğer sistemlerde ligandın bağlanması histidin kinaz bölgesinin işlevini düzenler. Bu da korunmuş histidine fosfor bağlanmasını sağlar. Fosfat daha sonra birbiriyle kaynaşmış alıcı bölge içindeki bir aspartik asite aktarılır. Her ne kadar etilen reseptörlerinden (ETR1) birinde histidin kinaz aktivitesi gözlenmişse de (Gamble et al., 1998), diğerleri kritik amino asitlerini kaybetmişlerdir. Bu da onların histidin kinaz aktivitesi gösterme olasılığını ortadan kaldırmaktadır. Dolayısıyla, etilen reseptörlerinin biyokimyasal mekanizması henüz bilinmemektedir (Taiz ve Zeiger, 2008). Etilen reseptörlerinin bazılarında (ERS1, ERS2) bu alıcı bölge eksiktir. Bunlar heterodimer oluşturarak diğer proteinlerin alıcı bölgelerini kullanırlar (Wang vd., 2002).

2.3.6.2. Yapıları ve DNA sekans benzerliklerine göre

Alt Aile I: Bu grupta ETR1 ve ERS1 reseptörleri yer almaktadır. Bunlar, amino-terminal uçta 3 hidrofobik bölgeye ve karboksil-terminal uçta iyi korunmuş histidin kinaz bölgesine sahiptirler (Bleecker and Kende, 2000; Wang et al., 2002; Guo and Ecker, 2004; Teale et al., 2005).

Alt Aile II: Burada EIN4, ETR2 ve ERS2 reseptörleri yer almaktadır. Bunlar, amino-terminal uçta 4 hidrofobik bölgeye ve karboksil-terminal uçta dejenere olmuş histidin kinaz bölgesine sahiptirler (Bleecker and Kende, 2000; Wang et al., 2002; Guo and Ecker, 2004; Teale et al., 2005).

Aynı familyadaki reseptörler, birbirleri ile yüksek seviyede amino asit sekans benzerliğine sahiptirler ve bu genlerin intron pozisyonlarını korumuştur. Bu sınıflandırmada alıcı bölgenin varlığı veya yokluğu dikkate alınmamaktadır (Hua et al., 1995; Hua et al., 1998). Şekil 2.6.'da etilen reseptörlerinin üçlü yanıt etkileri görülmektedir.



Şekil 2.6. Etilen reseptörlerinin üçlü yanıt etkileri (Qu et al., 2007)

2.3.7. Etilenin bağlanması

Etilen reseptörlere bir bakır kofaktörü ile bağlanmaktadır (Rodriguez et al., 1999) ve yapılan genetik çalışmalara göre, hormonun bağlanması sonucunda reseptörlerin inaktif hale geldiği ileri sürülmektedir (Hua and Meyerowitz, 1998; Hirayama et al., 1999). Raf-benzeri serin/tireonin kinaz olan CTR1'in etilen iletim yolunda görevli olduğu düşünülmekte ve bu genin etilen sinyal iletiminde negatif bir düzenleyici olduğu düşünülmektedir (Kieber et al., 1993).

Etilen reseptörü belirlenmeden önce bile bilim adamları etilenin reseptöre olasılıkla çinko ve bakır gibi bir metal kofaktörüyle bağlandığını öngörmekteydiler (Burg and Burg, 1967). Bu öngörü etilen gibi olefinlerin bu metallere yüksek bir afiniteyle bağlanmasına dayandırılmıştır. Son yıllarda yapılan genetik ve biyokimyasal çalışmalar bu varsayımları doğrulamıştır (Taiz ve Zeiger, 2008). Mayada ifade olan ETR1 reseptöründen izole edilmiş membranlara CuSO₄ ilave edilmesi sonucunda, bakırın proteinle etkileşim içine girdiği ve bakırın etilene bağlanma ilgisinin yaklaşık 20 kat arttığı saptanmıştır. Ayrıca bitkilerde etilenin rekabetçi inhibitörü olan gümüşün bakırın yerine geçebileceği ortaya konulmuştur (Bleecker, 1997). Maya hücrelerinin membran ekstraktları kullanılarak yapılan bir çalışmada gümüşün etilen bağlanmasını teşvik ettiği tespit edilmiştir (Chang and Shockey, 1999). Bu durum, gümüşün etilenin etkisini, etilene bağlanma safhasında engellemediğini, başka safhada yani etilen reseptöre bağlandığında normalde proteinde oluşan değişiklikleri önleyerek durdurduğunu göstermektedir (Rodriguez et al., 1999).

Arabidopsis'te *RANI* geninin tanımlanması ile birlikte etilenin reseptöre bağlanabilmesi ve işlevini gerçekleştirebilmesi için bakırın gerekli olduğu ortaya konulmuştur (Hirayama et al., 1999). Muhtemelen *RANI*, etilen reseptörlerinin çalışması için gerekli olan bir bakır iyonu kofaktörünün reseptöre bağlanmasında rol almaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008).

Güçlü ran1 mutasyonları işlevsel etilen reseptörlerinin oluşmasını engellemektedir. *RANI*'in klonlanmasıyla bu genin maya proteinine benzer bir proteini kodladığı

gösterilmiştir. Bu maya proteini, bir bakır iyonu kofaktörünün bir demir taşıyıcı proteinine geçmesi için gereklidir (Taiz ve Zeiger, 2008). İlk ran1 mutantları etilen antogonisti olan *trans*-siklookten'e cevaplamada değişiklik gösteren bitkilerden elde edilmiş mutantlardır (Hirayama et al., 1999).

Ayrıca bitkilerde etilenin bağlanması ile ilgili yapılmış çalışmalara göre 2 reseptör sınıfı söz konusu olduğu bildirilmektedir. Birincisinde, etilenin hemen ayrıldığı (yarı ömrü: <30 dakika), ikincisi ise etilenin yavaş ayrıldığı reseptör sınıfıdır (yarı ömrü > 6 saat) (Bleecker, 1997). Her iki sınıftaki reseptörler 0.1 nM'dan 5 nM'a kadar değişen geniş ölçüde etilen afinitesine sahiptirler. Bu durum reseptörlerin neden çoklu gen familyaları tarafından kodlandıklarını anlatabilir. Dolayısıyla reseptörlerin çeşitliliği, farklı etilen konsantrasyonlarına karşı cevabın verilmesi veya farklı zamanlarda sinyalin devam ettirilmesi anlamında önemlidir (Johnson and Ecker, 1998; Chen and Bleecker, 1995). Buna ilaveten, reseptörlerin ekspresyon seviyeleri değişmektedir (Johnson and Ecker, 1998). Örneğin, ERS1 ve ETR2 etilen teşvik edicilerdir ve her bir gen genç ve/veya olgun dokularda kendilerine özgü ekspresyon seviyelerine sahiptirler (Sakai et al., 1998; Hua et al., 1998).

2.3.8. Etilen sinyal iletimi

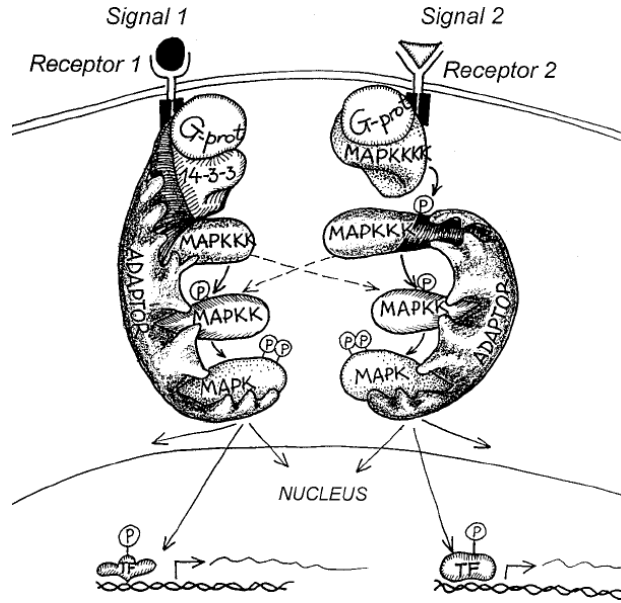
Proteinler arasındaki etkileşimler konsantrasyon ve difüzyon nedeniyle sınırlandırılmaktadır. Bu durum sinyal iletim yolunda bilginin bir molekülden diğerine transfer edilme oranını yavaş bir şekilde azaltabilir. Bu sınırlılığı aşmanın yolu proteinleri komplekslerde birleştirmektir. Bu komplekslerde sinyal iletiminde yer alan ve fiziksel olarak ortak olan 2 veya daha fazla protein yer almaktadır. Bu tarz kompleksler sinyal elementlerini yönlendirebilmektedirler. Yapılan çalışmalara göre etilen reseptörlerinin CTR1 sinyal elemanı ile protein kompleksleri oluşturdukları belirlenmiştir (Chen et al., 2005). CTR1 protein kinaz Raf ailesi ile amino asit bakımından büyük oranda benzerlik göstermektedir ve yapısı MAPKKK (mitojenle aktifleşmiş protein kinaz kinaz kinaz) ile benzerdir. CTR1'in bazı mutant alelleri tüm bilinen protein kinazlarda değişmeyen veya çok az değişen amino asit

değişimleri içermektedirler. Bu durum CTR1 aktivitesi için kinaz fonksiyonun gerekli olduğunu göstermektedir (Ecker, 1995).

MAPK yolları hücre dışı sinyallerin hücre içi hedeflere iletiminde yer alan modüllerdir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005; Ichimura et al., 2002). Ökaryotik hücrelerde yer alan bu proteinler hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarılmasında önemlidirler (Platanias, 2003).

Son zamanlarda bitkilerde yapılan çalışmalar, MAPK sinyal basamaklarının hormonal yanıt olayı, hücre döngüsünün düzenlenmesi, abiyotik stres sinyali ve savunma mekanizmasını içeren temel fizyolojik fonksiyonlarda hayati öneme sahip olduğuna işaret etmektedir (Tena et al., 2001). Ancak halen daha MAPK sinyal basamaklarının etilen sinyal iletimindeki rolleri tam olarak ortaya konulamamıştır.

MAPK sinyal yolunun basamakları, reseptör aracılığı ile oluşan uyarının hücre içine iletiminden sorumlu kinaz sinyal yolunun basamakları gibi çalışır. Sinyalin iletimi G-protein aktivasyonu ile başlar ve böylece MAPKKK'lar dıştan gelen sinyallerle aktif hale gelir. MAPKKK'ın aktivasyonundan sonra sırasıyla MAPKK aktive olur (Kolch, 2000). Aktif hale gelen MAPKK, substratı olan MAPK'ın treonin ve tirozin amino-asitlerine fosfor ilave ederek MAPK'ı aktif hale getirir (Rakwal and Agrawal, 2003). MAPK nükleusta transkripsiyon faktörlerini fosforilasyon yoluyla aktive eder ve böylece hücrenin biyolojik cevabı oluşur (Kolch, 2000) (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. MAPK sinyal iletim yolu şeması (Bögre et al., 2000)

Etilen sinyalinde fonksiyonu olan MAPK sinyal yol basamaklarında görev yapan enzimlerin bazıları klonlanarak karakterize edilmiştir (Çizelge 2.3.) (Nakagami et al., 2005).

Çizelge 2.3. Etilen sinyalinde fonksiyonu olan bazı bitki MAPKKK, MAPKK ve MAPK'ları (Nakagami et al., 2005).

	BİTKİ ADI	BİYOLOJİK FONKSİYONU
MAPKKK		
<i>AtCTR1</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Etilen Sinyali
<i>LeCTR1</i>	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Etilen Sinyali
MAPKK		
<i>NtMEK2</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	Etilen sinyali, hücre ölümü, bakteriyel kaynaklı sinyal, polen çimlenmesi
<i>MsSIMKK</i>	<i>Medicago sativa</i>	Etilen sinyali, ağır metal, hiperozmotik stres, fungal elisitör sinyali
MAPK		
<i>AtMPK6</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Etilen Sinyali, soğuk, kuraklık, yüksek tuz, ozmotik, oksidatif stres, temas, yaralanma, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal, patojenlere direnç
<i>MsSIMK</i>	<i>Medicago sativa</i>	Ağır metal, soğuk, kuraklık, hiperozmotik stres, yaralanma, fungal kaynaklı sinyal, saçak tipte kök büyümesi
<i>NtSIPK</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	Etilen sinyali, hiperozmotik ve hipoozmotik stres, yaralanma, salisilik asit, hücre ölümü, fungal ve bakteriyel kaynaklı sinyal, viral enfeksiyon, polen çimlenmesi
<i>MsMMK3</i>	<i>Medicago sativa</i>	Etilen sinyali, ağır metal, oksidatif stres, fungal kaynaklı stres, sitokinezis, hücre ölümü

CTR1 etilen yokluğunda etilen yanıtlarını baskılayan etilen sinyal yolunda bir negatif düzenleyicidir (Kieber et al., 1993; Clark et al., 1998). Ayrıca yapılan araştırmalara göre etilen cevabında EIN2, EIN3, EIN5 ve EIN6'nın pozitif düzenleyiciler olduğu ileri sürölmektedir. Ancak biyokimyasal seviyede, etilen sinyalinin bu moleköller aracılığı ile nasıl iletildiği henüz bilinmemektedir (Stepanova and Ecker, 2000).

Etilen reseptörlere bağlandığında CTR1 inaktif hale geçmektedir. Bu durumda, CTR1'den sonra gelen bastırılmış sinyal molekülleri serbest hale geçerler ve sonuçta Nramp metal iyon taşıyıcılarına benzeyen etilene duyarsız EIN2 ve transkripsiyonal düzenleyiciler harekete geçmektedirler (Etheridge et al., 2005).

EIN2'nin etilen sinyal iletim yolundaki fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Ancak CTR1'den nukleusa sinyalin iletilebilmesi için EIN2'ye ihtiyaç söz konusudur (Chang and Shockey, 1999). Yapılan çalışmalar EIN2'nin amino-uç kısmının sinyal moleküllerinden etilen sinyalini algılamak için gerekli olduğunu, karboksil ucunun ise bu sinyali arkasından gelen komponentlere iletilmesinde gerekli ve yeterli olduğunu göstermektedirler (Stepanova and Ecker, 2000).

EIN2'nin karboksil-ucu bölgesinden nukleustaki EIN3'e pozitif bir sinyal iletilmektedir. Böylece genlerin transkripsiyonu aktifleşmektedir (Bleecker et al., 1998). Transkripsiyon faktörleri gen ifadesini modüle eden spesifik DNA sekanslarına bağlanan proteinlerdir (Jalali et al., 2006).

Etilen uyartısına yanıt oluşurken, EIN3'ün homodimerleri veya paralogları ERF1 olarak adlandırılan bir genin promotörüne bağlanır ve transkripsiyonunu etkinleştirir (Taiz ve Zeiger, 2008). Transkripsiyon faktörlerinden olan ERF familyası bitkilere özeldir ve Arabidopsis'te AP2/EREBP familyasının toplam 146 üyesinden yaklaşık 56 üyesini içermektedir (Jalali et al., 2006).

ERF1, spesifik bitki transkripsiyon faktörlerinin geniş ailesi olan EREBP (etilen yanıt elementi bağlayan protein)'ler arasında yer almaktadır (Riechmann and Meyerowitz, 1998) (şekil 2.8.). Bu transkripsiyon faktörü genleri etilene tepki sonucu uyarılan genlerin ifade edilmesinde rol almakta ve etilen sinyal iletim yolunun son basamağını teşkil etmektedirler (Solano et al., 1998).

Transkripsiyon faktörlerinin önemli familyalarından biri EIN3 ve EIN3-benzeri (EIL) proteinlerinden oluşmaktadır (Chao et al., 1997; Alonso et al., 2003). EIN3/EIL transkripsiyon familyası etilen cevap faktörü transkripsiyon yolunda olan birçok genle birlikte ERF1'in çalışmasını düzenlemektedir (Solano et al., 1998; Alonso et al., 2003). Günümüzde hala üzerinde çalışılan EIN5 ve EIN6 sekans ve fonksiyonları bilinmeyen proteinlerdir. EIN3, EIL, ERF1 gibi proteinler etilen cevap genlerinin promotörlerine bağlanan (Stepanova and Ecker, 2000) ve etilen hedef genlerinin düzenlenmesini idare eden transkripsiyonal sinyal iletim yolu basamağını başlatan transkripsiyon faktörleridir (Ohme-Takagi and Shinshi, 1995).

EIN3 benzeri transkripsiyon faktörleri birçok türde tespit edilmiştir. Bunlardan bazıları; tütün (5 *NtEIL* gen) (Rieu et al., 2003), domates *EIL* (3 *LeEIL* gen) (Tieman et al., 2001) ve Mung fasulyesi (2 *VR-EIL* gen) (Lee and Kim, 2003)'dir.

EREBP'ler GCC kutusuna bağlanma özellikleri ile belirlenmişlerdir. GCC kutusu hem etilen hem de patojenlere karşı cevap vermede görevli bir DNA motifidir. Arabidopsis genomunda ve diğer bitki türlerinde çok sayıda EREBP bulunmasına karşılık (Riechmann and Meyerowitz, 1998; Fujimoto et al., 2000) yalnızca birkaçının etilen tarafından uyarıldığı tespit edilmiştir (Yammamoto et al., 1999). EREBP'lerin genel rolü hakkında yapılan çalışmalara göre, GCC kutusunun etilen yanıtında spesifik olmadığı ancak daha çok genel transkripsiyonal düzenleyici element olarak işlev gördükleri belirtilmektedir (Arora, 2005).

EREBP genleri etilen yanıtında oldukça büyük bir çeşitlilik göstermektedirler. Bu genlerin bazıları hızlı ve güçlü bir şekilde ifade olurken bazılarının zayıf veya spesifik bir dönemde ifade olmaları söz konusudur. Buna karşılık bazıları hormona karşı yanıt vermezken bazılarının ifadesi baskı altında tutulmaktadır (Johnson and Ecker, 1998). Sonuç olarak kimyasal sinyallerin çoğu hedef hücrelerin aktivitelerini etkilemektedirler (Palavan-Ünsal, 1993).

Son yıllarda etilen sinyal iletim yolundaki genlerin klonlanması ve karakterizasyonu ile ilgili yapılan ve ileride yapılacak olan çalışmalarla etilen metabolizması, alımı ve iletimi hakkındaki bilinmeyen hususların açığa çıkarılabileceği düşünülmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Denemede bitkisel materyal olarak Beta firmasına ait Beith Alpha (OP) hıyar çeşidi kullanılmıştır.

3.1.2. Primer dizaynı

Arabidopsis, domates, hıyar ve kavundan elde edilen etilen reseptör sekansları (aksesyon numaraları: AF13979, AF16250, U21952, U38666, U63291, L24119, U41103) kullanılarak primer BLAST programı yardımıyla 24-27 bazlık dejenere primerler dizayn edilmiş ve Metis Biyoteknoloji (Ankara) firmasında sentezlenmiştir.

Çalışmada etilen reseptör genlerini amplifiye etmek için aşağıda belirtilen ETR1-F, ETR1-R, ETR2-F ve ETR2-R primerleri kullanılmıştır;

ETR1-F (5'-GAGACGGG[ATC]AG[AG]CATGT[AGCT]AG[AG]ATG-3')

ETR1-R (5'-CATGGG[AC]GTTCTCATTTTCATG[AG]TTCAT-3')

ETR2-F (5'-CAGAATTGTGCGGTTTGGATGCCG-3')

ETR2-R (5'-CACAACCTTAACAATCTCAATCTCCTG-3')

3.2. Yöntem

3.2.1. Hıyar meyvelerinin elde edilmesi ve etilen uygulanması

2007 yılı vejetasyon periyodunda hıyar (*Cucumis sativus* L.) tohumları Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezindeki sebze serasına 50x100 cm dikim sıklığında 15 Mayıs 2007 tarihinde ekilmiştir. Bitkilerde bakım ve kültürel işlemler tekniğine uygun olarak Vural vd., (2002)'de belirtildiği gibi yapılmıştır. Hasat edilen meyveler yıkanıp, 200 µl/l klorin ile dezenfekte edilmiştir. Karakurt ve Huber (2002)'e göre meyveler, etilen reseptörlerinin doku içerisinde sentezlenmesini teşvik etmek amacıyla 24 saat süreyle yaklaşık olarak 50 ppm etilene maruz bırakılmışlardır.

3.2.2. RNA izolasyonu

Etilen uygulanmış olan meyvelerin plasenta dokusundan alınan örneklerde toplam RNA izolasyonu Strommer et al. (1993)'e göre yapılmıştır. RNA izolasyonu için 2 g doku, sıvı azot içerisinde ezilmiş ve 10 ml'lik ekstraksiyon tampon çözeltisine (4 M guanidinium isothiocyanate- 25 mM sodyum sitrat (pH: 7.0) % 0.5 sarcosyl- 0.1 M mercaptoethanol) konulmuştur. Solüsyon karıştırıldıktan sonra 1 ml 2 M NaOAc (sodyum asetat) (pH 4.0) ilave edilerek 30 saniye boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra 10 ml saf suyla doyurulmuş fenol eklenmiş ve tekrar vortekslenmiştir. Bu karışıma 6 ml kloroform:izoamilalkol (24:1 v/v) eklenmiş ve 30 saniye vortekslendikten sonra 5000xg'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst sıvı faz (süpernatant) başka bir tüpe aktarılarak eşit hacimde kloroform:izoamilalkol ilave edildikten sonra iyice karıştırılmış ve tekrar 5000xg'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant başka bir tüpe aktarılarak eşit hacimde izopropanol ilave edildikten sonra karıştırılmış ve -20 °C'de bir gece inkübe edilmiştir. 10 000xg'de 30 dakika boyunca 4 °C'de santrifüj işlemi yapıldıktan sonra elde edilen pelet 500 µl RNaz'dan arı suda çözülmüştür. 500 µl 4 M LiCl eklenerek 0 °C'de 3 saat boyunca inkübe edilmek suretiyle RNA çöktürülmüştür. Örnekler 15 000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra pelet % 70'lik ethanol ile 2 kez yıkanmıştır. Pelet

kurutulduktan sonra üzerine 200 µl DEPC (dietyl pirokarbonat) ile muamele edilmiş saf su eklenmiş ve daha sonra kullanılmak üzere –80 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. RNA kalite ve kantitesinin belirlenmesi

3.2.3.1. Spektrofotometrik yöntem

RNA izolasyonu sonucunda elde edilen RNA’nın kalite ve konsantrasyonunu belirlemek amacıyla spektrofotometrede 260 ve 280 nm’de okuma yapılmıştır.

RNA kalitesi, 260 nm dalga boyunda elde edilen absorbans değerinin 280 nm dalga boyunda elde edilen absorbans değerine bölünmesi (A_{260}/A_{280}) ile hesaplanmıştır. Buna göre A_{260}/A_{280} oranı 1.8 ve daha yüksek olan RNA’lar seçilmiştir.

RNA konsantrasyonunun hesaplanmasında kullanılan formül aşağıda verilmiştir:

$$\text{RNA } (\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki absorbans değeri} \times \text{sulandırma oranı} \times 40 \quad (3.1)$$

3.2.3.2. Elektroforetik yöntem

RNA izolasyonu sonucunda elde edilen RNA’nın kalitesini belirlemek amacıyla formaldehit-agaroz jel elektroforezi kullanılarak UV altında RNA’nın kalitesi incelenmiştir. Bunun için Ambion tarafından hazırlanan protokol kullanılmıştır. Bu amaçla % 1’lik agaroz jel kullanılmıştır. 1 g agaroz 72 ml saf suda eritildikten sonra sıcaklığı 60 °C’ye getirilmiş ve 10 ml 10X MOPS [0.4 M MOPS (3-(N-morpholino) propanesülfonik asit), pH 7.0, 0.1 M sodyum asetat, 0.01 M EDTA (etilendiamin tetraasetik asit)], 18 ml % 37’lik folmaldehit ve % 0.1 oranında etidyum bromür ilave edilmiştir. 2 µg RNA örneği ve 2X oranında formaldehit yükleme solüsyonu (% 50 gliserol, 1mM EDTA, % 0.25 bromofenol, % 0.25 xylene cyanol) karıştırıldıktan sonra 70 °C sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edilerek jele yüklenmiş ve 1X MOPS solüsyonu içerisinde koşturulmuştur. Jel elektroforezinde ayrıştırılmış RNA

örneklerinde 28S rRNA bandının yoğunluğu 18S rRNA'nın 2 katı olanlar tercih edilmiştir.

3.2.4. DNaz uygulaması

RNA içinde bulunması muhtemel DNA kontaminasyonunu önlemek için elde edilen örneklere DNaz uygulaması yapılmıştır. Bu amaçla Ambion tarafından hazırlanan protokol kullanılmıştır. Kullanılan toplam RNA'nın 0.1 hacminde 10X DNaz I tampon çözeltisi (100 mM Tris (trishidroksimetil aminometan), pH 7.5, 25 mM MgCl₂, 5 mM CaCl₂ ve 1,5 µl rDNaz I toplam RNA'ya ilave edilerek yavaş bir şekilde karıştırıldıktan sonra 30 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu karışıma RNA'nın 0.2 hacminde DNaz inaktivasyon solüsyonu ilave edilip oda sıcaklığında sürekli ve yavaş bir şekilde karıştırılan örnekler 2 dakika inkübe edilmiştir. 10 000xg'de 1.5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant başka bir tüpe aktarılmış ve kontrol edilmek amacıyla % 1.2 agaroz jel üzerinde ayrıştırılmıştır.

3.2.5. cDNA sentezi

mRNA'dan cDNA elde etmek için 'Advantage RT-PCR' (Clontech) kiti üretici firmanın direktifleri takip edilerek kullanılmıştır. Toplam hacim 12.5 µl olacak şekilde 1 µg toplam RNA'ya DEPC uygulanmış su ilave edilmiştir. 1 µl 20 µM oligo (dT)₁₈ primeri ilave edildikten sonra, RNA 70 °C'de 2 dakika ısıtılmış ve hızlı bir şekilde buza konulmuştur. 4 µl 5X reaksiyon tampon çözeltisi (250 mM Tris-HCL, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂), 1 µl dNTP mix (her biri 10 mM olan dATP, dCTP, dGTP, ve dTTP), 0.5 µl rekombinant RNaz inhibitör, 1 µl MMLV (Malooney Murine Leukemia Virus) geriye transkriptaz enzimi ilave edilip karıştırıldıktan sonra örnekler 42 °C'de 1 saat inkübe edilmişlerdir. cDNA sentezini durdurmak için ve DNaz aktivitesini yok etmek için örnekler 94 °C'de 5 dakika boyunca inkübe edilmişlerdir. Daha sonra toplam hacim 100 µl olacak şekilde 80 µl DEPC uygulanmış su ilave edilerek cDNA hazır hale getirilmiştir. Daha sonra cDNA sentezin kontrolü yapılmıştır. Bunun için 1 µg/µl kontrol RNA kullanılarak

Advantage RT-PCR kitinde belirtilen aşamalar takip edilmiştir. PCR amplifikasyonu 36 µl steril su, 5 µl 10X PCR tampon çözeltisi (500 mM Tris-HCl, pH 8.3, 750 mM KCl, 30 mM MgCl₂), 1 µl dNTP mix (her biri 10 mM), 2 µl G3PDH (Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz) primerleri (10 µM), 5 µl cDNA (1:100), 1 µl Taq DNA polimeraz içeren 50 µl reaksiyon karışımında gerçekleştirilmiştir. PCR koşulları aşağıdaki Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. PCR koşulları

25 döngü	94 °C 45 saniye denatürasyon 60 °C 45 saniye primer bağlanması 72 °C 2 dakika primer uzaması
7 dakika 72 °C'de son uzama	

PCR ürünleri 0.5X TBE (0.11 M tris; 90mM borat; 2.5mM EDTA; pH 8.3) tampon çözeltisi içeren % 2'lik agaroz jel elektroforezde koşturulmuştur. UV (ultra viyole) ışığı altında elde edilen bantlarla cDNA'nın sentezlenip sentezlenmediği kontrol edilmiştir.

3.2.6. Etilen reseptörlerinin kısmi cDNA'larının izolasyonu

Etilen reseptörlerinin kısmi parçalarının izolasyonu için, yukarıda belirtildiği gibi sentezlenen hıyar cDNA'sı diğer türlere ait reseptör sekanslarının korunmuş bölgelerinden hazırlanan dejenere primerlerle PCR amplifikasyonuna tabii tutulmuştur (El-Sharkawy et al., 2003). PCR örneklerine 5 µl cDNA, 2 µl reseptör dejenere primerleri, 5 µl 10X PCR tampon çözeltisi, 1 µl dNTPmix (10 µM), 1 µl Taq polimeraz ilave edilmiş ve reaksiyonun hacmi saf su ile 50 µl olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR koşulları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. PCR koşulları

5 döngü	95 °C'de 1 dakika 30 saniye denatürasyon 58 °C'de 2 dakika primer bağlanması 72 °C'de 1 dakika primer uzaması
15 döngü	95 °C'de 30 saniye 58 °C'de 1 dakika 72 °C'de 30 saniye
20 döngü	95 °C'de 30 saniye 58 °C'de 1 dakika 72 °C'de 2 dakika
7 dakika 72 °C'de son uzama	

PCR işleminden sonra örnekler % 1.2'lik agaroz jelde koşturulmuş ve 1320, 1290, 1110, 904 ve 980 bazlık cDNA parçaları elde edilmiştir. Bu cDNA parçaları aşağıda belirtildiği gibi jelden çıkarılmış ve klonlanarak sekanslanmıştır (İontek). Elde edilen sekanslardan gen spesifik primerler hazırlanarak Metis biyoteknoloji firmasında sentezlenmiştir. Sentezlenen primerler aşağıda detayları verilen RACE analizinde kısmi genlerin tam nükleotid sekanslarının elde edilmesi amacıyla kullanılmışlardır.

3.2.7. PCR ürünlerinin jelden çıkartılması

Agaroz jelde koşturulmuş olan örnekler UV ışık altında jelden keskin ve steril bir jilet yardımıyla kesilerek alınmıştır. Jel parçası içerisindeki DNA'nın çıkarılması için NucleoTrap jel ekstraksiyon kiti (Clontech) kullanılmıştır. Her 100 mg agaroz için 300 µl NT1 tampon çözeltisi eklenmiştir. 1 µg DNA'nın saflaştırılması için 4-10 µl arasında NucleoTrap süspansiyonu eklenmiştir. Örnekler 50 °C'de 2-3 dakikada bir vortekslenerek 15 dakika bekletildikten sonra santrifüj edilmiştir (10 000xg/30 saniye). Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra 500 µl NT2 tampon çözeltisi ilave edilerek vortekslenmiştir. Bu işlem tekrarlanılarak santrifüj işlemi yapılmıştır (10 000xg/30 saniye). Süpernatant tekrar uzaklaştırıldıktan sonra 500 µl NT3 tampon çözeltisi ilave edilerek vortekslenmiştir. Bu işlem tekrarlanılarak santrifüj işlemi

yapılmıştır (10 000xg/30 saniye). Pelet 15 dakika boyunca kurutulmuştur. Daha sonra 40 µl NE tampon çözeltisi (5 mM Tris-HCl, pH 8.0) eklenerek vorteks işlemi gerçekleştirilmiştir. Örnekler 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmişlerdir. 10 000xg ve 30 saniyede santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant uzaklaştırılarak saflaştırılmış DNA fragmanı temiz bir tüpe aktarılmıştır. Daha sonra DNA parçaları % 2 agaroz jelde ayrıştırılarak UV ışığı altında kontrol edilmiştir. Ayrıca jelde moleküler markör koşturularak her bir ürünün boyu belirlenmiştir.

3.2.8. cDNA parçalarının klonlanması

Elde edilen çoğaltılmış gen parçaları TOPO-TA (Invitrogen) ve pGEM-T (Promega) klonlama kitleri kullanılarak klonlanmıştır.

3.2.8.1. TOPO-TA klonlama kiti ile klonlama

PCR Ürünlerinin pCR2.1 TOPO vektörüne ligasyonu: 1 µl PCR ürünü, 3 µl saf su, 1 µl tuz solüsyonu ve 1 µl TOPO vektörü içeren reaksiyonlar oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra transformasyon işleminde kullanılmak üzere 0 °C'de bekletilmiştir.

Transformasyon: 2 µl ligasyon ürünü kompetant hücrelerine (50 µl) ilave edildikten sonra önce 0 °C'de 5-30 dakika arasında, daha sonra 42 °C'de 30 saniye boyunca inkübe edildikten sonra hızlı bir şekilde tekrar 0 °C'ye alınmıştır. 250 µl SOC besi ortamı (% 2 tripton, % 0.5 maya ekstraktı, 10 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 10 mM MgSO₄, 20 mM glikoz) tüplere ilave edildikten sonra 1 saat boyunca 37 °C'de 200 rpm devirde inkübasyon sağlanmıştır. Bu süre sonunda her transformasyon kültüründen 10-50 µl arasında alınarak 50 µg/ml kanamisin içeren LB agarlı (% 1 tripton, % 0.5 maya ekstraktı, % 1 NaCl, %1.5 agar, pH 7.0) ortam petriye 40 mg/ml olacak şekilde X-Gal (5-bromo-4-kloro-3-indol β-D-galaktozid) ilave edildikten sonra yayma şeklinde ekim yapılmıştır. Petriler 37 °C'de 1 gece bekletildikten sonra, bu ortamda büyüyen mavi ve beyaz kolonilerden sadece beyazlar yani transforme olmuş hücreler seçilmiştir. Buradan tek koloni meydana

getirecek şekilde kolonilerden biri tekrar petriye ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriyeler 37 °C’de 1 gece bekletilerek hücrelerin büyümeleri sağlanmıştır. Petriyelerden 2-6 arasında beyaz koloni seçilerek kanamisin (50 µg/ml) içeren LB besiyerine (% 1 tripton, % 0.5 maya ekstraktı, % 1 NaCl, pH 7.0) aktarılmış ve 37 °C’de 200 rpm’de 12-16 saat süresince büyütülmüştür.

Rekombinant plazmidlerin izolasyonu: Rekombinant plazmidlerin izolasyon işleminde ‘PureLink Quick Plasmid Miniprep Kiti’ (Invitrogen) kullanılmıştır. Gece boyunca büyütülen bakteri kültüründen 5 ml alınmış ve 12 000xg devirde santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. 250 µl süspansiyon tampon çözeltisi (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM EDTA) ilave edilerek bakteri peletinin solüsyon içerisine dağılması sağlanmıştır. 250 µl lizis tampon çözeltisi (200 mM NaOH, % 1 w/v SDS) ilave edildikten sonra tüpler yavaş bir şekilde 5 kez ters düz edilmiş ve oda sıcaklığında 5 dakikayı aşmayacak şekilde bekletilmiştir. Daha sonra 350 µl çökeltme tampon çözeltisi ilave edilmiş ve hemen arkasından solüsyon homojen olana kadar hızlı bir şekilde tüpler ters düz edilerek karıştırılmış ve 12 000xg’de, 10 dakika oda sıcaklığında boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant yıkama tüpünde bulunan kolon içerisine aktarılmış ve 12 000xg oda sıcaklığında 1 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Yıkama tüpündeki kısım uzaklaştırıldıktan sonra 500 µl yıkama tampon çözeltisi ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 dakika bekletilmiştir. 12 000xg’de, 1 dakika santrifüj edilerek yıkama tüpündeki sıvı uzaklaştırılmış ve sonra kolona 700 µl yıkama tampon çözeltisi ilave edilmiştir. 12 000xg’de 1 dakika santrifüj edilerek tekrar yıkama tüpündeki sıvı uzaklaştırılmış ve yeniden 1 dakikalık santrifüj yapılmıştır. Kolon başka tüpe aktarıldıktan sonra 75 µl TE tampon çözeltisi (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA) kolonun merkezine ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 dakika boyunca inkübe edilmiştir. 12 000xg’de 2 dakika santrifüj yapıldıktan sonra kolon uzaklaştırılarak plazmid DNA elde edilmiş ve -20 °C’de saklanmıştır. % 1 agaroz jel elektroforezde örnekler bir moleküler ağırlık markörü eşliğinde koşturulmuştur.

3.2.8.2. pGEM-T Easy klonlama kiti ile klonlama

PCR ürünlerinin pGEM-T Easy vektörüne ligasyonu: Promega klonlama kitine göre, 5 µl 2X ligasyon tampon çözeltisi (60mM Tris-HCl pH 7.8, 20mM MgCl₂, 20mM DTT, 2mM ATP, % 10 polietilen glikol), 1 µl pGEM-T Easy vektörü, 3 µl PCR ürünü ve 1 µl T4 DNA ligaz sırasıyla tüpe konulduktan sonra karıştırılıp oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edilerek ligasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Transformasyon: Ligasyon ürünleri *Escherichia coli* JM109 hücrelerine aktarılarak çoğaltılmıştır. Bunun için, kompetant hücrelerini (50 µl) içeren tüplere 2 µl hacminde ligasyon ürünü ilave edilmiş ve 20 dakika 0 °C’de bekletilmiştir. Hücreler 45-50 saniye arasında 42 °C’de inkübe edilerek plazmidin hücre içine girmesi sağlanmıştır. Daha sonra tüpler hızlı bir şekilde buza konularak 2 dakika inkübasyona tabii tutulmuştur. Oda sıcaklığındaki SOC besi ortamından 950 µl tüplere ilave edilmiştir. 1.5 saat boyunca 37 °C’de ~150 rpm devirde inkübasyon sağlanmıştır. Bu süre sonunda her transformasyon kültüründen 100 µl alınarak 100 µg/ml ampisilin içeren LB agarlı petriye 50 mg/ml X-Gal’den 20 µl ve 100 mM IPTG (izopropil-β-D-thiogalaktozid)’den 100 µl ilave edildikten sonra petriye yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler 37 °C’de bir gece bekletilerek plazmidi içeren hücrelerin büyümeleri sağlanmıştır. Bu ortamda büyüyen mavi ve beyaz kolonilerden sadece beyazları seçilerek alınmıştır. Buradan tek koloni elde etmek amacıyla kolonilerden biri alınarak yeni bir petriye ekim yapılmıştır. Petriler yine 37 °C’de bir gece bekletilerek hücrelerin büyümeleri sağlanmıştır. Petrilerden seçilen beyaz koloniler 100 µg/ml ampisilin içeren LB besiyerine (% 1 tripton, % 0.5 maya ekstraktı, % 0.5 NaCl, pH 7.0) aktarılmış ve 37 °C’de gece boyunca (12-16 saat) 200 rpm’de büyütülmüştür.

Rekombinant plazmidlerin izolasyonu: Rekombinant plazmidler ‘Wizard Plus SV Minipreps DNA Purification System’ (Promega) kiti kullanılarak izole edilmiştir. Gece boyunca büyütülen bakteri kültüründen 5 ml alınarak 10 000xg devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra 250 µl hücre süspansiyon çözeltisi (50 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM EDTA, 100 µg/ml RNaz A)

ilave edilmiştir. Vorteks yardımıyla peletin tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpe aktarılmıştır. 250 µl hücre lizis çözeltisi (0.2 M NaOH, % 1 SDS) ilave edildikten sonra tüp 4 kez ters düz edilerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında hücre süspansiyonu berraklaşana kadar yaklaşık 5 dakika boyunca bekletilmiştir. 10 µl alkali proteaz çözeltisi ilave edilerek tüp tekrar 4 kez ters düz edilerek karışması sağlanmış ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. 350 µl nötralizasyon çözeltisi (4.09 M guanidin hidroklorid, 0.759 M potasyum asetat, 2.12 M asetik asit, pH 4.2) ilave edildikten hemen sonra hızlı bir şekilde tüp 4 kez ters düz edilerek karıştırılmıştır. Elde edilen bakteriyal lizat maksimum devirde (14 000xg) oda sıcaklığında 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant kolon içerisine aktarılmış ve 14 000xg'de oda sıcaklığında 1 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Toplama tüpüne geçen sıvı uzaklaştırılmıştır. Kolona 750 µl kolon yıkama çözeltisi (162.8 mM potasyum asetat, 22.6 mM Tris-HCl pH 7.5, 0.109 mM EDTA pH 8.0) ilave edilmiştir. 14 000xg'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edildikten sonra toplama tüpüne geçen sıvı uzaklaştırılmıştır. 250 µl kolon yıkama çözeltisi kullanılarak kolon tekrar yıkanmış ve oda sıcaklığında 2 dakika boyunca 14 000xg'de santrifüj edilmiştir. Kolon temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve tüpe 100 µl nükleazdan arı su ilave edilmiştir. Sonra oda sıcaklığında 1 dakika boyunca 14 000xg'de santrifüj edilerek DNA'nın çözeltilmeye geçmesi sağlanmıştır. Elde edilen plazmid DNA çözeltisi -20 °C'de saklanmıştır. Örnekler % 1'lik agaroz jel elektroforezinde bir moleküler ağırlık markörü eşliğinde ayrıştırılarak sonuçlar UV ışığında incelenmiştir.

3.2.9. Tam uzunluktaki etilen reseptör genlerinin izolasyonu

3.2.9.1. RACE Ready cDNA sentezi

RACE Ready cDNA sentezi için SMART RACE cDNA amplifikasyon kitine (Clontech) ait protokol uygulanmıştır. 5'-RACE-Ready cDNA için; 3 µl RNA örneği, 1 µl 5'-CDS primer A (12µM) ve 1 µl SMART II A oligo (12µM), 3'-RACE-Ready cDNA için; 3 µl DNaz uygulanmış RNA örneği ve 1 µl 3'-CDS primer A (12µM) kullanılmıştır. Her reaksiyona toplam hacim 5 µl olacak şekilde saf su ilave edilmiştir. Karışım yavaş bir şekilde karıştırıldıktan sonra 2 dakika boyunca 70 °C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra tüpler 0 °C'de 2 dakika boyunca inkübe edilmişlerdir. Her reaksiyon tüpüne, 2 µl 5X tek sarmal tampon çözeltisi (250 mM Tris-HCl pH 8.3, 375 mM KCl, 30 mM MgCl₂), 1µl DTT (dithiothreitol) (20 mM), 1µl dNTP Mix (her biri 10 mM) ve 1 µl MMLV geriye transkriptaz ilave edilmiştir. Yavaşça karıştırılıp santrifüj edildikten sonra, 42 °C'de 1.5 saat boyunca inkübasyona bırakılmışlardır. Trisin-EDTA tampon çözeltisi (10 mM Trisin-KOH pH 8.5, 1 mM EDTA) ile seyreltme yapıp tüpler 72 °C'de 7 dakika boyunca inkübe edildikten sonra örnekler -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Böylece 3' ve 5' RACE-Ready cDNA örnekleri hazır hale getirilmiştir.

3.2.9.2. RACE için PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) kontrolü

SMART RACE cDNA amplifikasyon kitin (Clontech) protokolü kullanılarak pozitif kontrol PCR denemesi yapılmıştır. PCR reaksiyonları için öncelikle toplamda 41.5 µl olan ana karışım (34.5 µl su, 5 µl 10X Advantage 2 PCR tampon çözeltisi, 1 µl dNTP Mix (her biri 10 mM), 1 µl 50X Advantage 2 polimeraz mix) hazırlanmıştır. Daha sonra PCR reaksiyonları Çizelge 3.2.'de belirtilen şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3. RACE PCR kontrolü için uygulanan protokol

Tüp No	1	2	3	4
Bileşen	5'-RACE Kontrol	3'-RACE Kontrol	Internal Kontrol (5'-cDNA)	Internal Kontrol (3'-cDNA)
Kontrol 5'-RACE-Ready cDNA	2.5 µl	-	2.5 µl	-
Kontrol 3'-RACE-Ready cDNA	-	2.5 µl	-	2.5 µl
5'RACE TFR (Human Transferrin Receptor) primer	1 µl	-	1 µl	1 µl
3'RACE TFR primer	-	1 µl	1 µl	1 µl
UPM	5 µl	5 µl	-	-
dH ₂ O	-	-	4 µl	4 µl
Ana karışım	41.5 µl	41.5 µl	41.5 µl	41.5 µl
Son hacim	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl

Daha sonra aşağıdaki PCR koşulları kullanılarak touchdown PCR gerçekleştirilmiştir;

<u>5 döngü</u>	94 °C 30 saniye 72 °C 3 dakika
<u>5 döngü</u>	94 °C 30 saniye 70 °C 30 saniye 72 °C 3 dakika
<u>27 döngü</u>	94 °C 30 saniye 68 °C 30 saniye 72 °C 3 dakika

PCR ürünleri elde edildikten sonra her bir örnekten 5 µl alınarak % 1.2'lik agaroz jel içinde koşurulmuştur.

3.2.9.3. RACE (cDNA Uçlarının Hızlı Amplifikasyonu)

3' ve 5' RACE-Ready cDNA örnekleri, SMART RACE cDNA amplifikasyon kiti (Clontech) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda tam uzunluktaki cDNA'ları elde etmek amacıyla kullanılmıştır. PCR reaksiyonlarında gerekli olan ana karışım (34.5 µl su, 5 µl 10X Advantage 2 PCR tampon çözeltisi, 1 µl dNTP Mix (her biri 10 mM), 1 µl 50X Advantage 2 polimeraz mix) hazırlanarak bu karışıma 5' ucun RACE analizi için; 2.5 µl 5' RACE-Ready cDNA, 5 µl UPM (universal primer) (10X), 1 µl Spesifik Gen Primeri 1 (ETR1F; ETR2F) (10 µM) ilave edilerek toplam 50 µl'lik bir reaksiyon hazırlanmıştır. 3' ucun RACE analizi için; 2.5 µl 3' RACE-

Ready cDNA, 5 µl UPM (10X), 1 µl Spesifik Gen Primeri 2 (ETR1R; ETR2R) (10 µM) ve 41.5 µl ana karışım içeren reaksiyon hazırlanmıştır. Daha sonra örnekler 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 68 °C'de 30 saniye primer bağlanması ile 72 °C'de 3 dakika uzama olacak şekilde toplam 25 döngüde amplifiye edilmişlerdir. PCR ürünleri 0.5X TBE tampon çözeltisi içeren % 1.2'lik agaroz jelde koşturulmuştur.

PCR ürünleri jelden çıkartılarak (Bkz. 3.2.7.) pGEM-T Easy veya TOPO-TA klonlama vektörleri içerisine klonlanmış (Bkz. 3.2.8.) ve sonra sekanslama işlemleri için İontek firmasına gönderilmiştir.

3.2.10. Sekanslama ve sekans analizleri

PCR sonucu elde edilen ve klonlanan DNA parçaları İontek firmasına gönderilerek burada sekanslanmıştır (İontek, İstanbul). Elde edilen sekanslar NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Anonymous, 2010b) veri bankasında bulunan ve diğer türlerden elde edilen etilen reseptör gen sekansları ile karşılaştırılarak reseptörlere ait sekanslar olduğu kanıtlanmıştır (Altschul et al., 1997). Tahmini protein sekanslarının dizi analizi ve karşılaştırılması Clustal X (Jeanmougin et al., 1998) ve GeneDoc (Nicholas and Nicholas, 1997) programları ile gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmada hıyar bitkisinden etilen reseptör benzeri genlerin izolasyonu için öncelikle hıyar RNA'sı geriye transkriptaz yardımıyla cDNA'ya dönüştürülmüş ve Arabidopsis, domates, hıyar ve kavundan daha önce elde edilmiş etilen reseptör gen sekanslarından hazırlanan dejenere primerlerle birlikte PCR'a tabi tutulmuştur. Hıyar meyvelerinden RNA izole edilmeden önce meyvelere etilen uygulanmak suretiyle meyvede bulunan reseptör mRNA'ların miktarı arttırılmıştır. Dejenere oligonükleotidler ve cDNA kullanılarak yapılan PCR amplifikasyonları sonucunda, beklenen boyutlarda kısmi cDNA'lar (*ETR1-1* 1320 bp, *ETR1-2* 1290 bp, *ERS1* 1110 bp, *ETR2-1* 904 bp ve *ETR2-2* 980 bp) elde edilmiştir. Çoğaltılan fragmanlar pGEM-T Easy veya TOPO-TA klonlama vektörleri içerisine klonlandıktan sonra sekanslanmıştır.

Homoloji araştırması sonucunda elde edilen nükleotid sekansları kavun, hıyar, domates, *A. thaliana*, elma ve marulda daha önce izole edilen etilen reseptör gen sekanslarıyla hem nükleotid hem de amino asit sekansları bakımından çok önemli derecede benzerlik göstermişlerdir. Bu kısmi cDNA'lara 3' ve 5' RACE analizi uygulanarak tam uzunluktaki cDNA klonları elde edilmiştir. Tam uzunluktaki bu genler yine klonlanıp, sekanslandıktan sonra sekans analizlerine tabii tutulmuş ve bu analizler sonucunda *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* şeklinde isimlendirilmişlerdir. Bu izole edilen genlere ait tam nükleotid dizileri Çizelge 4.1., 4.2., 4.3., 4.4. ve 4.5.'te, ve kodladıkları amino asit sekansları ise Çizelge 4.6., 4.7., 4.8., 4.9. ve 4.10.'da gösterilmişlerdir.

Çizelge 4.1. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS-ETRI-1* etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı

```
AGTATAGATAAAATTGGGGAAAGAAATAGAGTGTGAGAGAGATAGAACCGACGTTGACTTAG
ATGTTTTCTTCCAATTCTCTCACTTTCGTTTGCTTGTCTCAGAACTCCCAAAACCCCA
CCACACCCGAAAAAGTTAGAGAGAGAAACATGAAATTCAATTGAAAAACACCCACAAAC
ATTGCATTTAGACTCTTCAAACCTAAAGGCCTTTCTGGGTCTCTGAAATTTGGGAGAAAA
ATGGTGGAAACCAACACCCTTTGTGGGGTCAACTTAAAGAGCAATTGAAGTTGCCGTTTCG
GCGTTGTTTTTTTTGTTTTTTTTGGCTCCTCCTTGTTTTTGTTTTATCTCAAATGAGCAG
AAGAACCCAGATAAACAGGTAAGTTGTGGGCGGGAGAGGTGTGGTCGCCATGGGAACTTG
TTATTGCATTGAGCCACAATGGCCAGCTGATGAGCTGTTGATGAAGTATCAGTATATCTCT
GATTTCTTTATCGCACTTGCATACTTCTCGATCCCATTTGGAGCTCATCTACTTGGTAAAGA
AATCTGCAGTGTTCCTTACAGATGGGTCTTGTTCAGTTTGGTGCTTTCATTGTTCTTTG
TGGTGAACACATCTTATTAACCTATGGACCTTTACCATGCATTCAAGAACGGTAGCAGTA
GTAATGACCACTGCAAAGTTTTAACTGCTGTGGTATCATGTGCAACTGCCCTTATGCTTG
TACATATTATACCCGATTTATTAAGTGTAAAACTAGAGAGCTCTTTTGAAGAATAAGGC
TGCTGAATTGGATAGGGAAATGGGACTCATTCGTACCCAAGAAGAACTGGTCGACACGTA
AGGATGCTTACTCATGAAATTAGGAGTACTCTTGATAGACATACTATACTAAAAACCCTC
TTGTTGAGCTGGGAAGAACCTTGGCTTTGGAAGAGTGTGCACCTTGGATGCCAACTCGGAC
TGGATTAGAACCTCAACTATCCTATACTTTCATCAGCAGAATCCAGTGGGATATACTGTC
CCCATCAATCTCCCTGTGATCAGTCAAGTTTTTAGTAGTAAGCGGGCCATAAAAAATATCAC
CAAATTTCCAGTGGCGAGCCTACGACCTCTGTGCTGGTAGATATGTGGCTGGAGAGTTGT
TGCTGTCCGTGTTCCCTCTATTGCATCTTTCTAAATTTTCAAATAAATGATTGGCCAGAGCTT
TCGACTAAGCGATATGCGCTTATGGTTTTGATGCTTCCCTCAGATAGTCTAGACAATGGC
GAGTTCATGAGTTGGAGCTGGTTGAAGTTGTTGCTGATCAGGTAGCAGTAGCTCTTTCTCA
TGCTGCAATCTTAGAAGAGTCGATGAGGGCTAGAGATCCCTTAATGGAGCAGAACGTTGCC
CTTGATCTAGCCGAAGAGAAGCAGAGACAGCGAATCATGCTCGTAATGATTTCCCTGGCTG
TCATGAACCAGGAGATGAGAAGTCCGATGCATGCGATTATTGCCCTCTCTTATTATTACA
AGAGACTTTACTTACACCAGAGCAACGTCGTGATGGTTGCAACAATATTA AAAAGCAGAAAC
CTTTTAGCTACTCTAATCAATGATGTTCTGGATCTTTCAAGGCTTGAAGACGGCAGCCTAC
AACTGGACATTGGCACATTTAATCTTCATGCCGTTTTTCAAAGAGGTGCTTAACTTGATCAA
GCCTGTTACGCTAGTAAAAAGTTGTCATTGACCTTACATTTGGGCCCTTGATTTGCCAGTA
TTTGCCGTTGGTGATGCGAAACGTCCTCATGCAAGCTATTCTTAATGTTGTGGGTAATGCTG
TAAAATTTTTCAAAGAAGGTAGTATATCAATCTCAGCCATTGTTGCAAAAAGCAGAAACCTT
CAGAGAAATTCGAGTCCCAGATTTTACCCTGTGCCAAGTGATAGCCATTTTTATTACGT
GTCCAGGTAAAAAGATACTGGATCTGGAATTTGTCTCAAGATATTCCAAAGTTGTTACCA
AATTTGCACAAACTACAGTGGGACCAAGAACTCTTGTGGCAGTGGTCTTGGGCTTGCAAT
TTGTAAAAGTTTGTGAATCTTATGGAAGGACATATATGGCTTGAAAAGTGGAGGTCTTGG
AAGGGATGCACGGCTACTTTTTATTGTA AAACTTGGAAATGCGGAACAATCAAATGAATCAA
AGCTTCCCTTTACATCAAAAATTCATGAAAACAGCATCCATACAAAGTTTTCTTGACTCAA
AGTCCTTGTTATGGACGATAATGGAGTTTGTGCTCGGTGACAAAAGGACTTCTTGTACAT
CTTGGATGCGAAGTAACAACAGCAGGCTCAATTGAGGAGTTCTTACGAGTCGTCTCCCAGG
AACACAAGGTGGTTTTTCATGGATATCTGCACCTCCTGGTGTGATGGTTATGAACTAGCTAT
ACGTATCCGCGAAAAATTTGCAAAGTGCCATGAAAGACCATTTCATGGTAGTACTGACTGGA
AACTCAGACAAAAGTAACAAAGGAGAGCTGCCCTCAGAGCTGGCATGGATGGGCTAATACTAA
AACCAGTTTTCGATTGGTAAAATGAGGAGCGTGTGTGCGGAACCTTATAGAGCGTCGGGTTCT
ATTTGGAACATCTTTAAGGAGCATGAGTAGACAGAGAGATATCTCACAGGGAGTTGCTGTA
CATAAAAGGCATTGTGGTGGTGATCTTGAGAGACAAAATTTGGGGGACATGCCCAATTCCAG
GTTTTCTTACAAACCTGGTTTTCACCACTTTGTACTAGATACCCAGAAAGGAATAGGAGAAA
GAGATGTGTA AAAACGTTTTGTTGAGTTCCTTGAACAAAGTTAGATGTCATCTGTTACT
TTGCTAATTTATTTTTTTCTTTTTAATAGAGAATGTTAAATATTTCTTCAAAAAA AAAAA
```

Çizelge 4.2. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS-ETRI-2* etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı

```
GTGTGAGAGAGATAGAACCGACGTTGACTTAGATGTTTTTCCTTCCCAATTTCTCACCCTT
CCGTTTGCTTGTTTCAGAACTCCCAAAACCCACCACACCCGAAAAAAGTTAGAGAGAGA
AACATGAAATTC AATTGAAAAAACCCACAAACATTGCATTCAGACTCTTCAAACCTCTA
AACGCCTTTCTGGGTCTCTGAAATTTGGGAGAAAAATCCTGGAACCAACACCCTTTGTGG
GGTTCAACTTTAAGATCGATTGAAGTTGCCGTTTTTCGGCGTTTTTTTTTTTTTCGTTTTGG
CTCCTCGTTTTTCCTTTATCTCAAATGAGCAGAAGAACCAGATAAAACAGGTAATTGGTA
GGCGGAGAGAGGTGTGGTCGCCATGGAGAACTTGTTATTGCATTGAGCCACAATGGCCAGC
TGATGAGCTGTTGATGAAGTATCAGTATATCTCTGATTTCTTAATCGCACTTGCATACTT
CTCGATCCCTTTGGAGCTCATCTACTTGGTAAAGAAATCTGCAGTGTTCCTACAGATG
GGTTCTTGTTTCAGTTTGGTGCTTTCATTGTTCTTTGTGGTGCAACACATCTTATTAACCT
ATGGACCTTTACCATGCATTCAAGAACGGTAGCAGTAGTAATGACCACTGCAAAGGTTTT
AACTGCTGTGGTATCATGTGCAACTGCCCTTATGCTTGTACATATTATACCCGATTTATT
AAGTGTTAAACTAGAGAGCTCTTTTTGAAGAAGAAGGCTGCTGAATTGGATAGGGAAAT
GGGACTCATTTCGTA CTCAAGAAGAACTGGTCGACACGTAAGGATGCTTACTCATGAAAT
TAGGAGTACTCTTGATAGACATACTATACTAAAAACCACTCTTGTTGAGCTGGGAAGAAC
CTTGGCTTTGGAAGAGTGTGCAC TTTGGATGCCAACTCGGACTGGATTAGA ACTTCAACT
ATCCTATACTCTTCATCAGCAGAATCCAGTGGGATATACTGTCCCCATCAATCTCCCTGT
GATCAGTCAAGTTTTTAGTAGTAATCGGGCCGTAAAAATATCCCCAAATTCCCCAGTGGC
GAGCCTACGACCTCGTGCTGGGAGATATGTGGCTGGAGAGGTTGTTGCTGTCCGTGTTCC
TCTATTGCATCTTTCTAATTTTCAAATAAATGATTGGCCAGAGCTTTTCGACTAAGCGATA
TGCGCTTATGGTTTTGATGCTTCCCTCAGATAGTGCTAGACAATGGCGTGTTTCATGAGTT
GGAGCTGGTTGAAGTTGTTGCTGATCAGGTAGCAGTAGCTCTTTCATGCTGCAATCTT
AGAAGAGTCAATGAGGGCTAGAGATCCCTTAATGGAGCAGAACGTTGCCCTTGATCTAGC
CCGAAGAGAAGCAGAGACAGCCAATCATGCTCGTAATGATTTCCCTGGCTGTCATGAACCA
TGGGATGAGAACTCCGATGCATGCGATTATTGCCCTCTCTTCATTATTACAAGAGACTGG
ACTTACACCAGAGCAACGTCTGATGGTTGAAACAATATTA AAAAGCAGTAACCTTTTAGC
TACTCTAATCAATGATGTTCTGGATCTTTCAAGGCTTGAAGACGGCAGCCTACA ACTGGA
CATTGGCACATTTTATCTTCATGCCGTTTTCAAAGAGGTGCTTAACTTGATCAAGCCTGT
TACGCTAGTAAAAAGTTGTCATTGACCTTACATTTGGGCCTTGATTTGCCAGTATTTGC
CGTTGGTGGTGAGAAACGTCTCATGCAAGCTATTCTTAATGTTGTGGGTAATGCTGTAAA
ATTTTCAAAGAAGGTAGTATATCAATCTCAGCCATTGTTGCAAAGCAGAAACCTTCAG
AGAAATTCGAGTGCCAGATTTTCACCCTGTGCCAAGTGATTGCCATTTTTATTTACGTGT
CCAGGTAAAAGATACTGGATCTGGAATTAGTCCTCAAGATATTCCAAAGTTGTTACCAA
ATTTGCACAAACTACAGTGGGACCAAGAACTCTTGTGGCAGTGGTCTTGGGCTTGCAAT
TTGTAAAAGGTTTGTGAATCTTATGGAAGACATATATGGCTTGAAAGTGAAGGTCTTGG
AAAGGGATGCACGGCTACTTTTATTGTAAAAC TTTGGAATTGCTGTACAATCAAATGAATC
AAAGCTTCCCTTTACATCAAAAATTCATGGAACAGCATCCATAACAAGTTTTCTGGACT
CAAAGTCCCTTGTATGGACGATAATGGAGTTAGTCGTTTCGGTGACAAAAGGACTTCTTGT
ACATCTTGGATGCGAAGTAACAACAGCAGGCTCAATTGAGGAGTTCTTACGAGTCGTCTC
CCAGGAACACAAGGTGGTTTTTCATGGATATCTGCACTCCTGGTGTGATGGTTGGGAACT
AGCTATACGAATCCGCGAAAAATTTGCAAAGTGCCATGAAAGACCATT CATGGTAGTACT
GACTGGAAACTCAGACAAAGTAACAAAGGAGAGCTGCCTCAGAGCTGGCATGGATGGGCT
AATACTAAAACCGGTTTTCGATTGATAAAATGAGGAGCGTGTGTGCGGAACTTATAGAGCG
TCGGGTTCTATTTGAAACATCTAGAAGGAGCAGGAGTAGACAGAGAGATATCTTACAGGG
AGTTGCTGTACATAAAAAGGCATTGTGGTGGTGATCTTGAGAGACAAATTTGGGGACATG
CCCAATTCAGGTTTTCTTACAAACCTGGTTTTTACCCACTTTGTACTAGATACCCAGATAG
GAATAGGAGAAAGAGATGTGTAAAACGTTTTGATGAGTTCCTTGAAACAAAGTTAGATG
TCATCCTGTTACTTTGCTAATTTATTTTTTTCTTTTTTAATAGAGAATGTTAAATATTTTC
TTCAAAAAAAAAA
```

Çizelge 4.3. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS-ERS1* etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı

```
CTCACCTTCTTCCTTCTTTAACTTGATATATCCTGGAGAAGATTATCTTATGATGGAGT
CCTGTGATTGCATTGAGGCCCAATGGCCCCCGATGAACTTCTAGTGAAATATCAGTAT
ATATCAGATGTGCTAATCGCTCTTGCTTATTTCTCCATCCCGTTGGAGCTTATATATTT
TGTGCAGAAGTCTGCATTCTTTCCTTATAGATGGGTGCTTATGCAATTTGGTGCTTTTA
TTGTTCTCTGTGGAGCAACACACTTCATAAACCTTTGGACCTTCTCGATGCACTCGAAG
GCTGTGGCCGTGGTTATGACTGTTGCAAAAGTTGCTTGTGCTATTGTATCGTGCGCAAC
TGCGTTAATGCTTGTTCACATTATTCCTGATCTCTTGAGTGTCAAAACTCGAGAAATTG
ATTCTTAAAAATAATGCTGACCAACTTGACAGGGAGATGGGCCTTATTCTCACTCAGGA
AGAACTGTAAGGCATGTTAGAATGCTAACTCATGAAATAAGAAGCACACTCAACCGGG
ATACGATATTA AAAACAATACTTGTGAGCTCGGGAAGACCTTGGGACTTGAGGAATGT
GCCCTGTGGATGCCATCACGGAATGGACTAAGTCTACAGCTTTCGCATGCCTTGAAC TA
CCAGATACCAGTGGGAAC TAATATTCCAATAAATCTTCCTGTTGTCAATGAAGTTTTC A
ATAGTAATCGAGCAATATGCGTTCCTATACTTGTCAATTGGCTAGGGTCAGAACTCCT
GTTGGAGGAAGATACTTGCCACCAGAAGTTGTTGCAGTGCAGATTCCCCTCTTAAACCT
TTCAAATTTCCAATGAACAATTGGCCTGATGGCTCTTCCAGAAGCTATGCAATTATGG
TTCTAATTTCTTCTACAGATAGCGCTAGGAAATGGCGAGATCATGAGTTGGAAC TTGTC
GATGTGGTCGCAGACCAGGTAGCTGTTGCAC TTTCACATGCTGCAATTCTTGAGGAGTC
TATGCGGGCGCGTGATCAGCTCGTGGACCAAATGTGGCTTTGGACTTAGCCCGAAGAG
AAGCAGAGACCGCGATT CAGGCTCGTAATGATTTCTGGCTGT CATGAACCATGAAATG
AGGACGCCGATGCACGCAATAATTGCCCTTTCATCCCTGCTTTTGGAGACTGAACTGAC
TCCAGAACAAGAGTGATGATAGAGACAATACTCAAAGTAGTAATCTTCTAGCCACTC
TGATTAATGATGTCTTGATCTCTCAAGACTTGAAGATGGCAGGTTGGTTTTGGACATG
GGATCCTTCAATCTCCATGCCATTTTCAAAGAGGCATTAGATCTTTTTTAAGCCCATTC
TTCCGTTAAGAAGTTGTCGATGGCATTGATTTTGGCATCAGATCTACCGATCTGTGCTG
TTGGTGATGAGAAGCGGCTTATGCAAAATCATCTTGAATATCGTCGGTAATGGGGTGAAG
TTTACTAAAGAAGGGCACGTTTCTATCATAGCATCCGTTGCAAAACTGGATTCTCTGAG
AGATTGGCGCCCTACTGAATTCTATCCAATGCAATCTGATGGCCAGTTTTACCTGCGAG
TACAGGTTAAAGATT CAGGATGTGGTATTCCACCCCAAGACATTCTCATGTGTTTACA
AGATTCACTCAGTTACAAACACGATCAAACAAAACAAATAGTGGCGTGGGACTTGGCTT
GGCCCTTTGTAAACGGTTTATAAATCTCATGGGAGGTCACATTTGGATCGAGAGTGAAG
GCCCCGATAAAGGAACGACAGCCGTGTT CATGGTGAACTTGGGATCTGCAATGCTAAT
CCAAATGAATTATCGGTCAAACAAGTTGAACCCATTGTAAATCACAGAAGTGCAGATCT
CCATGGACAAAGACCAATCTTCAGAGAACTGGTCAAGTTCCCTTCTCCAATTTCCGGT
ATCAACGAAGTCTTCAAACCTCGATGCTGTGCGGAGTTGGAAGTTCCTTTTGGGATTGTTT
TTTTGTTCTCAGGGAACCATGAAGTTGAAAGAAATACACTTCCATTACCGCGGCTCCT
CTTTTGCTTACCGAACAATATTACATGTTATTATTTAAACAAATCACAAGGATGCCAAA
TGTGCAGCCTACCATATAGAGTATAATAAATCTATCCTTCAACTGTTCAATATAAAAACA
TTTTGTGCATTTGGTGTACTATACAAATGTCAGTTTACTCCATCAAATCATTTCCTT
ACTGCTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

Çizelge 4.4. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS-ETR2-1* etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı

```
ACGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAATTGTGGATCCCCGGGCTGCAGGAATCCGGCACGAG
GATTAATGGATGAGGGAGATGGGATCTCGAATCGTTTGAGGTTTGTGCATGTGCCGAA
TGCTAAGATCTGAAGCTGGATGTGAATGGAATCTGATGTATCGGCGACTGGTTGGTTTT
CCTTCGTCAGGAAATGGGAATTGGAGATGCGTGTACTGTTGTTATAGTTAATGCCAATT
GCGACTCCGTTATCGGTAAGTTGTTGGGGCTTCAATCTCTCGAATTTTGGTTCGTTAATG
GATTGAAGAATCGGGTTACGGACGCAATGTTAAAGGCATTGCCATCTGGGTTTCTGATT
TTGTTATTACTGGCATCTGTTTCTGCTGCCGACAACGGATTTCCGAGATGTAATTGTGA
TGACGAGGGTAGTTTATGGAGCATCGACAGCATTTTGGAGTGTGAGCGTGTGAGTGATT
TTTTGATTGCTGTGGCCTACTTCTCTATTCCCTATTGAACTTCTCTATTTTCGTTAGTTGC
TCCAATGTTCCCTTCAAATGGGTTCTATTTTCAGTTTATTGCCTTCATTGTTCTATGTGG
GTTGACCATTTTGTCAATGGTTGGACTTATGGCCCCACTCATTCATTTGATGCTAG
CTCTCACCGTCTTCAAATTTCTTACCGCCCTGGTTTCTGTGCTACTGCTATAACCCTC
ATCACACTTATTCCCTTGTCTTCTCAAGGTGAAAGTGAGAGAGTTTATGTTGAAGGAGAA
GACATGGGATCTGGGAAGAGAAGTTGGTATGATACTGAAGCAGAAAGAAGCTGGCTTAC
ACGTTCCGATGCTTACTCAAGAGATCCGCAAGTCTCTTGATCGACATACTATACTTTAC
ACGACCATGTTTGGAGTGTCTGAAACTTTGGGTTTGCCTACTGTGCAGTTTGGATGCC
TAATGAGAGCAAGACTTTGATGAATTTGACTCATGAGTTGAAAAGATTGCAGCTTCTCAA
ATGGATACAATGTTTTCATACCAATAAGTGATTCTGATGTCATTAATAAATCAAGGCGAGC
GATGGTGTAAAGTTCTTGGGCCTAATTCGGCACTTGTTGTGCTAAGTGTGGCGAGTC
TGATGAACGTGGTCTGCAGCAGCGATTAGGATGCCAATGCTACGTGTCTCCAACCTTCA
AGGGAGGAACTCCTGAGATAGTTCCAACCTTACTATGCGATTTTGGTTTTAGTTCTCCCT
GGTGGACAACCTAGATCTTGAATAACCAGGAACTCGAGATAATAAAGGTGGTTGCTGA
CCAGGTGGCTGTTGCTCTCTCCCATGCTGCTCTTCTGGAGGAGTCCAGCTCATGAGAG
ATAAACTGGCTGAGCAGAATCGAGATCTGCAACAGGCCAAGGAGAATGCTTTGATGGCA
AGCCAAGCTAGAACTCCTTCCAGAAGGTGATGAGTGTGAGGATGAGGAGACCTATGCA
TTCCATCATGGGTTTGTCTTCAATGTTGCAGAATGAGAATATGAATGATGACCAACGAA
TTATACTTGATGCCATGGTGAGGACTGGCAATGTTGTCTCTACACGGATAGATGATGTT
ATGGAACATCCAATTAAGGATAGTGCAAGATTTCTTTGGAGTTGGAGATGAGATCTTT
TAGGTTACATTTCTATGATAAAGGAGGCAGCTTGTCTTGCCAAGTGCTTGTGTGCATATA
AGGGCTTTGGTTTTTGCCTTTGAAGTTCAGAGGTCTCTTCCTGATCACGTGATGGGCGAT
GAAAGAAGGGTTTTTTCAGGTGCTTTTGCATATGGTGGGGAGCCTATTAATGACATCAA
CCAGGGAGGAGGATATGCTTTGTTTCCGGTTGTGGCTGAGAGTGGAAAGTCAGGGACGGA
ATGACCAAAGGTGGGGTAATTGGAGACAAATCTCTTCTGATGGGGATGCCTTTATCAGA
TTTGAGTTTGGGATAAATAAGAGCAATTTCTCAATCAGAGGGCTCTATTCCAAATATGGT
ATCTGGTGATCGAAGATACGCCAGTGATGGAGCTGAGGAACGCTTGAGTTTTACCATCT
GCAAGAAGCTTGTTAAGTTGATGCAAGGGAACATATGGGTAATCCCTAATCCTCAAGGA
TTTACACGAAGCATGGCACTTGTCTTTCGTTTTCAACTTCGACCTCCATAGCAGTGGC
CATGCCTGAACCTGGAGAATCATCCGAACATCCACACTCCAATTCATCTTCAGAGGAT
TGCAAGTTATTTTAGCCGATGCCGATGACATGAACAGAGCTGTGACACGAAAAATGCTC
GAGAAGTTGGGCTGCAACGTGACTGCTGTTTCTTCTGGATTGCAATGTCTCACAGTCAT
GGCACCAGCTGGTTCTTCTATCCAAGTGGTGTCTTGGATCTTCACATGCCAGAATTAG
ATGGTTTTGAAGTTACAACAAGGATTCAGAAAGTTTGAAGCCAGAATTATAGGCCAGT
GATCATTTGCATTAAGTCAAGTGCAGGTGAAGATTGGGAGAGATGCGTGCAGATTGGGA
TGAACGGTGTATACGAAAACCAGTTCAGTTACAGGGAATCGCCCATGAGCTTCGCCGT
GCTCTGTGCAAGCAAGAAAGGTTGTGTGAGGAGGAGATTCATAGAGAGCCTGGCAGTT
AATTGCTTATGTGCAAAAATCTGGTTATCTTGATAGAGAGGTAGCAAGCAAAATATAAT
TAGTCTCTGACCTCAAAAAGTCTGAGTTTCCCCTCAAAATCTCTTCCGCCAGAGAGGAAT
GTTACGAACTCGAAAAAATGTTCAACAATTTTACAGTGAAAAATGGTATACAATAGTTG
TCCCCTTCTTCTTCAAAAAA
```

Çizelge 4.5. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS-ETR2-2* etilen reseptörünün tam nükleotid sekansı

```
TTGTTTCCTCTTATGCTCTAGAATAGCTCCACGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAATAGCGGA
TTCCCTGGGCTGCAGGAACTCGGCACGAGGATTAATGGATGAGGGAGATGGGTTTTCGAA
TCGTTTCAGGTTTGTGCATGTGCTGGAATGCTAAGATCTGAAGCTGGTTGTGAATGGAAT
CTGTTGTATCGGCGACTGGTTGGTTTTCTTTGTCCAGGAAATGGGATTTGGAGATGCGTG
TACTGTTGTTATAGTTTCATGCCAAGTGCGACTCCGTTATCGGCAAGTTGTTGGGGCTTCA
ATCTCTCGAATTTTCGCGCGTTAAATGGATTGAAGAACTCGGCTTTTTGGATGCAATGTTA
AAGGCATTGCCATCTGGGTTTCTGATTTTTGTTATTACTGGCATCTGTTTCTGCTGCCGAC
AACGGATTTCCGAGATGTAATTGTGATGATGAGGGTAGTTTATGGAGCATCGACAGCATT
TTGGAGTGTGACGCTGTGAGTGATTTTTTTGATTGCTGTGGCCTACTTATCTATTCCATT
GAATTTCTCTATTTTCGTTAGTTGCTCCAATGTCCCTTCAAATGGGTTCTATTTTCAGTTT
ATTGCCTTCATTGTTCTATGTGGGTTGACCCATTTGCTCAATGGCTGGACTTATGGCCCC
CACTCATTCCATTTGATGCTAGCTCTCACCGTCTTCAAAATTTCTTACCGCCCTGGTTTCC
TGTGCTACTGCTATAACCCTCATCACACTTATTCCTTTCTTCTCAAGGTGAAAGTGAGA
GAGTTTATGTTGAAGGAGAAGACATGGGATCTCGGAAGAGAAGTTGGTATGATACTGAAG
CAGAAAGAAGCTGGCTTACACGTTTCGGATGCTTACTCAAGAGATCCGCAAGTCTCTTGAT
CGACATACTATACTTTACACGACCATGTTTGGAGCTGTCTGAAACTTTGGGTTTGCCTAC
TGTGCAGTTTGGATGCCTAATGAGAGCAAGACACTGATGAATTTGACTCATGAGTTGAAA
GATCGCAGCTTCTCAAATGGATAACAATGTCTTCATACCAATAAGTGATTCCGATGTCATT
AAAATCAAGGGCAGCGATGGTGTAAACGTTCTTGGGCCTAATTCGGCACTTGTGTGCGCT
AACTGTGGCGAGTCTGATGAACGTGGTCTGCAGCAGCGATTAGGATGCCAATGCTACGT
GTCTCCAACCTTAAAGGGAGGAACTCCTGAGATAGTTCCAACCTTACTATGCGATTTTTGTT
TTAGTTCTCCCTGGTGGACAACCTAGATCTTGAATAAACAGGAACTGGAGATAATAAAG
GTGGTTGCTGACCAGGTGGCTGTTGCTCTCTCCCATGCTGCTCTTCTGGAGGAGTCCCAG
CTCATGAGAGATAAACTGGCTGAGCAGAATCGAGATCTGCAACAGGCCAAGGAGAATGCT
TTGATGGCAAGCCAAGCTAGAACTCCTTCCAGAAGGTGATGAGTGATGGGATGAGGAGA
CCTATGCATTCCATCATGGGTTTGCTTTCAATGTTGCAGAATGAGAATATGAATGATGAC
CAACGAATTATACTTGATGCCATGGTGGAGACTGGCAATGTTGTCTCTACATTGATAGAT
GATGTTATGGAACATCCAATTAAGGATAGTGCAAGATTTCTTTGGAGTTGGAGATGAGA
TCTTTTAGGTTACATTCTATGATAAAGGAGGCAGCTTGTCTTGCCAAGTGCTTGTGTGCA
TATAAGGGCTTTGGTTTTGCTTTGAAGTTTCAAGGTTCTCTCCCTGATCACGTCATGGGC
GATGAAAGAAGGGTTTTTCAGGTGCTTTTGCATATGGTGGGGAGCCTATTAATGACATC
AACCAGGGAGGAGGATATGCTTTGTTTTCGGGTTGTGGCTGAGAGTGGAAGTCAGGGACGG
AATGACCAAAGGTGGGGTAATTGGAGACAAAACCTTCTGATGGGGATGCCTTTATCAGA
TTTGAGGTTGGGATAAATAAGAGCAATTTCAATCAGAGGGCTCTATTCCAATATGGTA
TCTGGTGATCGGAGATACGCCAGTGATGGAGCTGAGGAACGCTTGAGTTTACCATCTGC
AAGAAGCTTGTTAAGTTGATGCAAGGGAACATATGGGTAATCCCTAATCCTCAAGGATTT
ACACGAAGCATGGCACTTGTTCCTCGTTTTCAACTTCGACCCTCCATAGCAGTGGCCATG
CCTGAACCTGGAGAATCATCTGAACATCCACACTCCAACCTCCATCTTCAGAGGATTGCAA
GTTATTTTAGCCGATGCCGATGACATGAACAGAGCTGTGACACGAAAAATGCTCGAGAAG
TTGGGCTGCAACGTGACTGCTGTTTCTTCTGGATTGGAATGTCTCACAGTCATGGCACCA
GCTGGTTCCTTCAATTCAAGTGGTGTCTTGGATCTTACATGCCAGAATTAGATGGTTTT
GAAGTTACAACAAGGATTCAGAAAGTTTGAAGCCAGAATTATGGGCCAGTGATCATTGC
ATTAAGTCAAGTGCCGGTGTAGATTGGGAGAGATGCGTGCAGATTGGGATGAACGGTGT
CATACGAAAACCTGTTTCAGTTACAGGGAATCGCCCATGAGCTTCGCCGTGCTCTGCTGCA
AGCAAGCAAGGTTGTGTGAGGAGGATAATTATAGAGAGCTGGCAGTTAAGTGGTTATGT
GCAAAAATCTGGTTATCTTGATAGAGAGGTAGCAAGCAAAATATAATTAGTCTCTGACCTC
AAAAGTCTGAGTTTCCCATCAAATCTTTCGCCAGAGAGGAATGTTACGAACCTTGAAA
AAATGTTCAACAATTTACAGTGAAAAATGGTATAACAATAGTTGTCTTACTCTCTTTTC
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

Çizelge 4.6. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS ETR1-1* reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları

468	atg aagtatcagtatatctctgatttctttatcgcacttgcatac
	M K Y Q Y I S D F F I A L A Y
513	ttctcgatcccattggagctcatctacttggtaaagaaatctgca
	F S I P L E L I Y L V K K S A
558	gtgtttccttacagatgggttcttggtcagtttgggctttcatt
	V F P Y R W V L V Q F G A F I
603	gttctttgtggtgcaacacatcttattaacctatggacctttacc
	V L C G A T H L I N L W T F T
648	atg cattcaagaacggtagcagtagta atg accactgcaaagggt
	M H S R T V A V V M T T A K V
693	ttaactgctgtggtatcatgtgcaactgccctt atg cttgtagat
	L T A V V S C A T A L M L V H
738	attatacccgatttattaagtgttaaaactagagagctctttttg
	I I P D L L S V K T R E L F L
783	aagaataaggctgctgaattggatagggaa atg ggactcattcgt
	K N K A A E L D R E M G L I R
828	acccaagaagaaactggtcgacacgtaagg atg cttactcatgaa
	T Q E E T G R H V R M L T H E
873	attaggagtactcttgatagacatactatactaaaaaccactctt
	I R S T L D R H T I L K T T L
918	gttgagctgggaagaaccttggctttggaagagtgtgcactttgg
	V E L G R T L A L E E C A L W
963	atg ccaactcggactggattagaacttcaactatcctatactctt
	M P T R T G L E L Q L S Y T L
1008	catcagcagaatccagtgatatactgtccccatcaatctccct
	H Q Q N P V G Y T V P I N L P
1053	gtgatcagtcagtttttagtagtaagcgggcccataaaaatatca
	V I S Q V F S S K R A I K I S
1098	caaattccccagtgggcagcctacgacctcgtgctggtagatat
	P N S P V A S L R P R A G R Y
1143	gtggctggagaggttgttgctgtccgtgttcctctattgcatctt
	V A G E V V A V R V P L L H L
1188	tctaattttcaaataaatgattggccagagctttcgactaagcga
	S N F Q I N D W P E L S T K R
1233	tatgcgctt atg gttttgatgcttccttcagatagtgtgtagaaa
	Y A L M V L M L P S D S A R Q
1278	tggcgagttcatgagttggagctggttgaagttggtgctgatcag
	W R V H E L E L V E V V A D Q
1323	gtagcagtagctctttctcatgctgcaatcttagaagagtc atg
	V A V A L S H A A I L E E S M
1368	agggctagagatccctta atg gagcagaacgttgcccttgatcta
	R A R D P L M E Q N V A L D L
1413	gcccgaagagaagcagagacagcgaatcatgctcgtaatgatttc
	A R R E A E T A N H A R N D F
1458	ctggctgtc atg aaccaggagatgagaactccgatgcatgcgatt
	L A V M N Q E M R T P M H A I
1503	attgccctctcttcattattacaagagactttacttacaccagag
	I A L S S L L Q E T L L T P E
1548	caacgtctg atg gttgcaacaatattaaaaagcagaaacctttta
	Q R L M V A T I L K S R N L L
1593	gctactctaataatgatgttctggatctttcaaggcttgaagac
	A T L I N D V L D L S R L E D

Çizelge 4.6. (devam)

1638 ggcagcctacaactggacattggcacatttaattcttcatgccggt
G S L Q L D I G T F N L H A V
1683 ttcaaagaggtgcttaacttgatcaagcctgttacgctagtaaaa
F K E V L N L I K P V T L V K
1728 aagttgtcattgaccttacatttgggccttgatttgccagtat
K L S L T L H L G L D L P V F
1773 gccgttggatgacgaaacgtctc**atg**caagctattcttaatggt
A V G D A K R L **M** Q A I L N V
1818 gtgggtaatgctgtaaaattttcaaaagaaggtagtatatcaatc
V G N A V K F S K E G S I S I
1863 tcagccattggtgcaaaagcagaaaccttcagagaaattcgagtc
S A I V A K A E T F R E I R V
1908 ccagattttcaccctgtgccaagtgatagccatttttatttacgt
P D F H P V P S D S H F Y L R
1953 gtccaggtaaaagatactggatctggaatttgtcctcaagatatt
V Q V K D T G S G I C P Q D I
1998 ccaaagttgttcaccaaatttgcacaaactacagtgggaccaaga
P K L F T K F A Q T T V G P R
2043 aactcttggcagtggtcttgggcttgcaatttgtaaaagggtt
N S C G S G L G L A I C K R F
2088 gtgaatctt**atg**gaaggacatatatggcctgaaagtggaggctt
V N L **M** E G H I W L E S G G L
2133 ggaaagggatgcacggctacttttattgtaaaacttgggaattgcg
G K G C T A T F I V K L G I A
2178 gaacaatcaaatgaatcaaagcttccctttacatcaaaaattcat
E Q S N E S K L P F T S K I H
2223 gaaaacagcatccatacaagttttcctggactcaaagtccttggt
E N S I H T S F P G L K V L V
2268 **atgg**acgataatggagtttgcgctcggtgacaaaaggacttctt
M D D N G V C R S V T K G L L
2313 gtacatcttggatgcaagtaacaacagcaggctcaattgaggag
V H L G C E V T T A G S I E E
2358 ttcttacgagtcgtctcccaggaacacaaggtggtttt**atgg**at
F L R V V S Q E H K V V F **M** D
2403 atctgcactcctgggtggtgatggttatgaactagctatacgtatc
I C T P G V D G Y E L A I R I
2448 cgcgaaaaatttgcaagtgccatgaaagaccattc**atg**gtagta
R E K F A K C H E R P F **M** V V
2493 ctgactggaaactcagacaaagtaacaaaggagagctgcctcaga
L T G N S D K V T K E S C L R
2538 gctggc**atgg**atgggctaataactaaaaccggtttctgattggtaaa
A G **M** D G L I L K P V S I G K
2583 **atg**aggagcgtggttgcggaacttatagagcgtcgggttctattt
M R S V L S E L I E R R V L F
2628 ggaacatctttaaggagc**atg**agtagacagagatatctcacag
G T S L R S **M** S R Q R D I S Q
2673 ggagttgctgtacataaaaggcattgtgggtggtgatcttgagaga
G V A V H K R H C G G D L E R
2718 caaatttgggggacatgcccaattccagggttcttacaacactgg
Q I W G T C P I P G F L Q T W
2763 tttcaccactttgtactagataccagaaaggaataggagaaaag
F H P L C T R Y P E R N R R K
2808 agatgtgtaaaaacgttttgt**tga** 2831
R C V K T F C *

Çizelge 4.7. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS ETR1-2* reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları

434	atg aagtatcagtatatctctgatttcttaatcgcacttgcatac
	M K Y Q Y I S D F L I A L A Y
479	ttctcgatccctttggagctcatctacttggtaaagaaatctgca
	F S I P L E L I Y L V K K S A
524	gtgtttccctacagatgggttcttggtcagtttgggtgctttcatt
	V F P Y R W V L V Q F G A F I
569	gttctttgtgggtgcaacacatcttattaacctatggacctttacc
	V L C G A T H L I N L W T F T
614	atg cattcaagaacggtagcagtagta atg accactgcaaagggt
	M H S R T V A V V M T T A K V
659	ttaactgctgtgggtatcatgtgcaactgccctt atg cttgtacat
	L T A V V S C A T A L M L V H
704	attatacccgatttattaagtgttaaaactagagagctcttttttg
	I I P D L L S V K T R E L F L
749	aagaagaaggctgctgaattggatagggaa atg ggactcattcgt
	K K K A A E L D R E M G L I R
794	actcaagaagaaactggtcgacacgtaagg atg cttactcatgaa
	T Q E E T G R H V R M L T H E
839	attaggagtactcttgatagacatactatactaaaaaccactctt
	I R S T L D R H T I L K T T L
884	gttgagctgggaagaaccttggctttggaagagtgtgcactttgg
	V E L G R T L A L E E C A L W
929	atg ccaactcggactggattagaacttcaactatcctatactctt
	M P T R T G L E L Q L S Y T L
974	catcagcagaatccagtgatatactgtccccatcaatctccct
	H Q Q N P V G Y T V P I N L P
1019	gtgatcagtcaggtttttagtagtaatcggggccgtaaaaatatcc
	V I S Q V F S S N R A V K I S
1064	caaattccccagtgggcagcctacgacctcgtgctgggagatat
	P N S P V A S L R P R A G R Y
1109	gtggctggagaggttgttgctgtccgtgttcctctattgcatctt
	V A G E V V A V R V P L L H L
1154	tctaattttcaaataaatgattggccagagctttcactaagcga
	S N F Q I N D W P E L S T K R
1199	tatgcgctt atg ggttttgatgcttccctcagatagtgctagacaa
	Y A L M V L M L P S D S A R Q
1244	tggcgtgttcatgagttggagctggttgaagttggtgctgatcag
	W R V H E L E L V E V V A D Q
1289	gtagcagtagctctttctcatgctgcaatcttagaagagt caatg
	V A V A L S H A A I L E E S M
1334	agggctagagatccctta atg gagcagaacgttgcccttgatcta
	R A R D P L M E Q N V A L D L
1379	gcccgaagagaagcagagacagccaatcatgctcgtaatgatttc
	A R R E A E T A N H A R N D F
1424	ctggctgtc atga accatggg atg agaactccg atg catgcgatt
	L A V M N H G M R T P M H A I
1469	attgccctctcttcattattacaagagactggacttacaccagag
	I A L S S L L Q E T G L T P E
1514	caacgtctg atg ggttgaacaatatataaaaagcagtaacctttta
	Q R L M V E T I L K S S N L L
1559	gctactctaataatgatgttctggatctttcaaggcttgaagac
	A T L I N D V L D L S R L E D

Çizelge 4.7. (devam)

1604 ggcagcctacaactggacattggcacatTTTTatcttcatgccggt
G S L Q L D I G T F Y L H A V
1649 ttcaaagaggtgcttaacttgatcaagcctgttacgctagtaaaa
F K E V L N L I K P V T L V K
1694 aagttgtcattgaccttacatttgggccttgatttgccagtattt
K L S L T L H L G L D L P V F
1739 gccgttgggtggtgagaaacgtctc**atg**caagctattcttaatggt
A V G G E K R L **M** Q A I L N V
1784 gtgggtaatgctgtaaaattttcaaagaaggtagtatatcaatc
V G N A V K F S K E G S I S I
1829 tcagccattggtgcaaagcagaaaccttcagagaaattcgagtg
S A I V A K A E T F R E I R V
1874 ccagattttcacctgtgccaagtgattgccatttttatttacgt
P D F H P V P S D C H F Y L R
1919 gtccaggtaaaagatactggatctggaattagtcctcaagatatt
V Q V K D T G S G I S P Q D I
1964 ccaaagttgttcaccaaatttgcacaaactacagtgggaccaaga
P K L F T K F A Q T T V G P R
2009 aactcttggcagtggtcttgggcttgcaatttgtaaaagggtt
N S C G S G L G L A I C K R F
2054 gtgaatctt**atg**gaaggacatatatggccttgaaagtgaaggctt
V N L **M** E G H I W L E S E G L
2099 ggaaagggatgcacggctacttttattgtaaaacttggaattgct
G K G C T A T F I V K L G I A
2144 gtacaatcaaatgaatcaaagcttccctttacatcaaaaattcat
V Q S N E S K L P F T S K I H
2189 ggaaacagcatccatacaagttttcctggactcaaagtccttggt
G N S I H T S F P G L K V L V
2234 **atg**gacgataatggagttagtcgcttcggtgacaaaaggacttctt
M D D N G V S R S V T K G L L
2279 gtacatcttggatgccaagtaacaacagcaggctcaattgaggag
V H L G C E V T T A G S I E E
2324 ttcttacgagtcgtctcccaggaacacaaggtggtttt**atg**gat
F L R V V S Q E H K V V F **M** D
2369 atctgactcctgggtggtgatggttgggaactagctatacgaatc
I C T P G V D G W E L A I R I
2414 cgcgaaaaatttgcaaagtgccatgaaagaccattc**atg**gtagta
R E K F A K C H E R P F **M** V V
2459 ctgactggaaactcagacaaagtaacaaaggagagctgcctcaga
L T G N S D K V T K E S C L R
2504 gctggc**atg**gatgggctaataactaaaaccggttttcgattgataaa
A G **M** D G L I L K P V S I D K
2549 **atg**aggagcgtggttgcggaacttatagagcgtcgggttctattt
M R S V L S E L I E R R V L F
2594 gaaacatctagaaggagcacgagtagacagagatatcttacag
E T S R R S T S R Q R D I L Q
2639 ggagttgctgtacataaaaggcattgtggtggtgatcttgagaga
G V A V H K R H C G G D L E R
2684 caaattttggggacatgcccaattccagggtttcttacaacctgg
Q I L G T C P I P G F L Q T W
2729 ttttaccactttgtactagataccagataggaataggagaaaag
F Y P L C T R Y P D R N R R K
2774 agatgtgtaaaaacggttt**tga** 2794
R C V K T F *

Çizelge 4.8. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS ERS1* reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları

450	atgggccttattctcactcaggaagaaactgtaaggcatgttaga
	M G L I L T Q E E T V R H V R
495	atgctaactcatgaaataagaagcacactcaaccgggatacgata
	M L T H E I R S T L N R D T I
540	ttaaaaacaataacttggttgagctcgggaagaccttgggacttgag
	L K T I L V E L G K T L G L E
585	gaatgtgccctgtgg atg ccatcacggaatggactaagtctacag
	E C A L W M P S R N G L S L Q
630	ctttcgcacgcttgaactaccagataccagtgggaactaatatt
	L S H A L N Y Q I P V G T N I
675	ccaataaatcttcctggtgcaatgaagttttcaatagtaatcga
	P I N L P V V N E V F N S N R
720	gcaatatgcggtccctatacttgcaattggctagggtcagaact
	A I C V P Y T C Q L A R V R T
765	cctggtggaggaagatacttgccaccagaagttggtgcagtgcga
	P V G G R Y L P P E V V A V R
810	gttcccctcttaaacctttcaaattttccaa atga acaattggcct
	V P L L N L S N F Q M N N W P
855	gatggctcttcagaagctatgcaatt atg gttctaattcttcct
	D G S S R S Y A I M V L I L P
900	acagatagcgctaggaatggcgagatcatgagttggaacttgct
	T D S A R K W R D H E L E L V
945	gatgtggtcgcagaccaggtagctggtgcactttcacatgctgca
	D V V A D Q V A V A L S H A A
990	attcttgaggagtct atg ggggcgcgtgatcagctcgtggaccaa
	I L E E S M R A R D Q L V D Q
1035	aatgtggcctttggacttagcccgaagagaagcagagaccgcgatt
	N V A L D L A R R E A E T A I
1080	caggctcgtaatgatttcttggtgct atga accatgaa atg agg
	Q A R N D F L A V M N H E M R
1125	acgcc atg cacgcaataattgccctttcatccctgcttttggag
	T P M H A I I A L S S L L L E
1170	actgaactgactccagaacaaagagt atg atagagacaatactc
	T E L T P E Q R V M I E T I L
1215	aaaagtagtaatcttctagccactctgattaatgatgtcttggat
	K S S N L L A T L I N D V L D
1260	ctctcaagacttgaagatggcagggttggttttggac atg ggatcc
	L S R L E D G R L V L D M G S
1305	ttcaatctccatgccattttcaaagaggcattagatctttttaag
	F N L H A I F K E A L D L F K
1350	cccattgcttccgttaagaagttgtcg atg gcattgatttggca
	P I A S V K K L S M A L I L A
1395	tcagatctaccgatctgtgctggttggtgatgagaagcggctt atg
	S D L P I C A V G D E K R L M

Çizelge 4.8. (devam)

1440 caaatcatcttgaatatcgctcggtaatggggtgaagtttactaaa
 Q I I L N I V G N G V K F T K
 1485 gaagggcacgtttctatcatagcatccggttgcaaaactggattct
 E G H V S I I A S V A K L D S
 1530 ctgagagattggcgccctactgaattctatcca**atg**caatctgat
 L R D W R P T E F Y P **M** Q S D
 1575 ggccagttttacctgcgagtacagggttaaagattcaggatgtggt
 G Q F Y L R V Q V K D S G C G
 1620 attccacccaagacattcctcatgtgtttacaagattcactcag
 I P P Q D I P H V F T R F T Q
 1665 ttacaaacacgatcaaacaaaacaaatagtggcgtgggacttggc
 L Q T R S N K T N S G V G L G
 1710 ttggccctttgtaaacggtttataaatctc**atg**ggagggtcacatt
 L A L C K R F I N L **M** G G H I
 1755 tggatcgagagtgaaggccccgataaaggaacgacagccggttcc
 W I E S E G P D K G T T A V F
 1800 **atg**gtgaaacttgggatctgcaatgctaatacacaatgaattatcg
M V K L G I C N A N P N E L S
 1845 gtcaaacaagttgaaccattgtaaatacacagaagtgcagatctc
 V K Q V E P I V N H R S A D L
 1890 catggacaaagaccaatcttcagagaaaactgggtcaagttcccttc
 H G Q R P I F R E T G Q V P F
 1935 tccaattcccgggtatcaacgaagtcttcaaactcgatgctgtcgg
 S N S R Y Q R S L Q T R C C R
 1980 agttggaagttccttttgggattgttttttgttctcagggaaac
 S W K F L L G L F F C S Q G N
 2025 catgaagttgaaagaaatacacttccattaccgcggtcctcctt
 H E V E R N T L P L P R L L F
 2070 tgcttaccgaacaatattacatgttattatttaacaaatcaciaa
 C L P N N I T C Y Y L N K S Q
 2115 ggatgccaa**atg**tgagcctaccatataagagtata**taa** 2150
 G C Q **M** C S L P Y R V *

Çizelge 4.9. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS ETR2-1* reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları

322	atg ttaaaggcattgccatctgggtttctgattttgttattactg
	M L K A L P S G F L I L L L L
367	gcattctgtttctgctgccgacaacggatttccgagatgtaattgt
	A S V S A A D N G F P R C N C
412	gatgacgagggtagtttatggagcatcgacagcattttggagtgt
	D D E G S L W S I D S I L E C
457	cagcgtgtgagtgattttttgattgctgtggcctacttctctatt
	Q R V S D F L I A V A Y F S I
502	cctattgaacttctctattttcgtttagttgctccaatgttcccttc
	P I E L L Y F V S C S N V P F
547	aaatgggttctattttcagttttattgccttcattgttctatgtggg
	K W V L F Q F I A F I V L C G
592	ttgaccattttgctcaatgggttgacttatggccccactcattc
	L T H L L N G W T Y G P H S F
637	catttt atg ctagctctcaccgtcttcaaaattcttaccgcctcg
	H L M L A L T V F K I L T A L
682	gtttcctgtgctactgctataaccctcatcacacttattcctttg
	V S C A T A I T L I T L I P L
727	cttctcaaggtgaaagtgagagagttt atg ttgaaggagaagaca
	L L K V K V R E F M L K E K T
772	tgggatctgggaagagaagttgggt atg atactgaagcagaaagaa
	W D L G R E V G M I L K Q K E
817	gctggcttacacgttcgg atg cttactcaagagatccgcaagtct
	A G L H V R M L T Q E I R K S
862	cttgatcgacatactatactttacacgacc atg tttgagctgtct
	L D R H T I L Y T T M F E L S
907	gaaactttgggtttgcactactgtgcagtttgg atg cctaagag
	E T L G L H Y C A V W M P N E
952	agcaagacttt atga atttgactcatgagttgaaagattgcagc
	S K T L M N L T H E L K D C S
997	ttctcaaattggatacaatgttttcataccaataagtgattctgat
	F S N G Y N V F I P I S D S D
1042	gtcattaaaatcaagggcagcgatgggtgttaaagttcttgggcct
	V I K I K G S D G V K V L G P
1087	aattcggcacttggtgctgctaactgtggcgagtctgatgaacgt
	N S A L V V A N C G E S D E R
1132	ggtcctgcagcagcgattagg atg cca atg ctacgtgtctccaac
	G P A A A I R M P M L R V S N
1177	ttcaagggaggaactcctgagatagttccaacttactatgcgatt
	F K G G T P E I V P T Y Y A I
1222	ttggtttttagttctccctgggtggacaacctagatcttgggaataac
	L V L V L P G G Q P R S W N N
1267	caggaactcgagataataaaggtgggttgctgaccaggtggctgtt
	Q E L E I I K V V A D Q V A V
1312	gctctctcccatgctgctcttctggaggagtcccagctc atg aga
	A L S H A A L L E E S Q L M R
1357	gataaactggctgagcagaatcgagatctgcaacaggccaaggag
	D K L A E Q N R D L Q Q A K E
1402	aatgcttt atgg caagccaagctagaaactccttccagaaggtg
	N A L M A S Q A R N S F Q K V

Çizelge 4.9. (devam)

1447 **at**gagtgatggg**at**gaggagacct**at**gcattccat**cat**gggtttg
M S D G M R R P M H S I M G L
1492 cttt**ca**ttgttgcagaatgagaat**at**gaaatgatgaccaacgaatt
L S M L Q N E N M N D D Q R I
1537 atacttgatgcc**at**gggtgaggactggcaatgttgtctctacacgg
I L D A M V R T G N V V S T R
1582 atagatgatgtt**at**ggaacatccaattaaggatagtgcaagattt
I D D V M E H P I K D S A R F
1627 cttttggagttggag**at**gagatcttttaggttacattct**at**gata
P L E L E M R S F R L H S M I
1672 aaggaggcagcttgtcttgccaagtgttgtgtgcatataagggc
K E A A C L A K C L C A Y K G
1717 tttggttttgcctttgaagttcagaggtctcttctgatcacgtc
F G F A F E V Q R S L P D H V
1762 **at**ggggcgatgaaagaaggggtttttcaggtgcttttgc**at**gggtg
M G D E R R V F Q V L L H M V
1807 gggagcctattaaatgacatcaaccagggaggaggatgctttg
G S L L N D I N Q G G G Y A L
1852 tttcgggttgtggctgagagtgggaagtcagggacggaatgaccaa
F R V V A E S G S Q G R N D Q
1897 aggtggggtaattggagacaaatctcttctgatggggatgccttt
R W G N W R Q I S S D G D A F
1942 atcagatttgagtttgggataaataagagcaattctcaatcagag
I R F E F G I N K S N S Q S E
1987 ggctctattccaaat**at**ggtatctggtgatcgaagatacgccagt
G S I P N M V S G D R R Y A S
2032 gatggagctgaggaacgcttgagttttaccatctgcaagaagctt
D G A E E R L S F T I C K K L
2077 gttaagtt**at**gcaaggggaacatatgggtaatccctaactcctcaa
V K L M Q G N I W V I P N P Q
2122 ggatttacacgaagc**at**ggcacttgttcttctgttttcaacttcga
G F T R S M A L V L R F Q L R
2167 ccctccatagcagtgggcc**at**gcctgaacctggagaatcatccgaa
P S I A V A M P E P G E S S E
2212 catccacactccaattccatcttcagaggattgcaagttatttta
H P H S N S I F R G L Q V I L
2257 gccgatgccgatgac**at**gaaacagagctgtgacacgaaaa**at**gctc
A D A D D M N R A V T R K M L
2302 gagaagttgggctgcaacgtgactgctgtttcttctggattcgaa
E K L G C N V T A V S S G F E
2347 tgtctcacagtc**at**ggcaccagctggttcttctatccaagtggtg
C L T V M A P A G S S I Q V V
2392 ctcttgatcttcac**at**gccagaattagatgggttttgaagttaca
L L D L H M P E L D G F E V T
2437 acaaggattcagaaagtt**at**g 2457
T R I Q K V *

Çizelge 4.10. Hıyar meyvesinden izole edilen *CS ETR2-2* reseptörünün nükleotid ve tahmini aminoasit sekansları

148	atg ctaagatctgaagctgggttggaatggaatctggtgtatcgg
	M L R S E A G C E W N L L Y R
193	cgactgggtggttttcctttgtcaggaaatgggatttgagatgc
	R L V G F P L S G N G I W R C
238	gtgtactggtgttatagttcatgcccaagtgcgactccggtatcgg
	V Y C C Y S S C Q V R L R Y R
283	caagttggtgggcttcaatctctcgaatttcgcgcggttaaagg
	Q V V G A S I S R I S R V K W
328	attgaagaaactcggccttttgatgca atg ttaaaggcattgccca
	I E E T R L L D A M L K A L P
373	tctgggtttctgattttgttattactggcatctgtttctgctgcc
	S G F L I L L L L A S V S A A
418	gacaacggatttccgagatgtaattgtgatgatgagggtagttta
	D N G F P R C N C D D E G S L
463	tggagcatcgacagcattttggagtgtcagcgtgtgagtgatttt
	W S I D S I L E C Q R V S D F
508	ttgattgctgtggcctacttattctattcctattgaacttctctat
	L I A V A Y L S I P I E L L Y
553	ttcgttagttgctccaatgtccccttcaaagggttctatttccag
	F V S C S N V P F K W V L F Q
598	tttattgccttcattggttctatgtgggtgaccatttgctcaat
	F I A F I V L C G L T H L L N
643	ggctggacttatggccccactcattccatttt atg ctagctctc
	G W T Y G P H S F H L M L A L
688	accgtcttcaaaattcttaccgacctggtttctgtgctactgct
	T V F K I L T A L V S C A T A
733	ataaccctcatcacacttattcctttccttctcaaggatgaaagtg
	I T L I T L I P F L L K V K V
778	agagagttt atg ttgaaggagaagacatgggatctcgggaagagaa
	R E F M L K E K T W D L G R E
823	gttgg atg ataactgaagcagaaagaagctggcttacacgttcgg
	V G M I L K Q K E A G L H V R
868	atg cttactcaagagatccgcaagtctcttgatcgacatactata
	M L T Q E I R K S L D R H T I
913	ctttacacgacc atg tttgagctgtctgaaactttgggtttgcac
	L Y T T M F E L S E T L G L H
958	tactgtgcagtttg atg ctaatgagagcaagacact gat gaat
	Y C A V W M P N E S K T L M N
1003	ttgactcatgagttgaaagatcgcagcttctcaaattggatacaat
	L T H E L K D R S F S N G Y N
1048	gtcttcataccaataagtgattccgatgtcattaaaatcaagggc
	V F I P I S D S D V I K I K G
1093	agcgatgggtgtaaacgtttctgggctaatccggcacttggtgtc
	S D G V N V L G P N S A L V V

Çizelge 4.10. (devam)

1138 gctaactgtggcgagtctgatgaacgtggctcctgcagcagcgatt
A N C G E S D E R G P A A A I
1183 aggatgccaatgctacgtgtctccaactttaagggaggaactcct
R M P M L R V S N F K G G T P
1228 gagatagttccaacttactatgcgattttggtttttagttctcct
E I V P T Y Y A I L V L V L P
1273 ggtggacaacctagatcttgaataaacaggaactggagataata
G G Q P R S W N K Q E L E I I
1318 aaggtggttgctgaccaggtggctgttgctctctcccatgctgct
K V V A D Q V A V A L S H A A
1363 cttctggaggagtcccagctcatgagagataaaactggctgagcag
L L E E S Q L M R D K L A E Q
1408 aatcgagatctgcaacaggccaaggagaatgctttgatggcaagc
N R D L Q Q A K E N A L M A S
1453 caagctagaaactcctccagaaggtgatgagtgatgggatgagg
Q A R N S F Q K V M S D G M R
1498 agacctatgcatcctcatggtgttcttcaatgttgcagaat
R P M H S I M G L L S M L Q N
1543 gagaatatgaatgatgaccaacgaattatacttgatgccatggtg
E N M N D D Q R I I L D A M V
1588 aggactggcaatggtgtctctacattgatagatgatggtatggaa
R T G N V V S T L I D D V M E
1633 catccaattaaggatagtgcaagatttcctttggagttgggatg
H P I K D S A R F P L E L E M
1678 agatcttttaggttacattctatgataaaaggaggcagcttgtctt
R S F R L H S M I K E A A C L
1723 gccaaagtgtgtgtgcatataagggctttggttttgcctttgaa
A K C L C A Y K G F G F A F E
1768 gttcagaggtctctccctgatcacgtcatggggcgatgaaagaagg
V Q R S L P D H V M G D E R R
1813 gtttttcaggtgcttttgcataatggtggggagcctattaaatgac
V F Q V L L H M V G S L L N D
1858 atcaaccagggaggaggatagctttgtttcgggttggtgctgag
I N Q G G G Y A L F R V V A E
1903 agtggaaagtcagggacggaatgaccaaaggtggggtaattggaga
S G S Q G R N D Q R W G N W R
1948 caaaactcttctgatggggatgcctttatcagatttgaggttggg
Q N S S D G D A F I R F E V G
1993 ataaataagagcaattctcaatcagagggctctattccaatatg
I N K S N S Q S E G S I P N M
2038 gtatctggtgatcggagatacgcagtgatggagctgaggaacgc
V S G D R R Y A S D G A E E R

Çizelge 4.10. (devam)

```
2083 ttgagttttaccatctgcaagaagcttggttaagttgatgcaaggg
    L S F T I C K K L V K L M Q G
2128 aacatatgggtaatccctaatacctcaaggatttacacgaagcatg
    N I W V I P N P Q G F T R S M
2173 gcacttgttcttcgttttcaacttcgaccctccatagcagtgggcc
    A L V L R F Q L R P S I A V A
2218 atgcctgaacctggagaatcatctgaacatccacactccaactcc
    M P E P G E S S E H P H S N S
2263 atcttcagaggattgcaagttatcttagccgatgccgatgacatg
    I F R G L Q V I L A D A D D M
2308 aacagagctgtgacacgaaaaatgctcgagaagttgggctgcaac
    N R A V T R K M L E K L G C N
2353 gtgactgctgtttcttctggattggaatgtctcacagtcattggca
    V T A V S S G L E C L T V M A
2398 ccagctggttcttcaattcaagtgggtgctcttgatcttcacatg
    P A G S S I Q V V L L D L H M
2443 ccagaattagatggttttgaagttacaacaaggattcagaaagtt
    P E L D G F E V T T R I Q K V
2488 tggaagccagaattatggggccagtgatcattgcattaactgcaag
    W K P E L W A S D H C I N C K
2533 tgccggtgtagattgggagagatgctgcagattgggatgaacgg
    C R C R L G E M R A D W D E R
2578 tgtcatacgaaaacctgttcagttacaggggaatcgcccatga 2619
    C H T K T C S V T G N R P *
```


Sekanslama sonucunda *CS-ETRI-1*, *CS-ETRI-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1*, ve *CS-ETR2-2* genlerinin sırasıyla 2936, 2894, 2271, 2857 ve 2904 baz çiftinden (bp) oluştukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. Hıyar bitkisinin meyvelerinden izole edilen etilen reseptör genlerinin toplam nükleotid, 5' kodlamayan, 3' kodlamayan ve poli (A) kuyruğunu oluşturan nükleotid sayıları ve genlerin ORF bölgelerindeki amino asit sayıları

Gen	Nükleotid (baz)	Aminoasit	5' kodlamayan	3' kodlamayan	Poli (A)
<i>CS-ETRI-1</i>	2936	787	467	86	19
<i>CS-ETRI-2</i>	2894	786	433	89	11
<i>CS-ERS1</i>	2271	566	449	99	22
<i>CS-ETR2-1</i>	2857	711	321	390	10
<i>CS-ETR2-2</i>	2904	823	147	261	24

Bu genlerden *CS-ETRI-1* 2364 nükleotidin meydana getirdiği 787 amino asitlik ORF'yi (open reading frame) kodlayan bir proteinden oluştuğu ortaya konulmuştur (Çizelge 4.6.). Bu gene ait 5' ve 3' kodlamayan ve poli (A) sekanslarının sırasıyla 467, 86 ve 19 nükleotidden meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11.). Nükleotid seviyesinde yapılan homoloji araştırmasına göre *CS-ETRI-1* % 98, % 98, % 84, % 82 oranında sırasıyla *Cucumis sativus CS-ETRI*, *Cucumis melo var. cantalupensis CM-ETRI*, *Prunus persica PP-ETRI* ve *Coffee canephora CC-ETRI* genlerine benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. Hıyar meyvesinden elde edilen etilen reseptör genleri ile diğer türlerden izole edilen reseptör genlerinin nükleotid sekanslarının karşılaştırılması

Gen	Benzerlik (%)
CS-ETR1-1	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	98
<i>Prunus persica</i>	84
<i>Coffea canephora</i>	82
<i>Malus domestica</i>	79
<i>Arabidopsis thaliana</i>	79
<i>Lycopersicon esculentum</i>	77
CS-ETR1-2	
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	99
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Prunus persica</i>	84
<i>Pyrus communis</i> putative ethylene receptor (<i>DETR1a</i>)	82
<i>Citrus sinensis</i>	79
<i>Vitis vinifera</i> putative ethylene receptor	78
<i>Lycopersicon esculentum</i>	77
CS-ERS1	
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	99
<i>Cucumis sativus</i>	97
<i>Fagus sylvatica</i>	78
<i>Carica papaya</i>	77
<i>Delphinium</i> 'MagicFountains dark blue'	76
<i>Delphinium x belladonna</i>	75
<i>Solanum tuberosum</i> putative ethylene receptor	73
CS-ETR2-1	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	97
TSA: <i>Claviceps purpurea</i> mRNA sequence, contig_1719	93
<i>Vitis vinifera</i> contig VV78X132092.4, whole genome shotgun sequence	77
<i>Pyrus pyrifolia</i>	77
CS-ETR2-2	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	98
<i>Fugu rubripes</i> 5HT1D gene	96
<i>Paracentrotus lividus</i> gene 18S rRNA	94
<i>Mus musculus</i> homeobox protein Lim1 (Lim1) exons 1-4,	93
<i>Magnaporthe grisea</i> putative transcriptional regulator	92
<i>Pyrus pyrifolia</i>	77

Tahmini ORF amino asit sekansları bakımından hıyarın % 98, % 97, % 85 ve % 84 oranında, *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis*, *Prunus persica* ve *Pyrus communis* türlerine ait ETR1 amino asit sekanslarına benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.13.).

Çizelge 4.13. Hıyar meyvesinden elde edilen etilen reseptör genleri ile diğer türlerden izole edilen reseptör genlerin amino asit sekanslarının karşılaştırılması

Gen	Benzerlik (%)
CS-ETR1-1	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	97
<i>Prunus persica</i>	85
<i>Pyrus communis</i>	84
<i>Lycopersicon esculentum</i>	77
<i>Lactuca sativa</i>	77
<i>Zea mays</i>	74
CS-ETR1-2	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	97
<i>Prunus persica</i>	85
<i>Brassica oleracea</i>	80
<i>Arabidopsis thaliana</i>	80
<i>Solanum lycopersicum</i>	79
<i>Lactuca sativa</i>	78
CS-ERS1	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	98
<i>Vigna radiata</i>	93
<i>Pisum sativum</i>	91
<i>Brassica oleracea</i>	81
<i>Zea mays</i>	81
<i>Nicotiana tabacum</i>	76
CS-ETR2-1	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	98
<i>Fragaria x ananassa</i>	78
<i>Pyrus pyrifolia</i>	77
<i>Solanum lycopersicum</i>	68
<i>Lactuca sativa</i>	66
<i>Brassica oleracea</i>	62
CS-ETR2-2	
<i>Cucumis sativus</i>	98
<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>	97
<i>Rosa hybrid cultivar</i>	82
<i>Pyrus pyrifolia</i>	78
<i>Lactuca sativa</i>	66
<i>Solanum lycopersicum</i>	68
<i>Arabidopsis thaliana</i>	62

Tam uzunluktaki diğeri ETR1 benzeri gen olan *CS-ETRI-2* geni 2361 nükleotid ve 786 amino asitten oluşan bir proteini kodlayan tahmini ORF'ye sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7.). Bu genin 5' ve 3' kodlamayan ve poli (A) sekansları sırasıyla 433, 89 ve 11 nükleotid olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11.). Nükleotid sekans benzerliği açısından *CS-ETRI-2* geni *C. melo* var. *cantalupensis*, *C. sativus*, *P. persica* *ETRI* genlerine sırasıyla % 99, % 98 ve % 84 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.12.). Tam uzunluktaki tahmini protein *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis*, ve *P. persica*'dan elde edilen ETR1 proteinlerine sırasıyla % 98, % 97 ve % 85 amino asit sekans benzerliği göstermiştir (Çizelge 4.13.). Korunmuş domeyn analizine göre CS-ETRI-1 ve CS-ETRI-2 proteinlerinde GAF, histidin kinaz, HATPazC süper ailesi (Histidin kinaz benzeri ATPazlar) ve sinyal alıcı domeynlerinin mevcut olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.14., Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.). Ayrıca histidin kinaz bölgesinde bir ATP bağlanma bölgesi, Mg bağlanma bölgesi, fosforilasyon bölgesi; sinyal alıcı bölgesinde ise fosforilasyon, dimerizasyon ve moleküller arası tanımlama bölgelerinin mevcut olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14. ETR1 ve benzeri reseptör genlerinin çoklu aminoasit sekans karşılaştırmaları

Cs-ETR1-1	-----MKYQYISDFFIALAYFSIPLELIYLVKKSASF
Cs-etr1-2	-----MKYQYISDFLIALAYFSIPLELIYLVKKSASF
Cs-etr1	-METCYCIEPQWPADELLMKYQYISDFFIALAYFSIPLELIYFVKKSASF
Cm-etr1	-MENCYCIEPQWPADELLMKYQYISDFFIALAYFSIPLELIYFVKKSASF
Le-etr1_homolog	-----LAYFSIPVELIYFVKKSASF
A._thaliana_etr1	-----KSAVF
A._thaliana_ers	-----KSAFF
Cs-ers	MMESDCIDAQWPPDELLVKYQYISDVLIALAYFSIPLELIYFVQKSAFF
Cm-ers	MMESDCIDAQWPPDELLVKYQYISDVLIALAYFSIPLELIYFVQKSAFF
Cs-ers1	-----
Cs-ETR1-1	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHLINLWTFMHSRTVAVVMTAKVLTAVVSC
Cs-etr1-2	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHLINLWTFMHSRTVAVVMTAKVLTAVVSC
Cs-etr1	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHLINLWTFMHSRTVAVVMTAKVLTAVVSC
Cm-etr1	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHLINLWTFMHSRTVAVVMTAKVLTAVVSC
Le-etr1_homolog	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHLINLWTFNMHTRNVAIVMTAKALTAIVSC
A._thaliana_etr1	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHLINLWTFMHSRTVAVVMTAKVLTAVVSC
A._thaliana_ers	PYKWLVMQFGAFIILCGATHFINLWFMFMSKAVAVVMTIAKVSAAVSC
Cs-ers	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHFINLWTFMSHSAVAVVMTAKVACAIIVSC
Cm-ers	PYRWVLVQFGAFIVLCGATHFINLWTFMSHSAVAVVMTAKVACAIIVSC
Cs-ers1	-----
Cs-ETR1-1	ATALMLVHIIPDLLSVKTRELFKNKAAELDRMGLIRIQEETGRHVRML
Cs-etr1-2	ATALMLVHIIPDLLSVKTRELFKKNKAAELDRMGLIRIQEETGRHVRML
Cs-etr1	ATALMLVHIIPDLLSVKTRELFKNKAAELDRMGLIRIQEETGRHVRML
Cm-etr1	ATALMLVHIIPDLLSVKTRELFKNKAAELDRMGLIRIQEETGRHVRML
Le-etr1_homolog	ITALMLVHIIPDLLSVKTRELFKKNKAAQLDRMGLIRIQEETGRHVRML
A._thaliana_etr1	ATALMLVHIIPDLLSVKTRELFKNKAAELDRMGLIRIQEETGRHVRML
A._thaliana_ers	ATALMLVHIIPDLLSVKNRELFKKNKAAELDRMGLIRIQEETGRHVRML
Cs-ers	ATALMLVHIIPDLLSVKTREMLKNKAEQLDRMGLIRIQEETGRHVRML
Cm-ers	ATALMLVHIIPDLLSVKTRELLKNKAEQLDRMGLIRIQEETGRHVRML
Cs-ers1	-----MGLIRIQEETVHVRML
	: * ** *****
Cs-ETR1-1	THEIRSTLDRHTILKTLVELGRTLALAEELWMPTRTGLELQLSYTLHQ
Cs-etr1-2	THEIRSTLDRHTILKTLVELGRTLALAEELWMPTRTGLELQLSYTLHQ
Cs-etr1	THEIRSTLDRHTILKTLVELGRTLALAEELWMPTRTGLELQLSYTLHQ
Cm-etr1	THEIRSTLDRHTILKTLVELGRTLALAEELWMPTRTGLELQLSYTLHQ
Le-etr1_homolog	THEIRSTLDRHTILKTLVELGRTLALAEELWMPTRTGLELQLSYTLRH
A._thaliana_etr1	THEIRSTLDRHTILKTLVELGRTLALAEELWMPTRTGLELQLSYTLRH
A._thaliana_ers	THGIRRTLDRHTILKTLVELGKTLGLEELWMPSTRNGLSLQLSHTLSH
Cs-ers	THEIRSTLDRHTILKTLVELGKTLGLEELWMPSTRNGLSLQLSHALNY
Cm-ers	THEIRSTLDRHTILKTLVELGKTLGLEELWMPSTRNGLSLQLSHALNY
Cs-ers1	THEIRSTLDRHTILKTLVELGKTLGLEELWMPSTRNGLSLQLSHALNY
	** * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : *
Cs-ETR1-1	QNPVGYTVPINLPVISQVFSSKRAIKISPNSPVALSLR-PRAGRYVAGEVV
Cs-etr1-2	QNPVGYTVPINLPVISQVFSSNRVAKISPNSPVALSLR-PRAGRYVAGEVV
Cs-etr1	QNPVGYTVPINLPVISQVFSSNRVAKISPNSPVALSLR-PRAGRYVAGEVV
Cm-etr1	QNPVGYTVPINLPVISQVFSSNRALKISPNSPVALSLR-PRAGRYVAGEVV
Le-etr1_homolog	QNPVGLTVPINLPVINQVFGTNNHVKISPNSPVALRLR-PAG-KYMPGEVV
A._thaliana_etr1	QHPVEYTVPIQLPVINQVFGTSRAVKISPNSPVALRLR-PVSGKYMAGEVV
A._thaliana_ers	KIQVGSVPINLPIINELFNQAAMHPIHSCPLAKIG-PPVGRYSPEVV
Cs-ers	QIPVGTNIPINLPVVNEVFNSNRAICVPYTCQLARVRTSVGGRYLPEVV
Cm-ers	QIPVGTNIPINLPVVNDVFNSNRAICVPYTCQLARVRTPVGGRYLPEVV
Cs-ers1	QIPVGTNIPINLPVVNEVFNSNRAICVPYTCQLARVRTPVGGRYLPEVV
	: * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : *

* tamamen aynı amino asitlere sahip
 .: benzer amino asitlere sahip

Çizelge 4.14. (devam)

Cs-ETR1-1	AVRVPLHLNSNFQINDWPELSTKRYALMVMLLPSSARQWRVHELELVEV
Cs-etr1-2	AVRVPLHLHLNSNFQINDWPELSTKRYALMVMLLPSSARQWRVHELELVEV
Cs-etr1	AVRVPLHLHLNSNFQINDWPELSTKRYALMVMLLPSSARQWRVHELELVEV
Cm-etr1	AVRVPLHLHLNSNFQINDWPELSTKRYALMVMLLPSSARQWRVHELELVEV
Le-etr1_homolog	AVRVPLHLHLNSNFQINDWPELSTKRYALMVMLLPSSARQWRVHELELVEV
A._thaliana_etr1	AVRVPLHLHLNSNFQINDWPELSTKRYALMVMLLPSSARQWRVHELELVEV
A._thaliana_ers	SVRVPLHLHLNSNFQSDWSDLSGKGYATMVLILPDPGARKWRDHELELVEN
Cs-ers	AVRVPLLNLSNFQMNWPDGSSRSYATMVLILPIDSARKWRDHELELVDV
Cm-ers	AVRVPLLNLSNFQMNWPDGSSRSYATMVLILPIDSARKWRDHELELVDV
Cs-ers1	AVRVPLLNLSNFQMNWPDGSSRSYATMVLILPIDSARKWRDHELELVDV
	:*****:***** :*:* * : **:*:*:*:*:* * :*****:
Cs-ETR1-1	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Cs-etr1-2	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Cs-etr1	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Cm-etr1	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Le-etr1_homolog	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
A._thaliana_etr1	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
A._thaliana_ers	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Cs-ers	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Cm-ers	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
Cs-ers1	VADQVAVALSHAAILEESMRARDPLMEQNVALDLARREAEATANHARNDFL
	*****:*****:***** ** :*:**.* ** :*** * :*****
Cs-ETR1-1	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Cs-etr1-2	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Cs-etr1	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Cm-etr1	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Le-etr1_homolog	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
A._thaliana_etr1	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
A._thaliana_ers	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Cs-ers	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Cm-ers	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
Cs-ers1	AVMNHBMRTPMHAIIALSSLLQETLLTPEQRLMVAITLKSNLIATLIND
	****: *****:***** ** :*:***:*: ***** **:*:*:* *
Cs-ETR1-1	VLDLSRLEDGSLQLDIGTFNLHAFVKEVNLNLIKPVTLVKKLSLTLHLGLD
Cs-etr1-2	VLDLSRLEDGSLQLDIGTFNLHAFVKEVNLNLIKPVTLVKKLSLTLHLGLD
Cs-etr1	VLDLSRLEDGSLQLDIGTFNLHAFVKEVNLNLIKPVTLVKKLSLTLHLGLD
Cm-etr1	VLDLSRLEDGSLQLDIGTFNLHAFVKEVNLNLIKPVTLVKKLSLTLHLGPD
Le-etr1_homolog	VLDLSRLEDGSLQLDIGTFNLHAFVKEVNLNLIKPVTLVKKLSLTLHLSSD
A._thaliana_etr1	VLDLSRLEDGSLQELGTFNLHAFVKEVNLNLIKPVTLVKKLPITLNLAPD
A._thaliana_ers	VLDLSRLEDGSLQENEPFSLQAIFFEVISLIKPVTLVKKLSLTLHLSSAD
Cs-ers	VLDLSRLEDGSLVDMGSENLHAFKBALDLIKPVTLVKKLSMALITLASS
Cm-ers	VLDLSRLEDGSLVDMGSENLHAFKBALDLIKPVTLVKKLSMALITLASS
Cs-ers1	VLDLSRLEDGSLVDMGSENLHAFKBALDLIKPVTLVKKLSMALITLASS
	***** * : * * :*:*** * :***** * * :*
Cs-ETR1-1	LPVFVAVGDAKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Cs-etr1-2	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Cs-etr1	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Cm-etr1	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Le-etr1_homolog	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
A._thaliana_etr1	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
A._thaliana_ers	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Cs-ers	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Cm-ers	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
Cs-ers1	LPVFVAVGDEKRLMQAILNVVGNVAVKFSKEGSISSISAIVAKAETFREIRVP
	** :*:* * :***** :*:***:***:*:* * :* * :*
Cs-ETR1-1	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGICPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Cs-etr1-2	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Cs-etr1	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Cm-etr1	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Le-etr1_homolog	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
A._thaliana_etr1	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
A._thaliana_ers	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Cs-ers	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Cm-ers	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
Cs-ers1	DFHPVPSDSHFYLRVQVKDTGSGISPDIPKLFKFAQTIVGPR-NSCGS
	:* : * : * :*** * :***** ** .***** :*:*** * *

* tamamen aynı amino asitlere sahip

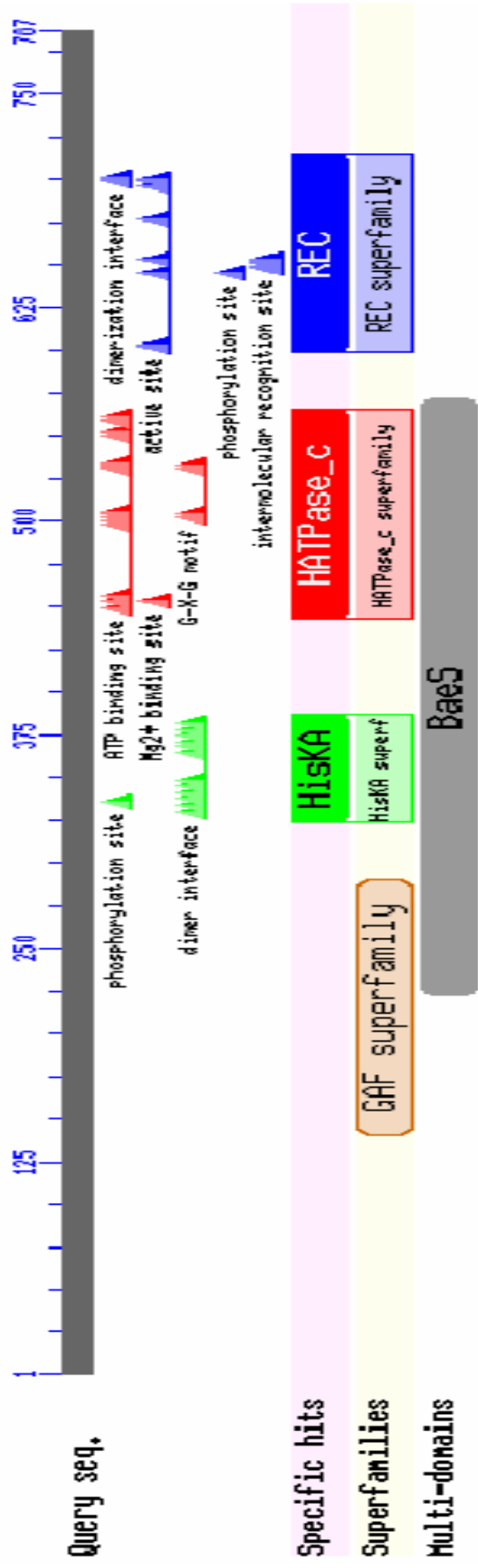
.. benzer amino asitlere sahip

Çizelge 4.14. (devam)

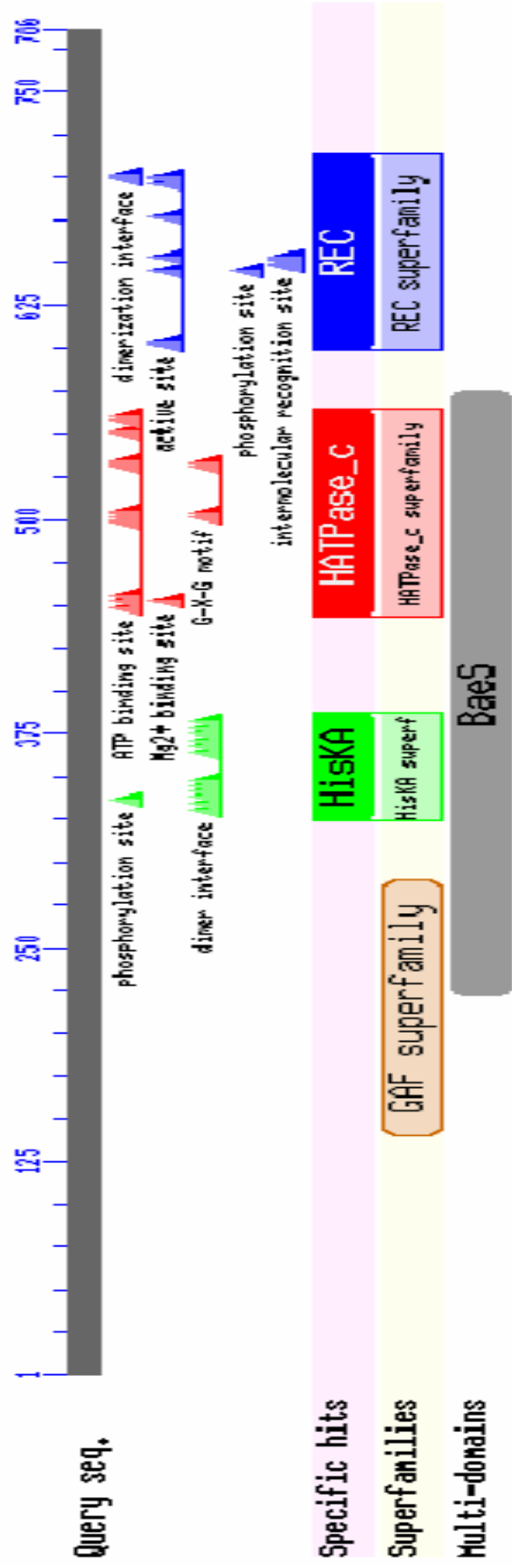
Cs-ETR1-1	GLGLAICKRFVNLMECHTWLESEGLCKGCTATFIVKLGIAEQSNESKLPF
Cs-etr1-2	GLGLAICKRFVNLMECHTWLESEGLCKGCTATFIVKLGIAEQSNESKLPF
Cs-etr1	GLGLAICKRFVNLMECHTWLESEGLCKGCTATFIVKLGIAEQSNESKLPF
Cm-etr1	GLGLAICKRFVNLMECHTWLESEGLCKGCTATFIVKLGIAEQSNESKLPY
Le-etr1_homolog	GLGLAICKRFVNLMECHTWLESEGLCKGCTATFIVKLGIPGRANESKLPF
A._thaliana_etr1	GLGLAISKRFVNLMECHTWLESEGLCKGCTAIFDVKLGISERSNESKQSG
A._thaliana_ers	GLGLALCKRFVGLMGCYMWIESEGLCKGCTASFIIRLGTICNGPSSSSGSM
Cs-ers	GLGLALCKRFINLMGCHTWIESEGLCKGCTAVFIVKLGICNANPNDSLVS
Cm-ers	GLGLALCKRFINLMGCHTWIESEGLCKGCTAVFIVKLGICNANPNDSLVS
Cs-ers1	GLGLALCKRFINLMGCHTWIESEGLCKGCTAVFIVKLGICNANPNDSLVS
	*****:***:.* * ::* * * * * * :*** ..
Cs-ETR1-1	TSKIHENSIHTSFPLKVLVMDNGVCRSVTKGLLVHLGCEVTTAGSIEE
Cs-etr1-2	TSKIHENSIHTSFPLKVLVMDNGVSRSVTKGLLVHLGCEVTTAGSIEE
Cs-etr1	TSKIHENSIHTSFPLKVLVMDNGVSRSVTKGLLVHLGCEVTTAGSIEE
Cm-etr1	TSKIHENSIHTSFPLKVLVMDNGVSRSVTKGLLVHLGCEVTTAGSIEE
Le-etr1_homolog	VTKLPAHNTQMSFQGLKVLVMDENGVRMVTGKLLTHLGCDDVTTVGRDE
A._thaliana_etr1	IPKVPPIPRHSNFTGLKVLVMDENGVRMVTGKLLVHLGCEVTTVSSNEE
A._thaliana_ers	ALHLAASQTRPWNW-----
Cs-ers	QVVPINVHRSADLHGQRPVIFRETGQVFSSSRYQRSL-----
Cm-ers	QVAPINVHRSADLHGQRPVIFRETGQVAFSNSRYQRSL-----
Cs-ers1	QVEPILVHRSADLHGQRPVIFRETGQVFFSNSRYQRSLQTRCCRSWKFLLG
Cs-ETR1-1	FLRVVSQEHKVVFMDCITPGVDGYELAIRIREKFAK-HERPFMVVLTGN
Cs-etr1-2	FLRVVSQEHKVVFMDCITPGVDGWELAIRIREKFAK-HERPFMVVLTGN
Cs-etr1	FLRVVSQEHKVVFMDCITPGVDGYELAIRIREKFAK-HERPFMVVLTGN
Cm-etr1	FLRVVSQEHKVVFMDCITPGVDGYELAIRIREKFAK-HERPFMVVLTGN
Le-etr1_homolog	CLRVTHEHKVVMVIMVSMQIDCYEVAVVHERFGKR-HGRPLIVALTGN
A._thaliana_etr1	CLRVSSEHKVVMVDMVCMGVENYQIALRIHEKFTKQRHQRPLLVLSGN
A._thaliana_ers	-----
Cs-ers	-----
Cm-ers	-----
Cs-ers1	LFFCSQGNHEVERNTPLP-----RLLFCLPNN
Cs-ETR1-1	SDKVTKESCLRAGMDGLILKPVSIKMRVLSSELIERRVLFGTSLRSMR
Cs-etr1-2	SDKVTKESCLRAGMDGLILKPVSIDKMRVLSSELIERRVLFETSRRSTSR
Cs-etr1	SDKVTKESCLRAGMDGLILKPVSIKMRVLSSELIERRVLFETS-----
Cm-etr1	SDKVTKESCLRAGMDGLILKPVSIDKMRVLSSELIERRVLFETS-----
Le-etr1_homolog	TDVTKENCMRVGMDGVILKPVSVYKMRVLSSELEHGVVLES-----
A._thaliana_etr1	TDKSTKEKCMSFGLDGVLLKPVSLDNIRDVLSDLLEPRVLYEGM-----
A._thaliana_ers	-----
Cs-ers	-----
Cm-ers	-----
Cs-ers1	ITCYLLNKSQGCQMCSLPYRV-----
Cs-ETR1-1	QRDISQGVAVHKRHCGGDLERQIWGTCPVIGFLQTFWHPPLCTRYPERNRR
Cs-etr1-2	QRDILQGVAVHKRHCGGDLERQILGTCPVIGFLQTFWYPLCTRYPDRNRR
Cs-etr1	-----
Cm-etr1	-----
Le-etr1_homolog	-----
A._thaliana_etr1	-----
A._thaliana_ers	-----
Cs-ers	-----
Cm-ers	-----
Cs-ers1	-----
Cs-ETR1-1	KRCVKTFC
Cs-etr1-2	KRCVKTF-
Cs-etr1	-----
Cm-etr1	-----
Le-etr1_homolog	-----
A._thaliana_etr1	-----
A._thaliana_ers	-----
Cs-ers	-----
Cm-ers	-----
Cs-ers1	-----

* tamamen aynı amino asitlere sahip

.. benzer amino asitlere sahip



Şekil 4.1. *CS-ETRI-1* reseptör proteinin domeyn organizasyonu



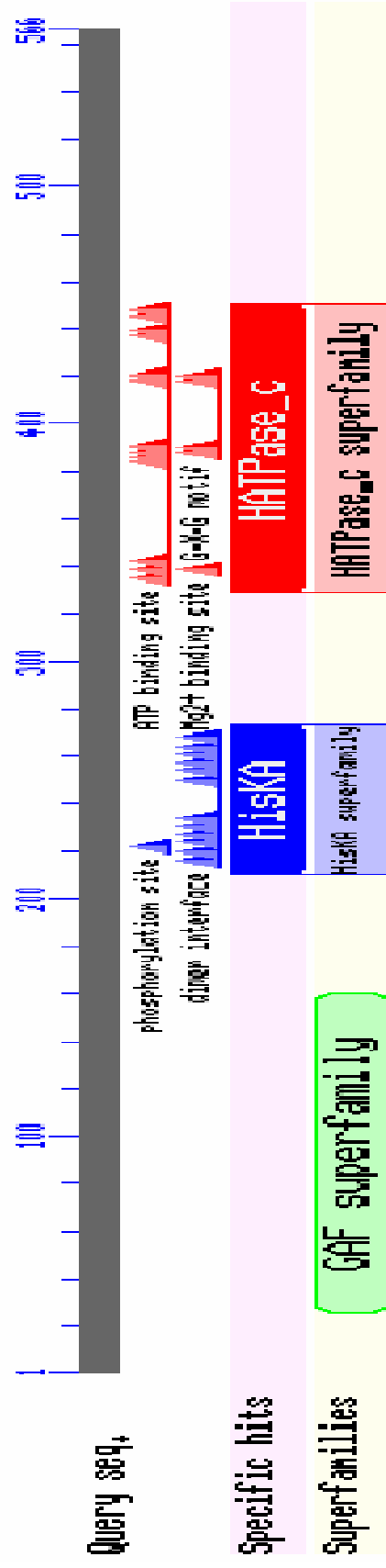
Şekil 4.2. CS-ETRI-2 reseptör proteinin domeyn organizasyonu

CS-ERS1 olarak adlandırılan gen 1701 nükleotidin meydana getirdiği 566 amino asidin oluşturduğu bir proteini kodlayan tahmini ORF'den meydana gelmiştir (Çizelge 4.8.). Genin 5' ve 3' kodlamayan bölgeleri ile poli (A) kuyruğu sırasıyla 449, 99 ve 22 nükleotitten meydana gelmiştir (Çizelge 4.11.).

Nükleotid sekans benzerliği açısından *CS-ERS1* geni *C. melo* var. *cantalupensis*, *C. sativus* ve *Fagus sylvatica* *ERS* genlerine sırasıyla % 99, % 97, % 78 oranında benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.12.).

Amino asit sekans benzerliği göz önüne alındığında *CS-ERS1* % 98, % 98 ve % 93 oranında sırasıyla *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis* ve *Vigna radiata* türlerinden elde edilen *ERS* amino asit sekanslarına benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.13.).

Korunmuş domeyn analizine göre *CS-ERS1*, GAF domeyni, histidin kinaz domeyni ve HATPaz-C domeyninden meydana gelmiştir (Çizelge 4.14. ve Şekil 4.3.). Histidin kinaz domeyninde fosforilasyon bölgesi, ATP ve Mg bağlanma domeyni ve dimer bölgesinden, HATPaz-C domeynide histidin kinaz benzeri ATPaz'lardan ve G-X-G motiflerden oluşmuştur.



Şekil 4.3. CS-ERSI reseptör proteinin domeyn organizasyonu

İzole edilen iki ETR2 benzeri genlerden biri olan *CS-ETR2-1* 2136 nükleotidin oluşturduğu 711 amino asitlik bir proteini kodlayan ORF'den meydana gelmiştir (Çizelge 4.9.). Söz konusu genin 5' ve 3' kodlamayan bölgeleri ile poli (A) kuyruğunun sırasıyla 321, 390 ve 10 nükleotid içerdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.11.). Nükleotid sekansları kullanılarak yapılan homoloji araştırmasına göre *CS-ETR2-1* geninin sırasıyla % 98, % 97 ve % 77 oranında *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis* ve *P. pyrifolia* türlerine ait ETR2 nükleotid sekanslarına benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.12.). Yine amino asit sekans karşılaştırılmasına göre de *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis* ve *Fragaria x ananassa* türlerine ait ETR2 genlerinin amino asit sekanslarına sırasıyla % 98, % 98 ve % 78 lik bir benzerliğe sahip oldukları ortaya çıkarılmıştır (Çizelge 4.13.). ETR2 benzeri diğer gen olan *CS-ETR2-2* geni 2472 nükleotid tarafından kodlanan 823 adet amino asitten oluşan bir proteini kodlayan ORF içerdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.10.) . Genin sırasıyla 147, 261 ve 24 nükleotidlik 5' ve 3' kodlamayan ve poli (A) kuyruğu içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11.). Nükleotid sekans benzerliğine göre *CS-ETR2-2* % 98, % 98 ve % 77'lik bir oranla sırasıyla *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis* ve *P. pyrifolia* türlerinin ETR2 genlerine homoloji gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.12.). Amino asit sekanslarına göre de *C. sativus*, *C. melo* var. *cantalupensis* ve *Rosa hybrida* türlerine ait ETR2 amino asit sekanslarına sırasıyla % 98, % 97, % 82'lik benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13.). Amino asit sekanslarının diğer homologları ile olan karşılaştırmaları ve reseptörler arasındaki yapısal benzerlikler Çizelge 4.15.'te gösterilmiştir. Her iki ETR2 benzeri genlerle yapılan korunmuş domeyn analizine göre genlerin kodladığı proteinlerin bir GAF domeyni, histidin kinaz domeyni ve alıcı domeyninden meydana geldiği saptanmıştır. Bunlardan histidin kinaz domeyninde bir fosforilasyon bölgesi bulunurken, alıcı domeyninde fosforilasyon ve moleküller arası tanınma bölgesinin bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.).

Çizelge 4.15. ETR2 ve benzeri reseptör genlerinin çoklu aminoasit sekans karşılaştırmaları

Cs-etr2-1 Cs-etr2-2 Cs-etr2 Cm-etr2 Malus_domestica_etr2 Lactuca_sativa_Ls-etr2 A._thaliana_etr2 Le-etr2_homolog	----- MLRSEAGCEWNLLYRRLVGFPLSGNIGWRCVYCCYSSCQVRLRYRQVVGA -----
Cs-etr2-1 Cs-etr2-2 Cs-etr2 Cm-etr2 Malus_domestica_etr2 Lactuca_sativa_Ls-etr2 A._thaliana_etr2 Le-etr2_homolog	-----MLKALPSGFLILLLLASVSAADNGFPRCND SISRISRVKWIETRLLDAMKALPSGFLILLLLASVSAADNGFPRCND -----MLKALPSGFLILLLLASVSAADNGFPRCND -----MLKALPSGFLILLLLASVSAADNGFPRCND -----MLKALASSLSISLLLFVCSASDNGFPRCND -----MSKTLASLGLISLLLVGLAVDDDGSSENGFPGGCCNCE -----MVKEIASWLLILSMVVFVSPVLAINGGGYPRCNGE -----MPCN : * :
Cs-etr2-1 Cs-etr2-2 Cs-etr2 Cm-etr2 Malus_domestica_etr2 Lactuca_sativa_Ls-etr2 A._thaliana_etr2 Le-etr2_homolog	DEGS-LWSIDSILECQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL DEGS-LWSIDSILECQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL DEGS-LWSIDSILECQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL DEGS-LWSIDSILECQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL DDGS-WWSIESILECQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL VEG--FFGYRNIMETQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL DEGNSFWSTENILETQRVSDFLIAYAYFSIPIELLYFVSCSNVP-FKWVL CFDPLLPADLELLMKYQYISDFIAYAYFSIPIELLYFVQKSAVFPYRWVL . : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
Cs-etr2-1 Cs-etr2-2 Cs-etr2 Cm-etr2 Malus_domestica_etr2 Lactuca_sativa_Ls-etr2 A._thaliana_etr2 Le-etr2_homolog	FQFTAFIVLCCHTHLNMGWTYGPFSFHLMLALTVEKILTTALVSCATAITL FQFTAFIVLCCHTHLNMGWTYGPFSFHLMLALTVEKILTTALVSCATAITL FQFTAFIVLCCHTHLNMGWTYGPFSFQMLLALTVEKILTTALVSCATAITL FQFTAFIVLCCHTHLNMGWTYGPFSFQMLLALTVEKILTTALVSCATAITL FQFTAFIVLCCHTHLNMGWTYGPFSFQMLLALTVEKILTTALVSCATAITL FQFTAFIVLCCHTHLNMGWTYGPFSFQMLLALTVEKILTTALVSCATAITL FEFTAFIVLCCHTHLNMGWTYSAHPPFRLLMAFTVEKILTTALVSCATAITL VQFCAFIVLCCATHLNLWTSTPEHRTVAMVMTAKFSTAAVSCATAVWML . : * * * * * * * * * * * : * * : * * : * * : * * * * * * * :
Cs-etr2-1 Cs-etr2-2 Cs-etr2 Cm-etr2 Malus_domestica_etr2 Lactuca_sativa_Ls-etr2 A._thaliana_etr2 Le-etr2_homolog	ITLIPDLLKVKVREFMLKKEKTWDLGREVGMILKQKEAGLHVVRMLTQEIRK ITLIPDLLKVKVREFMLKKEKTWDLGREVGMILKQKEAGLHVVRMLTQEIRK ITLIPDLLKVKVREFMLKKEKTWDLGREVGMILKQKEAGLHVVRMLTQEIRK ITLIPDLLKVKVREFMLKKEKTWDLGREVGMILKQKEAGLHVVRMLTQEIRK ITLIPDLLKVKVREFMLKKEKTWDLGREVGIIMRQKEAGMEVVRMLTQEIRK VTLIPDLLKVKVREFMLRKKKTWDLGVEMGMILKQKEAGVHVVRMLTQEIRK ITLIPDLLKVKVREFMLKKAHEKLVGGLILKKEKTCFHVVRMLTQEIRK VHIIIDLKSVKTRELFLKKAHELDREVGILIRTQEETGRVVRMLTHEIRK . : * * * * * * * * * * * : * * : * * : * * : * * * * * * * :
Cs-etr2-1 Cs-etr2-2 Cs-etr2 Cm-etr2 Malus_domestica_etr2 Lactuca_sativa_Ls-etr2 A._thaliana_etr2 Le-etr2_homolog	SLDRHTILYTTMFELSETLGLHYCAVWMPNESKTLMNLTHELKDRSFSNG SLDRHTILYTTMFELSETLGLHYCAVWMPNESKTLMNLTHELKDRSFSNG SLDRHTILYTTMFELSETLGLHYCAVWMPNESKTLMNLTHELKDRSFSNG SLDRHTILYTTMFELSETLGLHYCAVWMPNESKTVMNLTHELKDRSFSNG SLDRHTILSTLTFELSETLGLHYCAVWMPNEIKTEMILTHELKGRNYSHA SLDRHTILYTTLDKSEITLDLQNCALVMPDNTKTVMNLTQKGGQSS-- SLDRHTILYTTLVELSKTLDLQNCALVWMPDNGGTEMDLTHELRGGGGYGG TLDRHTILKTTLVELGRALQLEECALWMPTRTGVELQLSYTLHHQNPVSG- : * * * * * * * * * * * : * * : * * : * * : * * * * * * * :

* tamamen aynı amino asitlere sahip
.: benzer amino asitlere sahip

Çizelge 4.15. (devam)

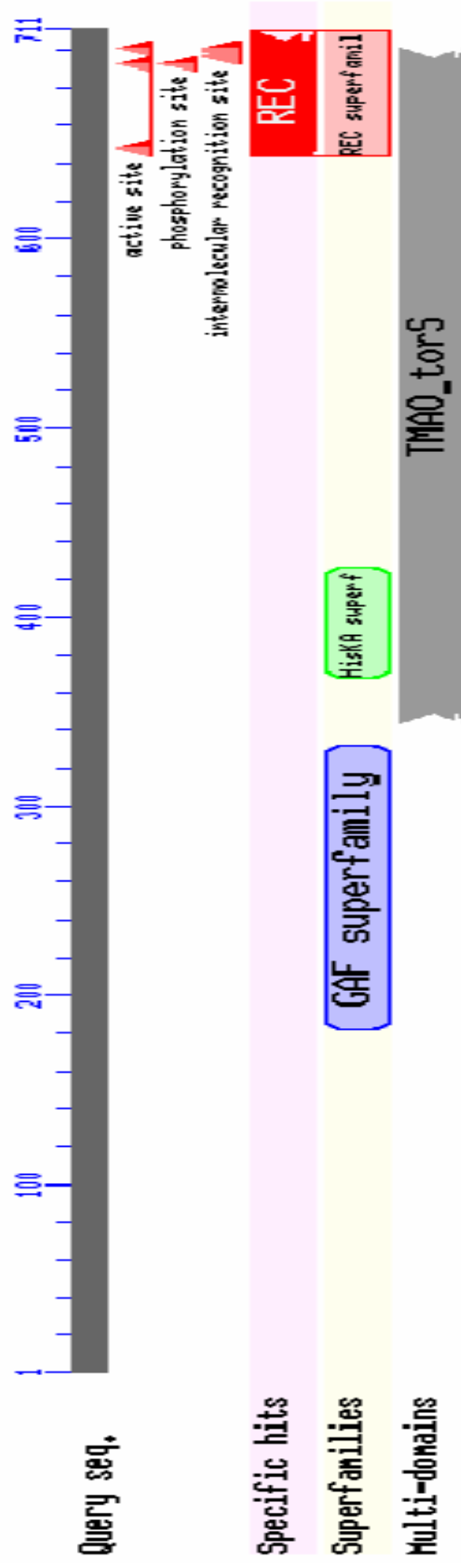
Cs-etr2-1	YNVFIPIISDSDVIKIKGSDGVKVLGPNLSALVVANCGESDERCPAAAIIRMP
Cs-etr2-2	YNVFIPIISDSDVIKIKGSDGVNVLGPNLSALVVANCGESDERCPAAAIIRMP
Cs-etr2	YNVFIPIISDSDVIKIKGSDGVNVLGPNLSALVVANCGESDERCPAAAIIRMP
Cm-etr2	YNVSIPIISDSDVIKIKGSDGVNVLGPNLSALVVANCGESDERCPAAAIIRMP
Malus_domestica_etr2	YNFSIPIISDPDVAHIKGSDGVSLRPSALVHASG-DSGEPGPVAAIIRMP
Lactuca_sativa_Ls-etr2	--TIIPIQNPEVQEI KQSEVVKLLDHESELGTLSSGGSEPPCAVAAIIRMP
A._thaliana_etr2	CSVSMEDLDVVRIRESEVNVLSVDSIARASGGGGDVSEICAVAAIIRMP
Le-etr2_homolog	--FTVP IQLPVINQVFSANCAVKI SPNSAVARLRPTRKYIPCEVVAVRVP
	: : *
Cs-etr2-1	MLRVSNFKGG-TPEIVPTYAAILVVLVLP GGQPRSWNNQELEI IKVVADQV
Cs-etr2-2	MLRVSNFKGG-TPEIVPTYAAILVVLVLP GGQPRSWNKQELEI IKVVADQV
Cs-etr2	MLRVSNFKGG-TPEIVPTYAAILVVLVLP GGQPRSWNNQELEI IKVVADQV
Cm-etr2	MLRVSNFKGG-TPEIVPTYAAILVVLVLP GGQPRSWNNQELEI IKVVADQV
Malus_domestica_etr2	MLRVSNFKGG-TPEVIQACYAAILVVLVLP GGQPRCWSSQDLEI IKVVADQV
Lactuca_sativa_Ls-etr2	MLRVSDFKGG-TPEMIQACYAAILVVLVLP GGQIRSWTGPPELEI IKVVADQV
A._thaliana_etr2	MLRVSDFNG-----ELSYAAILVCVLPGGTPRDWTYQEI EIKVVADQV
Le-etr2_homolog	LLHL SNFQ TNDWPELSPKSYALMLVLM LPSNSARQWHVHELELVDVVADQV
	:::***: **::: **.. * * ::::*****
Cs-etr2-1	AVALSHAA LLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKENALMASQARN SFQKVMSD
Cs-etr2-2	AVALSHAA LLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKENALMASQARN SFQKVMSD
Cs-etr2	AVALSHAA LLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKENALMASQARN SFQKVMSD
Cm-etr2	AVALSHAA LLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKENAMMASQARN SFQKVMSD
Malus_domestica_etr2	AVALSHAAVLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKMKAMMASHARN SFQKVMSD
Lactuca_sativa_Ls-etr2	AVALSHAAVLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKHDAMRASQARN LFTVM SK
A._thaliana_etr2	TVALDHAAVLEESQLMRDKLAEQNRLDQQAKRDALRASQARN AFQKTMSE
Le-etr2_homolog	AVALSHAA LLEESMRARDLAEQNVALDLARRBAETA VRARNDLFGVMNH
	:::***:***:***: * * * * * : * : * * * * * * * : * * * * *
Cs-etr2-1	GMRRPMHSIMGLLSMLQENENMNDQRIILDAMVRTGNVVSTRIDVMEHP
Cs-etr2-2	GMRRPMHSIMGLLSMLQENENMNDQRIILDAMVRTGNVVSTLIDVMEHP
Cs-etr2	GMRRPMHSIMGLLSMLQENENMNDQRIILDAMVRTGNVVSTQIDVMEHP
Cm-etr2	GMRRPMHSIMGLLSMLQENENMNDQRIILDAMVRTGNVVSTLIDVMEHP
Malus_domestica_etr2	GMRRPMHSILGLLSMLQDNTLDNDQRIIVDAMVRTSNVLSLINDVMDNS
Lactuca_sativa_Ls-etr2	SLRKPMHSIVGLLSLIQDNLNMQKVLIDSMVKTSNVLSMLIDVMDDS
A._thaliana_etr2	GMRRPMHSILGLLSMIQDEKLSDEQKMIVDTMVKTGNVMSNLVGD SMDVP
Le-etr2_homolog	EMRRP MHAVVALLSL LQESEL IPEQLRMVETILKSSNLLATLINDVLDLS
	: * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Cs-etr2-1	IKDSARFPLELEMRSFRLHSMIKEAACLAKCLCAYKGF GFAFEVQRSLPD
Cs-etr2-2	IKDSARFPLELEMRSFRLHSMIKEAACLAKCLCAYKGF GFAFEVQRSLPD
Cs-etr2	IKDSARFPLELEMRSFRLHSMIKEAACLAKCLCAYKGF GFAFEVQRSLPD
Cm-etr2	IKDSARFPLELEMRSFRLHSMIKEAACLAKCLCAYKGF GFAFEVQRSLPD
Malus_domestica_etr2	AKESGRFPLEMR--FLHATIKKEAACLAKCLCVFRGFDFD AIDVDKSLPD
Lactuca_sativa_Ls-etr2	SKER---FPLEMRSLHSLIKEAAHLAKCLCVYKGYE FVMDVDKSLPD
A._thaliana_etr2	----DGRFGTEMKPSLHRTIHEAACMARCLCLCNGIRFLVDAEKSLPD
Le-etr2_homolog	RLED--GSLQLDVGTENLHALFREVLNLIKPVAAVKKL FVTL SLSDFPE
	: * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Cs-etr2-1	HVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
Cs-etr2-2	HVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
Cs-etr2	HVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
Cm-etr2	HVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
Malus_domestica_etr2	HVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
Lactuca_sativa_Ls-etr2	NVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
A._thaliana_etr2	NVMGDERRVFOVLLHMGVSLNLDI-NQGGYALFRVVAESGSQGRNDQRW
Le-etr2_homolog	VAI GDEKRLMQLLNVGVNAVKFSKEGSVSVSAVNAKSESLIDPRAPEFF
	:::***:***:***: ** : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Cs-etr2-1	GNWRQ--ISSDGD F IRFEFGINKSNSQSEGSIPNMVSGDRR----YAS
Cs-etr2-2	GNWRQ--NSSDGD F IRFEV GINKSNSQSEGSIPNMVSGDRR----YAS
Cs-etr2	GNWRQ--NSSDGD F IRFEV GINKSNSQSEGSIPNMVSGDRR----YAS
Cm-etr2	GNWRQ--SSSDGD F IRFEI GINKSNSQSEGSIPNMVSGDRR----YAS
Malus_domestica_etr2	AAWRH--SSSDGDICVRFEIGISNSGSQSEVTIPAVQLVGRR----YAG
Lactuca_sativa_Ls-etr2	ASWR5--NSGDGVVSKFEIGINDHDTKLER----SFADER----IRS
A._thaliana_etr2	AAWRSPASSADGDVYIRFEMNVENDSSSQSFASVSRDQVEGDRVRFSGG
Le-etr2_homolog	PVQSE----NHFYLRVQVKDTGSGINPDQPKLFCCKFAQNQEP--ATK
 : :

* tamamen aynı amino asitlere sahip
: benzer amino asitlere sahip

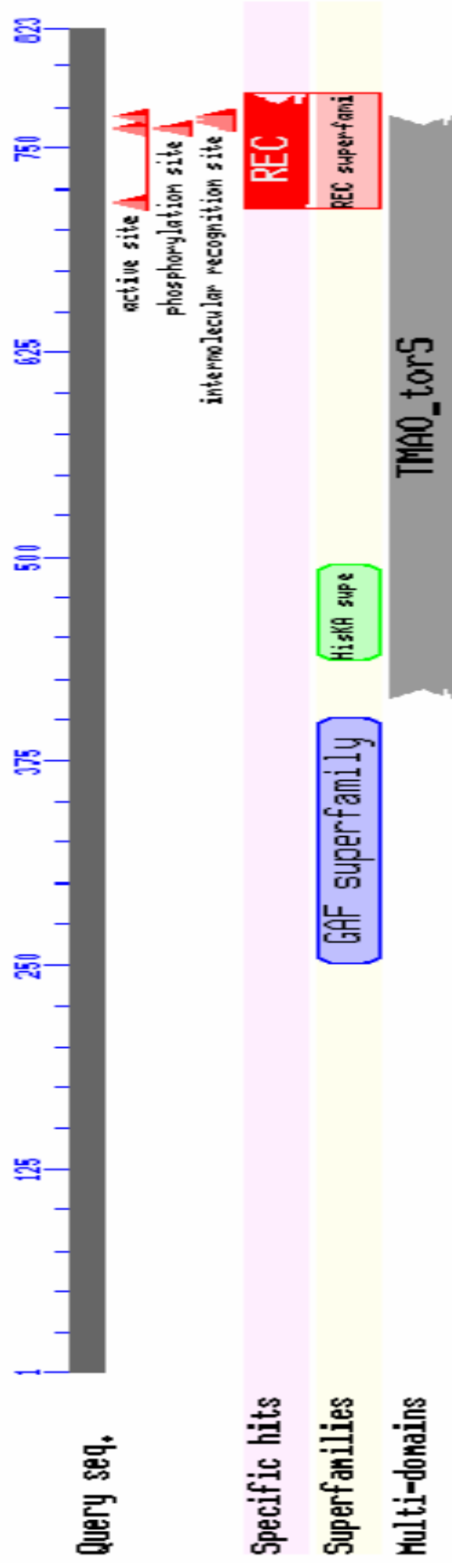
Çizelge 4.15. (devam)

Cs-etr2-1	DGAERLSFTICKKLVKLMQCNIIWVIPNPQGFTRSMALVLRFLRPSIAV
Cs-etr2-2	DGAERLSFTICKKLVKLMQCNIIWVIPNPQGFTRSMALVLRFLRPSIAV
Cs-etr2	DGAERLSFTICKKLVKLMQCNIIWVIPNPQGFTRSMALVLRFLRPSIAV
Cm-etr2	DGAERLSFTICKKLVKLMQCNIIWVIPNPQGFTRSMALVLRFLRPSIAV
Malus_domestica_etr2	EGVDEGLSFTICKKLVQMMQCNIIWAVPNPQGFQAQSMALVLRFPRLSIAI
Lactuca_sativa_Ls-etr2	GGVEQSLSFQMCCKLVEMMQCKIIWVVPNPVGFQDQAMSLILRFQRLPSIVI
A._thaliana_etr2	YGLGQDLDFGVCKKVVQLIHENISVVPVGSQSPETMSLLLRFRFRSIVS
Le-etr2_homolog	NSAGTGLGLAICRRFVNLMECHIIWIESEGVGKGSTAIFFIVKLGIPGRLE
	. * : : * : : * : : * : * . * : : : : :
Cs-etr2-1	AMPEPGE-----SSEH---PHSNSIFRGLQVILADADDMNRRAVTRKMLEK
Cs-etr2-2	AMPEPGE-----SSEH---PHSNSIFRGLQVILADADDMNRRAVTRKMLEK
Cs-etr2	AMPEPGE-----SSEH---PHSNSIFRGLQVILADADDMNRRAVTRKMLEK
Cm-etr2	AMPEPGE-----SSEH---PHSNSIFRGLQVILADADDMNRRAVTRKMLEK
Malus_domestica_etr2	AISEPGE-----SSEH---PHSNSLFKGLQVLLTDDDDVNRVVRTRKMLEK
Lactuca_sativa_Ls-etr2	GISEAGE-----SSDHN--PLSNSIFRNLQVLLADEDDMNRRAVTRKQLEK
A._thaliana_etr2	HGSSESP-----APDHHAPHSNSLLRGLQVLLVDTNDSNRRAVTRKLLK
Le-etr2_homolog	SKLPFTAGLPAN-----HMQMTFQGLKVLVMDNGFSRNVTKSLLVH
	: : : * : : : * : . * * : . * :
Cs-etr2-1	LGCVVTAVSSGFECCLTVMAPAG---SSIQVVLLDLHMPELDGFVETTRI
Cs-etr2-2	LGCVVTAVSSGLECLTVMAPAG---SSIQVVLLDLHMPELDGFVETTRI
Cs-etr2	LGCVVTAVSSGFECCLTVMAPAG---SSIQVVLLDLHMPELDGFVETTRI
Cm-etr2	LGCVVTAVSSGYECLTVMAPAG---SSIQVVLLDLHMPELDGFVETTRI
Malus_domestica_etr2	LGCVVTAVSSGFECCLSTIGTIGPA-GSSFQFVFLDLHMPELDGFVAVAIRI
Lactuca_sativa_Ls-etr2	LGCVVTAVSSGSDCIMALNQVPS---SYQIILLDLHMSDVGDFVAAARI
A._thaliana_etr2	LGCVVTAVSSGFECCLTAIAPGSSSPSTSFQVVVLDLQMAEMDGYEVAMRI
Le-etr2_homolog	LGCVVTITGSGDECLRLITREH-----KVLIMDASITGMNCYDVAVSV
	*** * : : . * * : : : : : : : : * : . : : : * : :
Cs-etr2-1	QKV-----
Cs-etr2-2	QKVVKPELW--ASDHCINCKCRLGEMRADWDERCHTKTCSVTGNRP--
Cs-etr2	RKFRSQNYR--PVI IALTASAGEDWERCQVIGMNGVIRKPVQLQGI AHEL
Cm-etr2	RKFRSQNYR--PVI IALTASAGEDWERCQVIGMNGVIRKPVQLQGI AHEL
Malus_domestica_etr2	RKFRSRTWP--LIIGVTASADEVDWDRCMQTGINGVIRKPVLLQGIANEL
Lactuca_sativa_Ls-etr2	RKSRSRNWP--LIVALTAGDADVWERCLQMGINGVIQKPVVLLQGISDEL
A._thaliana_etr2	R---SRSWP--LIVATTVSLDEEMWDKCAQIGINGVVRKPVVLRAMESEL
Le-etr2_homolog	HEKFGKRLERPLIVALTGNTDQVTKENCLRVGMDGVILKPVSIDKMRSLV
	:
Cs-etr2-1	-----
Cs-etr2-2	-----
Cs-etr2	RRALLQASKVV-
Cm-etr2	RRALLQASKVV-
Malus_domestica_etr2	RRVLLQANKGMT
Lactuca_sativa_Ls-etr2	RRVMVHTNKVH-
A._thaliana_etr2	RRVLLQADQLL-
Le-etr2_homolog	SGLLEHGTVL--

* tamamen aynı amino asitlere sahip
 .: benzer amino asitlere sahip

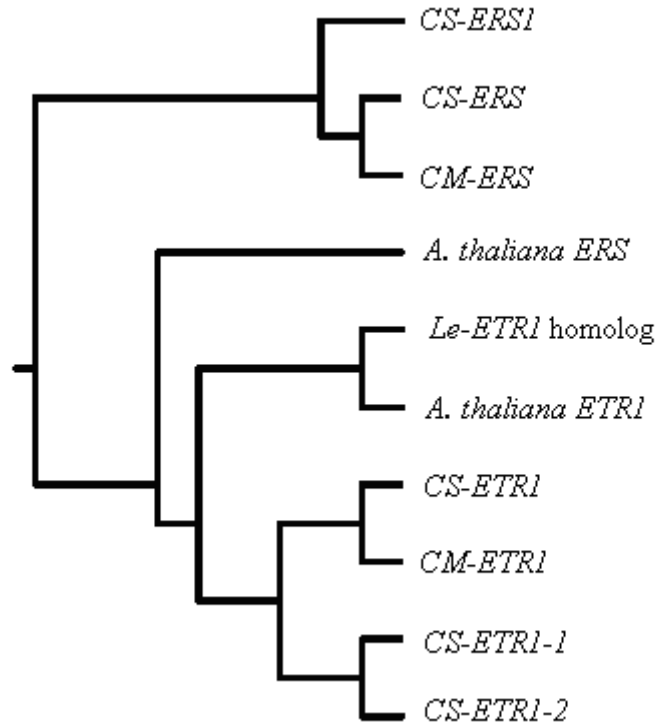


Şekil 4.4. CS-ETR2-1 reseptör proteinin domeyn organizasyonu

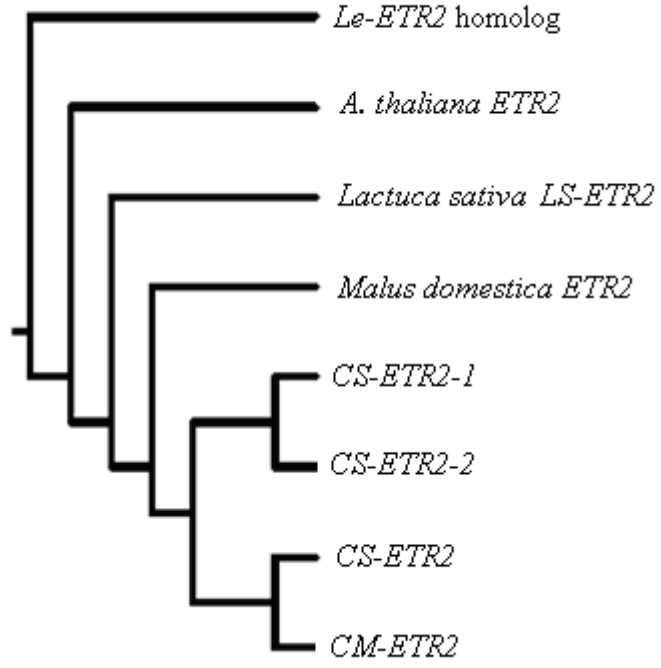


Şekil 4.5. CS-ETR2-2 reseptör proteinin domeyn organizasyonu

ETR1 benzeri genlerde bulunan Mg, ATP bağlanma bölgeleri ve de HTPaz-C benzeri domeynin izole edilen *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* genlerinde bulunmadığı göze çarpmaktadır. Tahmini *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* proteinleri bir amino terminal domeyni, bir histidin kinaz domeyni ve bir alıcı domeyninden oluştuğu fakat *CS-ERS1* de bu alıcı domeynin olmadığı gözlemlenmiştir. Bu yüzden izole edilen genlerin yapısal özellikleri Arabidopsis homologlarına benzerdir. Tam uzunluktaki amino asit sekansları hıyar için göz önüne alındığında *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2* ve *CS-ERS1*' in birbirlerine daha yakın olduğu ve *CS-ETR2-1* ile *CS-ETR2-2*'ninde yakın olduğu görülmektedir (Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.).



Şekil 4.6. Hıyar meyvesinden ve diğer türlerden izole edilen *ETR1* benzeri etilen reseptörlerinin filogenetik ağacı



Şekil 4.7. Hıyar meyvesinden ve diğer türlerden izole edilen *ETR2* benzeri etilen reseptörlerinin filogenetik ağacı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada etilen alımında ve sinyal iletiminde rol alan 5 etilen reseptörünü kodlayan genlerin tam nükleotid sekansları izole edilerek karakterizasyonları yapılmıştır. Bütün izole edilen klonlar daha önce gerek hıyar ve kavun gibi yakın akraba türlerinde ve gerekse de şeftali, domates, Arabidopsis vb. taksonomik olarak uzak türlerden elde edilmiş etilen reseptör genleriyle çok yakın benzerlikler göstermişlerdir. *CS-ETRI-1*, *CS-ERS1*, *CS-ETRI-2*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* genleri *Cucumis sativus*, *Cucumis melo*, *Prunus persica*, *Lycopersicon esculentum*, *Arabidopsis thaliana*, *Malus domestica*, *Lactuca sativa*, *Coffea canephora*, *Pyrus communis* genlerine % 77-99 oranlarında hem amino asit hemde nükleotid seviyelerinde homoloji göstermişlerdir (Hua et al., 1998; Rodriguez et al., 1999; Yamasaki et al., 2000; El-Sharkawy et al, 2003; Wang et al., 2006).

Etilen reseptörleri etilen sinyal tepki yolunun negatif düzenleyicisi olarak görev yapmaktadırlar (Kieber et al., 1993). Daha önce yapılan çalışmalarda *A. thaliana*'da yapı ve sekans benzerlikleri açısından etilen reseptörleri iki alt aileye ayrılmış ve bu reseptörleri kodlayan en az beş farklı gen olduğu tespit edilmiştir (Hua et al., 1998). Korunmuş domeynlerdeki sekans farklılıklarına göre birbirlerinden ayırt edilen bu aileler alt aile I ve alt aile II şeklinde adlandırılmıştır (Bleecker, 1999). Bu iki alt aile arasında önemli derecede farklılıklar mevcuttur. Örneğin *AtETRI* ve *AtERS1* gibi alt aile I'e ait genlerin amino terminal ucunda üç adet membranlara bağlanan bölge bulunurken *AtETR2* gibi alt aile II'ye ait genlerde 4 potansiyel membran bağlanma bölgesi vardır (Hua et al., 1998). Yine alt aile I genleri, sekansları korunmuş histidin ve bakteriyel iki komponentli reseptörlerdeki katalitik domeynde bulunan diğer imza motiflerine sahip iken, alt aile II genleri bu bölgede oldukça değişiklikler göstermektedir (Hua et al., 1998).

Yapılan yapısal ve sekans analizleri sonucu izole ettiğimiz genlerden *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2* ve *CS-ERS1* alt aile I'e ve *CS-ETR2-1* ile *CS-ETR2-2*'nde alt aile II' ye ait oldukları belirlenmiştir.

Elde etmiş olduğumuz beş hıyar etilen reseptör sekanslarının yüksek afiniteli etilen bağlanması için ihtiyaç duyduğu bakır elementini kofaktör olarak kullanan etilen bağlanma domeynine (Rodriguez et al., 1999), üç tahmini etilen algılayıcı domeyne, korunmuş bir His kinaz domeyni ve GAF domeynine homoloji gösteren bir bölgeye sahip oldukları ortaya konulmuştur (Rodriguez et al., 1999; Wang et al., 2006). Sadece *CS-ETR1-1* ve *CS-ETR1-2* sekansları etilen tepki düzenleyici domeyni içerdikleri belirlenmiştir. Benzer bir sonuç daha önce armutlardan elde edilen *PC-ETR1* geninde de bulunmuştur (El-Sharkawy et al., 2003). Buna ilaveten, bakteriyel iki komponentli reseptörlerde otofosforilasyona uğrayan alıcı domeyninde bulunan korunmuş aspartat amino asidi, *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* genlerinde tespit edilmiştir. Bu tip reseptörlerde görülen GAF domeyni gibi diğer özellikler de hıyardaki *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2*'de mevcuttur. Bu reseptör sekanslarından elde edilen polipeptitlerin diğer türlerden elde edilen ETR1 ve ETR2 benzeri sekanslarla karşılaştırılması sonucunda, etilen algılama ve bağlanma işlevi gören amino ucundaki amino asitler arasında yüksek derecede bir korunma olduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda histidin kinaz domeyninin ilk yarısında da önemli sekans korunma bölgesi mevcut iken, bundan sonra sekansların küçük birkaç yüksek düzeyde korunmuş adacık dışında farklılıklar gösterdikleri saptanmıştır.

Bireysel etilen reseptörlerine ait spesifik roller tayin etmek çok güç olmaktadır. Çünkü Arabidopsis ve domateste yapılan çalışmalarda reseptörlerin birbirlerinin yerlerine geçtikleri ve fiziksel olarak temas ettikleri tespit edilmiştir (Hua and Meyerowitz 1998; Hackett et al., 2000; Tieman et al., 2000). Fakat Arabidopsis ve domateste yapılan bazı çalışmalarda da *ETR1*'e spesifik roller verilmiştir. *AT-ETR1*'in fonksiyon kayıp mutantlarında *ETR1*'in hücre uzamasını kontrol ettiği ortaya konulmuştur (Hua and Meyerowitz, 1998). Antisens *LE-ETR1* geninin ifade olması sonucunda domateste yaprak ve çiçek absiyonunun geciktiği ve boğum

aralarının kısaldığı tespit edilmiştir (Whitelaw et al., 2002). Çalışmamızdan elde edilen sekans analizleri sonucunda *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR2-1* ve *CS-ETR2-2* tahmini proteinlerinin etilen reseptör fonksiyonu için önemli olan tüm amino asitleri içerdikleri ortaya konulmuştur (Schaller and Bleecker, 1995; Bleecker, 1999; Hall et al., 1999; Rodriguez et al., 1999; Wang et al., 2006). Bunlardan *CS-ERS1*'in sırasıyla *A. thaliana*, kavun ve hıyardaki homologları olan *AT-ERS1*, *CM-ERS* ve *CS-ERS* gibi genlerde de görüldüğü gibi, ETR1 proteinlerinin bir parçası olan C-terminal alıcı domeyninden yoksun olduğu belirlenmiştir. Alıcı domeyninde bulunan aspartat amino asidinin ETR1 alıcı sekanslarındaki otofosforilasyon için hedef olduğu tahmin edilmektedir (Wang et al., 2006).

Sonuç olarak, çalışmada her ne kadar *CS-ETR1-1*, *CS-ETR1-2*, *CS-ERS1*, *CS-ETR1-2* ve *CS-ETR2-1* genlerinin fonksiyonları belirlenmediyse de bunların diğer türlerden elde edilen etilen reseptör genlerine olan homolojilerinden dolayı, bu genlerin muhtemelen etilen reseptörü genler olduğunu ve benzer fonksiyonları gerçekleştirdiklerini göstermektedir. Çalışmanın sonuçları potansiyel olarak ıslah programlarında hatların olgunlaşma bakımından taranmasında kullanılabilir. Ayrıca bu hatlar üzerinde yapılacak ilave çalışmalarla piyasa ihtiyaçlarını karşılayabilmek için meyve olgunlaşmasını suni olarak kontrol etme amaçlı olarak pratikte kullanılması mümkündür. Spesifik olarak, etilen alımı ve sinyal taşınması yolunun genetik transformasyon yoluyla değiştirilerek meyvelerin ve sebzelerin hasat sonu ömürlerinin uzatılması ve hasat sonu ürün kayıplarının büyük ölçüde azaltılması mümkün olabilecektir. Meyve ve sebzelerin hasat sonu ömürlerinin uzatılması için kullanılan değişik kimyasalların masraflarından tasarruf imkanı sağlanabilecektir. Reseptörlere genetik müdahale sonucu etilen sinyal iletiminin ortadan kaldırılmasıyla hıyarda hasattan sonra etilen etkisiyle ortaya çıkan watersoaking gibi fizyolojik bozuklukların önüne geçilmesi ve bu bozuklukların sebep olduğu ürün kayıplarının ortadan kaldırılması söz konusu olabilecektir. Ek olarak, etilen üreten türlerle hıyarın birlikte depolanabilmesi sağlanarak depolama ve taşınma masraflarının önemli ölçüde azaltılması sağlanabilecektir.

6. KAYNAKLAR

- Abeles, F.B., Morgan, P.W., Salveit, M.E., 1992. Ethylene in Plant Biology. Academic Press, San Diego, USA.
- Ağaoğlu, Y.S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A.İ., Yanmaz, R., 1995. Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No:4, 369s. Ankara.
- Alonso, J.M., Hirayama, T., Roman, G., Nourizadeh, S., Ecker, J.R., 1999. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in Arabidopsis. *Science*, 284 (5423), 2148-2152.
- Alonso, J.M., Stepanova, A.N., Solano, R., Wisman, E., Ferrari, S., Ausubel, F.M., Ecker, J.R., 2003. Five components of the ethylene-response pathway identified in a screen for weak ethylene-insensitive mutants in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (5), 2992-2997.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D.J., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.
- Anonim, 2010. Taze meyve ve sebzelerin muhafazası. www.saraytarim.gov.tr. Erişim tarihi: 05.02.2010
- Anonymous, 2009. Ethylene. <http://www.plant-hormones.info/ethylene.htm>. Erişim tarihi: 03.01.2010
- Anonymous, 2010a. The State of Food and Agriculture. Statistical databases, www.fao.org. Erişim Tarihi: 10.02.2010
- Anonymous, 2010b. National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> Erişim Tarihi: 10.02.2010
- Aravind, L., Ponting, C.P., 1997. The GAF domain: an evolutionary link between diverse phototransducing proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 22 (12), 458-459.
- Arora, A., 2005. Ethylene receptors and molecular mechanism of ethylene sensitivity in plants. *Current Science*, 89 (8), 1348-1361.
- Arshad, M., Frankenberger, W.T., 2002. Ethylene. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 337p. New York.

- Arteca, R.N., 1996. Plant growth substances. Principles and applications. Chapman & Hall, 352p. New York.
- Binder, B.M., 2008. The ethylene receptors: Complex perception for a simple gas. *Plant Science*, 175,8-17.
- Bishopp, A., Mahonen, A.P., Helariutta, Y., 2006. Signs of change: hormone receptors that regulate plant development. *Development*, 133, 1857-1869.
- Bleecker, A.B., 1997. The ethylene binding site of the ETR1 protein. *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene*. Editörler: Kanellis, A, Chang, A., Kende, H., Grierson, D., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 63-70s. The Netherlands.
- Bleecker, A. B., 1999. A copper cofactor for the ETR1 receptor from *Arabidopsis*. *Science*, 283, 996-998.
- Bleecker, A.B., Estelle, M.A., Somerville, C., Kende, H., 1988. Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 241, 1086-1089.
- Bleecker, A.B., Esch, J.J., Hall, A.E., Rodriguez, F.I., Binder, B.M., 1998. The ethylene-receptor family from *Arabidopsis*: Structure and Function. *Biological Sciences*, 353, 1405-1412.
- Bleecker, A.B., Kende, H., 2000. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16, 1-18.
- Boran, Ş., Binici Altıntaş, G., 2009. Türkiye'nin tarım ürünleri pazarındaki yeri ve çözüm önerileri. AR&GE Bülten. <http://www.izto.org.tr>. Erişim Tarihi: 07.04.2010
- Bouzayen, M., Cooper, W., Barry, C., Zegzouti, H., Hamilton, A.J., Grierson, D., 1993. EFE multigene family in tomato plants: Expression and characterization. In *Cellular and Molecular Aspects of the Plant Hormone Ethylene*, Edit: Pech, J.C., Latche, A., Balague, C., (Dordrecht: Kluwer Academic Publishers), 76-81p.
- Bögre, L., Meskiene, I., Heberle-Bors, E., Hirt, H., 2000. Stressing the role of MAP kinases in mitogenic stimulation. *Plant Molecular Biology*, 43, 705-718.
- Bradford, K.J., 2008. Shang Fa Yang: Pioneer in plant ethylene biochemistry. *Plant Science*, 175 (1-2), 2-7.
- Burg, S.P., Thimann, K.V., 1959. The physiology of ethylene formation in apples. *Botany*, 45, 335-343.

- Burg, S.P., Burg, E.A., 1967. Molecular requirements for the biological activity of ethylene. *Plant Physiology*, 42, 144-152.
- Chang, C., Kwok., S.F., Bleecker, A.B., Meyerowitz, E.M., 1993. Arabidopsis ethylene response gene ETR1-Similarity of product to two-component regulators. *Science*, 262, 539-544.
- Chang, C., Shockey, J.A., 1999. The Ethylene-response pathway: signal perception to gene regulation. *Plant Biology*, 2 (5), 352-358.
- Chang, C., Stadler, R., 2001. Ethylene hormone receptor action in Arabidopsis. *BioEssays*, 23, 619-627.
- Chao, Q., Rothenberg, M., Solano, R., Roman, G., Terzaghi, W., Ecker, J.R., 1997. Activation of the ethylene gas response pathway in Arabidopsis by the nuclear protein Ethylene-insensitive3 and related proteins. *Cell*, 89 (7), 1133-1144.
- Chaves, A.L.S., Mello-Farias, P.C., 2006. Ethylene and fruit ripening: from illumination gas to the control of gene expression, more than a century of discoveries. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 3, 508-515.
- Chen, Q.G., Bleecker, A.B., 1995. Analysis of ethylene signal-transduction kinetics associated with seedling growth response and chitinase Induction in wild-type and mutant Arabidopsis. *Plant Physiology*, 108, 597-607.
- Chen, Y.F., Randlett, M.D., Findell, J.L., Schaller, G.E., 2002. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of Arabidopsis. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 19861-19866.
- Chen, Y.F., Etheridge, N., Schaller, G.E., 2005. Ethylene signal transduction. *Annals of Botany*, 95, 901-915.
- Clark, K.L., Larsen, P.B., Wang, X., Chang, C., 1998. Association of the Arabidopsis CTR1 Raf-like kinase with the ETR1 and ERS ethylene receptors. *Proceedings of the National Academy Sciences*, 95, 5401-5406.
- Cooper, G.M., 2000. *The cell, a molecular approach*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
Erişim tarihi: 05.02.2010
- Cooper, G.M., Hausman, R.E., 2006. *The Cell: A Molecular Approach (Third Edition)*. Çeviri Editörleri: Meral Sakızlı, Neşe Atabey, İzmir Tıp Kitabevi, 714s. İzmir.
- Denny, F.E., 1927. The effect of small amounts of chemicals in increasing the life activities of plants. *Botany*, 13, 555-560.

- Doubt, S.L., 1917. The response of plants to illuminating gas. *Botanical Gazete*, 63, 209-224.
- Ecker, J.R., 1995. The ethylene signal transduction pathway in plants. *Science*, 268, 667-675.
- El-Sharkawy, I., Jones, B., Li, Z.G., Lelievre, J.M., Pech, J.C., Latche, A., 2003. Isolation and characterization of four ethylene perception elements and their expression during ripening in pears (*Pyrus communis* L.) with/without cold requirement. *Journal of Experimental Botany*, 54, 1615-1625.
- Ergun, M., Ergun, N., 2007. Dilimlenmiş hıyarın raf ömrünün modifiye atmosfer paketlenmesi ve kalsiyum laktat uygulaması ile uzatılması. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 10 (2), 94-99.
- Etheridge, N., Chen, Y.F., Schaller, G.E., 2005. Dissecting the ethylene pathway of *Arabidopsis*. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*, 3 (4), 372-381.
- Fordham-Skelton, T., Lindsey, K., 2000. Signaling in plants. *Genome Biology*, 2 (1), 4001-4003.
- Fujimoto, S.Y., Ohta, M., Usui, A., Shinshi, H., Ohme-Takagi, M., 2000. *Arabidopsis* ethylene-responsive element binding factors act as transcriptional activators or repressors of GCC box-mediated gene expression. *Plant Cell*, 12, 393-404.
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., 2006. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 436-442.
- Galil, J., 1968. An ancient technique for ripening sycamore fruit in East-Mediterranean countries. *Economic Botany*, 22, 178-190.
- Gamble, R.L., Coonfield, M.L., Schaller, G.E., 1998. Histidine kinase activity of the ETR1 ethylene receptor from *Arabidopsis* *Plant Biology: Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 7825-7829.
- Gane, R., 1934. Production of ethylene by some fruits. *Nature*, 134, 1008-1008.
- Gaspar, T.H., Kevers, C., Faivre-Rampant, O., Crèvecoeur, M., Penel, C.L., Greppin, H., Dommès, J., 2003. Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cell Development Biology-Plant*, 39, 85-106.
- Gazzarrini, S., Mccourt, P., 2003. Cross-talk in plant hormone signalling: What *Arabidopsis* mutants are telling us. *Annals of Botany*, 91, 605-612.

- Graham, L.E., Graham, J.M., Wilcox, L.W., 2004. Bitki Biyolojisi. Palme Yayınları: 283, Çeviren K. Işık, Palme Dizgi Grafik ve Tasarım Birimi, 497s. Ankara.
- Granner, D.K., Olgun, A., 2004. Hormon etkisi. Harper'in biyokimyası. Çevirenler: Dikmen, N., Özgünen, T., Nobel Tıp Kitap Evleri, 534-549.
- Gray, J., Pictor, S., Shabbeer, J., Schuch, W., Grierson, D., 1992. Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. *Plant Molecular Biology*, 19, 69-87.
- Gray, W.M., 2004. Hormonal regulation of plant growth and development. *Plos Biology*, 2 (9), 1270-1273.
- Grefen, C., Stadele, K., Ruzicka, K., Obrdlík, P., Harter, K., Horak, J., 2008. subcellular localization and in vivo interactions of the *arabidopsis thaliana* ethylene receptor family members. *Molecular Plant*, 1 (2), 308-320.
- Guo, H., Ecker, J.R., 2004. The Ethylene signaling pathway: New insights. *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 40-49.
- Guzman, P., Ecker, J.R., 1990. Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants. *The Plant Cell*, 2, 513-523.
- Günay, A., 2005a. Sebze Yetiştiriciliği Cilt I. Meta Basımevi, 502s. İzmir.
- Günay, A., 2005b. Sebze Yetiştiriciliği Cilt II. Meta Basımevi, 531s. İzmir.
- Güneş, H.V., 2006. Moleküler Hücre Biyolojisi (İkinci Baskı). Kaan Kitabevi, ISBN: 975-6787-13-9, 493s. Eskişehir.
- Hackett, R.M., Ho, C.W., Lin, Z., Foote, H.C.C., Fray, R.G., Grierson, D., 2000. Antisense inhibition of the Nr gene restores normal ripening to the tomato Never-ripe mutant, consistent with the ethylene receptor-inhibition model. *Plant Physiology*, 124, 1079-1085.
- Hall, A.E., Chen, Q.G., Findell, J.L., Schaller, G.E., Bleeker, A.B., 1999. The relationship between ethylene binding and dominant insensitivity conferred by mutant forms of the ETR1 ethylene receptor. *Plant Physiology*, 121, 291-300.
- Hirayama, T., Kieber, J.J., Hirayama, N., Kogan, M., Guzman, P., Nourizadeh, S., Alonso, J.M., Dailey, W.P., Dancis, A., Ecker, J.R., 1999. Responsive-to-antagonist1, a Menkes/Wilson disease-related copper transporter, is required for ethylene signaling in Arabidopsis. *Cell*, 97 (3), 383-93.
- Hua, J., Chang, C., Sun, Q., Meyerowitz, E.M., 1995. Ethylene insensitivity conferred by Arabidopsis ERS gene. *Science*, 269, 1712-1714.

- Hua, J., Meyerowitz, E.M., 1998. Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, 94, 261-271.
- Hua, J., Sakai, H., Nourizadeh, S., Chen, Q.G., Bleecker, A.B., Ecker, J.R., Meyerowitz, E.M., 1998. *EIN4* and *ERS2* are members of the putative ethylene receptor gene family in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 10, 1321-1332.
- Huber, D.J., 2008. Suppression of ethylene responses through application of 1-methylcyclopropene: a powerful tool for elucidating ripening and senescence mechanisms in climacteric and nonclimacteric fruits and vegetables. *HortScience*, 43 (1), 106-111.
- Ichimura, K., Shinozaki, K., Tena, G., Sheen, J., Henry, Y., Champion, A., Kreis, M., Zhang, S., Hirt, H., Wilson, C., Heberle-Bors, E., Ellis, B.E., Morris, P. C., Innes, R.W., Ecker, J.R., Scheel, D., Klessing, D.F., Machida, Y., Mundy, J., Ohashi, Y., Walker, J.C., 2002. Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends in Plant Science*, 7 (7), 301-308.
- Imamura, A., Hanaki, N., Umeda, H., Nakamura, A., Suzuki, T., Ueguchi, C., Mizuno, T., 1998. Response regulators implicated in His-to-Asp phosphotransfer signaling in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(5), 2691-2696.
- Jackel, S., 2009. Signalling molecules, signal transduction and its application in coordination and regulation. <http://www.vcaa.vic.edu.au/vce/studies/biology>
Erişim Tarihi: 14.12.2009.
- Jalali, B.L., Bhargava, S., Kamble, A., 2006. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defences responses. *Journal Phytopathology*, 154, 64-74.
- Jeanmougin, F., Thompson, J.D., Gouy, M., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1998. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends in Biochemical Science*, 23, 403-405.
- Johnson, P.R., Ecker, J.R., 1998. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. *Annual Review Genetics*, 32, 227-254.
- Kabaoğlu, A., 2007. Hücre Haberleşme Mekanizmaları. *Moleküler Biyoloji Protein Sentezi ve Yıkımı*. Editrler; Yıldırım, A., Bardakcı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., Nobel Yayın No:1170, 377-422s. Ankara.
- Kacar, B., Katkat, V., ztrk, ř., 2006. *Bitki Fizyolojisi (İkinci Baskı)*. Nobel Yayın Dağıtım, Yayın No: 848, 563s. Ankara.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y., 2005. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi University Journal of Science*, 18 (4), 723-740.

- Karakurt, Y., Huber, D.J., 2002. Cell wall-degrading enzymes and pectin solubility and depolymerization in immature and ripe watermelon (*Citrullus lunatus*) fruit in response to exogenous ethylene. *Physiologia Plant*, 116, 398-405.
- Karakurt, Y., Huber, D.J., 2004. Ethylene-induced gene expression, enzyme activities, and water soaking in immature and ripe watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit. *Journal of Plant Physiology*, 161 (4), 381-388.
- Kasım, R., Kasım, M.U., 2007. Sebzelelerde etilenin önemi ve 1-metilsiklopropen (1-MCP)'in kullanımı. *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2), 227-231.
- Kende, H., 1993. Ethylene biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44, 283-307.
- Kieber, J., Ecker, J. R., 1993. Ethylene gas, it's not just for ripening anymore. *Trends Genetics*, 9, 356-362.
- Kieber, J.J., Rothenberg, M., Roman, G., Feldmann, K.A., Ecker, J.R., 1993. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in Arabidopsis, encodes a member of the raf family of protein kinases. *Cell*, 72(3), 427-441.
- Klee, H., Tieman, D., 2002. The tomato ethylene receptor gene family: form and function. *Physiologia Plantarum*, 115, 336-341.
- Klee, H.J., 2004. Ethylene signal transduction. *Moving Beyond Arabidopsis. Plant Physiology*, 135, 660-667.
- Kof, E.M., Vinogradova, I.A., Kalibernaya, Z.V., Chuvashova, E.S., Kondykov, I.V., Characterization of hormonal complex in pea phenotypes differing in leaf morphology. *Russian Journal of Plant Physiology*, 49 (4), 507-512.
- Kolch, W., 2000. Meaningful relationships: The regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochemistry Journal*, 351, 289-305.
- Lee, J.H., Kim, W.T., 2003. Molecular and biochemical characterization of VR-EILs encoding mung bean ethylene insensitive3-like proteins. *Plant Physiology* 132, 1475-1488.
- Lelievre, J.M., Latche, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.C., 1997. Ethylene and fruit ripening. *Physiology Plant*, 101, 727-739.
- Lima, L.C.O., Hurr, B.M., Huber, D.J., 2005. Deterioration of beet alpha and slicing cucumbers (*Cucumis sativus* L.) during storage in ethylene or air: Responses to suppression of ethylene perception and parallels to natural senescence. *Postharvest Biology Technology*, 37, 265-276.

- Lu, B., Pei, L.K., Chan, W.K., Zhang, H., Zhu, G., Li, J., Li, N., 2001. The dual effects of ethylene on the negative gravicurvature of *Arabidopsis* inflorescence, an intriguing action model for the plant hormone ethylene. *Chinese Science Bulletin*, 46 (4), 279-283.
- Mao, L., Karakurt, Y., Huber, D.J., 2004. Incidence of water-soaking and phospholipid catabolism in ripe watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit: induction by ethylene and prophylactic effects of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 33, 1-9.
- Michener, H.D., 1938. The action of ethylene on plant growth. *American Journal of Botany*, 25 (9), 711-720.
- Minorsky, P.V., 2003. Frontiers of plant cell biology: signals and pathways, system-based approaches 22nd symposium in plant biology. *Plant Physiology*, 132, 428-435.
- Moussatche, P., Klee, H.J., 2004. Autophosphorylation activity of the *Arabidopsis* ethylene receptor multigene family. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 48734-48741.
- Müller-Dieckmann, H.J., Grantz, A.A., Kim, S.H., 1999. The structure of the signal receiver domain of the *Arabidopsis thaliana* ethylene receptor ETR1. *Structure*, 7(12):1547-1556.
- Nakagami, H., Pitzchke, A., Hirt, H., 2005. Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends in Plant Science*, 10 (7), 339-346.
- Nakatsuka, A., Murachi, S., Okunishi, H., Shiomi, S., Nakano, R., Kubo, Y., Inaba, A., 1998. Differential expression and internal feedback regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase, and ethylene receptor genes in tomato fruit during development and ripening. *Plant Physiology*, 118, 1295-1305.
- Nicholas, K.B., Nicholas, H.B.J., 1997. GeneDoc: a tool for editing and annotating multiple sequence alignments, distributed by the authors. www.cris.com/ketchup/genedoc.shtml. 01.02.2010
- Ohme-Takagi, M., Shinshi, H., 1995. Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *The Plant Cell*, 7, 173-182.
- Osborne, D.J., McManus, M.T., 2005. Hormones, signals and target cells in plant development. Cambridge University Press, 249p. New York.
- Palavan-Ünsal, N., 1993. Bitki Büyüme Maddeleri. Üniversite Yayın No: 3677, Enstitü Yayın No: 4, İstanbul Üniversitesi Basımevi, 367s. İstanbul.

- Platanias, L.C., 2003. The p38 mitogen-activated protein kinase pathway and its role in interferon signaling. *Pharmacology & Therapeutics*, 98, 129-142.
- Qu, X., Hall, B.P., Gao, Z., Schaller, G.E., 2007. Strong constitutive ethylene-response phenotype conferred on arabidopsis plants containing null mutations in the ethylene receptors ETR1 and ERS1. *BMC Plant Biology*, 7 (3), 1-15.
- Rakwal, R., Agrawal, G.K., 2003. Wound signaling-coordination of the octadecanoid and MAPK pathways. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 855-861.
- Ravanel, S., Gakière, B., Job, D., Douce, R., 1998. The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 7805-7812.
- Ricart, C.A.O., Millner, P., 1997. G-protein linked signal transduction plants. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 9 (3), 193-201.
- Riechmann, J.L., Meyerowitz, E.M., 1998. The AP2/EREBP family of plant transcription factors. *Biological Chemistry*, 379 (6), 633-646.
- Rieu, I., Mariani, C., Weterings, K., 2003. Expression analysis of five tobacco EIN3 family members in relation to tissue-specific ethylene responses. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2239-2244.
- Rodriguez, F.I., Esch, J.J., Hall, A.E., Binder, B.M., Schaller, G.E., Bleecker, A.B., 1999. A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from Arabidopsis. *Science*, 283, 996-998.
- Roman, G., Lubarsky, B., Kieber, J.J., Rothenberg, M., Ecker, J.R., 1995. Genetic analysis of ethylene signal transduction in *Arabidopsis thaliana*: Five novel mutant loci integrated into a stress response pathway. *Genetics*, 139, 1393-1409.
- Romanov, G.A., 2002. The phytohormone receptors. *Russian Journal of Plant Physiology*, 49 (4), 552-560.
- Sadıqov, S.T., 2001. *Canlılarda Moleküler Düzenleme Mekanizmaları (Signal Transduction Pathways)*. Erciyes Üniversitesi Yayınları No: 127, 249s. Kayseri.
- Sakai, H., Hua, J., Chen, Q.G., Chang, C., Medrano, L.J., Bleecker, A.B., Meyerowitz, E.M., 1998. *ETR2* is an *ETR1*-like gene involved in ethylene signaling in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 5812-5817.
- Salunke, D.K., Kadam, S.S., 1998. *Handbook of Vegetable Science and Technology (Production, Composition, Storage and Processing)*. Marcel Dekker, INC., 721 p., ABD.

- Santner, A., Estelle, M., 2009. Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature*, 459, 1071-1078.
- Savaldi-Goldstein, S., Fluhr, R., 2000. Signal transduction of ethylene perception. Edit: Hirt, H., H, 167p. Germany.
- Schaller, G.E., Bleecker, A.B., 1995. Ethylene-binding sites generated in yeast expressing the Arabidopsis ETR1 gene. *Science*, 270 (5243), 1809-1811.
- Sisler, E.C., Yang, S.F., 1984. Anti-ethylene effects of cis-2-butene and cyclic olefins. *Phytochemistry*, 23, 2765-2768.
- Solano, R., Stepanova, A., Chao, Q., Ecker, J.R., 1998. Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ethylene-insensitive3 and ethylene-response-factor1. *Genes & Development*, 12, 3703-3714.
- Staelin, L.A., 1997. The plant ER: a dynamic organelle composed of a large number of discrete functional domains. *The Plant Journal*, 11 (6), 1151-1165.
- Stamm, P., Kumar, P.P., 2010. The phytohormone signal network regulating elongation growth during shade avoidance. *Journal of Experimental Botany*, 1-15.
- Stepanova, A.N., Ecker, J.R., 2000. Ethylene Signaling: From mutants to molecules. *Opinion in plant biology*, 3, 353-360.
- Stock, A.M., Robinson, V.L., Goudreau, P.N., 2000. Two-component signal transduction. *Annual Reviews Biochemistry*, 69, 183-215.
- Strommer, J., Gregerson, R., Vayda, M., 1993. Isolation and characterization of plant mRNA. *Methods in plant molecular biology and biotechnology*. Edit: Glick, B.R., Thompson J.E., CRC Press, 49-65p. Boca Raton, Florida.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S., 2008. Özel Sebzeçilik. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Onur Grafik Matbaa ve Reklam Hizmetleri, 488s. Tekirdağ.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2008. Bitki Fizyolojisi (Üçüncü Baskıdan Çeviri). Çeviri Editörü: Türkan, İ., Palme Yayınevi, 720s. Ankara.
- Tan, S.C., 2005. Post-harvest handling of cucumber, lettuce and tomato. *Agriculture Western Australia Farmnote*, 41 (96).
- Tatlioglu, T., 1993. Cucumber. *Genetic improvement of vegetable crops*. Edit.: Kalloo, G., Bergh, B.O., Pergamon Press, 197-238p. Oxford, U.K.

- Teale, W., Paponov, I., Tietz, O., Palme, K., 2005. Phytohormones and signal transduction pathways in plants. <http://www.springerlink.com/content>. Erişim Tarihi: 03.01.2010
- Tena, G., Asai, T., Chiu, W.L., Sheen, J., 2001. Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 392-400.
- Theologis, A., 1993. One rotten apple spoils the whole bushel: the role of ethylene in fruit ripening. *Cell*, 70, 181-184.
- Tieman, D.M., Taylor, M.G., Ciardi, J.A., Klee, H.J., 2000. The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 5663-5668.
- Tieman, D.M., Ciardi, J.A., Taylor, M.G., Klee, H.J., 2001. Members of the tomato *LeEIL* (*EIN3*-like) gene family are functionally redundant and regulate ethylene responses throughout plant development. *Plant Journal*, 26, 47-58.
- Tiryaki, İ., 2004. Hormone signaling pathways in plants: the role of jasmonic acid in plant cell signalling. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28, 291-299.
- Tör, M., 1998. Bitkilerde moleküler konuku-patojen ilişkilerindeki son gelişmeler. *Turkish Journal of Biology*, 22, 271-285.
- Tüzün, C., 1996. Organik Kimya 7. Baskı. Palme Yayın Dağıtım Palme Yayınları:116, 706s. Ankara.
- Vivanco, J.M., Flores, H.E., 2000. Plant growth regulators in agriculture and horticulture. Edit: Basra, A.S., Food Products Press, 1-27p. New York.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ege Üniversitesi Basım Evi, 440s. İzmir.
- Walley, J.W., Coughlan, S., Hudson, M.E., Covington, M.F., Kaspi, R., Banu, G., Harmer, S.L., Dehesh, K., 2007. Mechanical stress induces biotic and abiotic stress responses via a novel cis-element. *Plos Genetics*, 3(10), 1800-1812.
- Wang, K.L.C., Li, H., Ecker, J.R., 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The Plant Cell*, 14, 131-151.
- Wang, W., Hall, A.E., O'Malley, R., Bleecker, A.B., 2003. Canonical histidine kinase activity of the transmitter domain of the ETR1 ethylene receptor from *Arabidopsis* is not required for signal transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (1), 352-357.

- Wang, W., Esch, J.J., Shiu, S.H., Agula, H., Binder, B.M., Chang, C., Patterson, S.E., Bleecker, A.B., 2006. Identification of important regions for ethylene binding and signaling in the transmembrane domain of the ETR1 ethylene receptor of Arabidopsis. *The Plant Cell*, 18, 3429-3442.
- Whitelaw, C.A., Lyssenko, N.N., Chen, L., Zhou, D., Mattoo, A.K., Tucker, M.L., 2002. Delayed abscission and shorter internodes correlate with a reduction in the ethylene receptor LeETR1 transcript in transgenic tomato. *Plant Physiology*, 128, 978-987.
- Yamamoto, S., Suzuki, K., Shinshi, H., 1999. Elicitor-responsive, ethylene-independent activation of GCC box-mediated transcription that is regulated by both protein phosphorylation and dephosphorylation in cultured tobacco cells. *The Plant Journal*, 20 (5), 571-579.
- Yamasaki, S., Fujii, N., Takahashi, H., 2000. The ethylene-regulated expression of *CS-ETR2* and *CS-ERS* genes in cucumber plants and their possible involvement with sex expression in flowers. *Plant Cell Physiology*, 41(5), 608-616.
- Yang, S.F., Hoffman, N. E., 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35, 155-189.
- Yıldız Aktaş, L., Güven, A., 2005. Bitki savunma sistemlerinde hormonal sinyal moleküller ve çapraz iletişimleri. Çankaya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, *Journal of Arts and Sciences*, 3, 1-12.
- Zarembinski, T.I., Theologis, A., 1993. Anaerobiosis and plant growth hormones induce two genes encoding l-aminocyclopropane-I-carboxylate synthase in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Biology of the Cell*, 4, 363-373.
- Zimmermann, H., Walzl, R., 2009. Ethylene. <http://media.wiley.com/product-data/excerpt/55/35273038/3527303855.pdf>. Erişim Tarihi: 02.06.2009

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Halime ÜNLÜ

Doğum Yeri ve Yılı: Oyonnax/Fransa-1979

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: Fransızca, İngilizce



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Isparta Anadolu Lisesi 1994-1997

Lisans: Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü 1997-2001

Yüksek Lisans: S.D.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bit. Anabilim Dalı 2001-2004

Çalıştığı Kurum ve Yıl: S.D.Ü Ziraat Fakültesi 2002-... (Devam ediyor)

Yayımları (SCI ve diğer makaleler)

Padem, H., Özdamar, H., 2002. Sebze Büyüme ve Gelişiminde Fotoreseptörler. Derim Dergisi, 19(2): 2-9.

Ünlü (Özdamar), H., Ertok, R., Padem, H., 2004. Domates Fidesi Üretim Harcında Zeolit Kullanım Olanakları. V. Sebze tarımı Sempozyumu, 21-24 Eylül 2004, 318-320 s., Çanakkale.

Karataş, A., Padem, H., Ünlü, H., Ünlü (Özdamar), H., 2005. "Sera ve Tarla Koşullarında Yetiştirilen Bazı Sırik Domates Çeşitlerinin Verim ve Kalite Özelliklerinin Karşılaştırılması." Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9 (2): 42-49.

Ünlü (Özdamar), H., Padem, H., 2005. Börülce (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Çeşitlerinde Farklı Ekim Zamanlarının Sulu ve Kurak Koşullarda Verim ve Kalite Özelliklerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitü Dergisi, Cilt:9, Sayı:3, 83-91s., Isparta.

- Padem, H., Ünlü (Özdamar), H., Tiryakioğlu, Y., 2005. Domateste Boğma Uygulamasının Verim ve Kalite Özelliklerine Etkisi. Bahçe Dergisi, Cilt:34, Sayı:2, 57-62s., Yalova.
- Karataş, A., Erdoğan, H., Ünlü (Özdamar), H., 2005. Jeotermal Isıtımlı Cam Serada Domates ile Bazı Sebzelerin Birlikte Yetiştiriciliğinin Verim ve Verim Ögelerine Etkileri. Bahçe Dergisi, Cilt:34, Sayı:2, 37-46s., Yalova.
- Karataş, A., Ünlü, H., Ünlü (Özdamar), H., 2006. Isparta Yöresinde Bazı Cruciferae Türlerinin Uygun Yetiştirme Dönemlerinin Belirlenmesi. K.S.Ü. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9 (2): 144-151.
- Ünlü (Özdamar), H., Ünlü, H., Karataş, A., Padem, H., Kitiş, Y. E., 2006. Farklı Renkteki Malçların Domateste Verim Ve Kalite Özelliklerine Etkisi. Alatarım dergisi, 5 (1): 10-14.
- Özdamar Ünlü, H., Ünlü, H., Padem, H., 2006. Isparta ve Yöresinde Yetiştirilen Börülcelerin (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Tohum ve Bitkisel Özelliklerinin Saptanması. VI. Sebze Tarım Sempozyumu, 19-22 Eylül, 281-285s., Kahramanmaraş.
- Karakurt, Y., Özdamar Ünlü, H., Ünlü, H., 2007. Bitkilerde RNAi'nin Çalışma Mekanizması Ve Kullanım Alanları. Alatarım Dergisi, 6 (1): 39-46.
- Ünlü, H., Ünlü Özdamar, H., Daşgan, H. Y., Solmaz, İ., Sarı, N., Kartal, E., Üzen, N., 2008. Effects of Intercropping on Plant Nutrient Uptake in Various Vegetables Species. Asian Journal of Chemistry. Volume: 20, No: 6, 4781-4791.
- Karataş, A., Ünlü, H., Özdamar Ünlü, H., Padem, H., 2009. The Effects of Different Primary Colored Polyethylene (PE) Covers on Yield and Quality Parameters of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Grown in Low Tunnels. Journal of Plant and Environmental Sciences, 1, 46-51.
- Karakurt, Y., Ünlü, H., Ünlü (Özdamar), H., Padem, H., 2009. The Influence of Foliar and Soil Fertilization of Humic Acid on Yield and Quality of Pepper. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science, 59:3, 233-237.
- Unlu, H., Altındal, N., Ozdamar Unlu, H., Altındal, D., Padem, H., 2009. Effect of Salicylic Acid on Salinity Stress in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp).

International Symposium on Sustainable Development, Proceedings Additional Volume, 62-66p., June 9-10 2009, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.

Kılıç, S., Karataş, A., Çavuşoğlu, K., Ünlü, H., Özdamar Ünlü, H., Padem, H., 2010. Effects of Different Light Treatments on the Stomata Movements of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Joker) Seedlings. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(1): 131-135.