



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Selenyumun *Chlorella vulgaris*
rbcL ve *psaB* Genlerinin Ekspresyon Seviyeleri Üzerindeki Etkileri**

Gülru ÖZAKMAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tunç ÇATAL

İSTANBUL-2018



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Selenyumun *Chlorella vulgaris*
rbcL ve *psaB* Genlerinin Ekspresyon Seviyeleri Üzerindeki Etkileri**

Gülru ÖZAKMAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tunç ÇATAL

İSTANBUL-2018



T.C.
ÜSKÜDAR
ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENEL BİLGİLER

Öğrenci No	:	
Öğrenci Adı Soyadı	:	Gülu Özakman
Anabilim Dalı	:	Moleküler Biyoloji
Tez Danışmanı	:	Prof. Dr. Tuna GATAL
Tezin Başlığı	:	Selenyumun <i>Chlorella vulgaris</i> rbcL ve psbA genlerinin ekspresyon seviyelerini üretilen <i>Chlorella</i>

Toplantı Tarihi	:	17.05.2018	Saati	:	14 ⁰⁰
-----------------	---	------------	-------	---	------------------

Öğrenci Savunmaya : Geldi

Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca tez bilimsel olarak incelenmiş, adayın tez çalışmasını sunmasının ardından, adaya tez çalışması ile ilgili sorular yöneltilmiştir.

Yapılan savunma sınavında adayın tez çalışması başarılı bulunarak **KABUL** edilmesine,
 Yapılan savunma sınavı sonunda tez çalışmasının **DÜZELTİLMESİNE**, düzeltme için adaya ay **EK SÜRE** verilmesine (en fazla 3 ay)
 Yapılan savunma sınavının sonunda tezin **REDEDİLMESİNE**
 OY BİRLİĞİ **OY ÇOKLUĞU**
İle karar verilmiştir.

Savunmada Tezin Başlığı : Değişmedi Değişti

Tezin Yeni Başlığı : Değişmedi

Öğrenci Savunmaya : Gelmedi

Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca yukarıda belirtilen tarih ve saatte Tez Savunma Jürisi toplanmış ancak ilgili öğrenci savunma sınavına gelmemiştir. Adayın tez çalışmasını Jüri önünde sunmadığı için yapılan değerlendirmeler sonunda adayın tez çalışmasıyla ilgili aşağıdaki kararı,
 OY BİRLİĞİ İLE REDEDİLMİŞTİR.

Tez Sınavı Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Ergül BERBER	
Danışman Üye	Prof. Dr. Tuna GATAL	
Üye	Prof. Dr. Muhsin KONUK	
Üye		
Üye		

(Tüm durumlarda jüri üyelerinin tez değerlendirme raporları gerekir.)

Sayı No :

Tarih : / / 20

Yukarıda kimlik bilgileri belirtilen ve Anabilim Dalımız Yüksek Lisans Programı öğrencisinin Tez Savunma Sınav Tutanağı ve eklerinin Enstitü Yönetim Kurulunda görüşülmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Not: Bu forma orijinal raporlar (bir nüsha) eklenecektir.

.....
Anabilim Dalı Başkanı
(Unvanı Adı Soyadı İmza)

YEMİN METNİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “ Selenyumun Clorella vulgaris rbcL ve psaB Genlerinin Ekspresyon Seviyeleri Üzerindeki Etkileri “ çalışmamda bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin kaynakça gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yaparak yararlanılmış olduğunu belirtirim.



TEŐEKKÜR

Tezimde çok emeği bulunan ve bana desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Tunç Çatal'a teőekkürlerimi bir borç bilirim.

Bana her zaman yardımcı olan ve desteklerini hep hissettiğim Prof. Dr. Ömer Asım Saçlı Hocama tüm öğrencilik hayatımdaki katkılarından ötürü teőekkür etmek isterim.

Öğrenciliğim sırasında ilgisini ve emeğini eksik etmeyen Prof. Dr. Ergül Berber Hocama teőekkür ederim.

Dr. Öğr. Üy. Emel Serdaroğlu Kaşıkçı ve Dr. Çiğdem Sezer Zhumurov'a katkılarından dolayı teőekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması İstanbul Kalkınma Ajansı (İSTKA) tarafından desteklenmiştir (Proje no. TR10/16/YN/0167).

Mayıs, 2018

Gülru ÖZAKMAN

ÖZET

Bu çalışmada, mikroalg *Chlorella vulgaris* üzerine selenyum etkileri araştırılmıştır. Bristol besiyerinde büyütülen *Chlorella vulgaris*'ten 4 grup oluşturulmuştur: Grup I (kontrol; hiç sodyum selenit (Se) eklenmemiş); grup II, 1 M Se; grup III 10 M Se ve grup IV 100M Se eklenmiştir. Büyütülen *C. vulgaris*'in 21. gününde kültür besiyerinden örnekler alınıp biyokimyasal ve gen ekspresyon ölçümleri için kullanılmıştır. Parametrelerimiz total klorofil ve karoten ölçümü, total protein, total glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyon (LPO) seviyeleridir. İki adet gen üzerinde etkisi RT-PCR (real time PCR) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Bu genlerden biri RubisCo'nun büyük parçası olan (*rbcL*) ve diğeri de fotosistem I P700 klorofil apoprotein *psaB* olmaktadır, *rbcL* genimizde 10 µM GSH uygulamasında gen ekspresyon seviyeleri artarken MDA (malonaldehit) seviyelerinde azalma göstermiştir. 100 µM'lık Se uygulamasında kontrol gruplarımızla karşılaştırdığımızda GSH değeri azalırken MDA seviyelerinde artış saptanmıştır. Sonuçlarımız 10 µM selenyum uygulamasında, *rbcL* geninin ekspresyonunu artırdığını göstermiştir. Bu tez çalışması kapsamında selenyumun *C. vulgaris* üzerinde pro-oksidan ve antioksidan özelliği keşfedilmiş ve *C. vulgaris*'te fotosistem ile ilgili genler üzerine selenyumun etkileri ilk kez gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoteknoloji; *Chlorella vulgaris*; Malonaldehit; *rbcL* gen ekspresyonu; Selenyum

ABSTRACT

In this study, the effects of selenium on microalgae, *Chlorella vulgaris* were examined. Four groups of *Chlorella sp.* were cultivated using Bristol medium; group I (control); no sodium selenite (Se); group II, 1 μM Se, group III, 10 μM Se, and group IV, 100 μM Se. Algal biomass samples were collected for biochemical evaluation and gene expression studies on 2. day of cultivation. The following parameters were investigated; total chlorophyll and carotene content, total protein, total glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels. Gene expression levels of large subunit of Rubisco (*rbcL*), photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A2 (*psaB*) genes were analysed using real time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). 10 μM of Se led to increased GSH levels and decreased MDA levels when compared to control groups, while a significant decrease in GSH and an increase in MDA levels in the presence of 100 μM Se showed opposite effects. Our results suggest both pro-oxidant and antioxidant activities of Se on *Chlorella vulgaris*, and upregulation of *rbcL* gene for the first time.

Keywords: Biotechnology; *Chlorella vulgaris*; Malondialdehyde; *rbcL* Gene expression; Selenium.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
1.1. Selenyum	1
1.2. Biyoteknolojide mikroalgler ve <i>Chlorella vulgaris</i>	2
1.3. Oksidatif Stres	2
1.3.1. Reaktif Oksijen Türleri	2
1.3.2. Süperoksit Dizmutaz	3
1.3.3. Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonu	3
1.3.4. Serbest Radikaller	3
1.3.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	4
1.3.6. <i>rbcL</i> 'nin Katıldığı Reaksiyonlar	6
1.3.7. <i>psaB</i> Geni.	6
1.3.8. Kloroplast Nasıl Etkilenir?	7
1.3.9. Selenyumun Fotosenteze Etkisi.	7
2. MATERYAL VE METOD	9
2.1. <i>Chlorella vulgaris</i> Kültür Koşulları	9
2.2. Hücre Sayımı	9
2.3. Klorofil Ölçümü	9
2.4. Biyokimyasal Analizler	10
2.4.1. Total Protein Tayini	10
2.4.2. Total Glutasyon Tayini	11
2.4.3. Malondialdehit Tayini	12
2.5. Total RNA İzolasyonu ve Ters Transkripsiyon	12
2.6. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu	12
2.7. İstatistiksel Analizler	13
3. SONUÇLAR	14
3.1. Total Klorofil ve Karoten İçeriğindeki Değişim	14
3.2. Total Protein Miktarındaki Değişiklik	14
3.3. Total Malonaldehit Seviyeleri	15
3.4. Total Glutasyon (GSH) Seviyeleri	16
3.5. <i>rbcL</i> 'nin göreceli gen ekspresyon seviyesi	16
3.6. <i>psaB</i> 'mn göreceli gen ekspresyon seviyesi	17
4. TARTIŞMA	19
KAYNAKLAR	21
ÖZGEÇMİŞ	27

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: GSH ölçümü için hazırlanan tüpler11

Tablo 2: *C. vulgaris*'te selenyumun yol açtığı klorofil a, b ve tüm karoten değişikliği..14



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Total protein miktarındaki değişiklik.....	15
Şekil 2: Total MDA seviyeleri.....	15
Şekil 3: Total glutatyon (GSH) seviyeleri.....	16
Şekil 4: rbcL'nin relatif gen ekspresyon seviyesi.....	17
Şekil 5: psaB gen ekspresyonu.....	17



KISALTMALAR

AİDS: Kazanılmış bağışıklık yetmezliği sendromu

Cu: bakır

cDNA: komplementer DNA

DDT: Dikloro-difenil-trikloroetan

DNTB:5,5'-dithio-bis-(2-nitro-benzoic acid)

DMSe: Dimetilselenit

Fe: demir

G3P: Gliseraldehit-3-fosfat

GUS: Glukuronidaz reporter gen sistemi

GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

GSSG-R:Glutasyon redüktaz

GST: Glutasyon-S-transferaz

Hem: Hemoglobin

HIV: İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü

KAT: Katalaz

MDA: Malondialdehit

PCB: Poliklorlu bifeniller

Pb: Kurşun

FS: Fotosistem

psaA: FSI P700 apoprotein A1

psaB: FSI P700 apoprotein A2

ROT: Reaktif oksijen türleri

RT-PCR: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

Se: Selenyum

SOD: Süperoksit dismutaz

T3: Tri-iyodotironin

TAB1 :TGF-beta aktif olan kinaz 1(MAP3K7) bağlanan protein

TAB2: TGF-beta aktif olan kinaz 1(MAP3K7) bağlanan protein TNT: trinitrotolüen

5'UTR: Translasyon olmayan bölge

UV: Ultraviyole ışın

1. GİRİŞ

1.1. Selenyum

Selenyum (Se), element tablosunda VI A grubunda bulunan bir eser elementtir. Yarı iletken olup genelde ametal formunda bulunmaz. Elektrik ve ısıyı geçirir; ışığa maruz kaldığında direncini kaybeder. Kokusu keskin olup -42 C°de sıvılaşır. Tehlikesi hidrojen sülfürden fazladır, ama karakteri gaz kimyasına daha yakındır (Reich ve Hondal, 2016). Selenyum insan sağlığı için gereklidir ve biyolojik sistemlerde önemli rolü bulunmaktadır. Se eksikliği kalp krizi, üreme sorunu ve kansere sebebiyet verebilmektedir. Bağışıklık sistemini harekete geçirir (Papp ve ark., 2007; Rayman, 2012). Selenyumun periyodik cetvelde atom numarası 34, atom ağırlığı 78.94 olup metal olan teluriyum ve metal olmayan sülfür arasında VI grupta yer alır (UKEGVM, 2002). Bu sebepten metal ve metal olmayan elementlerin özelliklerini gösterir. Mikroalgler için olduğu gibi kuşlar, memeliler, bakteriler ve balıklar içinde önemli besin takviyesidir (Ogle ve ark., 2009). İnsan seleno-enziminin bir kısmını yapısal olarak oluşturur. Bu enzimler metabolik yolda bağışıklık sistemi, tiroid hormon metabolizmasında rol oynarlar (Rayman, 1997).

DNA'ya hasar veren radikaller selenyum sayesinde etkisizleştirilebilir. Selenyum viral enfeksiyonlarla da savaşır (Beck ve ark., 2000). Örneğin, AIDS/HIV virüsünün büyüme hızını yavaşlatır. Mide ve bağırsak kanserine karşı bu organlarımızı korur (Kieliszek ve Blazejak, 2016). Selenyum kümes hayvanlarında, deniz mahsüllerinde ve ette bulunup aynı zamanda soğan sarımsak ve kırmızı biberde de görülmektedir (Chun ve ark., 2010). Kemik erimesinde ve ağrılarında, derideki kırışmalarda ve saçlarda oluşan hasarlarda Se eksikliğinin etkileri görülebilir. Se, sülfür içeren amino asitlerle ve vitaminlerle ilişki içerisindedir. Kadmiyum, gümüş, bakır ve arseniğin zehirli etkilerini azalttığı gibi kanda az konsantrasyonlarda kardiyak kaslarını etkilediğinden kalp krizine sebep olabilmektedir (Lofstedt, 1997) Aynı zamanda tiroid hormonu T3 üreten bir enzimin parçasıdır (Wu ve ark., 2015) . Kimyasalların yarattığı kanserden ve UV ışıklarından korur. Özellikle hidrojen selenür kompleksi küçük miktarda selenyum kompleksleri bağırsaktaki mukus membranı, karaciğeri ve akciğerinde iritasyona sebep olabilir (Alderman ve Bergin, 1986). Biyolojik sistemlerde özellikle antioksidasyon ve detoksifikasyon mekanizmalarında önemli fonksiyonu bulunan selenyum ve son yıllarda

biyoteknolojide ele alınan araştırma konularından olan gıda takviyesinde kullanılan mikroalglerle yapılmış çalışmalar sınırlıdır.

1.2. Biyoteknolojide Mikroalgler ve *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris, küresel veya elips morfolojisinde yeşil bir mikroalgdir (Xian Sun, 2014). Klorofile sahip olduğundan fotosentez yapabilmektedirler. Önemli besin değerlerine sahiptirler, çünkü proteinler açısından zengindir ve çeşitli vitaminler içerir ve oksidasyon kapasiteleri yüksektir. Tek hücreli organizmalarda kendi türleri için önem taşımaktadır. Protein, yağ asitleri, enzimler kationitler ve 20'den fazla vitamin ve mineral içerir. Doğal beta karotene sahiptir. %50-60'ı proteindir. *C. vulgaris*, klorofilin doğada bilinen en iyi kaynaklarından biridir. Yüksek miktarda B12 vitamini içermektedir (Fox, 1986). Bu özelliklerinin yanında bir antioksidandır (Tapiero ve ark., 2003). Birçok çalışma göstermektedir ki, *C. vulgaris* ağır metalleri selüloz duvarına yapıştırır (Se, Pb vb.) ve toksik metalleri vücuttan dışarı atarlar (Aksu, 1992). *Chlorella* genusuna dahil mikroalgler ve selenyum ile yapılmış bazı çalışmalar bulunmaktadır.

Chlorella sorokiniana, *Chlorella* genusuna aittir. 100'den fazla suşa sahiptir. Tek hücrelidir (Wu et al., 2001). Hücreleri oval ya da küre biçiminde olup, 5-10 µm'dir. Sertlik önleyen yarı selüloz hücre duvarına sahiptir. *Chlorella sp.* kütle yığılımı açısından organik bağlanmış Se yerine diğer bir kaynak olarak düşünülmektedir. 100 mg/L selenata maruz kalan *C. sorokiniana*, kendini beslenme şekli sonucunda geniş gözelerin hücrelerin bozulmasıyla ölebilmektedir (Gojkovic ve ark., 2013). Se doza bağlı olarak zehirli ya da yararlı olabilir. Mikroalglerin metabolizmasında oksidatif stres ele alınırsa Se 4 ayrı formda bulunur: elemental Se (0), selenit (-2), selenit (+4), selenit (+6) (Beilstein ve Whanger, 1986). Selenyum uygun konsantrasyonda oksidatif stresi azaltarak antioksidan etki gösterebilmektedir.

1.3. Oksidatif Stress

1.3.1. Relatif Oksijen Türleri

Organizmada geçiş metalleri (Fe^{2+} ve Cu^{+} gibi metaller) içermesiyle, moleküler oksijene (O_2) tek elektron transferi ile oksidasyon reaksiyonlar meydana gelir. Moleküler oksijen, doğasının bir sonucu olarak yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturma eğilimindedir (Shinde Ganu ve ark., 2012). Hücrede oluşan ROT'lar, çeşitli

hücrel yapılar zarar verebilmekte ve antioksidasyon savunma sistemleri ile etkisiz hale getirilebilmektedir.

1.3.2. Süperoksit Dizmutaz

Süperoksit dizmutaz hücrelerde antioksidan savunmada rol oynayan başlıca enzimlerden biridir. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dizmutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar (Dawn ve ark., 1996). Bu reaksiyon radikal olmayan ürünler meydana gelmesi sebebiyle dizmutasyon reaksiyonudur, kendiliğinden gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dizmutasyon, pH 4.8'de en hızlıdır (Dawn ve ark., 1996). Enzimatik dizmutasyon ise spontan oluşana oranla daha yavaştır. Burada nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir. Süperoksit dizmutaz, süperoksit antioksidan enzim olup serbest radikalının hidrojen peroksite ve moleküler oksijene katalize eder. SOD'un görevi, oksijeni metabolize eden hücreleri, oksijeni süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. Aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda daha fazladır.

1.3.3. Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonları

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde ROT kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonunda O_2 'nin varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH\cdot$) oluşturur. Süperoksit radikalının lipid çözünürlüğü sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid çözülebilir. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe^{2+} içeren membranlarda hasar oluşturabilir (Dawn ve ark., 1996).

1.3.4. Serbest Radikaller

Hücrelerde ROT artışı ve oluşumu, enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı, ozon ve azot dioksit, kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi uyarıcılarla sağlanır. Serbest radikaller hücreler lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim vs. molekülleri üzerine etkilidir. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali sayesinde sitoplazma, mitokondri, çekirdek ve endoplazmik retikulum (ER)

zarlarında lipit peroksidasyonu başlar (Burtis ve Ashwood, 1999). Zarlarda lipit peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu zar geçirgenliği artar. Serbest radikaller yoluyla proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleus ve mitokondri DNA'sı okside olur. SOD, böylece hücre hasarına yol açar. Hücrede ROT ve serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığa sebep olduğu düşünülmektedir. Bronşit/anfizem, Parkinson hastalığı, alkolik karaciğer hastalığı, Down sendromu, yaşlanma gibi durumlar örnek olarak verilebilir (Halliwell, 1994).

Serbest radikaller kolestrol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile kolayca reaksiyona girerler ve bunun sonucu peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Biyolojik materyallerde, malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipit peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Proteinler serbest radikallere karşı doymamış yağ asitlere göre daha hassastırlar. Bu da aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren histidin, fenilalanin, gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerce kolayca etkilenirler. Sonuçta özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Bu değişim hassasiyete yol açar. Enzim ve reseptör proteinlerin fonksiyonlarını bozar (Reznick, 1992). İyonize edici radyasyon sonucunda oluşan serbest radikaller DNA'yı etkiler. Hücrede mutasyon ve ölüm sebebidir. Hidroksil radikalleri, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂ membranlardan geçebilir ve hücre nükleusuna ulaşarak DNA hasarına, hücrede işlem kaybına ve hücre ölümüne yol açabilir (Honwood ve Epe, 1993).

1.3.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki eder:

- 1) Serbest oksijen radikallerini etkiler, tutar veya daha zayıf yeni moleküle çevirir. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu etkileri gösterirler.
- 2) Antioksidan, serbest oksijen radikalleriyle etkileşir. Onlara bir hidrojen ekleyerek aktivitelerini azaltır veya inaktif şekle dönüştüren etkidir. Vitaminler örnek olarak verilebilir.
- 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayabilirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu etkiyi gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdıkları hasarın onarılması etkilerine sahip olabilirler.

Antioksidanlar, endojen ya da eksojen kaynaklı olabilmektedir. Enzim olanlar: SOD, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferaz(GST), KAT, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz. Enzim olmayanlar: melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyogloblin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, albümin olabilir. Eksojen antioksidanlara ise vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları örnek olarak verilebilir.

Antioksidan özelliği de bulunan selenyum yığılması büyümeyi ve fotosentezi azaltabilirken hücre yapısına da zarar verebilir. Mikroalgler, genelde yüksek metabolitler ve fazla doymamış yağ asitleri, pigmentler, antioksidanlar içerdiği için hayvan yemi veya gıda takviyesi olarak kullanılır (Becker, 2007; Pulz ve ark., 2004; Spolaore ve ark., 2006; Becker, 2007; Stengel ve ark., 2011). Klorofita, mikroskopik ökaryot yosunlar ve makroskopik formlar olarak sıvısal fotosentetik organizmanın büyük bir bölümünü kapsar. Karakteristikleri klorofil a ve b, çift zarlı membranı olan kloroplast, polisakkarit saklama olarak, plastidin içinde tilakoyit ve nişasta depoları olarak kullanılır (Tomasseli, 2005). Yeşil yosunların sınıflara ayrılması morfolojik, ince yapısal ya da moleküler karakterlerine dayanır (Tomasseli, 2005). Moleküler sınıflandırma ribozomal DNA, kloroplast ve ribosomal genler gibi molekül işaretliyecilerin tür evrimi analizine dayanır (Pröschold ve Liaertld, 2007; Rodriguez ve Salinas, 2012). En önemli ökaryotik mikro-yosun türleri *Chlorophyceae* ve *Trebouxiophyceae*'ye aittir. Tek bir tip hücre bölümesi tipi gösteren, tomurcuklanma sayesinde birleşmiş tek hücreli yosunlar, gıdalarda çoğunlukla olan ve gıda takviyesi olarak da hayvan yemlerinde de en sık kullanılan selenyumun formu selenometiyonin (SeMet)'dir. Selenitten ve selenit tuzlarından daha etkilidir (Gojkovic ve ark., 2013). Mikroalg biyokütle, biyoaktif Se- amino asitler biyolojide taşıyıcı olarak kullanılır. Sitozolde bulunur ve 4 selenyum atomu içeren tetramerik bir yapıdadır.

GSH-Px, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Fosfolipit hidroperoksit GSH-Px monomerik yapıdadır ve asıl görevi membrane fosfolipit hidroperoksitlerini akollere indirgemektir. GSH-Px, zara bağlı en önemli antioksidan vitamin E yetersizken, hücre membranını peroksidayonuna karşı korur. GSH-Px, alkole

indirgenme sonucu oluşur ve okside glutatyonun GSH'a dönüşümünü katalize eder. Diğer önemli enzimlerden olan katalaz, hidrojen peroksidi suya ve oksijene ayırır.

1.3.6. *rbcL* geni

rbcL geni filogenetik ilişkiler için değerli bir araçtır. Bu gen, genellikle fotosentez yapan organizmaların kloroplastlarında bulunur (Freeman ve ark., 2010). Bu gen, fotosentetik organizmalarda önemli bir faktördür ve de genetik benzerlik veya farklılıkları gösterir. Ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksigenaz'ın büyük alt birimini kodlar (Geilly ve ark.,1994). RubisCo karbon fikslemede karboksilasyonu katalize eder. 3-fosfogliserrattan 2 molekül oluşur ve bu moleküller ATP tarafından fosforile edilip, NADPH tarafından da indirgenir ve bunlarla gliseraldehit-3-fosfat oluşur. Bunlardan bazıları glukoz ve fruktoz üretirler. Kalanı ise RuBP'nin yenilenmesinde kullanılan reaksiyonda substrat olarak görev alır (Freeman ve ark., 2010).

Kloroplast, DNA'nın mutasyonel etkin noktasındaki *rbcL*'ye yakın kodlamayan noktada gen dönüşümünden sorumlu olan RubisCo, aynı zamanda O₂'nin RuBP'ye katılmasını katalize eder. Eğer yeteri kadar O₂ ve CO₂ varsa, CO₂ akışı indirgenir. RuBP'nin O₂ ile reaksiyona girmesi fotorespirasyonda sona erer. Bu da ATP alışverişine göre fotosentez oranını düşürür (Harris ve ark.; 1983). Aynı zamanda, CO₂, genelde karbon sabitlemek için üretilir (Freeman ve ark., 2010). Atmosferdeki denge değişir ve fotosentez devam eder. Fotosentez yapan organizma bu yeteneğini kaybetmez. Bu da bize *rbcL* genini kullanarak genin değişebildiğini gösterir. *rbcL* (ribuloz bifosfat karboksilaz uzun zincir), RuBisCo şu reaksiyonu katalize eder: D-ribuloz 1,5-bifosfat, karbon dioksit sabitleşiminde fotorespirasyondaki pentozu oksidatif parçalanmasında rol oynar (Ye ve ark., 2017).

1.3.7. *psaB* Geni

psaB geni proteini, FSI P700 klorofil apoprotein A2'dir (Stampacchia, 1997). *Chlamydomonas reinhardtii* (*Chlamydomonas smithii*) organizmasında tanımlanmıştır (Stampacchia, 1997). *psaB* P700, FSI'in ilk elektron vericisidir. *Chlamydomonas*, *psaB* geninin kayma mutasyonuna sahiptir ve fotosentetik taşıyıcıları seçer (Bock ve ark., 1993).

1.3.8. Kloroplast Nasıl Etkilenir?

Selenyuma maruz kalan hücrede kloroplast en fazla etkilenen organeldir ve zarar derecesi selenyumun miktarına bağlıdır (Brown ve ark., 2001; Morlon ve ark., 2005; Geoffroy ve ark., 2007; Vitova ve ark., 2011; Reunova ve ark., 2007). 50 mg/L selenite maruz kalan *S. quadricauda*'nın fazla yapısal zarar gözlenmiştir. 100 mg/L selenite maruz kalırsa kloroplastın sararması, hücrenin kötü bir forma sahip olması ve normal olmayan morfolojiye sahip olması ile sonuçlanır (Vitova ve ark., 2004). *Sorokiniana*'ya, 40 ve 100 mg/L selenat ilave edildiğinde, tilakoyitlerde parmak izi görünümü ve tilakoyitlere yakın olan, plastoglobül (strese cevap vermede rol alan lipoprotein) sahip daha az sıkı stroma yapısı gözlenmiştir (Steinmüller ve ark., 1985; Cuaresma-Franco ve ark., 2012). Fazla fosfor ve selenat verilen *C. reinhardtii*'de de selenyum içeren gözelerin, hücre detoksuna yardımcı olduğu düşünülmüş, ancak elemental selenyum azaltma kabiliyeti siyanobakteride hala belirlenmiş değildir (Geoffroy ve ark., 2007).

1.3.9. Selenyumun Fotosenteze Etkisi

Selenyumun fotosenteze etkisi için FSII'nin fotokimyasal performansı incelenebilir (Lüttge, 1994). FSII ve FSI'deki fotosentetik elektron transferi, azdan çok redoks potansiyeline giden elektron transfer reaksiyonlarına sahip olan elektron taşıyıcı zinciri ile meydana gelir (Masojidek ve ark., 2005). FSII'deki elektron alıcısı ışığın darbesi ile azalır, uyarılan enerji, anten klorofilleri tarafından emilir. FS'nin reaksiyon merkezine transferi yerine floresan ya da ısı şeklinde yayılabilir (Schreiber ve Klughammer, 2008).

Sıvı ortamlarda çoğunlukla suda çözülebilen selenit (Se VI) formunda bulunur ve algler için önemlidir (Martens, 2004; Bock, 2011). Selenyum yolağı 2 yol olarak düşünülür: (1) Yüksek bitkilerde Se metabolizması mikroalginkine analogdur. (2) Sülfür metabolik yolağına benzerliğiyle mikroalg aminoasit ve proteindeki ile birleştirilmiştir (Bottino ve ark., 1984). Selenit değişik mekanizmalar ile alınır; bunlar mikroalg kültürlerinin ne kadar zehirli olduğuna bağlıdır (Umysova ve ark., 2009). İki selenit alma mekanizması vardır: selenit yüksek yapısal benzerlik dolayısı ile ATP'ye bağlı aktif transport olayı ve az yapısal benzerlik dolayısı ile selenit için pasif transport olayı. Bitkilerde de selenat ve sülfat kök epidermal plazma zarı etrafından dolaşp, kökteki taşıyıcı ile yüksek benzerlik sayesinde köke alış gerçekleşir. Tam tersi kök ve yapraklarda az benzerlik dolayısıyla, sülfat/selenat topraktan köke alınır (Sors ve ark., 2005). Alım

çeşidine bağlı olarak selenat ve sülfat aynı metabolik yoldan geçer (Fournier ve ark., 2010; Neumann ve ark., 2003).

FSII sistemi, zarın yığına yerleşmiştir ve tülakiotleri sıkı tutan LHCII ile birleşiktir (Nelson ve Cox, 2008). Ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz en önemli proteinlerden biridir. 3-fosfogliseratı sunan ribuloz-1,5-bifosfat veya aynı molekülü 3-fosfogliserat ve 2-fosfoglikalat oksijene eder. 16 proteinden oluşur: sekizi büyük alt parçalar diğer sekizi ise küçük alt parçalar (Ökaryotlarda, büyük alt birimler için olan genler kloroplast genomunda ve küçük alt birimler için olan genler ise nukleusta bulunmaktadır. Fotosentetik prokaryotlarda her iki alt birimde genler beraberdır (Gatenby ve Ellis, 1990). Ökaryotik içerik, küçük alt birim için olan genin nukleusa yerleşmesinin evrimin en erken safhalarında olduğunu gösterir.

Bu çalışmada bir mikroalg türü olan *Chlorella vulgaris*, çeşitli selenyum konsantrasyonlarının etkilerini analiz etmek için kullanılmıştır. *C. vulgaris*'de toplam klorofil (Cl_a ve Cl_b), toplam karotenoidler, total protein, total GSH, total malondialdehid (MDA) düzeyleri ölçülmüştür. *C. vulgaris*'de *rbcL* ve *psaB* genlerinin ekspresyon seviyeleri, ilk kez gerçek zamanlı PCR kullanılarak farklı selenyum konsantrasyonlarının varlığında karşılaştırılmıştır.

2. MATERYAL ve METOD

2.1. *Chlorella vulgaris*'in Kültür Koşulları

C. vulgaris the University of Texas at Austin Alg Kültür Koleksiyonundan (UTEX) temin edilmiştir (UTEX No. 26, Teksas, ABD) ve Bristol agar ortamında büyütülmüştür.

Stok solüsyonlar: NaNO₃ (25g/L), CaCl₂.2H₂O (2,5 g/L), MgSO₄.7H₂O (7,5 g/L), K₂HPO₄ (17,5 g/L), NaCl (2,5 g/L). Her solüsyondan 10 mL alınıp 940 mL saf su ilave edilmiştir ve son olarak 1 g/L pepton eklenmiştir. % 1.5 agar katılaştırma için kullanılmıştır. Bristol ortamı 121 C°'de 15 dakika otoklavlanmıştır. *C. vulgaris* kültürleri öze kullanılarak petrilere ekilmiştir. Kültürler sürekli ışık altında 25 C°'de aydınlatılmaya bırakılmıştır. 60 mL Bristol içeren 100 mL'lik şişerlere aktif kültürler büyüme için transfer edilmiştir. Sodyum selenit eklenip 4 deney grubu hazırlanmıştır: 0 µM, 1 µM, 10 µM, 100 µM sodyum selenitli çözeltiler yosunun aynı miktarı 60 mL ortam içeren kültür şişelerine aşılanmıştır. *C. vulgaris* 21 gün süre ile 185 rpm'de 25C°'de ışık altında inkübatörde (Thermo Scientific, Q4000-04, ABD) büyümeye bırakılmıştır. Kontaminasyonu engellemek için deneyin her aşamasında aseptik teknik uygulanmıştır. 21. günde biyokimyasal ve gen ekspresyon analizleri için kültürlerden örnek alınmıştır.

2.2. Hücre Sayımı

0 µM, 1 µM, 10 µM and 100 µM selenyum varlığında büyütülen *C. vulgaris*'ten alınan örnekler hemositometrede mikroskop altında sayılmıştır. Hücreler 5 karede sayılmış ve şu formül ile hesaplanmıştır: total hücre/mL=total sayılan hücre x seyreltme faktörü / kare sayısı x 10.000 hücre/mL.

2.3. Klorofil Ölçümü

Her deney grubundan 1 mL alınarak, hücreler 4000 rpm'de 5 dakika için klorofil içeriğini ölçmek amacıyla santrifüj edilmiştir. Sıvı üstünde kalan kısım atılıp kalan pelete 2 mL metanol eklenmiştir. Karışım 10.000 rpm'de 1 dakika homojenizatörde homojen olana kadar karıştırılmıştır. Sıvı üstüne kalan kısım soğurganlık tüplerine yerleştirilmiştir. Metanol saf ölçüm için kullanılmıştır. 666 nm, 653 nm ve 470 nm'de absorbansları

ölçülmüştür. Bu derecelerdeki ölçümlerden pigment hesapları şu formüllere göre hesaplanmıştır (Aydınoğlu, 2014; Dere et al.1998).

$$K_a=15,65A_{666}-7,340A_{653} \quad K_b=27,05A_{653}-11,21A_{666}$$

$$K_{x+C}=1000A_{470}-2,860K_{K}-129,2 \quad K_b/245$$

2.4. Biyokimyasal Analizler

2.4.1. Total Protein Tayini

Total protein konsantrasyonu Lowry Metoduna (1951) göre Folin indikatörü (Sigma, F-5292) ile ölçülmüştür (Lowry ve ark., 1951). Sığır serum albumin (Sigma) standart olarak kullanılmıştır, Alkali ortamda indirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan tirozin, triptofan ve sistein aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 660 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Solüsyon A: 4 mg/mL NaOH ve 20 mg/mL Na₂CO₃ saf suya eklenir. 2 g NaOH ve 10 g Na₂CO₃ 400 mL saf suya eklenir ve tamamen çözülene kadar karıştırıcı ile karıştırılır ve hacim 500 mL’ye tamamlanır.

Solüsyon B: 10 mg/mL potasyum sodyum tartarat ve 5 mg/mL CuSO₄suda çözülür. 100 mg potasyum sodyum tartarat ve 50 mg kurik sülfat 8 mL suya, plastik falkon tüpünde tamamlanır. Tamamen çözülmüncüye kadar karıştırılır ve hacim 10 mL’ye tamamlanır. Solüsyon A ve B karıştırılır ve 4 C°de saklanır. Hazırlanan Lowry solüsyonu 6 aya kadar kullanılabilir.

Örnekler cam tüpe konulup hacim 200 µL’ye tamamlanmıştır. Her tüpe 1 mL Lowry solüsyonundan eklenip vortekslendikten sonra 15 dakika bekletilmiştir. Vortekslerken her tüpe 100 µL Folin Fenol eklenmiş ve 30 dakika bekletilip, 660 nm’de ölçülmüştür.

2.4.2. Total Glutasyon Tayini

GSH ölçülürken Elman indikatörü kullanılmıştır. Thermo Scientific Pierce Ellman's Reagent (DTNB) sülfühidril gruplarla renkli bir ürün vermek için kullanılır. Solüsyondaki azalan sistein ve diğer serbest sülfihidrilleri ölçmeyi engeller. Glutasyon standardı (Merck) çalışmada kullanılmıştır. Glutasyon tayini Beutler (1975) metoduna göre yapılmıştır. 0.02 g; 0.003 g; 0.04 g; 0.05 g; 1 g; 1.5 gram ölçülmüş ve az miktarda dH₂O ile çözülüp hacim 50 mL'ye tamamlanmıştır. Proteinşizleştirme çözeltisi ilave edilip vortekslenmiş ve daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 1 mL alg tüpe damlatılıp 5000 rpm'de 20 dakika karıştırılmıştır. Üstte kalan sıvı atılmış. 2 mL metanol pelete eklenip karıştırılmış ve 10 dakika santrifüj edilmiştir.

1. Sodyum sitrat solüsyonu (%1 g): 1 g sodyum sitrat ölçülür, saf suda çözülür daha sonra 100 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır.

2. Ellman solüsyonu: 40 mg DNTP (5-5 ditiyobis 1-2 nitrobenzoik asit) sodyum sitrat solüsyonunda çözülmüş ve sodyum sitrat solüsyonu ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3. Proteinşizleştirme çözeltisi: 1.67 g metaphosforik asit, etilendiamin tetra asetik asidin 2 g sodyum tuzu and 30 g sodyum klorür saf suda çözülmüş ve 100 mL'ye tamamlanmıştır.

4. Sekonder sodyum fosfat solüsyonu: 4.26 g sodyum fosfat az miktarda saf suda çözülmüş ve hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır (Beutler 1975).

Tablo 1: GSH ölçümü için hazırlanan tüpler

	Kör	Örnek
Üstte kalan sıvı	-	500 µL
Saf su	500 µL	-
Na ₂ HPO ₄	-	1 mL
Ellman solüsyonu	-	250 µL

Kör olarak saf su kullanılmış ve soğurganlık 412 nm'de ölçülmüştür.

DTNB serbest bir sülfihifril grubuyla, bir disülfid karışımını ve 2-nitro-5 tiyobenzoik asidini (TNB) ürün verebilmek için reaksiyona girer. Hedefi ise serbest sülfühidril grubun R-S-, birleşmiş bazıdır.

Reaksiyon oranı değişik faktörlere bağlıdır:

(1) Reaksiyonun pH'sı sülfhidrilin pKa'sı

(2) elektrosatik ve sterik etkiler. DTNB, bu reaksiyonun ürettiği renkli türdür.

2.4.3. Total Malondialdehit Tayini

Malondialdehit (MDA), bir lipid peroksidasyon (LPO) ürünüdür ve 1,1,3,3-Tetraetoksipropan (Sigma) standart alınarak kullanılmıştır. Çalışmada Ledwozyw (1986) metodu uygulanmıştır. Standart konsantrasyon aralıkları 1 nmol/mL, 2.5 nmol/mL, 5 nmol/mL, 10 nmol/mL, 25 nmol/mL ve 50 nmol/mL olarak hazırlanmıştır. Soğurgenlıkta ölçüm, saf su ile 532 nm'de ölçülür.

4000 rpm'de 10 dakika santrifuj edilir. Üstte kalan sıvı kısım atılır. Alltaki yoğunluk 1.8 mL tiyobarbitürik asit ve trikloroasetik asitle karıştırılır. 95-100 C°'de 10 dakika inkübe edilmiş ve soğumaya bırakılmıştır. 4000 rpm'de 10 dakika tekrar santrifuj edilmiş ve absorbans 532 nm'de ölçülmüştür.

2.5. Total RNA İzolasyonu ve Ters Transkripsiyon

Total RNA, göre gen ekspresyonu çalışması için ticari bir kit (Zymo Research, Quick-RNA MiniPrep, CA, ABD) kullanılarak protokolüne izole edilmiştir. RNA konsantrasyonları bir spektrofotometre (Thermo Scientific, ABD) kullanılarak ölçülmüş ve 260/280 nm soğurgenlık oranına dayanılarak hesaplanmıştır (Qian ve ark., 2008). cDNA sentezlemek için RNA ekstraktları kullanılmıştır. cDNA mastermix (Roche) 8 µL tampon, 2 µL ters transkriptaz ve 10 µL DNaz / RNaz serbest su içermiştir. Şu program ısı döngü (termal cycler)'de (BIO-RAD, T100 Termik Döngüleyici) kurulmuştur: 25 °C'de 10 dakika (primer tavlama), 42 °C'de 15 dakika (ters transkripsiyon), 85 °C'de 5 dakika boyunca (inaktivasyon). Şu karışım, toplam RNA (10 uL) için hazırlanmıştır: 5x TransAmp tamponu (4 uL), ters transkriptaz (1 µL) ve DNaz / RNaz serbest su (5 µL). Reaksiyon ürünleri, gerçek zamanlı PCR analizi oluncaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

2.6. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Ters transkripsiyon (RT), bir RT-PCR (Roche Light Cycler, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı reaksiyon koşulları altında seçilen genlerin gerçek zamanlı

polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizini kolaylaştırmak için primerler Medsantek (İstanbul, Türkiye) firmasında temin edilmiştir. Çalışmada aşağıdaki primerler kullanılmıştır:

18SrRNA(ileri) 5'-TTGACGGAAGGGCACCA-3 (ters) 5'-
CACCACCCATAGAATCAAGAAAGAG-3' için. RbcL (ileri) 5-
CTTGGACGACTGTATGGACT(ters) 5

5'-ATACCGTGAGGAGGACCTTG-3' (Qian ve ark., 2008).

18SrRNA transkripti, mRNA ve cDNA'nın miktar ve kalitesindeki değişimleri ortadan kaldırarak sonuçları normalleştirmek için kullanılmıştır. Her mRNA seviyesi kendisinin 18SrRNA'ya oranı olarak ifade edilmiştir. 6 µL SYBR, Mg içermeyen 12 µL tampon, 9.6 µL MgC12, 2.4 µL DNTP, 51 µL H2O, 3 µL Taq, 3 µL R-Primer ve 3 µL Primer R, 15 µL içeren Mastermix RbcL- (6x), 5 µL'ye bölünmüştür ve RT-PCR başlatılmıştır. Döngü parametreleri, 95 °C'de 10 saniye ve ardından 95 °C'de 5 saniye sonra 40°C'de ve 60 °C'de 31 saniyedir. Veriler, her uzatma adımının sonunda toplanmış. Kontrol ve deney grupları arasındaki gen ekspresyonlarının miktarları 2-ΔΔCT yöntemi ile analiz edilmiştir (Livak ve Schmittgen 2011).

2.7. İstatistiksel Analizler

Tüm deneyler üçer defa tekrar edilmiştir. Veriler tüm grafiklerde ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir. Tüm sonuç grupları, tek yönlü ANOVA varyans analizi, ardından IBM için Sosyal İstatistik Paketi (SPSS) (sürüm 24) kullanılarak grupların karşılaştırılması için bağımsız örneklem t-testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar p<0.05 düzeyinde anlamlı kabul edilmiştir.

3. SONUÇLAR

3.1. Total Klorofil ve Karoten İçeriğindeki Değişim

Tablo 2, *C. vulgaris* selenyumun yol açtığı klorofil a, b ve tüm karoten değişikliğini göstermektedir. Total K_a ve karoten üretimi selenyum arttıkça azalma göstermektedir. K_a ve karoten üretimi grup IV'te (0,9 µg/gfw) azalırken, konsantrasyonları kontrol grubuna ve grup I deneyine (2.4 ve 2.3 µg/gfw) benzerlik göstermektedir. K_b miktarı (1.5 µg/gfw) ise yüksek selenyum konsantrasyonlarında (100 µM) artma göstermektedir; özellikle kontrol (1.2 µg/gfw) ve az selenyum miktarına maruz kalan gruplarla karşılaştırıldığında. Sonuçlar bize, selenyumun karoten ve K_a üretimini olumsuz etkilediğini ve K_b 'de ise varlığının üretimi arttırmakta olduğunu göstermiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (P>0.05).

Tablo 2: *C. vulgaris*'te selenyumun yol açtığı klorofil a, b ve tüm karoten değişikliği. K_a: Klorofil a; K_b :Klorofil grup1: hiç selenyum eklenmemiş; grup2: 1µM selenyum eklenmiş; grup3: 10µM selenyum eklenmiş; grup4: 100 µM selenyum eklenmiş

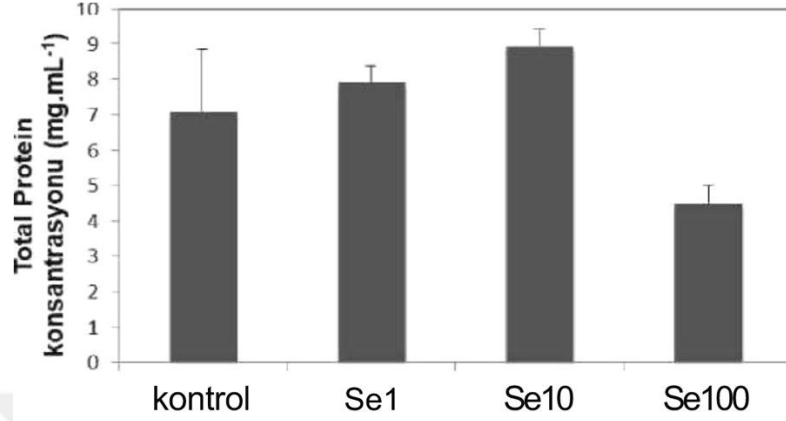
Gruplar	K _a	K _b	Karoten
1 (Se 0 uM)	1.88±0.46	1.22±0.23	0.98±0.31
2 (Se 1 uM)	1.96±0.31	1.49±0.13	0.86±0.14
3 (Se 10 uM)	1.97±0.43	1.22±0.22	0.84±0.11
4(Se 100 uM)	1.45±0.53	1.35±0.16	0.57±0.17

3.2. Total Protein Miktarındaki Değişiklikler

1 µM ve 10 µM konsantrasyonda selenyum içeren gruplarda (6.8±0.5 mg/mL ve 7.9±0.01 mg/mL) protein içeriği artmakta olup 100 µM selenyumla muamele edilende ise miktarda kontrol grubuna (5.6±0.1 mg/mL) oranla bir azalma (5.0±0.02 mg (mL) saptanmıştır. (Şekil 1)

Sonuçlarımız, 10 μ M selenyumla muamele edilmiş deneye kadar totaldeki protein üretiminin arttığını, 100 μ M'da ise bir azalma olduğunu göstermiştir.

Şekil 1: Total protein miktarındaki değişiklik.

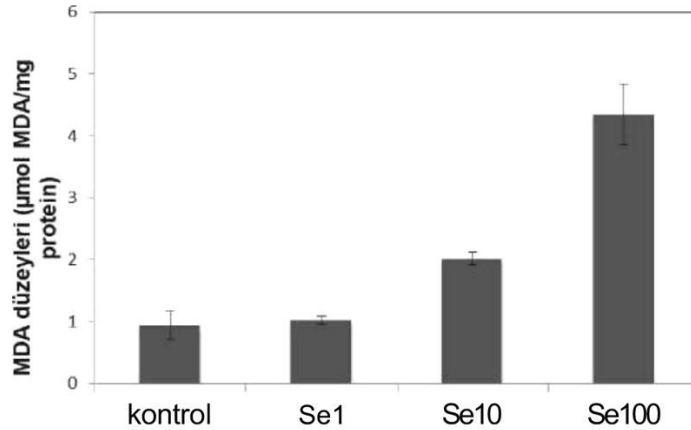


10M Se: 10 M selenyum eklenmiş. Se100: 100M Selenyum eklenmiş

3.3. Total Malonaldehit Seviyeleri

MDA seviyelerinin selenyumla muamele edilmekle etkilendiğini göstermektedir. 1,9 μ mol/mL MDA grup 4'teki örneklerde gözlemlenirken, 1 μ M selenyum ile muamele edilende kontrol grubuyla karşılaş tındığında (1,4 μ mol/mL) MDA seviyelerinde bir azalma gözlemlenmektedir. MDA seviyeleri 10 μ M selenyum ile muamele edilen örneğe kadar azdır. Sonuçlar, artan selenyum konsantrasyonlarının oksidatif strese sebep olduğunu gösterirken, az lipit peroksidasyonun ise az selenyum konsantrasyonlarının sebep olduğunu göstermektedir.

Şekil 2: Total MDA seviyeleri.

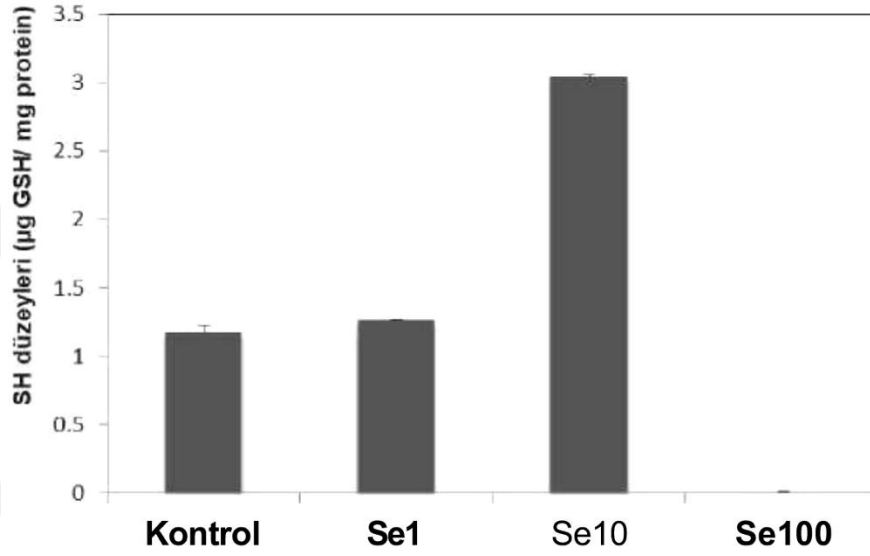


10M Se: 10 M selenyum eklenmiş. Se100: 100M Selenyum eklenmiş

3.4. Total Glutasyon (GSH) Seviyeleri

Grup II (22,5 µg/mL) 'de ve grup III'de (42,7 µg/mL) kontrol biyokütle örneklerinde bulunan düşük GSH seviyeleri ile karşılaştırıldığında artmıştır. Diğer taraftan ise 100 µM selenyum konsantrasyonunda tüketildiği görülmektedir. GSH sonuçlarımız 10 µM selenyum ile muamele edilen deneyimizde *C. vulgaris* 'in antioksidan kapasitesinin iyileştirilmiş olduğunu göstermiştir.

Şekil 3: Total glutasyon (GSH) seviyeleri.

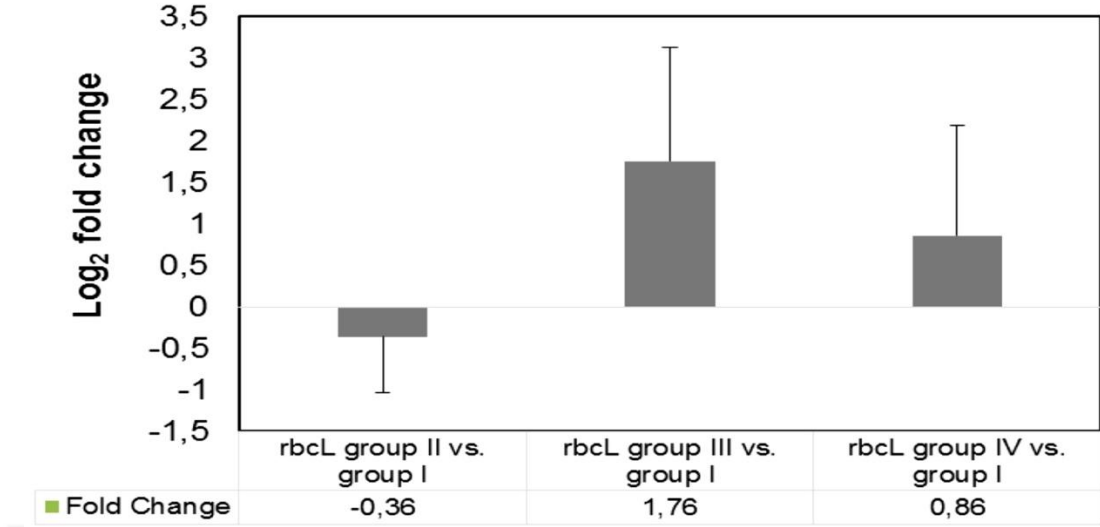


10M Se: 10 M selenyum eklenmiş. Se100: 100M Selenyum eklenmiş

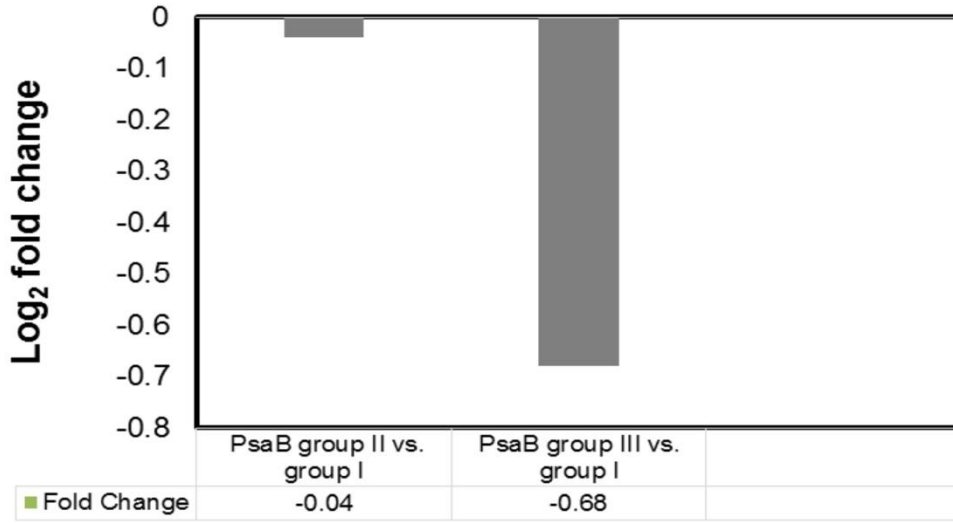
3.5. *rbcL* 'nin gen ekspresiyon seviyesi

RNA izolasyonunu ve cDNA sentezini takiben, nicelikli PCR analizi selenyum etkisine bağlı oksidatif strese cevabını değerlendirmek için RubisCo'mm büyük alt biriminin gen ekspresyon seviyesini belirlemek için kullanılmıştır. Şekil 4 *rbcL* 'nin relatif gen ekspresyon seviyelerini göstermektedir. Bu seviye sırasıyla 10 µM'de 1,76 kere ve 100 µM'de 0,86 kere artmıştır. Diğer taraftan, az selenyum muamesinde ise 0,36 kere azalma görülmektedir. *rbcL* gen ekspresyon sonuçları selenyum ile muamlenin RuBisCo geninin fazla regülasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir.

Şekil 4: *rbcL*'nin relatif gen ekspresyon seviyesi.



Şekil 5: *psaB* gen ekspresyonu.



3.6. *psaB*: Fotosistem I P700 Klorofil apoprotein A2

Sonuçlarımız *psaB* gen ekspresyonunda selenyumun 1 μM 'lık konsantrasyonunda 0.04 azalma gösterdiğini 10 μM 'da ise 0.68'lik bir azalmanın olduğunu göstermiştir. Bu rakamlardan tahminen varacağımız sonuç, selenyum arttıkça *psaB* geninin regülasyonunun her eklemede azaldığı gözlenmektedir. Özellikle konsantrasyon arttıkça hızlı bir düşüş görülmektedir.

Daha önce belirtildiği üzere, Se düşük konsantrasyonlarda bir antioksidan olarak rol oynar. Kontrol grubunda GSH-Px aktivitelerinde 3. güne kadar doğru orantılı yükselme bulunmuştur. Aynı şekilde KAT'de de 75 mg/L 'e kadar durum aynıdır. SOD ise tam tersi olarak azalma göstermiştir. Kontrole baktığımızda SOD aktivitesi 4. güne kadar azalma; daha sonra yükselme gösterir. Gene ROT ve MDA miktarları 25-75 mg/L' de azalma gösterir. Se miktarı arttıkça bu miktarlarda artış görülür. Baştan sonuncu güne kadar LPO doğrusu yükselmiştir.



4. TARTIŞMA

Selenyum çoğu organizma için gıda kaynağıdır ve insan sağlığı için de önemli bir elementtir. Bu elementin kanıtlanmış biyolojik alınımlarını sadece insanlar için değil, hayvan yetiştiriciliğinde de önemli rol oynamasını sağlamaktadır (Hofmann, 1960). Bu da onu selenyum biyobirikimi (bir maddenin organizmanın değişik dokularında; örneğin toksik kimyasallara karşı birikimi) için iyi bir aday yapmaktadır. Selenoproteinler, glutatyon peroksidaz gibi enzimler içermektedir. Çalışmamızdaki amaç, mikroalg büyümesine değişik konsantrasyonlarda selenyum etkisini araştırmak olmuştur. Düşük konsantrasyonların *C. vulgaris*'in büyümesini arttırdığı fakat yüksek konsantrasyonlarda lipid peroksidasyonunu arttırdığı saptanmıştır. Başka bir çalışmada, glutatyon peroksidaz aktivitesinde selenyumun toksik etkisi, *Scenedesmus quadricauda* türlerinde gösterilmiştir (Geoffroy, 2007). Selenyumla muamele sonrasında glutatyon peroksidaz aktivitesi az miktarda artmış, daha sonrasında ise azalmıştır. Selenyuma maruz kalan hücrelerin kloroplastında fiziksel değişimler gözlenmiştir (Vitova ve ark., 2011). Kloroplastta bozulmaya sebep olmaya ek olarak ekstra nişasta üretimi de görülmüştür. Bizim çalışmamızda, glutatyon peroksidaz aktivitesi ölçülmemiştir, ancak GSH düzeylerinde 100 µM'da önemli bir azalma görülmüştür. Bu da selenyumun düşük konsantrasyonda antioksidan özelliği gösterdiğini, konsantrasyonun artırılması ile toksik olmaya başladığını göstermiştir. Stres altında, bazı serbest radikaller ve peroksit türlerinin hücre içinde oluşmaya başladığı düşünülmüştür. Ağır metaller gibi çeşitli ajanların tetiklediği stresin sonucu olarak alg hücreleri bazı antioksidan enzimlerin aktivitesini artırabilir ve karetnoitler ve GSH gibi moleküllerin sentezini artırabilirler (Tanguy ve Toufektsian , 2003).

Selenyumun yüksek konsantrasyonlarda lipid peroksidasyonuna sebep olduğu ve hücre ölümüne sebep olan gen ekspresyonuna sebebiyet verdiği bildirilmiştir (Mercan, 2004). *C. vulgaris*'te, Rubisco ile ilgili genler, Se'un mikroalgler üzerindeki etkisinin anlaşılması bakımından önemlidir (Kouba ve ark., 2014). RubisCo ile ilgili genler kullanılmasının sebebi, RubisCo'nun fotosentetik mekanizmalarda atmosferik oksijenin saptanmasında iyi bir enzim olmasıdır.

Yüksek GSH değerleri ve *C. vulgaristeki rbcL* genin artan regülasyonu 10 µM'da antioksidan etkinin sonucu olarak görülür. Karbondioksit fikse etmeden sorumlu *rbcL* geninin yüksek regülesi, azalan fotosentetik kapasiteyi klorofil üretiminin azalmasına işaret eder. Toksik seviyelerinin klorofil üretimini engelleyen *rbcL* gen ekspresyonunu etkilediğini sonuçlarımızda görülmüştür. Deneyimizde, kontrolle karşılaştırdığımızda 1 µM Se'nin yükselen GSH seviyelerine fakat azalan LPO seviyelerine sebep olduğu saptanmıştır. Malonaldehit lipid peroksidasyonun yan ürünü olup, lipid seviyelerinin de indikatörüdür. Bu sebepten lipid peroksidasyonu indirekt olarak kanıtlamada kullanılmıştır. Selenyumun antioksidan ve oksidan özelliği, değişik konsantrasyonlarda metabolik koşulu düzenlenen mantarlarda da görülmüştür (Vanda Papp ve ark., 2007)

Chlorella vulgaris'in selenyuma iki etkisi vardır; biri az konsantrasyonlarda artan GSH seviyelerini gösterirken, diğeri de yüksek konsantrasyonlarda oksidatif stres sonucu GSH seviyelerinin azalmasını işaret eder. Yükselen GSH seviyeleri ve artan *rbcL* gen ekspresyonu selenyumun antioksidan özelliklerini 10 µM eklentide görülmektedir. 10 µM selenyum kullanımı antioksidan etkileri yükseltebildiği gibi Rubisco ile alakalı genler neeniyle klorofil artımı ile gösterilebilir. *rbcL* genimizde 10 µM GSH değeri artarken MDA (malonaldehit) değeri azalma göstermiştir. 100 µM'lık örneğimizde kontrol gruplarımızla karşılaştırdığımızda GSH değeri azalırken (15 mg/mL) LPO değeri (0,02 mg/mL) çoğalmaktadır (Ozakman G ve ark., 2017). Burada selenyumun pro-oksidan ve antioksidan değerlerini görmek mümkündür. Sonuçlarımız *rbcL* geninin ilk defa ekspresyonunun artışı gösterilmiştir.

Qian ve diğ. (2008), *C. vulgaris*'in serbest radikal süpürücülerle muamelesinin, *rbcL* gibi fotosentez genlerinin upregülasyonuna yol açtığını göstermiştir. Benzer şekilde, 10 uM konsantrasyonlarında, Se, GSH seviyelerinde artışlar ve *rbcL* genlerinde yukarı regülasyon dahil olmak üzere antioksidan özellikler gösterilmiştir (Qian vd., 2008). Bu sonuçlara göre, düşük konsantrasyonlarda Se ile muamelenin fotosentez aktivitesini arttırdığı kanısına varılmış, ayrıca artmış K_{la} içeriği sonuçları ile desteklenmiştir.

Sonuç olarak, *C. vulgaris*'in 10 µM konsantrasyonda muamele edilmesi ile, antioksidan özellikleri arttırılmış, selenyum bakımından zengin ve gelişmiş klorofil içeriğe sahip kültürler elde edilmiştir. Gelecekte, *C. vulgaris* 'in antioksidan özelliklerini arttırmak ve kesin moleküler mekanizmaları anlamak için diğerelementler kullanılarak araştırılması yararlı olabilir.

KAYNAKLAR

Asku Z. The biosorption of Cu (II) by *C. vulgaris* and *Z. ramigera*. *Environ Technol.* 1992;13(1):579-586.

Alderman L C, Bergin J J. Hydrogen selenide poisoning: an illustrative case with review. *Arch Environ Health* 1986; 41: 354-358

Aydınoglu Moleküler Biyolojide Temel Teknikler: Kromatografi ve Spektrofotometri, 2014

Beck MA, et al. Host nutritional status and its effect on a viral pathogen. *J Infect Dis.* 2000;182 Suppl 1:S93-6.

Becker E. W. ; Microalgae as a source of protein, *Biotechnol. Adv.* 25 (2007) 207210.

Beilstein ., Whanger The Journal of Nutrition, Volume 116, Issue 9, 1 September 1986, Pages 1701-1710, Selenium in Rat Erythrocyte Proteins.

Bock C, Krienitz L., Pröschold T., Taxonomic Functional in vivo analyses of the 3' flanking sequences of the *Chlamydomonas* chloroplast *rbcL* and *psaB* genes. 1993 Bock C, Krienitz L., Pröschold T., Taxonomic reassessment of the genus *Chlorella* using molecular signatures, including description of seven new species, *Fottea* 11 (2011)293-312.

Bottino N. R., Banks C. H., Irgolic K. , Micks P., Wheeler A.E., Zingaro R.A., Selenium containing amino acids and proteins in marine algae, *Phytochemistry* 23 (1984)2445-2452.

Brown K: M., Arthur J. R., Selenium, selenoproteins and human health: a review, *Public Health Nutr.* 4 (2001) 593-599.

Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. (1999). Burke, Combs, Gross, et al.

Cuaresma-Franco M, Buffing M. F., Janssen M., Vilchez-Lobato C, Wijffels R. H., Performance of *C. sorokiniana* under simulated extreme winter conditions, *J. Appl. Phycol.* 24(2012)693-699.

Chun OK, Floegel A, Chung SJ, Chung CE, Song WO, Koo SI. Estimation of antioxidant intakes from diet and supplements in U.S. adults. *J Nutr* 2010;140:317-24.

Çatal T, Liu H, Bermek H (2008) Selenium induces manganese-dependent peroxidase production by the white-rot fungus *Bjerkandera adusta* (Willdenow) P. Karsten. *Biol Trace Elem Res* 123:211-217

Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.(1996).

Fox RD. 1986. *Algaculture: la Spirulina, UN espoir pour le monde de la faim*, Edisude, France.

Fournier E., Adam-Guillermin C, Potin-Gaultier M., Pannier F., Selenate bioaccumulation and toxicity in *Chlamydomonas reinhardtii*. Influence of ambient sulphate ion concentration, *Aquat. Toxicol.* 97 (2010) 51-57.

Freeman, J.L., Tamaoki, M., Stushnoff, C, Quinn, C.F., Cappa, J.J., Devonshire, J., Fakra, S.C., Marcus, M.A., McGrath, S.P., Van Hoewyk, D., Pilon-Smits, E.A.H., 2010. Molecular mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleya pinnata*. *Plant Physiology* 153, 1630-1652.

Gatenby AA, Ellis RJ. Chaperone function: the assembly of ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase. *Annu Rev Celi Biol.* 1990;6:125-149.

Geoffroy L., Gilbin R. , Simon, O., Floriani M., Adam C, Pradines C, Cournac L., Granier-Laplace J., Effect of selenite on growth and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Aquat. Toxicol.* 83 (2007) 149-158.

Gielly, Ludovic, and Pierre Taberlet. "The Use of Chloroplast DNA to Resolve Plant Phylogenies: Noncoding versus RbcL Sequences." *Mol Biol Evol* 11. 5 (1994) : 769-77. Print.

Gojkovic Z., Garbayo-Nores I, Gomez-Jacinto V., Garcia-Barrera T., Gomez-Ariza J.L., Marova L, Vilchez-Labota C, Continuous production of selenomethionine-enriched *Chlorella sorokiniana* biomass in a photobioreactor, *Proc. Biochem.* 48 (2013) 1235-1241.

- Harres, Cheesbrough, Walker 1983 Measurement of CO₂ and H₂O vapor exchange in spinach leaf discs Effects of orthophosphate Plant Physiol 71: 102-107
- Hoffmann, L.A. Roche and Co Ltd.: Vitamin E and selenium in animals and poultry nutrition. Basle/YSVYÇRE 1960.
- Honwood E, Epe B. DNA and Free Radicals. Chichester 1993: 41 65.
- Kieliszek M, Blazejak S (2016) Current knowledge on the importance of selenium in food for living organisms: A Review. Molecules 21 (5) . pp:E609
- Kouba A, Velisek J, Stara A, Masojidek J, Kozak P. (2014) Supplementation with sodium selenite and selenium and selenium-enriched microalgae biomass show varying effects on blood enzymes activities, antioxidant response, and accumulation in common barbell (Barbus barbus).
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D. (2011) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) method. Methods 25, 402 408.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193, 265 275.
- Lüttge U, Büdel B, Ball E, Strube F, Weber P. Photosynthesis of terrestrial cyanobacteria under light and desiccation stress as expressed by chlorophyll fluorescence and gas exchange. J Exp Bot. 1995;46:309 319.
- Martens D. A., The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? Br. Nutr. 92 (2004) 557-573.
- Masojidek J., Koblizek M., Torzillo G., Photosynthesis in microalgae, in: A. Richmond, Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Science, United Kingdom, 2005, pp. 20-39.
- MERCAN, U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15: 91-96.

Morlon H., Fortin, C. Floriani M., Adam C, JGranier-Laplace J., Boudou A., Toxicity of selenite in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: comparison between effects at the population and sub-cellular level, *Aquat. Toxicol.* 73 (2005) 65-78.

Neumann, P. M., DeSouza M.P., Pickering L.J., Terry N., Rapid microalgal metabolism of selenite to volatile dimethylselenite, *Plant Cell Environ.* 26 (2003) 897-905.

Nelson D.L., Cox M.M., *Lehninger's principles of biochemistry*, 5th edition, Freeman Publishing, 2008. (ISBN 978-0-7167-7108). . R.E. Blankenship, *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*, Blackwell Science, 2002 ISBN 0-632-04321-0.

Ogle Richard S., Kurt J. Maier , Peter Kiffney , Michael J. Williams , Anne Brasher , Larry A. Melton & Ailen W. Knight Bioaccumulation of Selenium in Aquatic Ecosystem 2009 Panahi Y, Darvishi B, Jowzi N, Beiraghdar F, Sahebkar Al. *Chlorella vulgaris*: A Multifunctional Dietary Supplement with Diverse Medicinal Properties. *Curr Pharm Des.* 2016;22(2): 164-73.

Ozakman G., Sinem Gamze Yayman, Çiğdem Sezer Zhmurov, Emel Serdaroğlu Kaşıkçı, Tunç Çatal. The influence of selenium on expression levels of the *rbcL* gene on *Chlorella vulgaris*

Papp, L. A., Lu, J., Holmgren, A. and Khanna, K. K. (2007). From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxid Redox Signal*, 9, 775-806.

Pröschold T., Liaert F., Systematics of the green algae; conflict of classic and modern approaches, in: J. Brodie, J. Lewis (Eds.), *Unravelling the Algae; The Past, Present, and Future of Algal Systematics*, CRC Press, London, 2007, pp. 123-135.

Pulz O., Gross W., Valuable products from biotechnology of microalgae, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65 (2004) 635-648.

Qian, H., Daniel Sheng, G., Liu, W., Lu, Y., Liu, Z., Fu, Z. (2008) Inhibitory effects of atrazine on *Chlorella vulgaris* as assessed by real-time polymerase chain reaction. *Environ Toxicol Chem* 27, 182—7.

Rayman M.P., Dietary selenium: time to act, *BMJ* 8 (1997) 314-318.

Rayman, M. (2008). Food-chain Selenium and Human Health: Emphasis on Intake. *Br. J. Nutr.* 100, 254-268

Reich HJ1, Hondal RJ2. Why Nature Chose Selenium. *ACS Chem Biol.* 2016 Apr 15;11(4):821-41. doi: 10.1021/acscchembio.6b00031. Epub 2016 Mar 21.

Reunova Y.A., Aizdaicher N.A., Khristoforova N.K., Reunov A.A., Effects of selenium on growth and ultrastructure of the marine unicellular alga *Dunaliella salina* (Chlorophyta), *Russ. J. Mar. Biol.* 33 (2007) 125-132.

Rodriguez M.C., Barsanti L., Passarelli V., Evangelista V., Conforti V., Gualtieri P., Effects of chromium on photosynthetic and photoreceptive apparatus of the alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Environ. Res.* 105 (2007)

Santhosh S, Dhandapani R, Hemalatha NA. 2016. A Review on potential biotechnological applications of microalgae. *J App Pharm Sci.* 6(08): 179-184.

Schreiber U, Klughammer C (2008) PAM Application Notes 1:15-18.

Shinde A, Ganu J, Naik P. 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review. *J Dental Allied Sciences.* 1(2), 63-66.

Sors T.G., Ellis D.R., D. Salt E., Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants, *Photosynth. Res.* 86 (2005) 373-389.

Spolaore P., Joannis-Cassan C, Duran E., Isambert A., Commercial applications of microalgae, *J. Biosci, Bioeng.* 101 (2006) 87-96.

Stampacchia, O., Girard-Bascou, J., Zanasco, J.L., Zerges, W., Bennoun, P., Rochaix, J.D. *Plant Cell* (1997) [Pubmed] A nuclear-encoded function essential for translation of the chloroplast *psaB* mRNA in *chlamydomonas*.

Steinmüller D., Tevini M., Composition and function of plastoglobulins, - I. Isolation and purification from chloroplasts and chromoplasts, *Planta* 163 (2) (1985) 201-207.

Stengel D.B., Connan S., Popper Z.A., Algal chemodiversity and bioactivity; sources of natural variability and implications for commercial application, *Biotechnol. Adv.* 29(2011)483-501.

Tanguy S, Toufektsian M.: Dietary selenium intake affects cardiac susceptibility to ischaemia/reperfusion in male senescent rats. 2003; 32: 273-278 *Age and Ageing* 2003; 32: 273-278

Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed Pharm.* 2003;57:134-44.

Tomasseli L., The microalgal celi, in: A. Richmond, *Handbook of Microalgal Culture; Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell Science, United Kingdom, 2005, pp. 3-19. 234-239.

UKEGVM, 2002. Revised review of selenium. United Kingdom expert group on vitamins and minerals (EVM/99/17.REVISED AUG 2002).

Umysova D., Vitova M., Douskova L, Bisova K., Hlavova M. , Zizkova M.Z., Machat J., Doucha J., Zachleder V., Bioaccumulation and toxicity of selenium compounds in the green alga *Scenedesmus quadricauda*, *BMC Plant Biol.* 9 (2009) 58-74.

Wu Q, et al. Low Population Selenium Status Is Associated with Increased Prevalence of Thyroid Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(11):4037-47.

Vanda Papp, L., Lu, J., Holmgren, A., Khanna, K. (2007): From selenium to selenoproteins: synthesis, identity and their role in human health, *Antioxidants and Redox Signaling* 7, 776-806.

Vitova M., Bisova K., Hlavova M., Zachleder V., Rucki, M., Cizkova M., Glutathione peroxidase activity in the selenium-treated alga *Scenedesmus quadricauda*, *Aquat. Toxicol.* 102 (2011) 87-94.

Ye et al. (2017). EMB2738, which encodes a putative plastid-targeted GTP-binding protein, is essential for embryogenesis and chloroplast development in higher plants. *Physiol Plant.* 2017 Jul 4. doi: 10.1111/ppl. 12603.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Gülru ÖZAKMAN

Doğum yeri: Eskişehir

Doğum tarihi: 1982

Lise: Sankt Georg Avusturya Lisesi

Üniversite: Viyana Üniversitesi(2001-2006) Mikrobiyoloji-Genetik

İstanbul Arel Üniversitesi(2012-2015) Moleküler Biyoloji-
Genetik

Yüksek Lisans: Üsküdar Üniversitesi (2015-2018) Moleküler Biyoloji

Yabancı Diller: İngilizce, Almanca

Konferanslar:

Ozakman, G., Yayman, S.G., Sezer-Zhmurov, Ç., Serdaroglu-Kasikci, E., Catal, T., The Influence of Selenium on Expression Levels of rbcL, psaB and psbC Genes in Chlorella vulgaris, 5th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, Eylül 2017, İstanbul, Türkiye, PT122.

Yayınlar:

Ozakman G, Yayman SG, Sezer Zhmurov C, Serdaroglu Kasikci E, Catal T. The influence of selenium on expression levels of the rbcL gene in Chlorella vulgaris. 3 Biotech. 2018 Apr;8(4):189.