

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

***GALLERIA MELLONELLA* (LEPIDOPTERA)' NİN KAS  
DOKUSUNDA Neu5Ac( $\alpha$ 2,3)Gal $\beta$ 1,4GlcNAc,  
Neu5Ac( $\alpha$ 2,6)Gal/GalNAc ve Gal $\beta$ 1,3GalNAc ŞEKERLERİN  
BÖLGELER (BAŞ, TORAKS, ve ABDOMEN) VE GELİŞME  
EVRELERİYLE (LARVA, PUPA ve ERGİN) İLİŞKİLİ  
BELİRLENMESİ**

**Seçil ERDEN**

Biyoloji Anabilim Dalı  
Bilim Dalı Kodu: 401.02.00

**Sunuş Tarihi:**  
17.07.2008

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sabire KARAÇALI**

Bornova-İZMİR



SEÇİL ERDEN tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “*Galleria mellonella* (Lepidoptera)’nın kas dokusunda Neu5Ac( $\alpha$ 2,3)Gal $\beta$ 1,4GlcNAc, Neu5Ac( $\alpha$ 2,6)Gal/GalNAc ve Gal $\beta$ 1,3GalNAc şekerlerin bölgeler (baş, toraks ve abdomen) ve gelişme evreleriyle (larva, pupa ve ergin) ilişkili belirlenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 17.07.2008 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı : Prof. Dr. Sabire KARAÇALI**

.....

**Raportör Üye: Yrd. Doç. Dr. Remziye DEVECİ**

.....

**Üye : Yrd. Doç. Dr. Erdal BALCAN**

.....



## ÖZET

***Galleria mellonella* (Lepidoptera)'nın Kas Dokusunda  
Neu5Ac( $\alpha$ 2,3)Gal $\beta$ 1,4GlcNAc, Neu5Ac( $\alpha$ 2,6)Gal/GalNAc ve  
Gal $\beta$ 1,3GalNAc Şekerlerin Bölgeler (Baş, Toraks ve Abdomen) ve  
Gelişme Evreleriyle (Larva, Pupa ve Ergin) İlişkili Belirlenmesi**

**ERDEN, Seçil  
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü  
Tez Yöneticisi: Prof.Dr. Sabire KARAÇALI  
Temmuz 2008, 64 Sayfa**

Bu çalışmada *Galleria mellonella*'da kas dokusunda Sialik asit (Sia) ve Galaktoz (Gal) şekerlerin bölgelere (baş, toraks, abdomen) ve gelişme evrelerine (larval devreler ile pupa ve ergin) göre dağılışı incelenmiştir.

Bu amaçla, 8µm'lik doku kesitlerine hematoksilen-eosin kontrollerinden sonra flüoresan bağlı lektinler uygulanarak flüoresan mikroskopta incelenmiştir. Tüm Sia tiplerine bağlanan LFA (*Limax flavus agglutinin*) ve LPA (*Limulus polyphemus agglutinin*) lektinlerinin ışımalarına göre; *G.mellonella*'nın kas dokusunda ilk larval evrelerde incelenen bölgeler ve evrelerde Sia'lar daha yoğun olarak bulunmaktadır. Glikosidik bağ tipi ile ikili veya üçlü şeker dizilerini tanıyan lektinlerin uygulanmasıyla Sia'lar en yoğun 1. evre larva baş, toraks ve abdomen kaslarında bulunmaktadır. MAA (*Maackia amurensis agglutinin*) ışımalarına dayanarak, Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc dizisi şekerler baş, toraks ve abdomen kaslarında 3. larval evrede hafifçe

azalır. Bu azalmış düzey korunarak, arkadan gelen evrelerde benzer yoğunlukta bulunurlar. SNA (*Sambucus nigra agglutinin*) ışımalarına göre, Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc dizisi şekerler baş, toraks ve abdomen kaslarında 3. larval evreden başlayarak gittikçe azalır. Azalmalar baş kaslarında kademeli, toraks kaslarında birdenbire meydana gelir ve pupa ve genç erginlerin bu iki bölgesinde benzer bulunurlar. SNA ışımaya yoğunluğunda en fazla azalma abdomen kaslarında görülerek pupa ve genç erginlerde tamamen kaybolur. Flüoresan işaretli PNA (*Arachis hypogaea*) ışımalarıyla Gal $\beta$ 1,3GalNAc dizisi şekerler incelenen bütün bölgelerde ve devrelerdeki kas dokularında kararlı şekilde daima bulunur.

Sonuç olarak; Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc dizisi yumurtadan yeni çıkmış larvadan ergine kadar tüm bölge ve devrelerde, gelişme ilerledikçe azalarak bulunmaktadır. Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc dizisi ise genç evrelerde daha yoğun bulunur. Gelişme ilerledikçe baş ve toraks bölgelerinde azalırken abdomen bölgesinde tamamen kaybolur. Gal $\beta$ 1,3GlcNAc dizisi şekerlerin dağılışında bölgelere ve gelişme evrelerine göre önemli fark bulunmamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kas doku, Sialik asit, Galaktoz, Flüoresan mikroskop, Lektin İşaretleme, *Galleria mellonella*, Böcek

**ABSTRACT**

**Detection of Neu5Ac( $\alpha$ 2,3)Gal $\beta$ 1,4GlcNAc,  
Neu5Ac( $\alpha$ 2,6)Gal/GalNAc and Gal $\beta$ 1,3GalNAc Sugars in Muscle  
Tissue of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) Related with Body Parts  
(Head, Torax, and Abdomen) and Developmental (Larvae, Pupae  
and Adult) Stages**

**ERDEN, Seçil**  
**Dissertation, Department of Biology**  
**Dissertation Advisor: Prof.Dr. Sabire KARAÇALI**  
**July 2008, 64 Pages**

In this study, distribution of Sialic acid (Sia) and Galactose (Gal) sugars in muscle tissue of *Galleria mellonella* was investigated according to body parts (head, torax, and abdomen) and developmental stages (larval stages, pupae and adult) of the insect.

For this aim, first 8 $\mu$ m thick tissue sections were checked by hematoxylin-eosin staining and then the sections from same regions were treated with fluorescence-labeled lectins and examined under fluorescence microscope. According to signals coming from LFA (*Limax flavus agglutinin*) and LPA (*Limulus polyphemus agglutinin*) lectins that bind all Sia types; Sias were more extensively found in examined regions and stages of muscle tissues of first larval stages of *G.mellonella*. By the application of lectins that recognize the two or three sugar chain together with the glycosidic linkage, Sias are most

extensively found in head, torax and abdomen muscles of first stage larva. Considering MAA (*Maackia amurensis agglutinin*) signals, Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc sugar chain is slightly reduce in head, torax and abdomen muscles of third larval stage. This reduced level is protected and it is similar in the following stages with the same staining density. According to SNA (*Sambucus nigra agglutinin*) signals, Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc sugar chain starts decrease in head, torax and abdomen muscles begining from third larval stage. This decrease occurs gradually in the head muscles and suddenly in the torax muscles. Also, the decrease is similar in these two regions of pupae and young-adult individuals. The highest reduction in SNA signal density was detected in abdomen muscles while it is completely disappeared in pupae and young-adult stage. Signals from fluorescence labelled PNA (*Arachis hypogaea*) that recognizes Gal $\beta$ 1,3GalNAc sugar chain were always detected in the muscle tissues of all examined regions and stages.

As results; Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc chain is present in all regions and stages from larvae that just hatched to adult and its existence is gradually reduce by development. On the other hand, Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc chain exists in young stages more extensively. By development, its signal reduces in head and torax regions and completely disaaappears in abdomen region. There is no considerable difference in the distribution of Gal $\beta$ 1,3GlcNAc sugar chain according to regions and developmental stages.

**Keywords:** Muscle tissue, Sialic Acid, Galactose, Fluorescence Microscope, Lectin labelling, *Galleria mellonella*, Insect



## TEŞEKKÜR

Çalışma konumun belirlenmesinde, tez aşamasının her safhasında değerli bilgilerini ve katkılarını esirgemeyen, değerli hocam sayın Prof. Dr. Sabire KARAÇALI'ya, laboratuvar çalışmalarından yazım aşamasına kadar her zaman bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Yrd. Doç. Dr. Remziye DEVECİ'ye, çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübesi ile sürekli yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim Dr. BÜGET SARİBEK'e, tezin yazım ve basım sürecinde hiçbir yardımı esirgemeyen, bana sürekli destek olan Dr. Mehmet Salih YIKILMAZ'a, çalışma materyalim olan böcekleri büyük bir özveri ile yetiştiren Taylan DOĞAROĞLU' na, desteklerinden dolayı Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki arkadaşlarıma, öğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve bana güvenen canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisansım süresince, 2210- Yurtiçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında bana maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a, çalışmalarımı 2008 Fen 023 no'lu proje kapsamında parasal olarak destekleyen Ege Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fon Saymanlığı'na teşekkürlerimi borç bilirim.



**İÇİNDEKİLER**

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>ÖZET</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	xvii
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	xix
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2.MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	8
2.1. Böcek Kültürü .....	8
2.2. Histolojik İncelemeler .....	9
2.3. Lektin Histokimyası .....	9
<b>3. BULGULAR</b> .....	11
3.1. N-Asetilnöraminik Asit Bağlayan Lektinler .....	11
3.2. Galaktoz Bağlayan Lektinler .....	32
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	38
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ</b> .....	42
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	58



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Şekil 2.1</b> <i>Galleria mellonella</i> kültürünün sentetik besin içinde yetiştirilmesi.....	8
<b>Şekil 2.2</b> Çalışmada kullanılan <i>Galleria mellonella</i> evrelerine örnekler .....	9
<b>Şekil 3.1 a,b</b> , 3. evre larva baş kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş görüntüleri.....	12
<b>Şekil 3.2 a,b</b> , 3. evre larva toraks kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş görüntüleri.....	13
<b>Şekil 3.3 a,b</b> , 3. evre larva abdomen kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş görüntüleri.....	14
<b>Şekil 3.4 a,b</b> , Son evre larva baş kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş görüntüleri.....	15
<b>Şekil 3.5 a,b</b> , Son evre larva toraks kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri.....	16
<b>Şekil 3.6 a,b</b> , Son evre larva abdomen kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri.....	17

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.7 a,b, Hareketli prepupa baş kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri .....	18
Şekil 3.8 a,b, Hareketli prepupa toraks kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri .....	19
Şekil 3.9 a,b, Hareketli prepupa abdomen kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri .....	20
Şekil 3.10 a,b, Hareketsiz prepupa baş kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş görüntüleri .....	21
Şekil 3.11 a,b, Hareketsiz prepupa toraks kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ile aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri .....	22
Şekil 3.12 a,b, Hareketsiz prepupa abdomen kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş görüntüleri .....	23
Şekil 3.13 <i>Galleria mellonella</i> gelişim evrelerinde baş, toraks ve abdomen kaslarında $\alpha$ -2,3 bağlı sialik aside bağlanan FITC-MAA lektininin ışımaları .....	25-26
Şekil 3.14 <i>Galleria mellonella</i> gelişim evrelerinde baş, toraks ve abdomen kaslarında $\alpha$ -2,6 bağlı sialik aside bağlanan FITC-SNA lektininin ışımaları .....	27-28

**ŞEKİLLER DİZİNİ****Sekil****Sayfa**

- Şekil 3.15.** *Galleria mellonella* gelişim evrelerinde baş, toraks ve abdomen kaslarında Galaktoz şekerine bağlanan FITC-PNA lektininin ışınması ..... 33-34





**TABLolar DİZİNİ**

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 2.1</b> FITC bağlı lektinler ve tamponları .....	10
<b>Tablo 3.1</b> Lektinlerin şeker spesifiklikleri .....	11
<b>Tablo 3.2</b> Farklı evrelerdeki <i>Galleria mellonella</i> 'nın baş, toraks ve abdomen kaslarında, SNA ( <i>Sambucus nigra</i> ), MAA ( <i>Maackia amurensis</i> ), PNA ( <i>Arachis hypogea</i> ), LFA ( <i>Limax flavus</i> ) ve LPA ( <i>Limulus polyphemus</i> ) lektinlerinin ışıma yoğunlukları .....	29



**GRAFİKLER DİZİNİ**

<b><u>Grafik</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Grafik 3.1</b> Baş kaslarındaki SNA ve MAA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılması .....	30
<b>Grafik 3.2</b> Toraks kaslarındaki SNA ve MAA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılması .....	30
<b>Grafik 3.3</b> Abdomen kaslarındaki SNA ve MAA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılma .....	31
<b>Grafik 3.4</b> Baş kaslarındaki SNA, MAA ve PNA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılmaları .....	35
<b>Grafik 3.5</b> Toraks kaslarındaki SNA, MAA ve PNA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılmaları .....	36
<b>Grafik 3.6</b> Abdomen kaslarındaki SNA, MAA ve PNA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılmaları .....	36

## 1. GİRİŞ

**Böcek kasları;** iskelet kasları, viseral kaslar, kalp kası ve alary kasları olmak üzere dört bölümde incelenir. Uzun ve birbirine paralel liflerden oluşan iskelet kasları, endo ve eksokütikulyayı geçip epikütikulanın iç tabakasına tutunan tonofibriller ile kütikulaya bağlanırlar. Viseral kaslar ise boyuna liflerden meydana gelir ya da birbirleriyle kaynaşmış, düzensiz ağ şeklinde liflere sahiptir. Dış iskelete bağlı iskelet kasları hızlı ve çabuk kasılarak uçuş ve hareketi sağlarken; hemosöldeki organların çalışmasını kontrol eden viseral kaslar daha yavaş peristaltik hareketler gösterirler (Smith, 1966; Smith ve ark., 1966). Ekstremiteleri bükme (fleksör) ve düzleştiren (ekstensör) antagonistik çiftlerden oluşan iskelet kasları tipik olarak senkronize kaslardır. Hızlı metabolik aktivite gösteren kalp kasında sarkomer boyu kısadır, küçük ve çok sayıda mitokondri vardır; yavaş metabolik aktiviteye sahip alary kaslarda ise az sayıda mitokondri bulunur. Böcek kaslarının histolojik yapısı benzer proteinleri içererek omurgalı kasların yapısıyla aynıdır.

**Böceklerde miyogenesisin** en iyi çalışıldığı örnek olan çekirge embriyosunda kas öncü hücreleri, çevrelerinde bulunan diğer hücreler ile moleküler etkileşimler kurarak kas modelini oluştururlar (Bate, 1990). *Drosophila*'da kas modelinin oluşumunda ektodermal etkiler önemlidir. Kas öncüleri, germ bandının kısılması sırasında merkezi sinir sisteminden ayrılarak epidermise doğru göç ederler ve segmente spesifik bir şekilde kas gelişimini sürdürürler (Bate, 1990). Holometabol bir böcek olan *Drosophila*'da somatik kas şekillenmesinde; larval kas elementlerinin oluştuğu evre ile pupal

metamorfoz sırasında kas fibrillerinin oluştuğu ve ergindeki şekliyle bir araya geldiği iki evre bulunur (Ray ve VijayRaghavan, 1999).

Lepidoptera'da metamorfoz sırasında, kasların çoğu dejenere olup değişirken, bir kısmı değişmeden kalarak genç erginde görevlerini srdrrlr. Ancak bu kaslar da erginde dejenere olur ve ergin gelişimi süresince neoblastik kaslar olarak adlandırılan kaslar şekillenir (Finlayson, 1956).

**Karbohidratların** canlılardaki yaşamsal faaliyetlerde üstlendikleri rolleri yakın zamanda anlaşılmaya başlanmıştır. Bu moleküller, organizmada enerji depolama, organizmanın yapısal bileşenlerini oluşturma, hücre-hücre etkileşimini ve hücre iletişimini düzenleme gibi görevleri üstlenirler.

Karbohidratların en önemli depo şekilleri bitkilerde nişasta hayvanlarda ise glikojendir. Bitkilerdeki selüloz ve pektin, hayvanlardaki kitin ve bakteri hücre duvarında bulunan peptidoglikanlar, canlılardaki destek ve koruyucu yapılarıdır. Ayrıca, ekstrasellüler matrikste bulunan proteinlere bağlanan glikozaminoglikanların (GAG) oluşturdukları proteoglikan molekülleri, hayvan hücrelerinin dış yüzeyinde hücreler arası sahayı dolduran glikokaliks tabakası, canlılarda karbohidrat temelli önemli yapısal elemanlarıdır.

Genelde hücre yüzeyinde ya da ekstrasellüler boşlukta bulunan karbohidratlar hücre-hücre etkileşiminde, iletişimde ve hücresel düzenlemede rol oynarlar. Spesifik hücre yüzey reseptörleri ile alınan sinyallerin, hücresel yanıtlar haline dönüştürülmesi sırasında görevli

karbohidratlar, kompleks moleküler mekanizmanın temelini oluşturan önemli moleküllerdir (Varki, 1997).

Şekerlerin protein veya lipitlere bağlanarak oluşturduğu, sırasıyla glikoproteinler ve glikolipitler olarak adlandırılan glikokojugatların şeker kısımları glikanlar olarak adlandırılır. Glikanlar, hücre içi ve hücreler arası alanda, lektinler olarak bilinen protein veya glikoprotein yapıları şeker reseptörleriyle ilişki kurarlar. Hücrede plazma zarında, sitoplazmada, hücreler arası alan yapısında ve serum gibi biyolojik sıvılarda bulunan glikokojugatlar, endoplazmik retikulum lümeninde ve Golgi'de oluşturulurlar.

**Sialik asit (Sia) ler** N ve O bağlı glikoproteinlerin karbohidrat zincirlerinin ve lipit bağlı glikokonjugatların en uç kısmında bulunan, çeşitlilik gösteren 9C'lu bir şeker grubudur. Bazı bakteri, mantar ve bazı hayvanların glikokojugatlarında bulunur (Schauer, 1982). Memeli hücrelerinde en yaygın bulunan sialik asitler N-asetilnöraminik asit ve N-glikolilnöraminik asitlerdir. İnsanda ise sadece N-asetilnöraminik asit bulunur (Chou ve ark., 1998). Oligosakkarit zincirlerinin yapısı ve negatif yükleri nedeniyle hücre-hücre ve hücre-matriks ilişkilerinde önemli rol oynarlar (Kelm ve Schauer, 1997).

Sia'ların bazı omurgasız grupları ve omurgalılarda bulunduğu Warren, 1963 ile Corfield ve Schauer, 1982'de belirtilmiştir. Sonraki çalışmalarda, patojenik ve kommensal bakterilerde, virüslerde ve mantarlarda da Sia bulunduğu görülmüştür (Corfield ve Schauer, 1982; Schauer ve Kamerling, 1997). Son yıllardaki çalışmalar, nematodlarda, eklem bacaklılarda ve yumuşakçalarda da Sia varlığını göstermiştir (Roth ve ark., 1992; D'Amico ve Jacob, 1995; Malykh ve ark., 1999;

Park ve ark., 1999). Doğada en bol bulunan sialik asit çeşidi, memeli hücre yüzeyinde glikoprotein ve glikolipitlerin uç kısmında bulunan N-asetilnöraminik asit (Neu5Ac) tir.

Tümör hücre yüzeylerinde bulunan glikokonjugatlardaki Sia seviyeleri ve tiplerindeki değişikliklerin tümörlerin malignant seviyelerini etkilediği görülmüştür. Örneğin, N-glikolilnöraminik asidi (Neu5Gc) taşıyan bazı lenf tümörleri son derece yüksek metastaz aktivitesine sahiptir (Takano ve ark., 1988). Sonraki yıllarda yapılan tümör oluşumu ve kanser metastazı çalışmalarında da sialilasyon değişikliklerinin meydana geldiği görülmüştür (Fukuda,1996; Schauer ve ark., 1995; Takano ve ark., 1997).

Sia' ların immün aktivitelerde endojen lektinler için lijant görevi üstlendikleri belirlenmiştir (Varki, 1993). Son yıllarda hücre (Moody ve ark., 2001) ile ilgili çalışmalarda, timosit olgunlaşması süresince MHC sınıf I molekülleri ile CD8 arasındaki ilişkinin düzenlenmesinde timusta gerçekleşen glikozilasyonun rolüne dikkat çekilmiştir. Örneğin, olgunlaşmamış timositlerde; PNA'nın O-bağlı bir disakkarit olan Gal $\beta$ 1,3GalNAc'ye bağlandığı, olgun timositlerde ise S $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,3GalNAc dizisini oluşturan sialiltransferazın etkisiyle PNA bağlanma bölgesinin kapatıldığı belirlenmiştir (Gillespie ve ark., 1993; Priatel ve ark., 2000).

Sialik asitler, altındaki şekerlere  $\alpha$ -2,3,  $\alpha$ -2,6 ve  $\alpha$ -2,8 gibi farklı şekillerde bağlanarak çeşitlilik kazanırlar. Dahası, Sia' ların monosakkaritlerindeki sülfasyon, fosforilasyon, metilasyon, asetilasyon ve laktilasyon gibi modifikasyonlar, çok sayıda sialik asit çeşidinin oluşmasına neden olur. Sialik asitlerdeki modifikasyonlar

türe ve dokuya özgüdür, gelişimsel olarak düzenlenir ve biyolojik fonksiyonlarla yakından ilişkilidir (Roth ve ark., 1992).

Sialik asitlerin hücre farklılaşması, patojen-konak tanınması, toksin-reseptör ilişkisi gibi hücresel tanıma mekanizmalarında üstlendikleri rollerin belirlenmesiyle birlikte (Ito ve ark., 1997; Sasaki ve ark., 2002; Hatakoyama ve ark., 2005), çeşitli dokularda yer alan iki farklı glikosidik bağla bağlı Sia'ların (Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal ve Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal) hücresel reseptörler olarak rol oynadıkları Rogers ve Paulson tarafından (1983) belirlenmiştir. Buna göre, insan grip virüslerinin, hücre yüzeyindeki Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal içeren oligosakkaritlere, kuş gripi virüslerinin ise Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal dizisine bağlandıkları görülmüş; böylece iki farklı bağ tipinin hangi reseptörün hangi lijant ile bağlanacağını belirlediği açıkça gösterilmiştir.

Böcek dokularında **Sia belirlemeleri** önce *Galleria mellonella*'da, sinir sistemi, ovaryum ve yağ dokusu gibi çeşitli organ kapsüllerinde yapılmıştır (Przelecka ve Dutkowski, 1973; Dutkowski, 1997; Dybowska ve Dutkowski, 1977). Nöraminidaz enzimi uygulanmış ve uygulanmamış organ kapsülleri katyonik boyalarla boyanarak elektron mikroskopunda karşılaştırılmıştır. Enzimatik sindirim sonunda elektronca yoğun boyamanın azalmasına dayanarak organları saran örtülerde Sia bulunduğu belirlenmiştir. Daha sonra aynı böceğin sinir sistemi, yağ dokusu, ovaryum ve tükürük bezlerinde gelişme evrelerine ve cinsiyete bağlı Sia değişiklikleri spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Karaçalı ve ark., 1995a). Spektrofotometrik yöntemle ayrıca tükürük bezi, yağ dokusu, ovaryum, testis, kanat kasları ve hemolenfi de içeren *Locusta*



*migrotoria*'nın çeşitli dokularında izole ve grup yetiştirilen böceklerde faz ve cinsiyet farkıyla ilişkilendirilerek belirlenmiştir (Karaçalı ve ark., 1995b). Aynı yıl lektin işaretleme yöntemiyle *Drosophila melanogaster* embriyosunda pol, blastoderm, ektoderm hücreleri ile sinir sisteminde Sia varlığı işaret edilmiştir (D'Amica ve Jacobs, 1995). Bu total hücrelerin dışında Sia'ların glikosidik bağ tipleri ile Sia'ları farklılandıran reaktif grupların da belirlendiği ilk çalışma *D.melanogaster*'de yapılmıştır (Roth ve ark., 1992). Çeşitli yöntemlerin desteği ile embriyonik sinir sisteminde Neu5Ac'nin  $\alpha$ -2,8 polisialik asit şeklinde bulunduğu gösterilmiştir. Nöraminidaz sindirimi uygulanmış ve uygulanmamış testis yüzeylerinin rutenyum kırmızısı boyama yoğunluğu karşılaştırılarak *G.mellonella*'nın testis yüzeyinde Sia varlığı elektron mikroskobuyla gösterilmiştir (Deveci, 1997). Neu5Gc7,9Ac şeklindeki Sia'nın, *G. mellonella* protorasik bezlerinde varlığı çeşitli yöntemlerin desteği ile belirlenmiştir (Karaçalı ve ark., 1997). Aynı böceğin gelişen testis dokusunda yedi tip Sia (Neu5Ac, Neu5Gc, Neu4,5Ac2, Neu5,9Ac2, Neu2enAc, Neu9Ac5Gc, Neu5,8,9Ac3) miktar ve çeşit bakımından gelişmeye bağlı değişiklikler göstermektedir (Karaçalı ve ark., 1999). *Philaenus spumarius* Malpigi tüplerinde de  $\alpha$ -2,8 bağlı polisialik asidin varlığı bulunmuştur (Malykh ve ark., 1999). Neu5Ac'nin *Dociostaurus maroccanus* hemolenfinde bulunduğu da gösterilmiştir (Karaçalı ve ark., 2003). Bu çalışmaları elektron mikroskobunda tek veya ikili uçlu şeker dizilerini, glikosidik bağ tiplerini de tanıyarak seçici bağlanan lektin uygulamalarıyla yapılan belirleme çalışmaları izlemiştir. İki farklı bağ tipi ile bağlantılı şeker dizilerini (Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc

ve Neu5Aca2,6Gal/GalNAc) tanıyan altın bağı lektinlerin sırasıyla MAA ve SNA'nın uygulanmasıyla elektron mikroskopunda *Bombyx mori*' nin dorsal damarına dayalı yeni bulunan hemapoietik organında (İzzetoğlu, 2006) ve *G. mellonella*' nin bileşik göz ommatidyumlarında (Yıkılmaz, 2007) Sia' ların yer aldığı gösterilmiştir. Bu çalışmalardan, incelenen birçok böcek dokusunda Sia'ların varlığı anlaşılmaktadır.

PNA (*Arachis hypogea*) lektini ile işaretleme yapılarak, embriyoda hücreler arası matrikste (Montell ve Goodman, 1988, 1989), hemositlerde (Nardi ve ark., 2003 ve 2005) ve sinir sistemi (Krull ve ark., 1991) gibi çeşitli böcek dokularında galaktoz şekeri belirlenmiştir. *Galleria mellonella* larval testisi ile yapılan çalışmada germ hücrelerinin sitoplazmalarındaki granüllü partiküllerde de PNA işaretlenmeleri gösterilmiştir (Deveci ve Karaçalı, 2006). Bunun yanında, sıçan kalp kası (Lawrenson ve ark., 2000), insan iskelet kası (Sergio ve ark., 1981) gibi omurgalı dokularında da galaktoz şekerin varlığı gösterilmiştir.

**Bütün bu bilgiler dikkate alındığında tezin amacı,** böcek kas dokusunda iki farklı glikosidik bağla bağlanmış Sia'lar (Neu5Aca2,3Galβ1,4GlcNAc ve Neu5Aca2,6Gal/GalNAc) ile böcek dokularında yaygın şekilde bulunan galaktoz şekerinin, *Galleria mellonella* baş, toraks, abdomen kas dokusunda dağılımlarını ve gelişme süreci ile ilişkili olarak nasıl değiştiklerini belirlemektir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Böcek kültürü

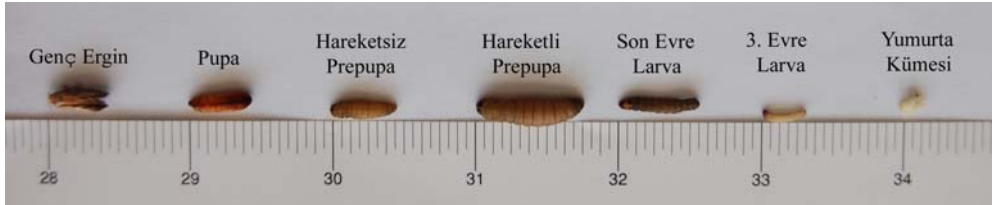
Çalışma materyali, büyük mum güvesi *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae), laboratuvarında  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve %40-60 orantılı nem içeren karanlık bir ortamda, 16 cm çapındaki petri kutularında, mısır unu, buğday unu, süt tozu, kuru maya, bal mumu, bal ve gliserin karışımından oluşan yapay mama ile beslenerek yetiştirilmiştir (Fröbius et al., 2000) (Şekil 2.1)



Şekil 2.1 *Galleria mellonella* kültürünün sentetik besin içinde yetiştirilmesi

Gelişme süresince sialik asitlerin (Sia) değişimini görebilmek için; 1., 3., ve son evre yeni deri değiştirmiş larvalar, hareketli ve

hareketsiz prepupalar ile 5 günlük pupa ve genç erginlere ait böceklerin kas dokuları kullanılmıştır (**Şekil 2.2**).



**Şekil 2.2** Çalışmada kullanılan *Galleria mellonella* evrelerine örnekler

## 2.2. Histolojik İncelemeler

Histolojik değerlendirmeler, frozen mikrotomda kesilmiş 8  $\mu$ m kalınlığındaki kesitlerin %70 etanolle tespit edilmesinden sonra hematoksilin-eosin boya serisinden geçirilerek boyanan preparatlarda yapılmıştır. Işık mikroskobu incelemeleri ile flüoresan boyama için dokunun uygun olup olmadığına karar verilmiştir.

Birinci evre larvalar ile pupa ve genç erginlerin baş, toraks ve abdomen iskelet kaslarının çıkarılması çok zor olduğundan, bu evrelere ait dokular total kesitlerde çalışılmıştır.

Diğer evrelerde baş, mezotoraks ve son abdomen segmentlerine ait kas dokuları çıkarılır çıkarılmaz özel gömme ortamına (frozen embedding medium) alındılar. Gömme ortamı içinde dondurulan (-25 °C) dokulardan alınan 8  $\mu$ m'lik kesitlere FITC (Fluorescein isothiocyanate) bağlı lektin işaretlemeleri yapılmıştır.

## 2.3. Lektin Histokimyası

Uygulanan FITC bağlı lektinler ve şeker spesifiklikleri ile uygulama sırasında kullanılan tamponlar tabloda belirtilmiştir (**Tablo 2.1**).

**Tablo 2.1** FITC bağı lektinler ve tamponları

Lektinin adı	Lektinin kısa adı	Şeker spesifikliği	Tampon
<i>Limax flavus agglutinin</i>	LFA	Neu5Ac	0.05 M TBS (pH: 7.5)
<i>Limulus polyphemus agglutinin</i>	LPA	Neu5Ac	0.05 M TBS (pH: 8)
<i>Maackia amurensis agglutinin</i>	MAA	Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc	0.01 M PBS (pH: 7.3)
<i>Sambucus nigra agglutinin</i>	SNA	Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc	0.01 M PBS (pH: 7.3)
<i>Arachis hypogea (Peanut agglutinin)</i>	PNA	Gal $\beta$ 1,3GalNAc	0.01 M PBS (pH: 7.3)

Dondurulmuş materyalden alınan 8  $\mu$ m'lik kesitler **Tablo 2.1**'de verilen lektine özel tamponlarla yıkandıktan sonra, oda sıcaklığında, nemli odacık içerisinde, uygun görülen lektinlerle işaretlenmiştir.

Flüoresanlı lektinler ile işaretlenmiş kesitler, Leica DM4000B flüoresan ataçmanlı fotomikroskopta incelenerek fotoğrafları çekilmiştir.

FITC bağı lektinler ile işaretlenen kesitlerin ışımaları derecelendirilmiş ve ışıma yoğunlukları çoktan aza doğru +++, ++(+), ++, +( +), +, (+), - şeklinde simgelenmiş ve tablo oluşturulmuştur. Daha sonra lektinlerin evre ve bölgelere göre gösterdikleri ışıma yoğunluklarındaki farklılıklardan grafikler oluşturulmuştur.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. N-Asetilnöraminik Asit Bağlayan Lektinler

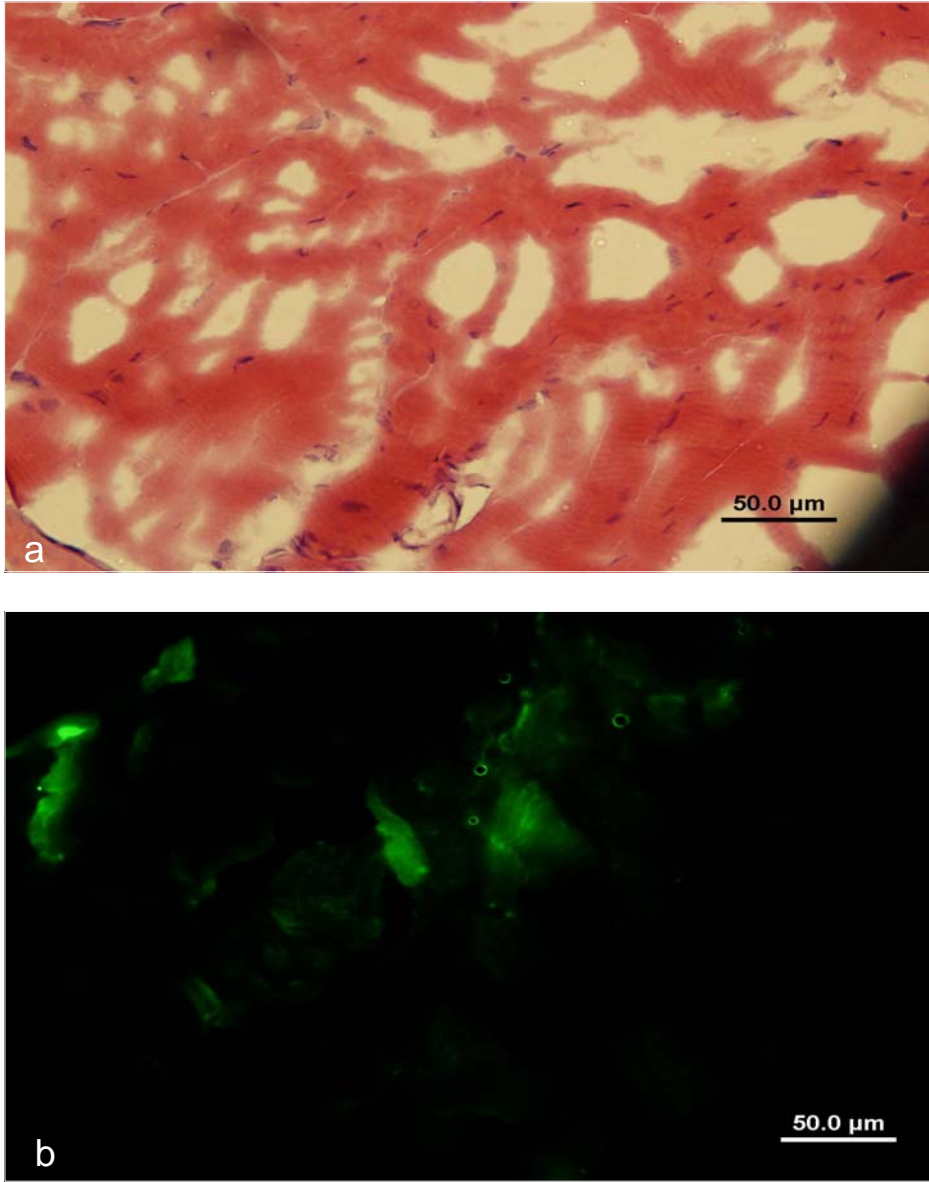
Böcek kas dokusunda Sia (Sialik asit) ların varlığı, *Galleria mellonella*'nın diseksiyonla dışarıya çıkarılmış kaslarına flüoresan işaretli lektinlerin bağlanmasıyla gösterilmiştir.

Bu amaçla önce tüm Sia tipleriyle bağlanabilen iki tip lektin kullanılmıştır. Bunlar LFA (*Limax flavus agglutinin*) ve LPA (*Limulus polyphemus agglutinin*) olarak bilinen lektinlerdir. Daha sonra glikosidik bağ tipini de tanıyan Sia'lara seçici bağlanan diğer lektinler kullanılmıştır (**Tablo 3.1**).

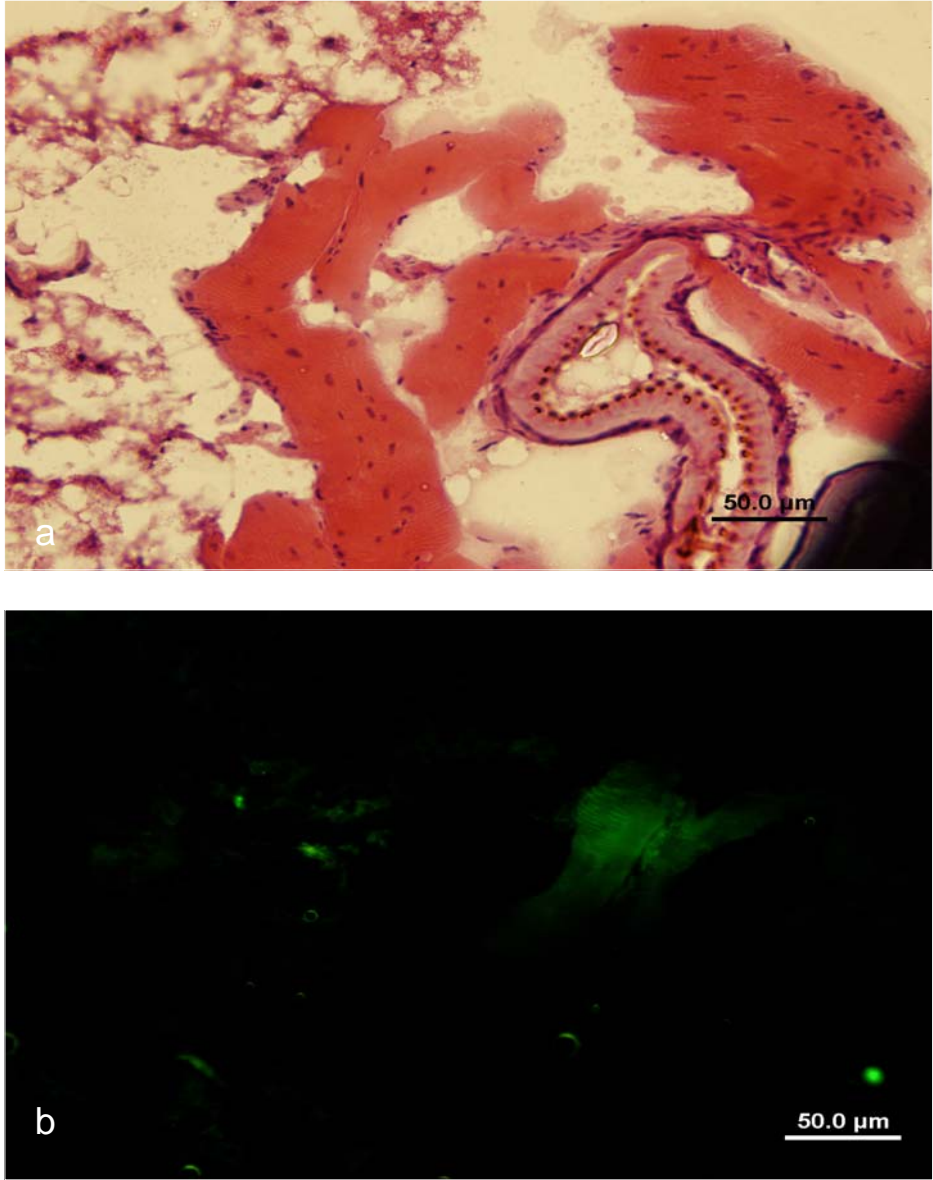
**Tablo3.1** Lektinlerin şeker spesifiklikleri

Lektinin Adı	Lektinin Spesifik Olduğu Şeker
LPA	Tüm sialik asit tipleri
LFA	Tüm sialik asit tipleri
SNA	Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc
MAA	Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1, 4GlcNAc
PNA	Galaktoz, Gal $\beta$ 1, 3 GalNAc

3. ve son larval devrelerde, yeni deri değiştirmiş larvalar ile hareketli ve hareketsiz prepupalarda yapılan LFA ve LPA uygulamalarına göre; *Galleria mellonella*'nın baş, toraks ve abdomen bölgelerindeki kas dokularında Sia'lar bulunmaktadır (**Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9,3.10,3.11 ve 3.12**).

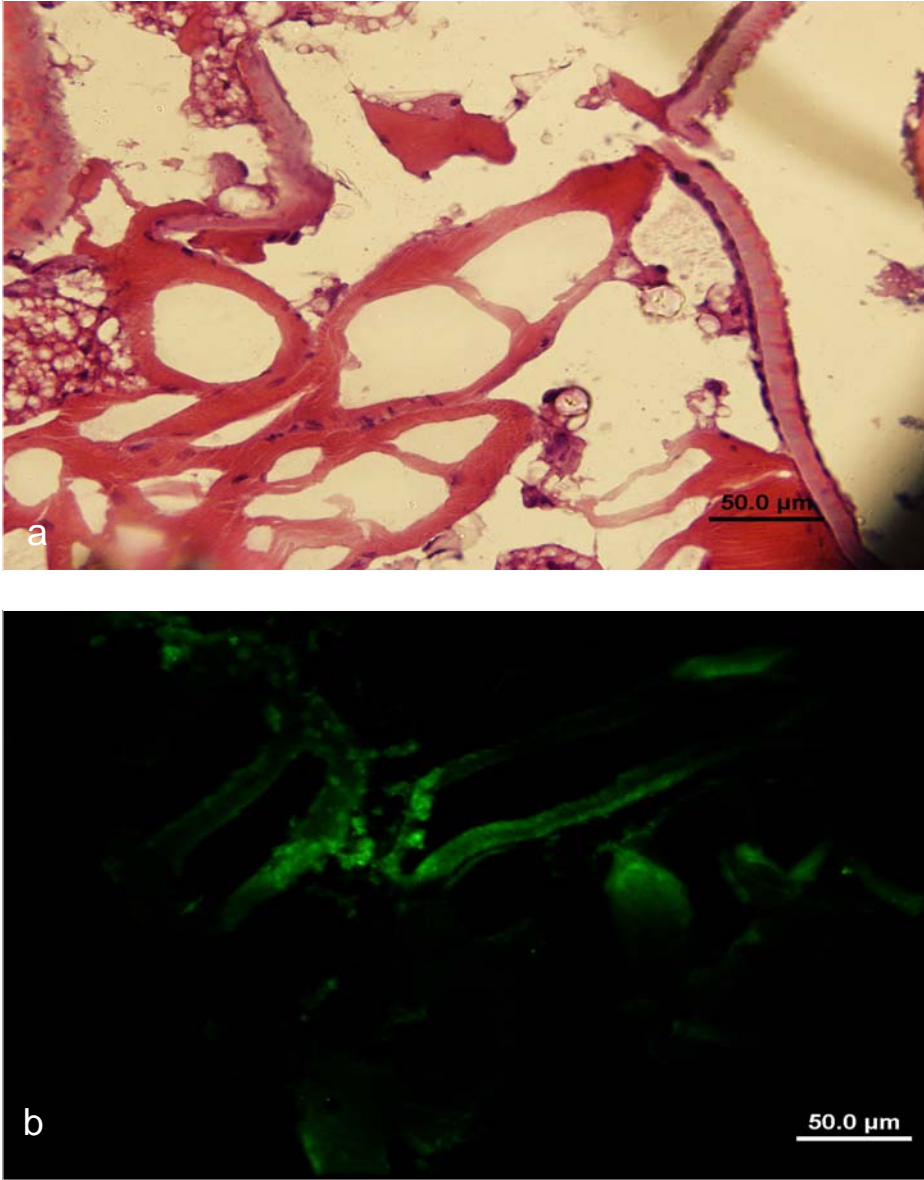


**Şekil 3.1** 3. evre larva baş kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş (b).görüntüleri.

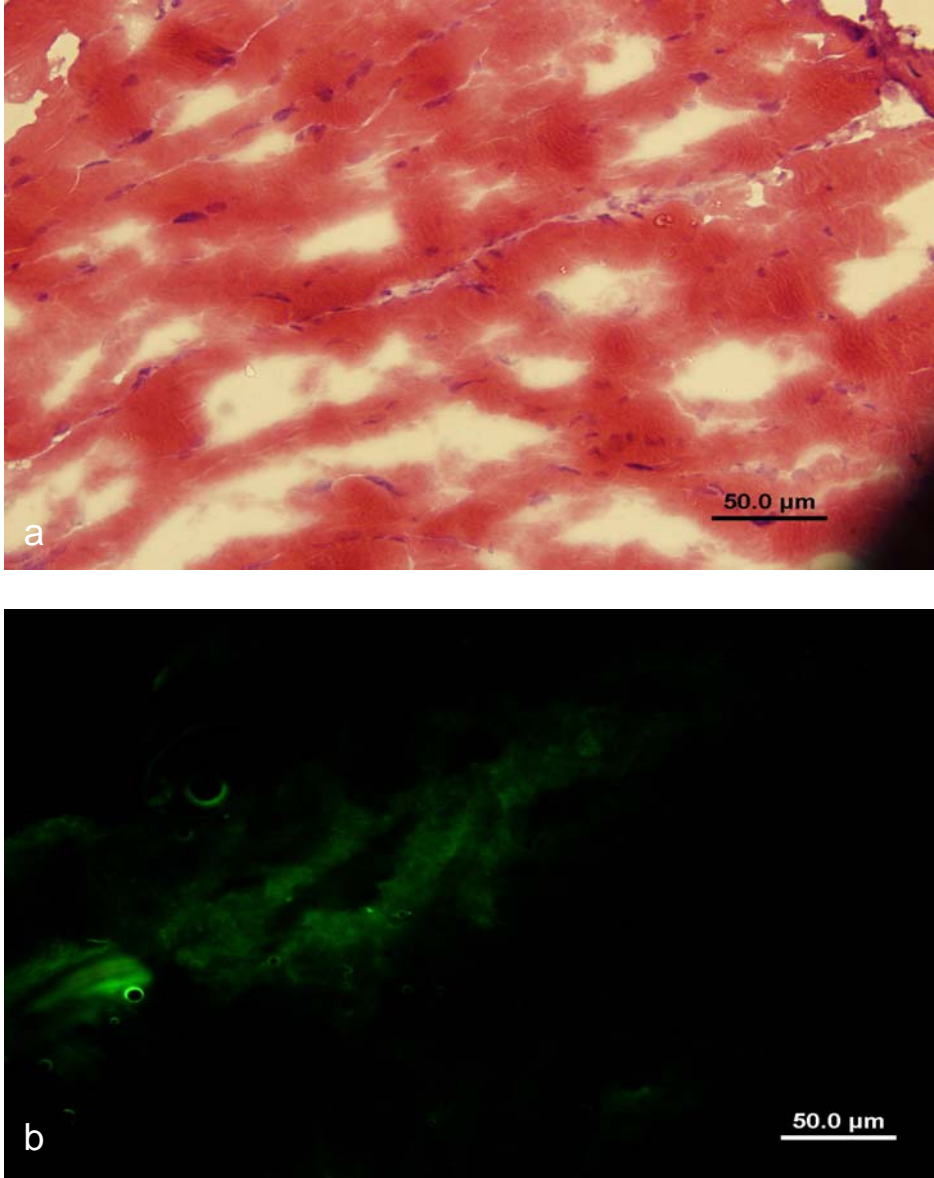


**Şekil 3.2** 3. evre larva toraks kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.

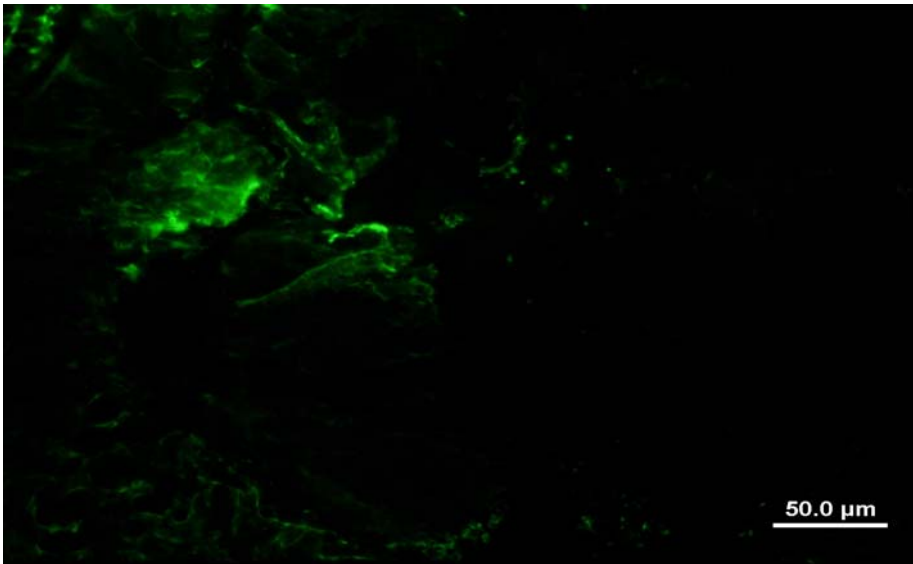
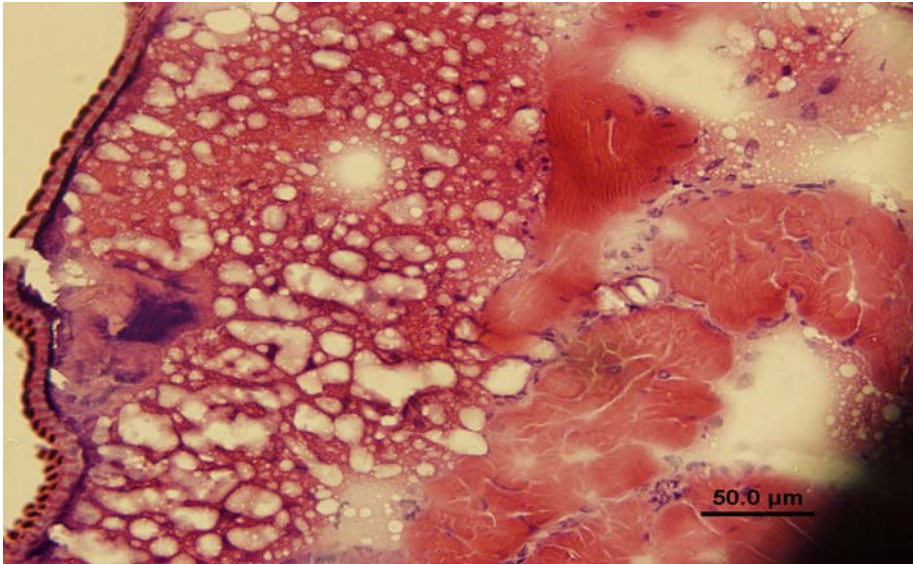




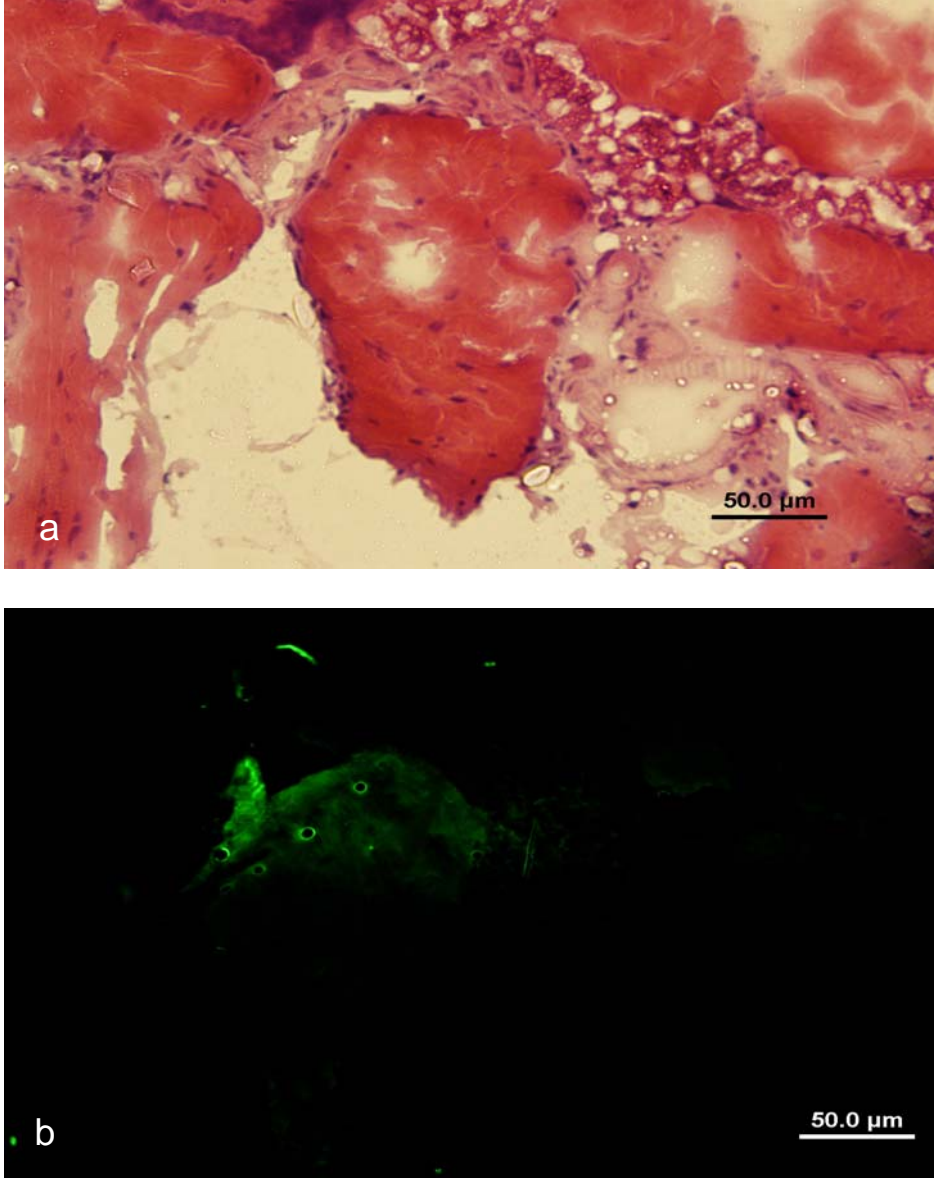
**Şekil 3.3** 3. evre larva abdomen kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.



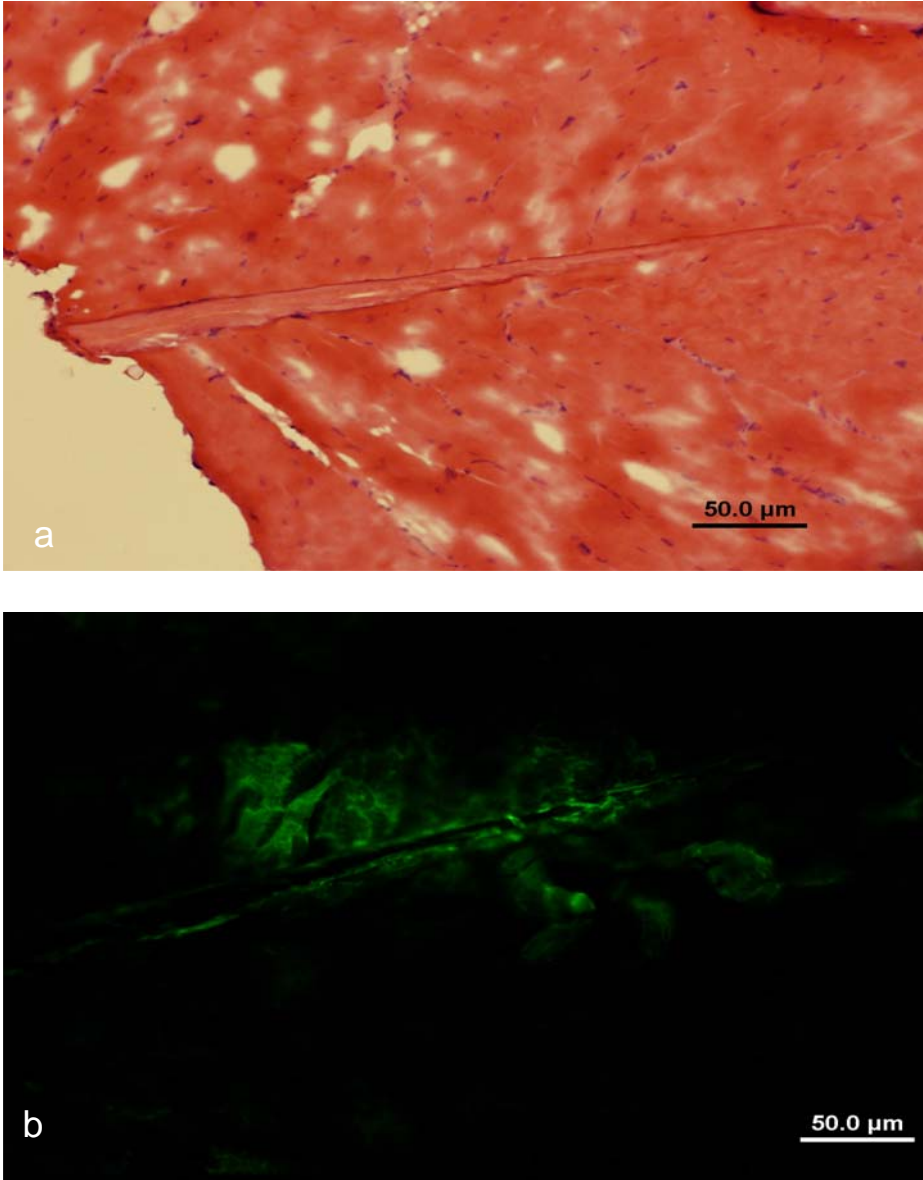
**Şekil 3.4** Son evre larva baş kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.



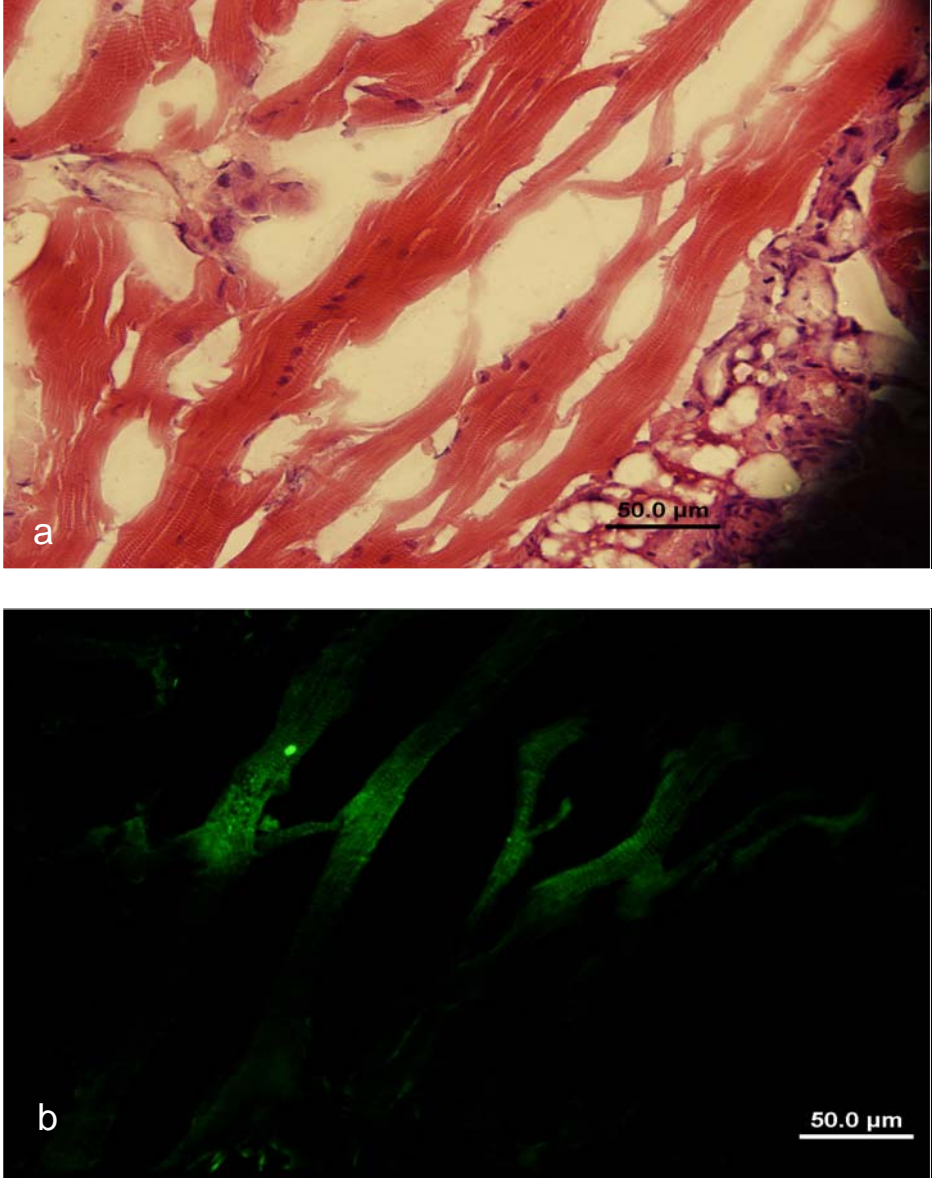
**Şekil 3.5** Son evre larva toraks kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.



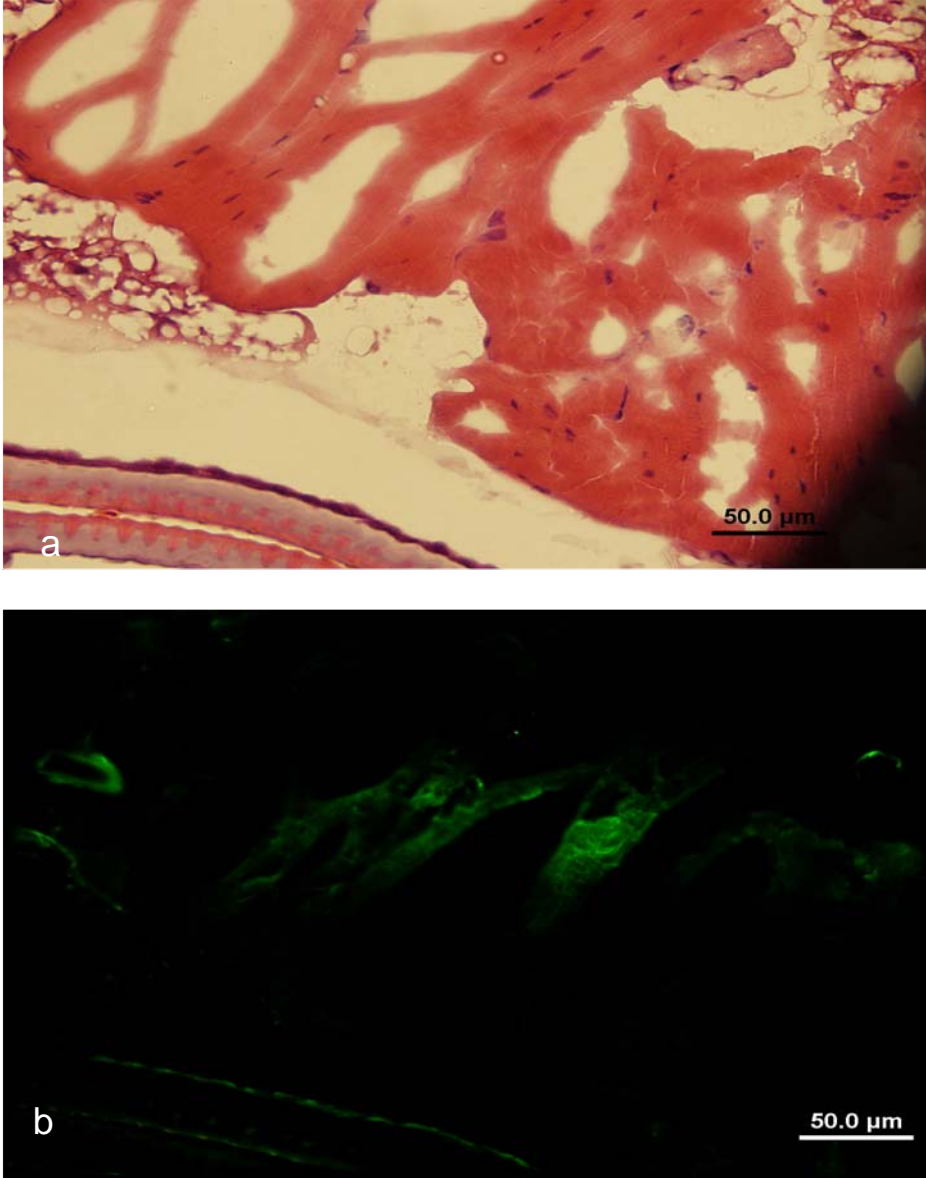
**Şekil 3.6** Son evre larva abdomen kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.



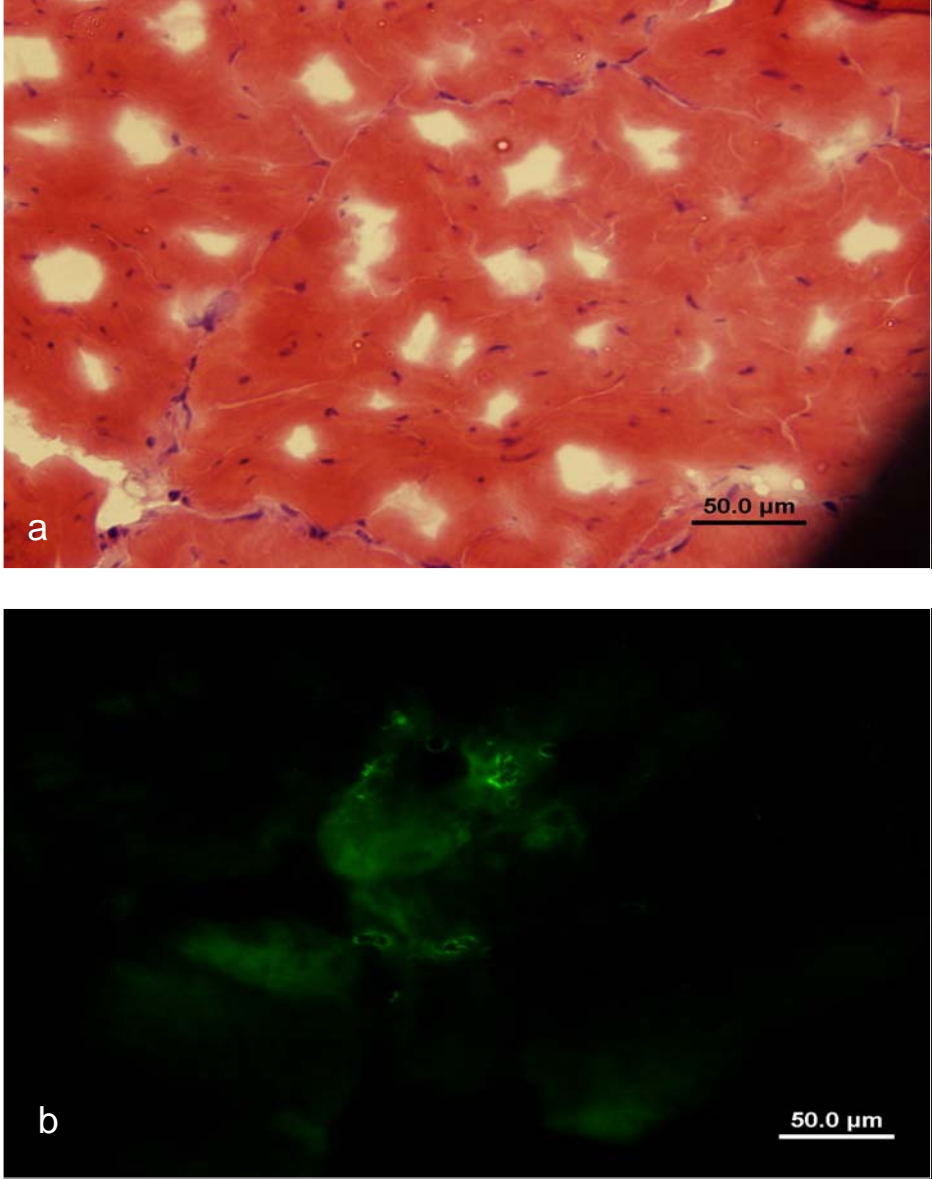
**Şekil 3.7** Hareketli prepupa baş kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.



**Şekil 3.8** Hareketli prepupa toraks kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.

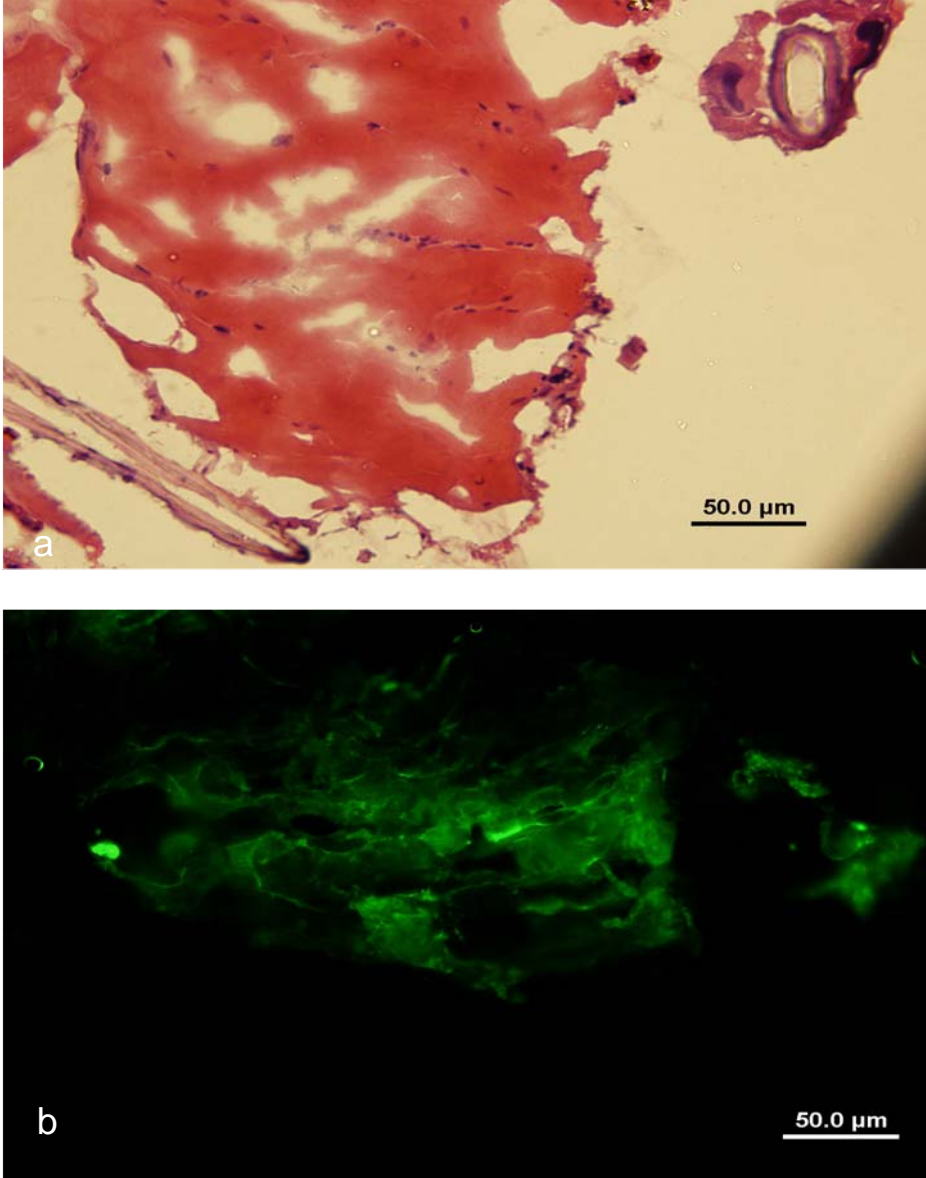


**Şekil 3.9** Hareketli prepupa abdomen kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.

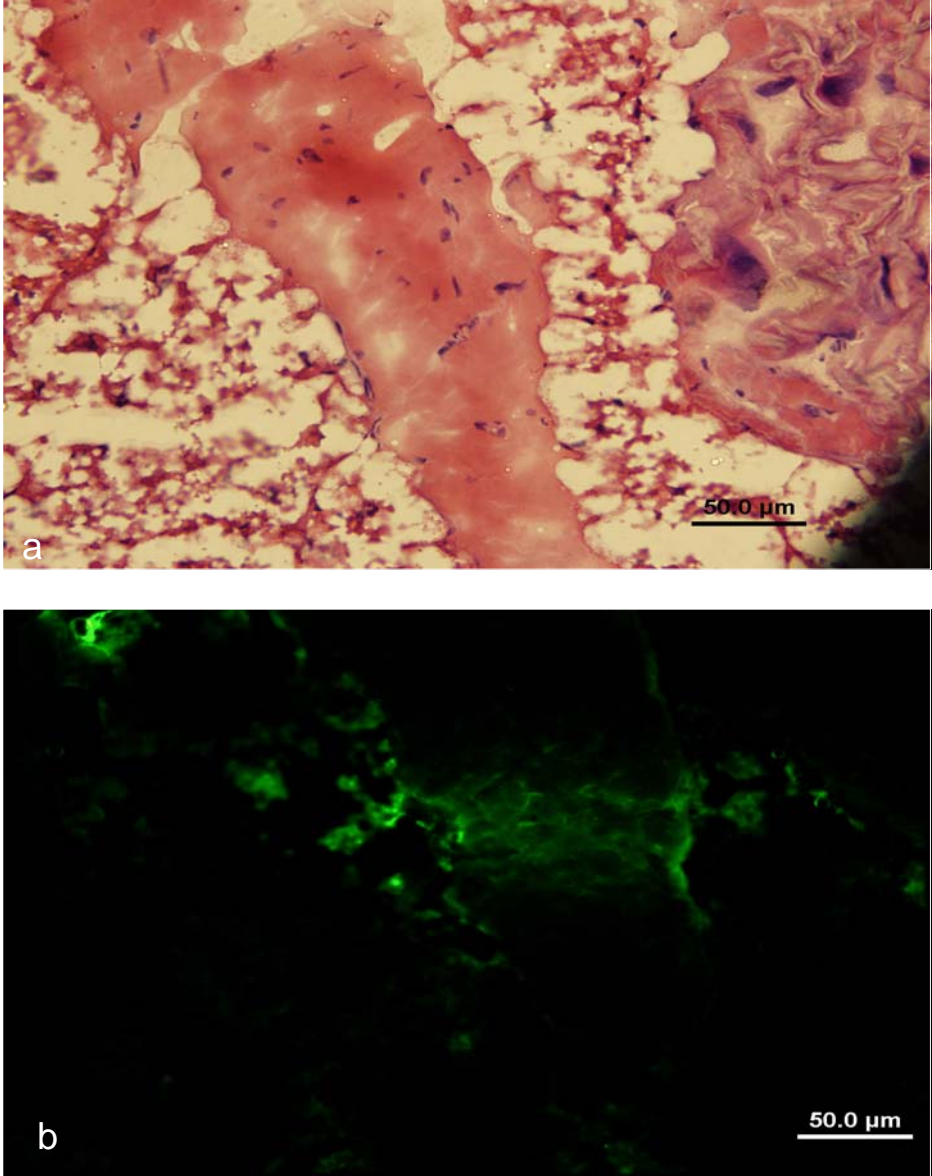


**Şekil 3.10** Hareketsiz prepupa baş kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LFA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.





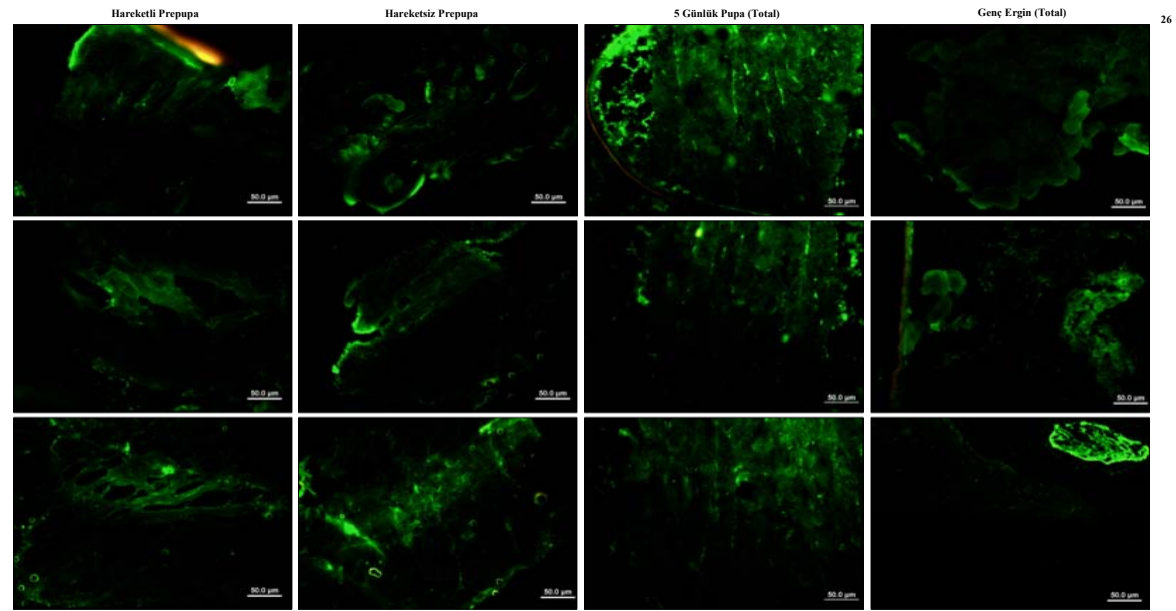
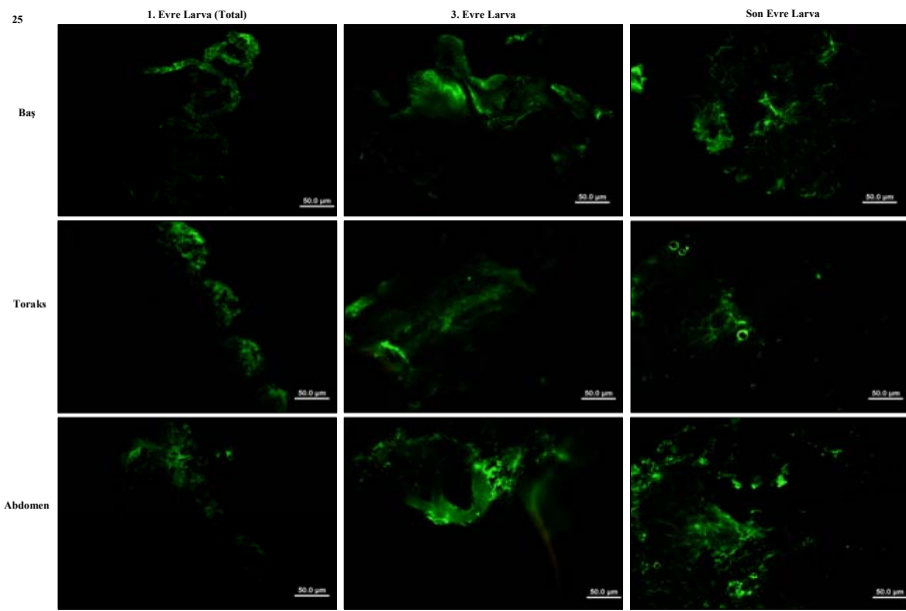
**Şekil 3.11** Hareketsiz prepupa toraks kas dokusunun hematoksilin-eosin ile boyanmış (a) ile aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri.



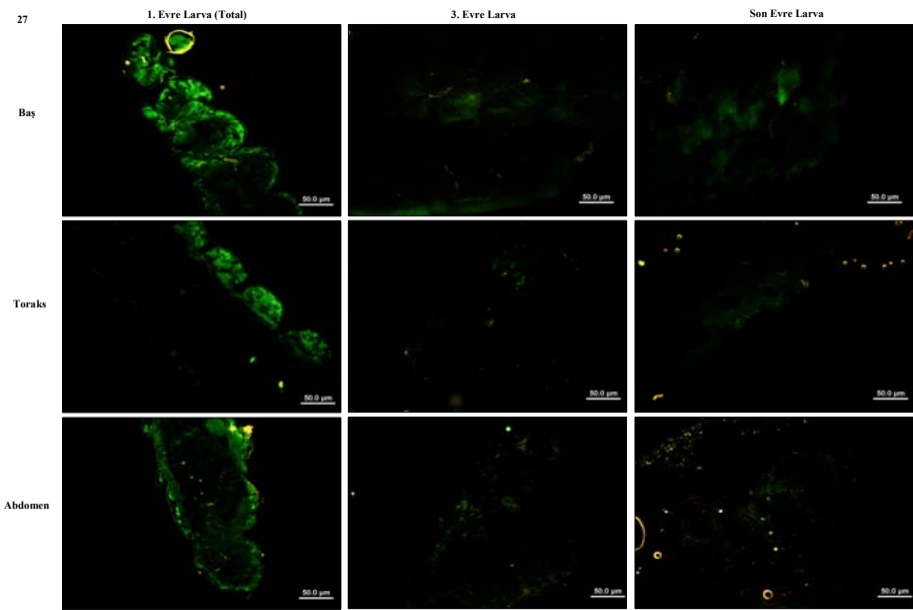
**Şekil 3.12** Hareketsiz prepupa abdomen kas dokusunun hematoksilen-eosin ile boyanmış (a) ve aynı bölgenin LPA ile işaretlenmiş (b) görüntüleri

Lektinlerin, şeker dizilerindeki glikosidik bağ tipini de tanıma özelliğinden yararlanarak  $\alpha$ -2,3 ve  $\alpha$ -2,6 bağlı Sia'ların gelişmeye bağlı değişiklikleri de araştırılmıştır.

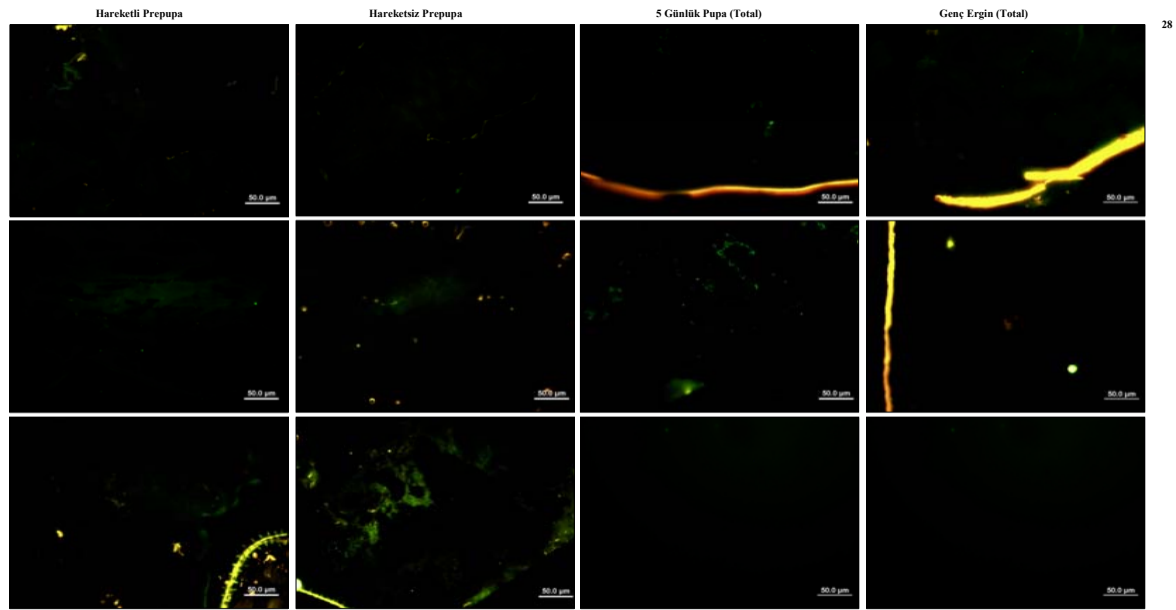
Neu5Ac $\alpha$ -2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc dizisini tanıyan MAA (*Maackia amurensis* agglutinin) ile Neu5Ac $\alpha$ -2,6Gal/GalNAc dizisini tanıyan SNA (*Sambucus nigra* agglutinin) lektinlerinin ışımalarının (Şekil 3.13 ve 3.14) derecelendirilmelerine (Tablo 3.2) göre grafikler (Grafik 3.1, 3.2 ve 3.3) oluşturulmuştur.



Şekil 3.13 *Galleria mellonella* gelişim evrelerinde baş, toraks ve abdomen kaslarında  $\alpha$ -2,3 bağlı sialik aside bağlanan FITC-MAA lektininin ışımaları



Şekil 3.14 *Galleria mellonella* gelişim evrelerinde baş, toraks ve abdomen kaslarında  $\alpha$ -2,6 bağlı sialik aside bağlanan FITC-SNA lektininin ışmaları

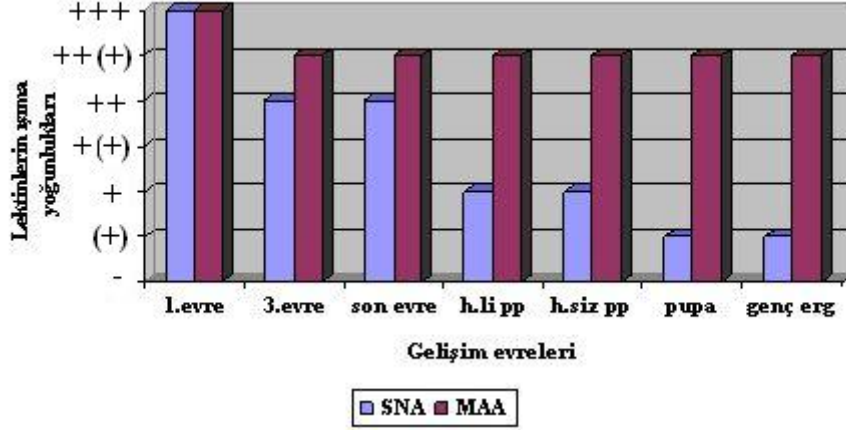


**Tablo 3.2** Farklı evrelerdeki *Galleria mellonella*'nın baş (B), toraks (T) ve abdomen (A) kaslarında, SNA (*Sambucus nigra* agglutinin), MAA (*Maackia amurensis* agglutinin), PNA (*Arachis hypogea*), LFA (*Limax flavus* agglutinin) ve LPA (*Limulus polyphemus* agglutinin) lektinlerinin ışına yoğunlukları

	1. evre larva (total)			3. evre larva (disekte)			Son evre larva (disekte)			Hareketli prepupa (disekte)			Hareketsiz prepupa (disekte)			5 günlük pupa (total)			Genç ergin (total)			
	B	T	A	B	T	A	B	T	A	B	T	A	B	T	A	B	T	A	B	T	A	
<b>SNA</b>	+++	+++	+++	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	++	(+)	(+)	-	(+)	(+)	-	
<b>MAA</b>	+++	+++	+++	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)
<b>PNA</b>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<b>LFA</b>	0	0	0	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	0	0	0	0	0	0	0
<b>LPA</b>	0	0	0	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	0	0	0	0	0	0	0

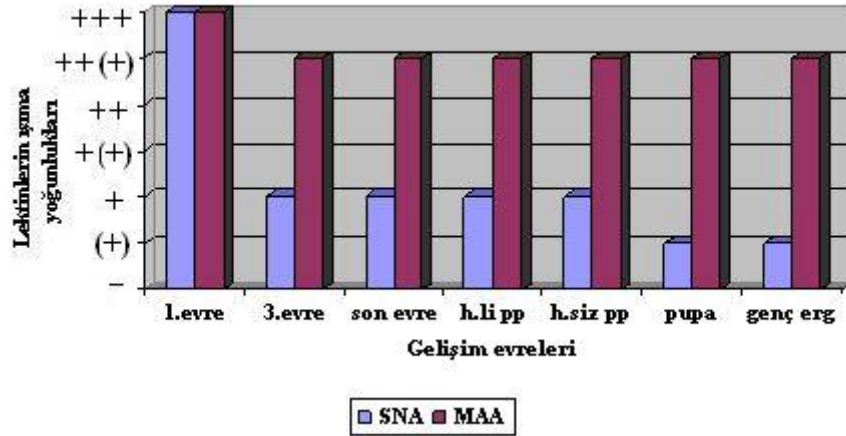
- 0 : Deneme yapılamadı  
 - : İşaretlenme yok  
 (+) : Çok zayıf işaretlenme  
 + : Zayıf işaretlenme  
 ++ : Orta dereceli işaretlenme  
 +++ : İyi işaretlenme  
 +++(+) : Çok iyi işaretlenme  
 +++ : Mükemmel işaretlenme

## BAŞ KASLARI



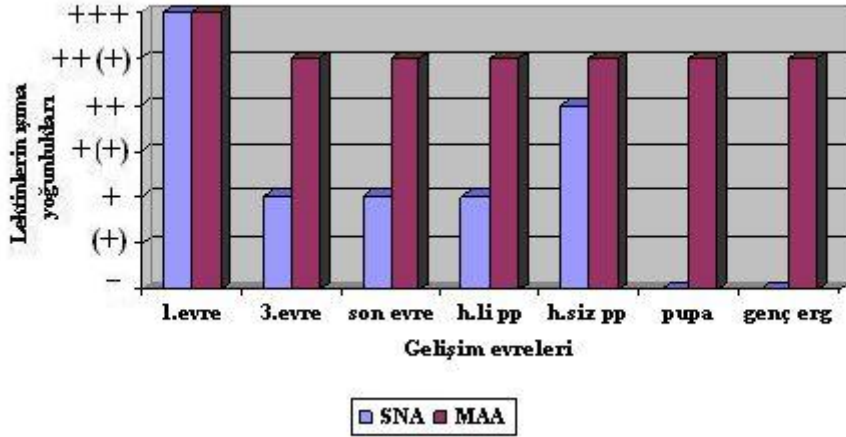
Grafik 3.1 Baş kaslarındaki SNA ve MAA ışma yoğunluklarının karşılaştırılması.

## TORAKS KASLARI



Grafik 3.2 Toraks kaslarındaki SNA ve MAA ışma yoğunluklarının karşılaştırılması.

## ABDOMEN KASLARI



**Grafik 3.3** Abdomen kaslarındaki SNA ve MAA ışımaya yoğunluklarının karşılaştırılması.

Çok küçük olan birinci devre larvada baş, toraks ve abdomen kaslarının dışarıya çıkarılmasının güçlüğü nedeniyle uygulama bütün larvaya, diğer devrelerde ise çıkarılmış kaslara yapılmıştır.

SNA ve MAA lektinlerinin ışması en yoğun 1. devre larvaların baş, toraks ve abdomenlerinde bulunmuştur (**Grafik 3.1, 3.2, 3.3**).

Gelişmenin arkadan gelen devrelerinde baş ve toraks kaslarında MAA lektin ışması birinci devreye göre biraz azalarak fakat kararlı şekilde devam etmektedir (**Grafik 3.1, 3.2**).

Abdomen kaslarında ise ışımaya önemli ölçüde azalmıştır. Fakat kaybolmadan kararlı şekilde görülmektedir (**Grafik 3.3**).

Baş kaslarında SNA lektin ışması, 3. ve son evre larvada, 1. evreye göre daha az ancak her iki evrede benzer şekilde; hareketli ve hareketsiz prepupada ise önceki gelişim evrelerine göre daha zayıf fakat yaklaşık olarak birbiriyle eşit biçimde görülmektedir. Genç ergin



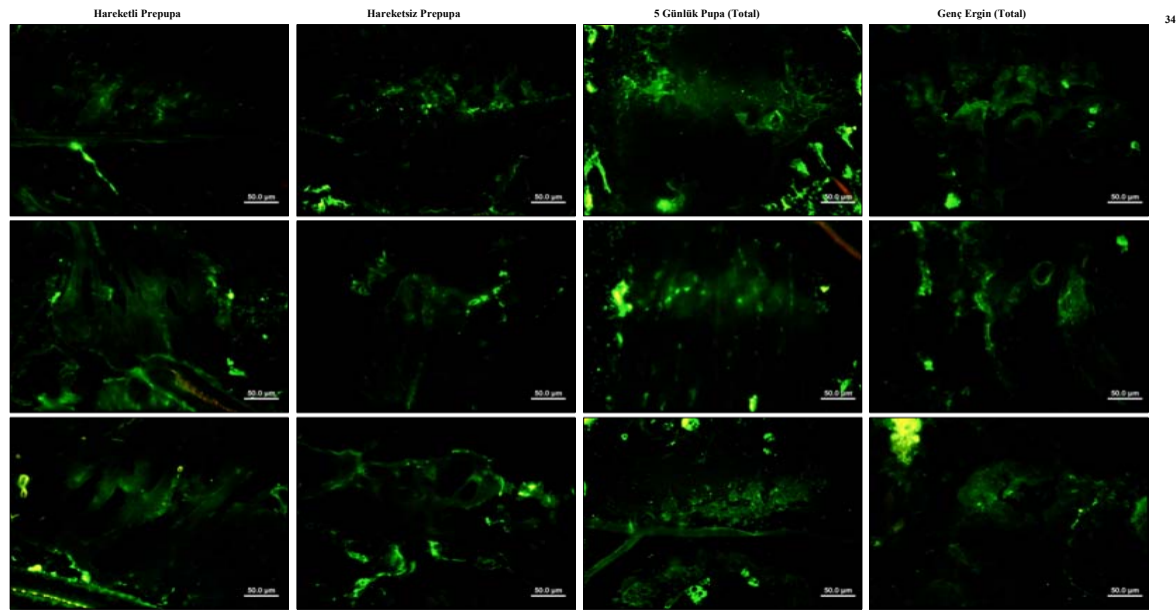
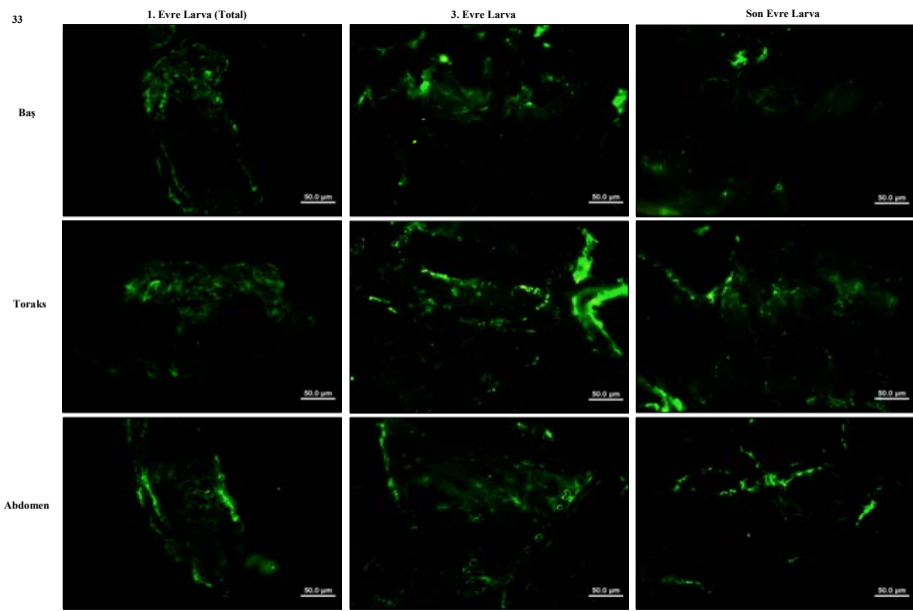
ve pupa baş kaslarındaki ışımaya yoğunluğu, diğer evrelere göre en az seviyede fakat birbiriyle benzer şekildedir (**Grafik 3.1**).

3. evre larva, son evre larva, hareketli prepupa ve hareketsiz prepupanın toraks kaslarında SNA ışımaya, 1. evreye göre daha az olmakla birlikte kendi içerisinde kararlı bir şekilde devam etmektedir. Pupa ve genç erginde ise ışımaya birbiriyle eşit yoğunlukta ancak diğer evrelere göre en az seviyede izlenmektedir (**Grafik 3.2**).

Abdomen kaslarında SNA lektininin işaretlenme yoğunluğu, 3. evre larva, son evre larva ve hareketli prepupada benzer ve 1. evreye göre daha azdır. Hareketsiz prepupadaki hafif bir işaretlenme artışından sonra pupa ve genç ergin abdomen kaslarında herhangi bir SNA işaretlenmesi görülmemektedir (**Grafik 3.3**).

### **3.2. Galaktoz Bağlayan Lektinler**

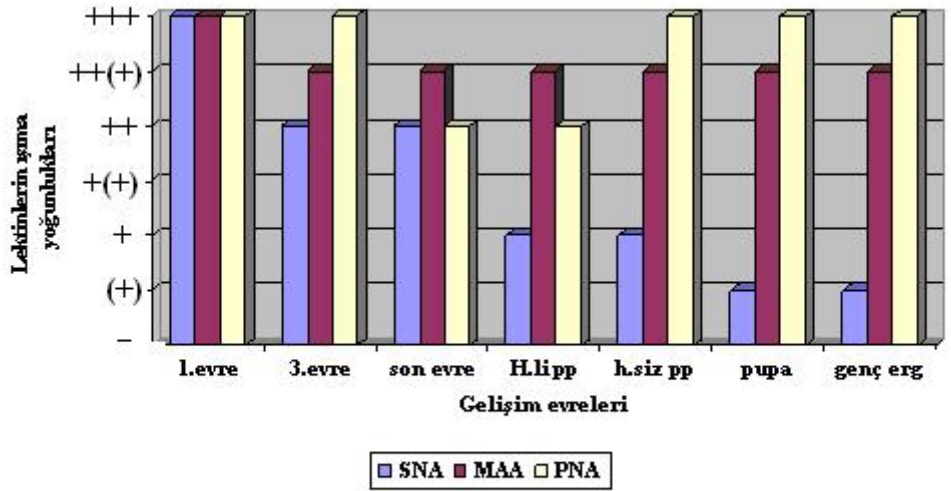
Gal $\beta$ 1,3GalNAc veya Neu5Ac $\alpha$ -2,6Gal.GalNAc şekerlerine özgün FITC bağlı PNA (*Arachis hypogea*) lektininin, son evre larva ve hareketli prepupa evreleri dışındaki bütün evrelerde ve her evrenin baş, toraks ve abdomeninde oldukça güçlü ve yaklaşık olarak eşit yoğunluklarda işaretlenme gözlenmiştir. Son evre larva ve hareketli prepupanın ise toraks ve abdomen kaslarında, diğer evrelerle benzer bir işaretlenme görülürken; başta ise toraks ve abdomene göre daha zayıf bir işaretlenme bulunmuştur (**Şekil 3.15**).



Şekil 3.15 *Galleria melonella* gelişim evrelerinde baş, toraks ve abdomen kaslarında Galaktoz şekerine bağlanan FITC-PNA lektininin ışması

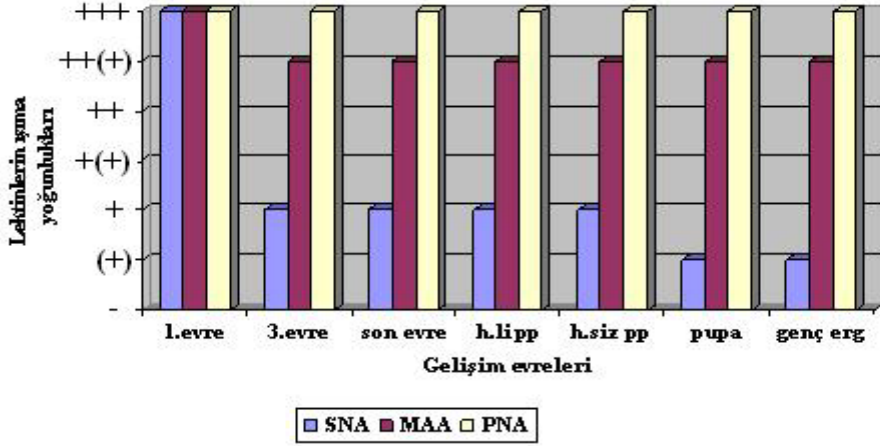
PNA lektininin gösterdiği ışımının, 1. evre larvada bütün bölgelerde MAA ve SNA ile eşit olduğu, diğer bütün evrelerin toraks ve abdomen kaslarına MAA ve SNA'ya göre daha yoğun; baş kaslarında ise 3. evre larva, hareketsiz prepupa, pupa ve genç erginde yine MAA ve SNA'ya göre daha yoğun ışıma gösterdiği görülmüştür. Bunun yanında, son evre larva baş kasındaki PNA ışımının, SNA ışımına ile eşit, MAA ışımına göre daha zayıf olduğu; hareketli prepupa baş kaslarında ise SNA ışımına göre daha yoğun, MAA ışımına göre daha zayıf olduğu belirlenmiştir (**Grafik 3.4, 3.5, 3.6**).

## BAŞ



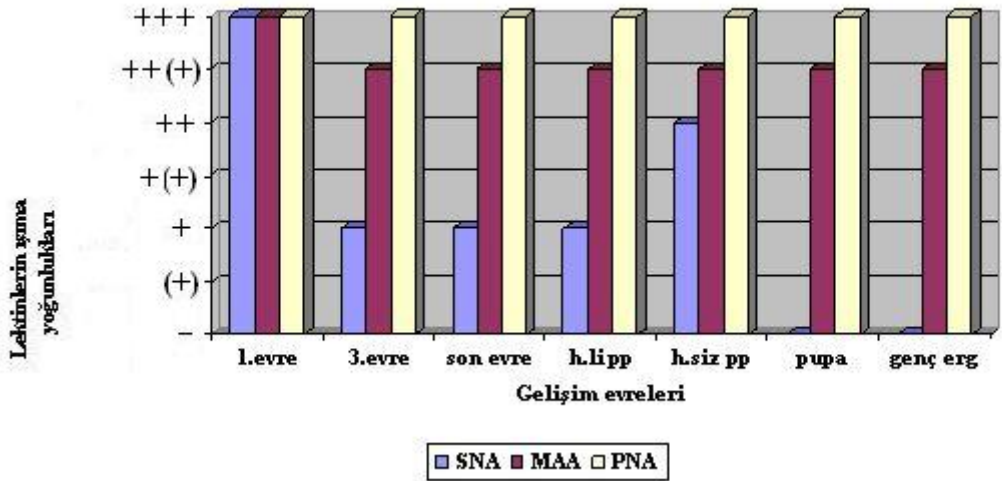
**Grafik 3.4** Baş kaslarındaki SNA, MAA ve PNA ışıma yoğunluklarının karşılaştırılmaları.

## TORAKS



**Grafik 3.5** Toraks kaslarındaki SNA, MAA ve PNA ışımaya yoğunluklarının karşılaştırılmaları.

## ABDOMEN



**Grafik 3.6** Abdomen kaslarındaki SNA, MAA ve PNA ışımaya yoğunluklarının karşılaştırılmaları.

Sonuç olarak; Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc dizisi yumurtadan yeni çıkmış larvadan ergine kadar tüm bölge ve devrelerde, gelişme ilerledikçe azalarak bulunmaktadır. Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc dizisi ise genç evrelerde daha yoğun bulunur. Gelişme ilerledikçe baş ve toraks bölgelerinde azalırken abdomen bölgesinde tamamen kaybolur. Gal $\beta$ 1,3GlcNAc dizisi şekerlerin dağılışımda bölgelere ve gelişme evrelerine göre önemli fark bulunmamaktadır.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

**Böcek kas dokularında** Sia' ların varlığı ile ilgili daha önce yapılmış bir tek çalışma bulunmaktadır. O da *L. migratoria'* nın erkek ve dişi kanat kaslarında, grup yetiştirilen erkeklerde diğerlerinden üç kat fazla olmak üzere spektrofotometrik olarak total Sia'nın belirlenmesidir (Karaçalı ve ark., 1995b). Gelişmeyle ilişkili olarak diğer omurgasızların kas dokusunda da Sia varlığı ve değişiklikleriyle ilgili bir bilgiye ulaşılamamıştır. Bununla beraber çeşitli omurgalıların kas dokularında Sia' ların varlığı çeşitli yöntemlerle gösterilmiş, olası görevleri tartışılmış ve hatta Sia metabolizmasında meydana gelen aksamaların insan kas hastalıklarındaki rolleri araştırılmaya başlanmıştır. Omurgalı kaslarında yapılmış Sia çalışmaları aşağıdadır.

Hücrelerin çevreleriyle tanıma ve tutunma gibi, çeşitli ilişkilerinin düzenlenmesinden sorumlu olan **Sia'**lar piliç, sıçan, tavşan ve insanı da içine alan çeşitli **omurgalıların embriyonik ve ergin kas hücrelerinde** bulunmaktadır. Bazı kaslarda Sia miktarları belirlenmiştir. Örneğin, tavşan kas hücreleri gangliosidlerinde Sia'ların sfingosinlere göre molar oranları belirlenmiştir (Lassaga ve ark., 1972) Sıçan kas hücrelerinde her mg kas dokusu için 10-25 nmol zara bağlı Sia'ların bulunduğu hesaplanmıştır (Andrew ve Appel, 1973). Sia' lar kas hücreleri arasında tutunmada rol oynayabilirler. Ancak bu konuda zıt bildirimler bulunmaktadır. Piliç embriyonik kas hücrelerinde Sia'ların uzaklaştırılması örneğin Kemp (1970) tarafından tutunmayı azalttığı bildirilirken, McQuiddy ve Lilien (1971) tarafından tutunmadan sorumlu olmadığı ileri sürülmüştür. Sıçan iskelet kaslarından izolasyonu yapılmış zar fraksiyonlarında en yüksek Sia

konsantrasyonuna sahip olan fraksiyonların aynı zamanda yüksek  $\text{Na}^+\text{K}^+(\text{Mg}^{++})$  ATPaz ve  $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$  ATPaz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Andrew ve Appel, 1973). Yüksek  $\text{Na}^+\text{K}^+(\text{Mg}^{++})$  ATPaz ve Sia içeren zarlar yeni sinirsel bağlantıların kurulması amacıyla asetilkolin reseptörlerinde artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Sia'ların karboksil ve gliserol grupları  $\text{Ca}^{++}$  bağlama yerleri için uygun olduğundan (Jaques ve ark., 1977) Langer (1984) kas hücre yüzeyinde Sia'ların  $\text{Ca}^{++}$  bağlamadaki rollerine dikkatleri çekmiştir.  $\text{Ca}^{++}$  bağlanmasından sorumlu olarak düşünülen Sia'ların sıçan iskelet kas hücreleri yüzeylerinde varlığı lektin histokimyası ile işaretlenerek elektron mikroskobunda gösterilmiştir (Bonilla ve Maggio, 1987). Yakın zamanda tanımlanmış CD 164 isimli sialomusunin iskelet kasında da bulunduğu, kültürü yapılan myoblastların farklılaşmasında, hücre bağlantılarının düzenlenmesinde ve şekerlere dayalı tanıma olaylarında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Lee ve ark., 2001). Son yıllarda dikkatler, insan kas hastalıklarında Sia biyosentez metabolizmasındaki aksamalar ile ilişkili enzimlerin yapıları ve kontrollerine (Salama ve ark., 2005) yöneltilmiştir. Sonuç olarak çeşitli omurgalı kas hücre yüzeylerinde Sia bulunmaktadır. Negatif yükler oluşturan Sia'ların hücre yüzeylerinde  $\text{Ca}^{++}$  bağlanma yerleri olarak iş görerek kas hücrelerinin uyarılmasında (Bonilla ve Maggio, 1987) rol oynaması da mümkündür. Gelişmeye bağlı Sia tipleri değişiklikleri hakkında kas dokusunda yapılmış herhangi bir çalışma bulunmadığından karşılaştırmalar diğer dokulardaki bilgilerle yapılmıştır.

**İki farklı glikosidik bağla bağlı Sia'** lar olasılıkla farklı görevleri gerçekleştirir. Böyle düşünülmesinin nedeni, çeşitli dokuların farklı bölgelerinde belirgin şekilde farklı yer almalarıdır (Ito ve ark., 1997; Sasaki ve ark., 2002; Hatakoyama ve ark., 2005). Hatta hücre polarizasyonu ile ilişkili olarak farklar görülmektedir (Ulloa ve Real, 2001). Bölgesel dağılışı yaşla da değişerek (Sasaki ve ark., 2002) olasılıkla farklı reseptörler olarak rol oynarlar.

*G. mellonella'* nın gelişen kas dokularında iki farklı glikosidik bağla bağlanan Sia'ların ikisi de ilk larval evrede, yani en genç kas dokularında en yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. Arkadan gelen evrelerde  $\alpha$ -2,3 bağlı Sia hafif bir azalmayla kararlı şekilde bütün devrelerde bulunur.  $\alpha$ -2,6 bağlı Sia ise 3. evreden başlayarak gittikçe azalır ve pupa ve genç erginlerin abdomen kaslarında tamamen gözden kaybolur. Böylece Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc, baş ve toraks kaslarındaki değişmeyi de göz önünde bulundurarak genç devrelerde daha çok bulunan Sia tipi olarak görülür. Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc dizisine sahip olan Sia'ların genç *Macrobracium rosenbergii* hemositlerinde (Sierra ve ark., 2001), fare timus bezi hücre yüzeylerinde (Alvarez ve ark., 1999), sıçan ince bağırsak hücrelerinde (Dal ve ark., 2002), insan solunum sisteminde (Nicholls ve ark., 2007) daha fazla bulunuşu, *G. mellonella'*nın genç evrelerinde daha fazla bulunmasıyla uyumaktadır. Ayrıca insan neoplastik kolon mukozasında, yani gençleşen mukozada daha fazla bulunması da (Sata ve ark., 1991) uyumludur. Bununla beraber, insan olgun timositlerin yüzeyine  $\alpha$ -2,6 bağlı Sia'ları tanıyan lektinler bağlanır (Baum ve ark., 1996).



Çeşitli böcek dokularında örneğin, sinir sisteminde (Krull ve ark., 1991), hemositlerde (Nardi ve ark., 2003; Nardi, 2004; Nardi ve ark., 2005), embriyonik hücreler arası matrikste (Montell ve Goodman, 1988, 1989), musinlerde (Karoyem ve ark., 2004) galaktoz şekerin varlığı PNA lektin işaretlenmesiyle bulunmuştur. Galaktoz şekerin böcek kas dokularında da varlığı bu çalışma ile gösterilmiştir. Sıçan kalp kası (Lawrenson ve ark., 2000) ve insan iskelet kası (Sergio ve ark., 1981) plazma zarlarında PNA ile oluşan yoğun boyanmanın nöraminidaz uygulamalarından sonra arttığı bulunmuştur. PNA ayrıca distal miyopati bireylerin iskelet kası plazma zarlarını da yoğun boyar. Bunlara ek olarak omurgalıların çeşitli hücrelerinde örneğin yumurta hücresi (Aviles ve ark., 1994), sperm (Saez ve ark., 1999) ve limfosit (Wu ve ark., 1996, 1997; Galvan ve ark., 1998) ve diğer hücre tiplerinde farklılaşmış ve farklılaşmamış hücreleri ayıran bir işaret molekülü olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre farelerde, olgunlaşmamış timositlerde PNA işaretlenmesinin gözlenmezken, olgun timositlerde buna zıt bir durum ortaya çıktığı belirlenmiştir (Balcan ve ark., 2008). Bunun nedeni olarak da olgunlaşmış timositlerdeki glikoproteinlerin sialilasyonunun arttığı ve PNA'nın bağlandığı galaktoz şekerinin maskelendiği gösterilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada, böcek kas dokularında flüoresan işaretli lektinler yardımıyla iki farklı glikosidik bağla bağlanmış Sia'ların (Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc ve Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc) bütün bölgelerde bulunduğu ve gelişme süreciyle ilişkili olarak değişiklikleri ilk defa gösterilmiştir. Böcek dokularında yaygın şekilde yer alan

galaktozun da *G. mellonella*' nın baş, toraks ve abdomen kaslarında tüm gelişme evrelerinde kararlı şekilde bulunduğu gösterilmiştir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Acheson, A., Sunshine, J. L., Rutishauser, U.,** 1991, NCAM polysialic acid can regulate both cell-cell and cell-substrate interactions, *J. Cell Biol.*, 114:143-153
- Achim, Paululat A., Breuer, S., Renkawitz-Pohl, R.,** 1999, Determination and Development of the Larval Muscle Pattern in *Drosophila melanogaster.*, *Cell Tissue Res.*, 296, 151-160.
- Alvarez, G., Lascurain, R., Perez, A., Degand, P., Montano, LF., Martinez-Cairo, S., and Zenteno, E.,**1999, Relevance of Sialoglycoconjugates in Murine Thymocytes During Maturation and Selection in the Thymus., *Immunol Invest*, 28 (1): 9-18.
- Andrew, C. G., Apel, S. H.,** 1973, Macromolecular Characterization of Muscle Membranes- I. Proteins and Sialic Acid of Normal and Denaturated Muscle., *The Journal of Biological Chemistry*, 248 (25): 5156-5163.
- Arnold, H. H., Braun, T.,** 1993, The Role of Myf-5 in Somitogenesis and the Development of Skeletal Muscles in Vertebrates., *Journal of Cell Science*, 104, 957-960
- Ashwell, G., Morell, A. G.,** 1974, The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 41:99-128
- Balcan, E., Tuğlu, İ, Şahin, M., Toparlak, P.,** 2008, Cell Surface Glycosylation Diversity of Embryonic Thymic Tissues, *Acta Histochemica*, 110: 14-25.

- Acheson, A., Sunshine, J. L., Rutishauser, U.,** 1991, NCAM polysialic acid can regulate both cell-cell and cell-substrate interactions, *J. Cell Biol.*, 114:143-153
- Balcan, E., Gümüş, A., Şahin, M., Toparlak, P.,** The Glycosylation Status of Mucin Postnatal Thymus: A Study by Histochemistry and Lectin Blotting., *J. Mol. Hist.*, basımda.
- Bate, M.,** 1990, The Embryonic Development of Larval Muscles in *Drosophila*, *Development*, 110, 791-804.
- Baum, L. G., Derbin, K., Perillo, N. L. Wu, T., Pong, M., Uittenbogaart, C.,** 1996, Characterization of Terminal Sialic Acid Linkages on Human Thymocytes- Correlation Between Lectin Binding Phenotype and Sialyltransferase Expression., *The Journal of Biological Chemistry*, 271 (18): 10793-10799.
- Baum, L. G., Paulson, J. C.,** 1990, Sialyloligosaccharides of the respiratory epithelium in the selection of human influenza virus receptor specificity, *Acta Histochem Suppl*, 40:35-8
- Baum, L. G.,** 2002, Developing a Taste for Sweets, *Immunity*, 16:5-8.
- Baylies, M. K., Bate, M., Gomez, M.,** 1998, Myogenesis: A View from *Drosophila*., *Cell*, 93, 921-927.
- Boland, R.C., Montgomery, C.K., and Kim, S.Y.,** 1982, Alterations in Human Colonic Mucin Occuring with Cellular Differentiation and Malignant Transformation., *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 2051-2055.
- Bonilla, E., Moggio, M.,** 1987, Electron Cytochemical Study of the Muscle , *Histochemistry*, 86: 503-507.

- Acheson, A., Sunshine, J. L., Rutishauser, U.,** 1991, NCAM polysialic acid can regulate both cell-cell and cell-substrate interactions, *J. Cell Biol.*, 114:143-153
- Borycki, A.G., Emerson, C. P.,** 1997, Muscle Determination: Another Key Player in Myogenesis?, *Current Biology* 7, R620-R623.
- Brooks, SA., Dwek, MV. and Schumacher, U.,** 2002, Functional and Molecular Glycobiology., BIOS Scientific Publishers
- Carrino, D.A., Sorrell, J.M., Caplan, A.I.,** 1999, Dynamic Expression of Proteoglycans During Chicken Skeletal Muscle Development and Maturation., *Poultry Science* 78, 769-777.
- Chou, H.-H., Takematsu H., Diaz S., Iber, I., Nickerson, E.,** 1998, A Maturation in Human CMP-Sialic Acid Hydroxylase Occured After the Homo-Pan Divergence., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 95: 11751-11756.
- Corfield, A. P., Schauer, R.,**1982, Occurrence of sialic acids, *Sialic Acids*, 5-55.
- Cossu, G., Kelly, R., Tajbakhsh, S., Di Dona, S., Vivarelli, E., Buckingham, M.,** 1996, Activation of Different Myogenic Pathways: myf5 is Induced by the Dorsal Ectoderm in Mouse Paraxial Mesoderm., *Development* 122, 429-437.
- Cripps, R. M., Black, B. L., Zhao, B., Lien, C.L., Schulz, R. A., Olson, E. N.,** 1998, The Myogenic Regulatory Gene Mef2 is a Direct Target for Transcriptional Activation by Twist During Drosophila Myogenesis., *Genes and Dev.*, 12, 422-434.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Czyz –Anna, J., Wobus, M.,** 2001, Embryonic Stem Cell Differentiation: The role of Extracellular Factors., *Differentiation* 68, 167- 174.
- D’Amico, P., Jacob, J. R.,** 1995, Lectin histochemistry of the *Drosophila* embryo, *Tissue Cell*, 27:23-30.
- Dai, D., Nanthakumar, N. N., Savidge, T. C., Newburg, D. S., Walker, W. A.,** 2002, Region-specific ontogeny of alpha-2,6-sialyltransferase during normal and cortisone-induced maturation in mouse intestine, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 282: G480-G490.
- Dent, J. A., Polson, A. G., Klymkowsky, M.W.,** 1989, A Whole-Mount Immunocytochemical Analysis of the Expression of the Intermediate Filament Protein Vimentin in *Xenopus*., *Development*, 105, 61-74.
- Deveci, R., Karaçalı, S.,** 2006, Hücre İçi Şekerlerin Lektinle Belirlenmesi., TÜBİTAK Projesi TBAG-HD/51 (105T263), 24 sayfa.
- Deveci, R.,** 1997, *Galleria mellonella* (Lepidoptera)’nın Gelişen Testislerinde Testis Duvarı, Foliküller, Kan-Germ Hücre Bariyerlerinin İnce Yapısı ve Glycoconjugatların Histokimyasal, Sitokimyasal, Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi, (Doktora Tezi), E.Ü. Fen BilimleriEnstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova-İzmir, 130s.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Deveci, R.**, Protorasik Bezlerdeki Hemosit Reseptörünün Belirlenmesi, TÜBİTAK Projesi, TBAG-AY/214, **2001**
- Du, S. J., Gao, J., Anyangwe, V.**, 2003, Muscle-Specific Expression of Myogenin in Zebra Fish Embryogenesis Controlled by Multiple Regulatory Elements in the Promoter., *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 134, 123-134.
- Dutkowski, A.B.**, 1977, The Ultrastructure and Ultracytochemistry of the Basement Membrane of the *Galleria mellonella* fat body., *Cell Tissue Res.*, 176 (3): 417-29
- Dybowska, H.E. and Dutkowski, A.B.**, 1977, Ruthenium Red Staining of the Neural Lamella of the Brain of *Galleria mellonella*., *Cell Tissue Res.*, 176 (2): 275-284
- Finlayson, L.H.**, 1956, Normal and Induced Degeneration of Abdominal Muscles During Metamorphosis in the Lepidoptera, Quarterly., *Journal of Microscopical Science*, 97, 215-233.
- Fischer, D., Kissel, T.**, 2001, Histochemical Characterization of Primary Endothelial Cells from Porcine Brains Using Monoclonal Antibodies and FITC Labelled Lectins: Implications for Drug Delivery., *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.*, 52, 1-11.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Fröblius, A.C., Kanost, M.R., Götz, P., and Vilcinskis, A.,** 2000, Isolation and Characterization of Novel Inducible Serine Protease Inhibitors from Larval Hemolymph of the Greater Wax Moth *Galleria melonella.*, *European Journal of Biochemistry*, 267 (7): 2046-2053
- Fukuda, M.,** 1996, Possible roles of tumor-associated carbohydrate antigens, *Cancer Res.*, 56:2237-2244
- Galvan, M., Murali- Krishna, K., Ming, L. L., Baum, L., Ahmed, R.,** 1998, Alternations in Cell Surface Carbohydrates on T Cells from Virally Infected Mice Can Distinguish Effector/Memory CD8+ Tcells from Naive Cells. *J. Immunol.*, 161(2): 641-648.
- Gilbert, S.F.,** 1997, *Developmental Biology.*, Fifth Ed. Sinouer Associates, Inc. Sunderland Massachusetts USA, 956 pages
- Gillespie, W., Paulson, J. C., Pang, M., Kelm, S., Baum, L. G.,** 1993, Regulation of  $\alpha$ 2,3 sialyltransferase expression correlates with conversion of PNA+ to PNA- Phenotype in Developing Thymocytes., *J. Biol. Chem.* 268, 3801-3804.
- Godfrey, E.W., Gradall, K.S.,** 1998, Basal Lamina Molecules are Concentrated in Myogenic Regions of the Mouse Limb Bud., *Anat.Embryol.* 198, 481.
- Guan, K., Rohwedel, J., Wobus, A. M.,** 1999, Embryonic Stem Cell Differentiation Models: Cardiogenesis, Myogenesis, Neurogenesis, Epithelial and Vascular Smooth Muscle Cell Differentiation in vitro., *Cytotechnology* 30, 211-226.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Hakomori, S.**, 1989, Aberrant glycosylation in tumors and tumor-associated carbohydrate antigens, *Adv. Cancer Res.*, 53:257-331
- Halevy, O., Monsonogo, E., Marcelle, C., Hodik, V., Mett, A., Pines, M.**, 1994, A New Avian Fibroblast Growth Factor Receptor in Myogenic and Chondrogenic Cell Differentiation., *Experimental Cell Research*, 212, 278-284.
- Hatakeyama, S., Sakai-Tagawa, Y., Kiso, M., Goto, H., Kawakami, C., Mitamura, K., Sugaya, N., Suzuki, Y., Kawaoka, Y.**, 2005, Enhanced Expression of an  $\alpha$ 2,6-Linked Sialic Acid on MDCK Cells Improves Isolation of Human Influenza Viruses and Evaluation of Their Sensitivity to a Neuraminidase Inhibitor, *J Clin Microbiol*, 43(8): 4139–4146.
- Hooper, J.E.**, 1986, Homeotic Gene Function in the Muscles of Drosophila Larvae., *The EMBO Journal* ,5 (9), 2321-2329.
- Inoue, S., Lin, S.-L., Chang, T., Wu, S.-H., Yao, C.-W., Chu, T.-Y., Troy, F. A., Inoue, Y.**, 1998, Identification of Free Deaminated Sialic Acid (2-Keto-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nononic Acid) in Human Red Blood Cells and Its Elevated Expression in Fetal Cord Red Blood Cells and Ovarian Cancer Cells, *J Biol Chem*, 273(42):27199-27204.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Ito, T., Suzuki, Y., Takada, A., Kawamoto, A., Otsuki, K., Masuda, H., Yamada, M., Suzuki, T., Kida, H., Kawaoka, Y., 1997,** Differences in sialic acid-galactose linkages in the chicken egg amnion and allantois influence human influenza virus receptor specificity and variant selection, *Journal of Virology*, 71:3357-3362.
- İzzetoğlu, S., 2006,** Bombyx mori'nin Yeni Hemapoietik Organında Nue5Ac(alpha2,3)Gal-beta1,4GlcNAc, Neu5Ac(alpha2,6)Gal/GalNAc, Gal-beta1,3GalNAc ve GalNAc Şekerlerin Altın İşaretli Lektinlerle Belirlenmesi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, 97 sayfa
- Janet, C.Blanks, J. C., Johnson, L.V., 1984,** Specific Binding of Peanut Lectin to a Class of Retinal Photoreceptor Cells., *Investigate Ophthalmology and visual science*, 25, 546-557.
- Jaques, L. W., Brown, E. R., Barrett, J. M., Brwy, WS Jr., Weltner, W. JR., 1977,** Sialic Acid: A Calcium Binding Carbohydrate., *J. Biol. Chem.* 252: 4533-4538.
- Jeffery, W. R., 1993,** Role of Cell Interactions in Ascidian Muscle and Pigment Cell Specification., *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 202, 103-111.
- John, L. Muschler, J.L., Horwitz, A.F., 1991,** Down-Regulation of Chicken  $\alpha_5\beta_1$  Integrin Fibronectin Receptor During Development, *Development* 113, 327-337.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Kaeser, M. D., Emerson, B. M.**, 2006, Remodelling Plans for Cellular Specialization: Unique Styles for Every Room., *Current Opinion in Genetics & Development*, 16, 508-512.
- Karaçalı, S.**, 2003, Glikobiyoloji; Güncel Moleküler Biyoloji., *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 27: 489-495
- Karaçalı, S., Deveci, Ö., Deveci R., Onat, T., ve Gürcü B.**, 1995a, Spectrophotometrical Determination of Sialic acid in Several Tissues of Isolated and Crowded *Locusta migratoria* (Orthoptera)., *İstanbul Üniv. Fen Fak. Biyoloji Der.*, 58:47-57
- Karaçalı, S., Deveci, R., Deveci Ö., Onat, T., ve Gürcü B.**, 1995b, Spectrophotometrical Determination of Sialic acid in the Tissues of *Galleria mellonella* (Lepidoptera)., *İstanbul Üniv. Fen Fak. Biyoloji Der.*, 58:59-67
- Karaçalı, S., Kırmızıgül, S., Deveci, R., Deveci Ö., Onat, T., ve Gürcü B.**, 1997, Presence of Sialic Acid in Prothoracic Glands of *Galleria mellonella* (Lepidoptera)., *Tissue and Cell*, 29: 315-321
- Karaçalı, S., Kırmızıgül, S., Deveci, R.**, 1999, Sialic acid in Developing Testis of *Galleria mellonella* (Lepidoptera)., *Invertebr. Reprod. Dev.*, 35: 225-229
- Karaçalı, S., Deveci R., Pehlivan, S. ve Özcan A.**, 2000, Adhesion of Hemocytes to Desialylated Prothoracic Glands of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) in Larval Stage., *Invertebr. Reprod. Dev.*, 37(2): 167-170.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Karaçalı, S. ve Deveci, R.,** 2001, Protorasik Bezlerdeki Hemosit Reseptörünün belirlenmesi., TÜBİTAK Projesi, TBAG-AY/214, 16 sayfa
- Karaçalı S. ve R. Deveci.** “*Galleria mellonella* (Lepidoptera)’nın Protorasik Bezlerinde Hemositlerin Tanıdığı Şeker Reseptörünün Belirlenmesi”. Birinci Ulusal Glikobiyoloji Kongresi (Temel ve Uygulamalı Alanlarda, Uluslararası Katılımlı), Sayfa 63, 2003.
- Karaçalı, S., Kırmızıgül, S., Deveci, R., Deveci Ö.,** 2003, Presence of Sialic acid in Hemolymph of *Dociostaurus maroccanus* Thun. (Orthoptera: Acrididae)., *Inverteb. Reprod. Dev.*, 43(2): 91-94
- Karaçalı S., Deveci R.,** “Akrilik Reçine (K4M ve HM 20) Kesitlerinde Lektin İşaretleme”, 18. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Eskişehir, 26-29 Ağustos 2007.
- Kelm, S. and Schauer, R.,** 1997, Sialic acids in Molecular and Cellular Interactions., *Int. Rev. Cytol.*, 175: 137-240
- Kemp, R. B.,** 1970, The Effect of Neuraminidase on the Aggregation of Cells Dissociate from Embryonic Chick Muscle Tissue. *J. Cell. Sci.*, 6: 751-766.
- Kim, K., Lawrence, S. M., Park, J., Pitts, L., Vann, W. F., Betenbaugh, M. J., Palter, K. B.,** 2002, Expression of a functional *Drosophila melanogaster* N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) phosphate synthase gene: evidence for endogenous sialic acid biosynthetic ability in insects, *Glycobiology*, 12 (2): 73-83.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Kronnie, G., Reggian, C.**, 2002, Skeletal Muscle Fibre Type Specification During Embryonic Development., *Journal of muscle research and cell motility* 23, 65-69.
- Krull, C. E., Morton, D. B., and Tolber, L. P.**, 1991, Glycoconjugates in The Developing Olfactory System., *Soc. Neurosci. Abstr.*,17,760.
- Langer, G. A.**, (1984) , Calcium at the Sarcolemma., *J Mol Cell Cardiol*, 16: 147-153.
- Lassaga, F. E., Lassaga, A. L., Caputto, R.**, 1972, Rabbit Muscle Gangliosides., 13, *Journal of Lipid Research*.
- Lawrenson, J. G., Cassella, J. P., Hayes, A. J., Firth, J. A., Allt, G.**, 2000, Endothelial glycoconjugates: a comparative lectin study of the brain, retina and myocardium., *J. Anat.*, (196): 55-60.
- Lee, Y.N., Kang, J. S., Kraus, R. S.**, 2001, Identification of a Role for Sialomucin CD164 in Myogenic Differentiation by Signal Sequence Trapping in Yeast., *Molecular and Cellular Biology*, 21 (22): 7696-7706.
- Lis, H., Sharon, N.**, 1993, Protein Glycosylation Structural and Functional Aspects , *Eur. J. Biochem.*, 218, 1-27.
- Malykh, Y. N., Krisch, B., Gerardy-Schahn, R., Lapina, E. B., Shaw, L., Schauer, R.**, 1999, The precence of N-acetylneuraminic acid in Malpighian tubules of larvae of the circada *Philaenus spumarius*, *Glycoconj. J.*, 16:731-739

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- McQuiddy, P., Lilien, J.,** 1971, Sialic Acid and Cell Aggregation., *J. Cell Sci.* 9:823-833.
- Meyer, R., Kirch, D., Achenbach, F.,** 1997, Quantification and Preservation of Lectin Binding by Isolated Cardiomyocytes., *Methods in Cell Science*, 19, 101-106.
- Montell, D. J., and Goodman, C. S.,** 1988, *Drosophila* Substrate Adhesion Molecule: Sequence of Laminin B1 Chain Reveals Domains of Homology with Mouse, *Cell*, 53 (3): 463-473.
- Montell, D. J., and Goodman, C. S.,** 1989, *Drosophila Laminin*: Sequence of B2 Subunit and Expression of All Three Subunits During Embryogenesis. *J Cell Biol.*, 109 (5): 2441-2453.
- Moody, A. M., Chui, D., Reche, P. A., Priatel, J. J., Marth, J. D., Reinherz, E. L.,** 2001, Developmentally Regulated Glycosylation of the CD8 $\alpha\beta$  Coreceptor Stalk Modulates Ligand Binding, *Cell*,(107): 501-512
- Nakayama, S., Suzuki, A., Fujii, S., Yamamoto, R.,** 2001, Sugar Detection with FITC Labeled Lectins in Hemolymph Proteins of the Silk Worm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae)., *Appl.Entomol.Zool.* 36(4), 439-442.
- Nanda, N., Nanthakumar, N., , Dai, D., Meng, D., Chaudry, N., David, S. Newburg, D.S., Walke,r W.A.,** 2005, Regulation of Intestinal Ontogeny: Effect of Glucocorticoids and Luminal Microbes on Galactosyltransferase and Trehalase Induction in Mice., *Glycobiology*, 15 (3): 221-232.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Nardi, J. B., Pilas, B., Ujhelyi, E., Gaesha, K., and Kanost, M. R.,** 2003, Hematopoietic Organs of *Manduca sexta* and Hemocyte Lineages., *Dev. Genes. Evol*, 213 (10): 477-491.
- Nardi, J. B.,** 2004, Embryonic Origins of the Two main Clases of Hemocytes Granular Cells and Plasmacytes in *Manduca Sexta.*, *Dev. Genes Evol.*, 214 (1): 19-28.
- Nardi, J. B., Zhuang, S., Pilas, B., Bee, C. M., Kanost, M. R.,** 2005, Clustering of adhesion receptors following exposure of insect blood cells to foreign surfaces. *J. Insect Physiol.*, 51 (5): 555-564.
- Nicholls, J. M., Bourne, A. J., Chen, H., Guan, Y., Peiris, J. S. M.,** 2007, Sialic acid receptor detection in the human respiratory tract: evidence for widespread distribution of potential binding sites for human and avian influenza viruses, *Respiratory Research*, 8:37.
- Olson, E. N.,** 1990, Myo D Family: a Paradigm for Development?., *Genes & Development* 4, 1454-1461.
- Park, Y.-I., Wood, H. A., Lee, Y. C.,** 1994, Monosaccharide compositions of *Danaus plexippus* (monarch butterfly) and *Trichoplusia ni* (cabbage looper) egg glycoproteins, *Glycoconj. J.*, 16:629-638.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Pena, S. D. J., Gordon B. B., Karpati G., Carpenter S.**, 1981, Lectin Histochemistry of Human Skeletal Muscle., *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 29 (4): 542-546.
- Philippa, H. Francis-West, P. H., Antoni, L., Anakwe, K.**, 2003, Regulation of Myogenic Differentiation in the Developing Limb Bud., *J. Anat.*, 202, 69-81.
- Priatel, J. J., Chui, D., Hiroaka, N., Simmons, C. J., Richardson, K. B., Page, D. M., Fukuda, M., Varki, N. M., Marth, J. D.**, 2000, The ST3Gal-I Sialyltransferase Controls CD8<sup>+</sup> T Lymphocyte Homeostasis by Modulating O-Glycan Biosynthesis. *Immunity* 12, 273-283.
- Przelecka, A. and Dutkowski, A.B.**, 1973, The structure of the Ovariole Wall in *Galleria mellonella*., *Folia Histochem Cytochem (Krakow)*., 11 (3): 269-273
- Ralph, A.W., Rupp, R. A. W., Singhal, N., Veenstra, G. J. C.**, 2002, When the Embryonic Genome Flexes its Muscles-Chromatin and Myogenic Transcription Regulation., *Eur.J.Biochem*, 269, 2294-2299.
- Reshef, R., Maroto, M., Lassar, A.B.**, 1998, Regulation of Dorsal Somitic Cell Fates; BMPs and Noggin Control the Timing and Pattern of Myogenic Regulator Expression., *Genes & Development* 12, 290- 303.



### KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Rogers, G. N., Paulson, J. C.**, 1983, Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin teased on species of origin, *Virology*, 127:361–373
- Roth, J., Kempf, A., Reuter, G., Schauer, R., Gehring, W. J.**, 1992, Occurrence of sialic acids in *Drosophila melanogaster*, *Science*, 256:673-675
- Roy, S., VijayRaghavan, K.**, 1999, Muscle Pattern Diversification in *Drosophila*: the Story of Imaginal Myogenesis., *BioEssays*, 21, 486-498.
- Sabourin, L.A., Rudnicki, M.A.**, 2000, The Molecular Regulation of Myogenesis., *Clin.Genet.* 57, 16-25.
- Saez, F.J., Madrid, J.F., Cardoso, S., Gomez, L., and Hernandez, F.**, 2004, Glycoconjugates of the Urodele Amphibian Testis Shown by Lectin Cytochemical Methods., *Microsc. Res. Tech.*, 64(1):63-76
- Salama, I., Hinderlich, S., Shlomo, Z., Eisenberg, I., Krause, S., Yarema, K., Argov, Z., Lochmoller, H., Reutter, W., Dabby, R., Sadeh, M., Ben-Bassat, H., Mitrani-Rosenbaum, S.**, 2005, No Overall Hyposialylation in Hereditary Inclusion Body Myopathy Myoblasts Carrying the Homozygous M712T GNE mutation., *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 328: 221-226.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Sasaki, T., Akimoto, Y., Sato, Y., Kawakami, H., Hirano, H., Endo, T.,** 2002, Distribution of **Sialoglycoconjugates** in the Rat Cerebellum and Its Change with Aging, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50:1179-1186.
- Sata, T., Roth, C., Stamm, B., Heitz, P. U.,** 1991, Expression of alpha 2,6-linked sialic acid residues in neoplastic but not in normal human colonic mucosa. A lectin-gold cytochemical study with Sambucus nigra and Maackia amurensis lectins, *American Journal of Pathology*, 139:1435-1448.
- Schauer, R.,** 1982, Chemistry, Metabolism and Biological Functions of Sialic Acids. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 40: 131-234.
- Schauer, R.,** 1985, Sialic Acids and Their Role as Biological Masks., *Trends Biochem Sci.*, 10, 357-360
- Schauer, R., Kelm, S., Reuter, G., Roggentin, P., Shaw, L.,** 1995, Biochemistry and role of sialic acids, *Biology of Sialic Acids*, 7-76
- Schauer, R., Kammerling, J. P.,** 1997, Chemistry, biochemistry and biology of sialic acids, *Glycoproteins II*, 243-402
- Schauer, R.,** 2000, Achievements and Challenges of Sialic Acid Research., *Glycoconjugate Journal*, 17: 485-499
- Schauer, R.,** 2001, The Occurrence and Significance of Sialic Acids in Insects., *Trend Glycosci. Glyc.*, 13: 507-517.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Schauer, R.**, 2004, Victor Ginsburg's Influence on my Research of the Role of the Sialic Acids in Biological Recognition., *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 426: 132-141
- Schumacher, U., and Mitchell, B. S.**, 1998, Use of Fluorochrome-Labeled Lectins in Light microscopy Lectin methods and protocols, *Humana Press enc.*, Totowa, NJ.
- Serna, I. L., Roy, K., Carlson, K. A., Imbalzano, A.N.**, 2001, MyoD Can Induce Cell Cycle Arrest but not Muscle Differentiation in the Presence of Dominant Negative SWI/SNF Chromatin Remodeling Enzymes, *JBC papers in Pres. Published on August 24, as Manuscript M107281200.*
- Sierra, C., Guevara, J., Lascurain, R., Perez, A., Agundis, C., Zenteno, E., Vazquez, L.**, 2001, Sialylation is modulated through maturation in hemocytes from *Macrobrachium rosenbergii*, *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 130 (2):179-89.
- Smith, D.S.**, 1966, The Structure of Intersegmental Muscle Fibers in an Insect, *Periplaneta americana* L., *The journal of cell biology*, 29, 449-459.
- Smith, D. S., Gupta, B. L., Smith, U.**, 1966, The Organization and Myofilament Array of Insect Visceral Muscles., *Journal of cell Science*, I, 49-57.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Şahin, M., Balcan, E., Gümüş, A.,** 2008, Glycoconjugate Histochemistry of mucous gland in the skin at metamorphosing *Bufo viridis*, *Biologia*, 63(3): 1-6.
- Şahin, M., Balcan, E.,** Reggressing amphibian tail as a model for the cadherin/ $\beta$ -catenin complex disruption and glycosylation alteration during epithelial apoptosis, *Acta histochemica*, basımda.
- Tajbakhsh, S., Cossu, G.,** 1997, Establishing Myogenic Identity During Somitogenesis., *Current Opinion in Genetics & Development*, 7, 634-641.
- Tajima, Y., Uyama, Y., Go S., Sato C., Tao, N., Kotani, M., Hino H., Suzuki A., Sanai, Y., Kitajama K., Sakuraba H.,** 2005, Distal Myopathy with Rimmed Vacuoles. Impaired O-Glycan Formation in Muscular Glycoproteins., *American Journal of Pathology*, 166 (4): 1121-1130.
- Takano, R., Muchmore, E., Dennis, J. W.,** 1994, Sialylation and malignant potential in tumour cell glycosylation mutants, *Glycobiology*, 4(5):665-74.
- Takano, T., Matsuzuka, F., Sumizaki, H., Kuma, K., Amino, N.,** 1997, Rapid Detection of Specific Messenger RNAs in Thyroid Carcinomas by Reverse Transcription-PCR with degenerate Primers: Specific expression of oncofetal fibronectin Messenger RNA in papillary carcinoma., *Cancer Res.*, 57: 3792-3797.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Taylor, M.E. and Drickamer, K.,** 2003, Introduction to glycobiology, *Oxford University Pres.* 207 sayfa.
- Thorpe, S. J., Bellairs, R., Feizi, T.,** 1988, Developmental Patterning of Carbohydrate Antigens During Early Embryogenesis of the Chick: Expression of the poly-N-acetylglucosamine Series., *Development*, 102, 193-210.
- Tian, E., Hagen, K. G. T.,** 2007, O-linked Glycan Expression During Drosophila Development., *Glycobiology*, 17 (8), 820-827.
- Ulloa, F., Real, F. X.,** 2001, Differential distribution of sialic acid in alpha2,3 and alpha2,6 linkages in the apical membrane of cultured epithelial cells and tissues, *J Histochem Cytochem*, 49(4):501-10.
- Varki, A.,** 1993, Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct, *Glycobiology*, 3(2):97-130.
- Varki, A.,** 1997, Sialic Acids as Ligands in Recognition Phenomena., *FASEB J. Mar*; 11(4): 248-55.
- Varki, A., Cummings R., Esko, J., Freze, H., Hart, G., and Marth, J.,** 1999, Essentials of Glycobiology., *Cold Spring Harbor Laboratory Pres.*, 653 sayfa
- Velleman, S. G.,** 2002, Role of Extracellular Matrix in Muscle Growth and Development., *J.Animal Science*, 80, (E.Suppl.2), E8-E13.
- Warren L.,** 1963, The Distribution of Sialic Acids in Nature. *Comp. Biochem. Physiol.* 10: 153-171.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Watanabe, M.**, 1981, Discrete Distribution of Binding Sites for Dolichos biflorus Agglutinin (DBA) and for Peanut Agglutinin (PNA) in Mouse Organ Tissues., *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 29(7), 779-790
- Wenchu, Lin W., Dent, S. Y. R.**, 2006, Functions of Histone-Modifying Enzymes in Development., *Current Opinion in Genetics and Development*, 16, 137-142.
- Wolff, C., Roy,, S., Ingham, P.W.**, 2003, Multiple Muscle Cell Identities Induced by Distinct Levels and Timing of Hedgehog Activity in the Zebrafish Embryo., *Current Biology*,13, 1169-1181.
- Wolpert, L.**, 2002, Principles of Development., Second Ed. *Oxford University Pres.*, 542 sayfa
- Wu, W., Harley, P. H., Punt, J. A., Sharrow, S. O., Kearse, K.P.**, 1996, Identification of CD8 as a *Peanut* Agglutinin (PNA) Receptor molecule on Immature Thymocytes., *J Exp. Med.*, 1;184 (2): 759-64.
- Wu, W., Punt, J. A., Granger, L., Sharrow, S. O., Kearse, K. P.**, 1997, Developmentally Regulated Expression of Peanut Agglutinin (PNA)-Specific Glycans on Murine Thymocytes. *Glycobiology*, 7 (3): 349-356.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)**

- Yasukawa, Z., Sato, C., Kitajima, K.,** 2005, Inflammation-dependent changes in alpha2,3-, alpha2,6-, and alpha2,8-sialic acid glycotopes on serum glycoproteins in mice, *Glycobiology*, 15(9):827-37
- Yıkılmaz, M. S.,** 2007, *Galleria mellonella* (Lepidoptera)' da bileşik göz ommatidyumlarında ince yapının, hücre farklılaşmasının ve sialik aistlerin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, 96 sayfa

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Seçil ERDEN  
**Doğum Tarihi ve Yeri:** : 02/ 02/1984, İZMİR  
**Medeni Hal** : Bekar  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye  
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı  
(**Yüksek Lisans**)  
Eylül 2006 – Temmuz 2008

Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir, Türkiye  
Buca Eğitim Fakültesi Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Bölümü  
Biyoloji Öğretmenliği Anabilim Dalı (**Lisans**)  
Eylül 2001 - Haziran 2006

### KATILDIĞI BİLİMSEL ETKİNLİKLER:

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yaşam Bilimleri Kursları,  
İleri Işık Mikroskopisi Teknikleri Kursu (A'dan Z'ye Kavramlar)  
1-2 Aralık 2007

EMBO Young Scientists Forum in İstanbul, TURKEY  
20 - 22 February 2008

### KAZANDIĞI BURSLAR

TÜBİTAK - 2210 - Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu