



**TOKAT İLİ SERT KENE FAUNASININ BELİRLENEREK
FARKLI KENE CİNSLERİNDE
AKTİN GENLERİNİN
MOLEKÜLER KARŞILAŞTIRILMASI**

Mehmet ORHAN

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç. Dr. Şaban TEKİN
2009**

Her hakkı saklıdır

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOKAT İLİ SERT KENE FAUNASININ BELİRLENEREK
SERT KENE CİNSLERİNDE AKTİN GENLERİNİN MOLEKÜLER
KARŞILAŞTIRILMASI

Mehmet ORHAN

TOKAT
2009

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Şaban TEKİN danışmanlığında, Mehmet ORHAN tarafından hazırlanan bu çalışma 10/09/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Şaban TEKİN

İmza:

Üye : Doç. Dr. İsa GÖKÇE

İmza:

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet BURSALI

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Metin YILDIRIM
Enstitü Müdürü

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Mehmet ORHAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TOKAT İLİ SERT KENE FAUNASININ BELİRLENEREK FARKLI SERT KENE
CİNSLERİNDE AKTİN GENLERİNİN MOLEKÜLER KARŞILAŞTIRILMASI

Mehmet ORHAN

Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Şaban TEKİN

Sert keneler önemli omurgasız hastalık vektörlerinden olup bölgemizde yoğun olarak bulunmakta ve özellikle KKHA hastalığını bulaştırmaktadırlar. Bu çalışmada Tokat ilinde insanlardan toplanan sert kene örneklerinin cinsleri ve bunların il genelinde ve ilçelerdeki aylık mevsimsel dağılımları belirlenmiştir. Ayrıca her ilçede en çok hangi tür keneler olduğu da belirlenmiştir. Bunun yanı sıra *Hyalomma*, *Rhiphicephalus* ve *Dermacentor* cinslerinden seçilen kene örneklerinden elde edilen aktin sekansları diğer kenelerin aktinleriyle karşılaştırılarak aralarındaki homoloji tespit edilmiştir. Sonuçlara göre Tokat genelinde insanlar üzerinde en çok *Hyalomma* ve *Rhiphicephalus* cinsi kenelere rastlanmıştır. Bu türlerin özellikle Haziran ayında çok arttıkları belirlenmiştir. Ayrıca *Hyalomma*, *Rhiphicephalus* ve *Dermacentor* cinslerinin aktin genleri arasında yüksek derecede benzerlik olduğu görülmüştür.

2009, 39 sayfa

Anahtar kelimeler: Sert kene, Tokat, Aktin, *Hyalomma*, *Rhiphicephalus*, *Dermacentor*

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF HARD TICK FAUNA OF TOKAT AND MOLECULAR COMPARISON OF AKTIN GENES FROM DIFFERENT TICK GENERA

Mehmet ORHAN

Gaziosmanpaşa University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Doç. Dr. Şaban TEKİN

Hard ticks are important invertebrate vectors for diseases such as CCHF (Crimean Congo Haemorrhagic Fever) and present extensively in Turkey. In the present study, species diversity, distribution and seasonal appearance of hard ticks in Tokat province were determined. In addition, partial coding sequences of actin genes of tick samples belong to *Hyalomma*, *Rhiphicephalus* and *Dermacentor* genera were compared with other tick species and sequence homology of tick actins determined. Results showed that *Hyalomma* and *Rhiphicephalus* species were most abundant species parasitise humans in Tokat province. These species were populated especially in June. Comparison of tick actin sequences revealed that actin genes of *Hyalomma*, *Rhiphicephalus* and *Dermacentor* species were highly similar.

2009, 39 pages

Keywords: Hard ticks, Tokat, Actin, *Hyalomma*, *Rhiphicephalus*, *Dermacentor*

ÖNSÖZ

Çalışmalarım boyunca yardım ve katkıları ile beni yönlendiren saygıdeğer hocam Doç. Dr. Şaban TEKİN'e, yine bu çalışmayı destekleyen deneyimlerimde ve çalışmalarımda kıymetli tecrübelerinden faydalandığım Yrd. Doç. Dr. Ahmet BURSALI hocama teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Kenelerin Morfolojik Yapıları.....	2
1.1.1. Gnathosoma	3
1.1.1.1. Basis Capituli.....	3
1.1.1.2. Chelicera.....	4
1.1.1.3. Hypostom.....	4
1.1.1.4. Palp.....	4
1.1.2. İdiosoma (Gövde).....	5
1.1.2.1. Dorsal Görünüş.....	5
1.1.2.2. Ventral Görünüş.....	6
1.2. Kenelerin Biyolojisi.....	7
1.2.1. Bir Konaklı Kene.....	8
1.2.2. İki Konaklı Kene.....	8
1.2.3. Üç Konaklı Kene.....	8
1.3. Kenelerin Sistematığı.....	9
1.3.1. Türkiye'de Bulunan Ixodidae Cinslerinin Genel Özellikleri.....	10
1.3.1.1. <i>Ixodes</i>	10
1.3.1.2. <i>Hyalomma</i>	11
1.3.1.3. <i>Haemaphysalis</i>	12
1.3.1.4. <i>Dermacentor</i>	12
1.3.1.5. <i>Boophilus</i>	13
1.3.1.6. <i>Rhipicephalus</i>	14
1.3.1.7. <i>Amblyomma</i>	14
1.4. Aktin Geninin Genel Özellikleri.....	15

2. MATERYAL ve YÖNTEM	18
2.1. Materyal.....	18
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler.....	18
2.1.2. Cihazlar.....	18
2.1.3. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı.....	19
2.1.3.1. 50X Tris Acetate EDTA (TAE) Tamponu.....	19
2.1.3.2. 1X TE Tamponu.....	19
2.1.3.3. 3M Sodyum Asetat Solüsyonu.....	19
2.1.3.4. Etidium Bromür.....	19
2.1.3.5. 6X Bromophenol Blue.....	20
2.1.3.6. Primerlerin Hazırlanışı.....	20
2.2. Yöntem.....	20
2.2.1. Kenelerin Sistemik Açısından İncelenmesi.....	20
2.2.1.1. Kenelerin Saklanması.....	20
2.2.1.2. Kenelerin Temizlenmesi.....	20
2.2.1.3. Kenelerin Teşhisi.....	21
2.2.2. Kenelerden Total RNA Ekstrasyonu.....	21
2.2.3. Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR).....	22
2.2.3.1. RT- PCR İçin Thermal cycler'in Program Ayarı.....	23
2.2.4. PCR.....	24
2.2.4.1. PCR İçin Thermal cycler'in Program Ayarı.....	24
2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi.....	24
2.2.6. PCR'dan DNA Saflaştırılması.....	25
2.2.7. DNA Dizi Analizi ve Kene Aktin Sekanslarının Diğer Kenelerle Karşılaştırılması	26
3. BULGULAR ve TARTIŞMA	27
3.1. Tokat İli Merkez ve İlçelerinde 2008 Yılı Sert Kene Cinslerinin Dağılımı	27
3.2. Sert Kene Cinslerinin Aktin Genlerinin Tespit Edilmesi ve Aktin Genlerinin Birbirleri Arasındaki Benzerlikler	29
3.2.1. <i>Dermacentor</i> Aktin Sekansı ve diğer kenelerle olan benzerliği.....	29
3.2.2. <i>Hyalomma</i> Aktin Sekansı ve diğer kenelerle olan benzerliği.....	31

3.2.3. <i>Rhipicephalus</i> Aktin Sekansı ve diğer kenelerle olan benzerliği.....	32
4. SONUÇ	34
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	39

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat Derece
g	Gram
L	Large
L	Litre
M	Medium
M	Molar
N	Viral Nükleokapsid
S	Small
°	Derece
s	Saniye

Kısaltmalar	Açıklama
ATP	Adenozin tri fosfat
Ark.	Arkadaşları
BFB	Bromfenol Blue
Ca ²⁺	Kalsiyum
cDNA	Komplamenter DNA
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DMSO	Dimetilsülfoksit
dNTP	Deoksiribonükleosid Trifosfat
DTT	Ditiotrietol
HCL	Hidrojen Klorür
Kb	Kilobaz
kDa	Kilodalton
KKKA	Kırım Kongo Kanamalı Ateşi
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MW	Moleküler Ağırlık

nmol	Nanomol
Np	Nükleokapsid Protein
ORFs	Open Reading Frame
pmol	Pikomol
RNase	Ribonükleaz
RNA	Ribonükleik Asit
RT-PCR	Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rpm	Rotation Per Minute
TAE	Tris-Asetat EDTA
TE	Tris-EDTA
UV	Ultraviyole
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Kenelerin Morfolojik Yapısı.....	<u>2</u>
Şekil 1.2 Sert Kenelerin Yaşam Evreleri.....	<u>7</u>
Şekil 1.3 Kenelerin Hayat Döngüsü.....	<u>8</u>
Şekil 1.4 <i>Ixodes sp.</i> Dorsal Görüntüsü.....	<u>10</u>
Şekil 1.5 <i>Hyalomma sp.</i> Erkek ve Dişi Dorsal Görüntüsü.....	<u>10</u>
Şekil 1.6 <i>Haemaphysalis sp.</i> Dorsal Görüntüsü.....	<u>11</u>
Şekil 1.7 <i>Dermacentor sp.</i> Erkek ve Dişi Dorsal Görüntüsü.....	<u>12</u>
Şekil 1.8 <i>Boophilus sp.</i> Dorsal Görüntüsü.....	<u>12</u>
Şekil 1.9 <i>Rhipicephalus sp.</i> Dorsal Görüntüsü.....	<u>13</u>
Şekil 1.10 <i>Amblyomma sp.</i> Dorsal Görüntüsü.....	<u>14</u>
Şekil 3.1 <i>Dermacentor</i> aktin dizisi ve diğer kenelerle olan benzerliği	<u>30</u>
Şekil 3.2 <i>Hyalomma</i> aktin dizisi ve diğer kenelerle olan benzerliği	<u>31</u>
Şekil 3.3 <i>Rhipicephalus</i> aktin dizisi ve diğer kenelerle olan benzerliği	<u>33</u>

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 Tokat ili merkez ve ilçelerinde 2008 yılı Sert kene cinslerinin dağılımı	<u>27</u>
Çizelge 3.2 2008 yılı Tokat ili genelinde sert kene cinslerinin dağılımı	28
Çizelge 3.3 <i>Dermacentor</i> Aktini kısmi dizisi	<u>29</u>
Çizelge 3.4 <i>Hyalomma</i> Aktini kısmi dizisi	<u>31</u>
Çizelge 3.5 <i>Rhipicephalus</i> Aktini kısmi dizisi	<u>32</u>

1. GİRİŞ ve LİTERATÜR ÖZETİ

Keneler kanla beslenen ve hastalık ajanlarını hayvan ve insanlara taşıyan en önemli Arthropod vektörlerdendir. Dünyada bütün kara parçalarında bulunan ve karada yaşayan Eklembacaklıların en kalabalık grubunu oluşturan canlılardır. *Hyalomma* cinsine ait keneler Türkiye'nin de içinde bulunduğu çok geniş coğrafik alanda yerleşmişlerdir. Türlerle göre değişmekle beraber kenelerin küçük kemiriciden, yaban hayvanlarından, evcil memeli hayvanlara ve kuşlara kadar geniş bir konakçı spektrumu olduğu tespit edilmiştir (Watts ve ark., 1988; Kurtpınar 1954).

Kutup bölgesi hariç dünyanın her bölgesinde yayılış gösterebilen, zorunlu kan emici Eklembacaklı (Arthropod) olarak bilinen keneler (Barker ve ark., 2004), ülkemizde halk arasında sakırğa, yavısı, kerni gibi isimlerle tanınmaktadır.

Keneler, Argasidae (Yumuşak Keneler) ve İxodidae (Sert Keneler) olmak üzere iki aile içerisinde incelenmektedir. Bu aileler kapsamında ise toplam 866 kene türü yer almaktadır (Horak ve ark., 2002). Bunlardan 30'u (2'si *argasid*, 28'i *ixodid*) KKKKA virüsünün taşınmasına vektörlük etmektedir (Anderson ve ark., 2005).

Türkiye'de yapılan üç akar faunası çalışmasında toplam kene türlerinin 45 tanesinin İxodidae ailesi olduğu nu tespit etmişlerdir. Ülkemizde yumuşak ve sert kene familyalarına ait 45 kene türü olduğu anlaşılmaktadır (Özkan ve ark., 1994; Özkan ve ark., 1988; Erman ve ark., 2007).

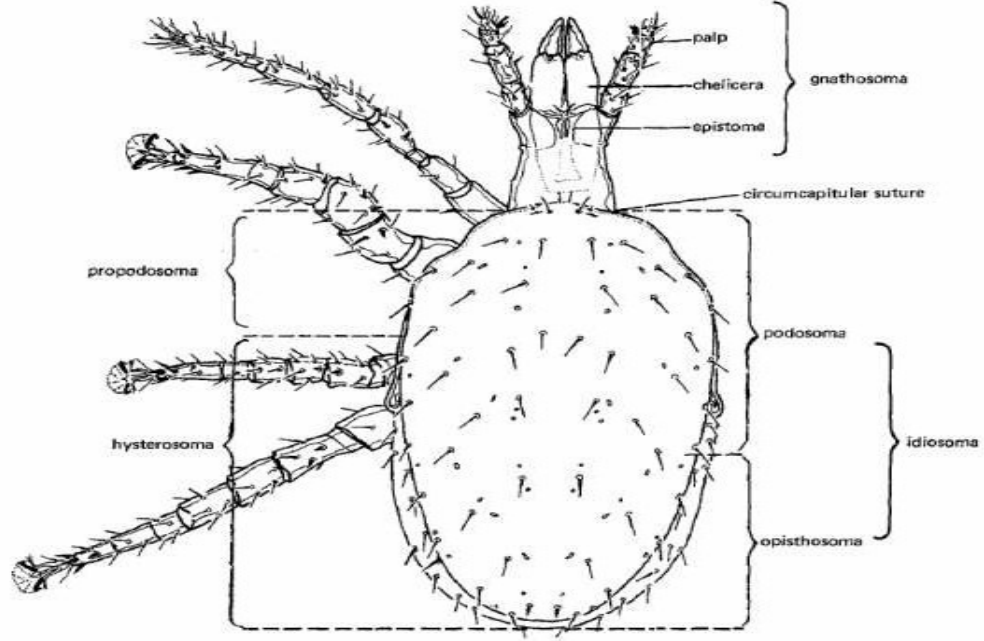
Aktin genleri pek çok farklı türde popülasyon ve evrim çalışmaları için önemli bilgi kaynağı olarak yaygın olarak kullanılır. Fakat kenelerin ekonomik ve evrimsel önemi, kenelerin dağılımı ve verileri yerine kenelerin aktin genlerinin dağılımı ve yapısı hakkında çok az veri bulunur. Gen bankası verileri yalnızca yumuşak kenelerde *Ornithodoros moubata* (AY547732) 'nın aktin sekansının tamamına sahiptir (Vaz Jr ve ark., 2004).

Keneler kan emici olduklarından çok sayıda hastalık etkenini bir canlıdan ötekine bulaştırırlar ve virüsler gibi birçok patojenin biyolojik vektörü konumundadırlar. Sert keneler Erlihosis ve KKHA gibi çok sayıda hastalığı insan veya hayvanlara bulaştırmaları nedeniyle ciddi salgınlara ve dolayısıyla insan sağlığını olumsuz yönde etkilerler ve hayvancılıkta da büyük kayıplara neden olmaktadır (Swanepoel ve ark., 1985; El-Azazy ve ark., 1997; Dunster ve ark., 2002; Arthur, 1961).

1.1. Kenelerin Morfolojik Yapıları

Kenelerin morfolojik özellikleri özellikle klasik sistematik taksonomik çalışmalarda tür teşhislerinin yapılmasında kullanılan temel karakterlerdir. Morfolojik olarak diğer arthropodlardan farklılık gösteren, vücutları tek parçadan oluşan keneler; 3 mm boyunda, kahverengi ya da kırmızı renklere olan yassı, oval biçimdeki parazitlerdir (Barker ve ark., 2004; Baker ve Wharton, 1952).

Sert kenelerin vücutlarının belirli yerlerinde değişik büyüklükte kitinsel plaklar bulunur. Bu kitinsel oluşumların önemli teşhis değeri vardır. Vücutları iki parçadan oluşur (Şekil 1.1). Ön parçaya capitulum (gnathosoma, rostrum), arka parçaya gövde (idiosoma) adı verilir (Merdivenci,1969; Krantz 1971).



Şekil 1.1 Kenelerin morfolojik yapısı (Krantz., 1971)

1.1.1. Gnathosoma (Baş – Capitulum)

Vücudun küçük olan ön parçasıdır. Sert kenelerde bütün gelişim evrelerinde üstten görülür. Bir tane basis capituli, bir çift chelicera, bir tane hypostom ve bir çift palp den meydana gelir.

1.1.1.1. Basis Capituli

Capitulumun kök kısmıdır. Ayrıca cins ve türlere göre şekil değişiklikleri gösterir. Bu şekil değişiklikleri tür ve cinslerin teşhisinde kullanılır. İki yan kenardaki çıkıntılara auricula, arka yan köşelerdeki çıkıntılara cornua adı verilir. Dişilerde üst kısmında bir çift delikli alan bulunur. Bu alana poros area adı verilir. Poros arealar kenelerin cinsiyet tayininde kullanılır.

1.1.1.2. Chelicera

Basis capitulinin ön üst kısmına bağlı konak derisini delmeye ve kesmeye yarayan iki tane hareketli yapıdır. Bu yapıda geriye dönük ve testere ağzı gibi duran 2-3 tane diş vardır. Öndeki diş en küçük, arkadaki diş ise en büyüktür.

1.1.1.3. Hypostom

Basis capitulinin ön alt kısmının ortasından çıkan, orta çizgi üzerinde öne doğru uzanan ve konaktan kan emmeye yarayan bir yapıdır. İki yan kitinsel parçanın birleşmesiyle meydana gelmiştir. Median oluk ile ikiye ayrılmıştır. Bu yapıda dişler (dentricle) vardır. Dişler hypostom boyunca sıralar halinde uzanırlar. Değişik sayıda olup ayrı cins ve türlerde iki, üç, dört veya beş sıra halindedirler. Farklı cins ve türlerde şekil ve büyüklükleri de değişiklik gösterir. Bu sıraları ve şekilleri sert kenelerde cins ve özellikle tür tayininde kullanılırlar. Hypostom konağın derisinde keliserlerle açılan ve genişletilen deliğe sokulur. Keliserler çekilince deri esnekliği ile sıkışır. Dişler geriye çekilmesini engeller. Böylece kenenin deriye yapışması sağlanır (Merdivenci,1969).

1.1.1.4. Palp

Basis capitulinin ön yan kısımlarından çıkan dört parçadan oluşmuş hareketli iki oluşumdur. Palp parçaları basis capituliden öne doğru; birinci (basal), ikinci, üçüncü, dördüncü parça (apical) diye adlandırılırlar. İxodid'lerde dördüncü palp parçası üçüncü parçanın ön kısmının altında kalır. Üstten görülmez. Birinci parçanın alt-iç yüzünün iç kenarında dikenler setophor denilen kıl veya dikenler bulunur (Merdivenci,1969).

Palplerin dorsal, ventral, external ve internal görünüşleri kenelerin türlerine göre değişmektedir. Bu yüzden palplerin büyüklük ve şekil özellikleri kenelerin teşhisi açısından çok önemlidir (Kurtpınar, 1954).

1.1.2. İdiosoma (Gövde)

Kenelerin gövde (idiosoma) sı göğüs-karın (thoraco-abdomen) şeklinde de kabul edilir. Vücudun bu kısmı sırt-karın yönünde yassı olup buraya erişkinlerde ve nimflerde dört çift bacak, larvalarda ise üç çift bacak bağlıdır.

Sert kene (Ixodidae) lerde gövdenin sırt yüzünde scutum adı verilen kitinli kalın bir örtü bulunur. Scutum erkeklerde sırt yüzünü tamamen örter. Dişilerde, nimflerde ve larvalarda ise sırt yüzünün yalnız ön kısmını örter.

1.1.2.1. Dorsal Görünüş

Scutum üzerinde değişik şekilde ve değişik büyüklükte oluklar ve nokta çukurları görülür. Dorsal kısımda gözler (Oculi), festun (Festoon), Oluklar bulunur.

Gözler bütün kene cinslerinde bulunmaz. Kenelerin scutumlarının iki yanında (lateral kenarlarında) birer tane göz vardır.

Festunlar sert kenelerin çoğunda skutumun arka kenarında dizilmiş 9-11 tane dörtgenimsi oluşumlardır. Bunlardan ortada median çizgi üzerindeki Parma adı verilir. Festunlu olan sert kenelerin erkeklerinde bu oluşumlar scutumla örtülü olup iyi teşekkül etmişlerdir. Aç (kan emmemiş) dişilerde de festunlar görülür fakat dişilerde kene kan emip şiştiklerinde festunlar kaybolurlar. *Ixodes* ve *Boophilus* cinslerine ait türlerde festun yoktur.

Servikal oluklar basis capitulinin kornuaları arkasında sırt yüzünde görülen oluklardır. Kenar (marginal) oluklar Scutumun sırt yüzünün iki yanında yan kenarlara paralel olarak bulunan oluklardır. Genellikle erkeklerde bulunan oluklardır. Median oluk erkek sert kenelerin scutumunun arka yarısının orta çizgisi üzerinde bulunurlar. Para-median oluklar erkek sert kene scutumunun arka yarısında orta çizginin iki yanında bulunurlar (Merdivenci,1969).

1.1.2.2. Ventral Görünüş

Sert kenelerin ventral yüzü kitinsel örtü ile kaplıdır. Bazı türlerde kitin plakları bulunur. Ventral yüzünde, genital oluk, anüs, bacaklar, anal ve adanal plaklar, stigmalar, anal çukurlar bulunur.

Nimf ve erişkenlerde dört çift bacak, larvalarda ise üç çift bacak bulunur. Bacaklar altı parçadan oluşmuştur. Gövdeden uca doğru parçalar sırası ile koksa, trohanter, femur, tibia, pretarsus, tarsus olarak sıralanırlar.

Koksa (coxa) lar gövdeye yapışık dururlar ve hareketsizdirler. Sert kenelerin koksalari çok büyüktür. Genellikle spurları vardır. Trohanter ikinci parçadır. Bu kısa ve geniş parçadır. Bazı sert kene türlerinde sivri sert çıkıntı vardır. Femur uzun olan üçüncü bacak parçasıdır. Tibia dördüncü, pretarsus beşinci bacak parçasıdır. Tarsus altıncı ve son bacak parçasıdır. Genellikle iki parçadan yapılmış oluşmuş olup bunlar birbirileriyle kaynaşmışlardır. Tarsusların uçlarında pulvillus adı verilen zarımsı oluşumlar bulunur. Pulvillus üzerinde bir çift tırnak bulunur. Sert kenelerin her evresinde birinci çift tarsusun üzerine yerleşmiş Haller organ denilen duyu organı bulunur (Merdivenci, 1969; Kurtpınar, 1954).

Genital açıklık Basis capitulinin hemen arkasında ve orta çizgi üzerinde yer alan bir ve üçüncü koksalari arasında yarık şeklindedir. Genital açıklık iki yanından başlayarak koksalari iç kenarları boyunca geriye doğru uzanan oluklara genital oluk denir.

Anüs Orta çizginin üzerinde ve dördüncü koksalari sırasının biraz gerisinde bulunan ve boyuna duran küçük bir yarık şeklindedir. Sert kenelerde genellikle anüsü önden arkaya doğru yada arkadan öne doğru sulcul analis denen derin bir anüs oluşu vardır.

Bazı sert kenelerde anüsün arkasının iki yanında anal plak denilen birer çift kalın kitin plakları bulunabilir. Bu plakların en içte ve en büyük olanlarına adanal plak adı verilir. *Hyalomma* türlerinde adanal plakların arkasında subanal plak denen bir çift

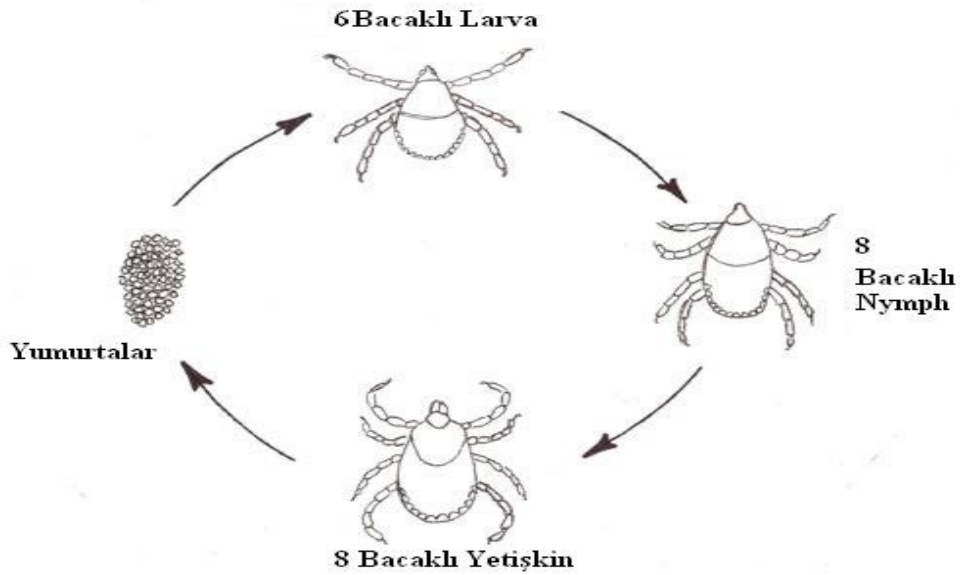
plak vardır. Sert kenelerin *Amblyomma*, *Dermacentor* ve *Haemaphysalis* cinslerinde anal plaklar bulunmaz.

Stigmalar sert kenelerde dördüncü koksanın arkasında bulunurlar. Solunum organı olup büyük, virgül şeklinde, oval veya yuvarlak olup kalın bir kitinli çerçeve (peritrem) ile sarılıdır.

1.2. KENELERİN BİYOLOJİSİ

Kenelerde üreme şekli eşeyli olup bazen partenogenez çoğalmanında gözlenebildiği ifade edilmiştir (Karaer, 1997). Dişi ve erkek keneler kan emme sırasında konak üzerinde çiftleşir ve dişi keneler yumurtalarını bitki, toprak, taş veya mera gibi ortamlara birbirine yapışık şekilde bütün olarak bırakırlar (Balashov, 2005; Barker ve ark., 2004).

Keneler, yumurta döneminden sonra larva-nimf dönemlerine geçerek ergin olurlar (Şekil 1.2). Yumurtadan çıkan larvalar, gelişimlerini tamamlamak amacıyla konak ararlar. Buldukları ilk konukçu genellikle rodentlerdir (Barker, 1999).



Şekil 1.2. Sert Kenelerin Yaşam Evreleri

Biyolojik gelişmeye göre konak değiştirmeleri esas alınarak İxodidae ailesine bağlı türler 3 grupta toplanır.

1.2.1. Bir Konaklı Kene

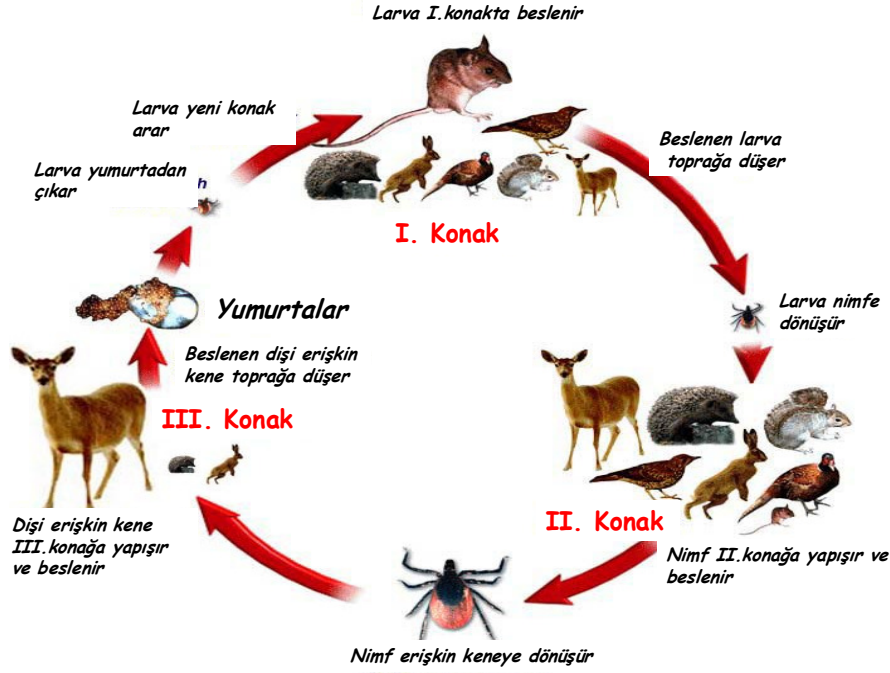
Tek konakçıya ihtiyaç gösterenler, larva devresinden nymph ve nymph'den olgun şekilde geçerken aynı konak üzerinde kalarak gömlek değiştirenlerdir (Şekil 1.3). Bu gruba örnek olarak ülkemizde bilhassa sığırlarda fazla rastlanan *Boophilus calcaratus*'u verebiliriz (Kurtpınar, 1954).

1.2.2. İki Konaklı Kene

İki konaklı kenelerde, larva ve nimf dönemini bir konakda geçirir, nimfler kan emip doyduktan sonra konak hayvanı terkederler (Kurtpınar, 1954). Meskende veya merada gömlek değiştirip aç olgun hale gelirler. Aç olgun keneler ikinci bir hayvana hücum ederek ondan kan emer, çiftleşir ve doyar. Daha sonra dişi kene toprağa düşer, yumurtlar ve ölür. Yani larva-nimf bir hayvanda, olgunu ise başka bir hayvanda konaklar (Şekil 1.3). Örneęin, *Hyalomma* türleri ve *Rhipicephalus bursa*.

1.2.3. Üç Konaklı Kene

Üç konaklı kenelerin larvaları ilk konakçı üzerinde doyarlar yere düşerler ve bir müddet kaldıktan sonra gömlek değiştirerek nymph şeklini alırlar ve yeni bir konakta parazitlenirler, erginleşen bireyler 3. konakta parazitlenirler. Daha sonra toprağa düşer, yumurtlar ve ölürler (Şekil 1.3). Örneęin, *Dermacentor andersoni*.



Şekil 1.3. Kenelerin Hayat Döngüsü (Anonim 2007a)

1.3. KENELERİN SİSTEMATİĞİ

Bilindiği üzere keneler Arthropoda şubesine dahildirler. Bu çok geniş bir şube olup, vücutları kitin ile kaplı ve ekstremiteleri eklemlili bütün hayvanları içerisine alır. Keneler Arthropoda şubesinin arachnida sınıfına girer. Arachnidalar keliser ve basit gözler ihtiva eden umumiyetle karaya adapte olan canlılardır. Krantz (1970) 'e göre Arachnida 11 alt sınıf altında toplamaktadır. Ağız parçaları bir çift keliser ve bir çift pedipalpden meydana gelmiş tutucu, delici, emici, yırtıcı şekillerde modifikasyona uğramıştır. Acarina alt sınıfı içerisinde değerlendirilirler. Akarlar ve keneler diğer Arachnidlerden farklı olarak vücut segmentleri belirsiz veya yoktur. Bundan dolayı da kolaylıkla teşhis edilebilirler.

Phylum: **ARTHROPODA**

Altşube: **CHELİCERATA**

Classis: **ARACHNİDA**

Subclassis: **ACARİ (ACARİNA)**

Ordo: **PARASİTİFORMES**

Subordo: **METASTİGMATA**

Üstfamilya: **İXODOİDEA**

Familya: Nuttalliellidae (Türkiye’de yok)

Familya: Argasidae

Familya: Ixodidae

Genus: *Ixodes*

Genus: *Hyalomma*

Genus: *Haemaphysalis*

Genus: *Dermacentor*

Genus: *Boophilus*

Genus: *Rhipicephalus*

Genus: *Amblyomma*

1.3.1. Türkiye’de Bulunan Sert Kenelerin (Ixodidae) Cinslerinin Genel Özellikleri

1.3.1.1. Genus: *Ixodes*

Sadece bu cinste anal oluk anüsü önden çevirir. Kapitulum çıkıntıları (hypostom ve palpler) uzundur. Daima nakışsız, gözsüz ve festunsuz kenelerdir. Stigmatları yuvarlak veya ovaldir. Tarsuslarında diken yoktur. Erkeğin scutumunu vücudun etrafını baştanbaşa bir kıvrımla çevirmiştir. Vücudun ventral yüzünde ise fazla çıkıntılı olmayan yedi plak bulunur. Bunlar sırası ile bir pregenital, bir median, bir anal, iki adanal ve iki epimeral plaklar bulunur (Şekil 1.4). Dünya’da *Ixodes* cinsine ait 241 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002).



Şekil 1.4. *Ixodes sp.* dorsal görüntüsü

1.3.1.2. Genus: *Hyalomma*

Scutumları nakışsız veya bazen çok hafif nakışlı olan, gözleri büyük ve parlaktır. Anal oluk anüsü arkadan sarar ve genital olukla birleşir. Palpleri uzun ve vücutları ovale yakındır. Festunları mevcuttur. Palplerin ikinci ekleminin boyu eninin iki katıdır. Bacakları uzun yapılı olan ser kenelerdir. Birinci çift coxalarının içi ve dış dikenleri derin bir yarıkla ayrılmıştır. Erkeklerde anal, adanal ve subanal diye adlandırılmış kitinli plaklar mevcuttur. Erkeklerin Stigmatları virgül şeklinde dişilerin ise ovaldir (Şekil 1.5). Dünya’da *Hyalomma* cinsine ait 30 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002).



Şekil 1.5. *Hyalomma sp.* erkek ve dişi dorsal görüntüsü

1.3.1.3. Genus: *Haemaphysalis*

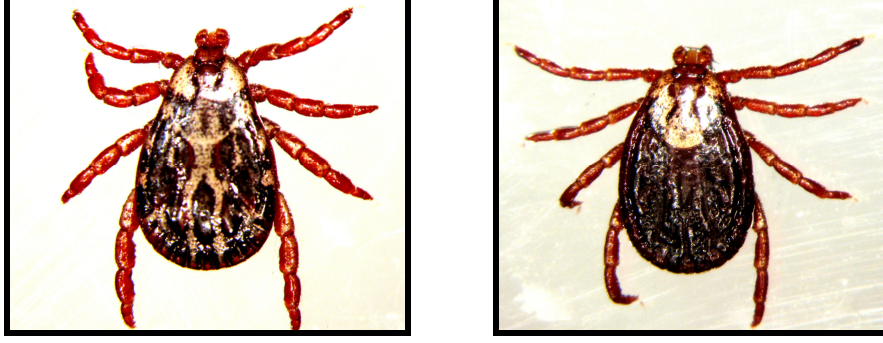
Üzerleri nakışsız, gözleri yok fakat festunları mevcuttur. Küçük yapılı kenelerdir. Hypostom ve palpleri kısadır. Palplerin ikinci parçası birinciyi üstten örter ve yan kenarı dışarıya doğru çıkıntılıdır. Anal oluk anüsü arkadan sarar. Birinci coxa ikiye ayrılmamıştır. Basis capitulumun sırt yüzü dikdörtgen şeklindedir. Birinci çift bacaklarda trohanterin sırt yüzünde üçgenimsi bir çıkıntı bulunur. Erkeklerde anal ve diğer karın plakları mevcut değildir (Şekil 1.6). Dünya’da *Haemaphysalis* cinsine ait 169 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002).



Şekil 1.6. *Haemaphysalis* sp. dorsal görüntüsü

1.3.1.4. Genus: *Dermacentor*

Scutumun üzeri genellikle gümüşü parlak noktalı alanlarla süslüdür. Capitulum kısadır, gözleri mevcut ve on bir adet festun mevcuttur. Anal oluk anüsü arkadan sarar. Genellikle sonbahar mevsiminde aktiftirler. Palpleri kısa ve kalındır. Basis capitulumun sırt yüzü dikdörtgen şeklindedir. Eni boyundan daha büyüktür. Birinci coxa derin bir yarıkla iç ve dış dikene ayrılmıştır. Coxaların büyüklüğü birinciden dördüncüye kadar artmaktadır. Erkeklerin ventral plakları yoktur (Şekil 1.7). Dünya’da *Dermacentor* cinsine ait 33 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002).



Şekil 1.7. *Dermacentor sp.* erkek ve dişi dorsal görüntüsü

1.3.1.5. Genus: *Boophilus*

Capitulum kısadır. Palpleri kısa, kalın, konik ve dış yan çıkıntıları yoktur. Basis capitulum hexagonaldır. Gözleri mevcuttur. Anal oluk belirgin değildir. Scutumda lateral oluklar ve festun yoktur. Servikal oluklar oldukça geniştir. Erkeklerde adanla plaklar ve tamamlayıcı plaklar iyi gelişmiştir. Bunların arka uçları sivridir. Dişinin scutumunu dar ve küçüktür. Hypostom palplerden biraz uzun, geniş ve kısadır (Şekil 1.8).

Horak ve ark.(2002) *Boophilus* cinsi *Rhipicephalus* cinsinin alt cinsi olarak değerlendirilmişlerdir. Dünya'da *Boophilus* cinsine ait 5 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002).



Şekil 1.8. *Boophilus sp.* dorsal görüntüsü

1.3.1.6. Genus: *Rhipicephalus*

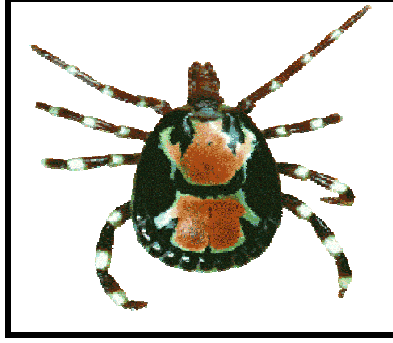
Scutum üzerinde nakış bulunmayan kenelerdir. Palpleri kısa, gözleri ve Festunları mevcuttur. Anal oluk belirgin ve anüsü arkadan sarar. Basis capitulum hexagonaldır (altı kenarlı). Birinci coxa derin ve iki kısma ayrılmıştır. Erkeklerin anal ve adanal plakları bulunur. Stigmatları virgül şeklindedir. Bunların kuyruk uzantıları erkeklerde uzun, dişilerde ise kısadır (Şekil 1.9). Dünya’da *Rhipicephalus* cinsine ait 75 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002).



Şekil.1.9. *Rhipicephalus* sp. dorsal görüntüsü

1.3.1.7. Genus: *Amblyomma*

Bu cinse bağlı türler Afrika keneleridir. Göz ve festun mevcuttur. Palpleri uzun olan kenelerdir. Anal oluk anüsü arkadan sarar (Şekil 1.10). Dünya’da *Amblyomma* cinsine ait 130 tür bulunmaktadır (Horak ve ark., 2002). Türkiye’de Suriye sınırında bulunduğu kaydedilmiş olsa bile Türkiye’de olmadığı kabul edilmektedir.



Şekil 1.10. *Amblyomma* sp. dorsal görüntüsü (Anonim, 2009b)

1.4. Aktin Geninin Genel Özellikleri

Aktin ve mikrotübüllerin her ikisi de hücre iskeletinin önemli bir kısmını oluşturur. Aktin filamentleri genellikle yapısal elementlerdir ve hücrenin bir uçtan diğer uca şeklini sağlar ve substrat ile temas kurulmasını sağlar. Bundan başka, aktin hücrenin hareketliliğini, hücreler arası taşınmayı, sitoplazmik akıntıyı ve endositosis gibi çeşitli işlemler ile ilgilidir (Van Troys ve ark., 1999). Aktin iskeleti aynı zamanda miyozin ile birlikte hücrenin dokular arasında sürtünmesi için güç üretir.

Aktin büyük ve küçük iki domain içerir ve bu iki domain arasında Ca^{+2} ve ATP molekülleri bulunur (Kabsch ve Vandekerckhove, 1992). Aktin türleri arasında yüksek korunma sağlar ve süper familya üyesidir ve ortak bir atadan geliştiğine inanılır (Flaherty ve ark., 1991; Bork ve ark., 1992). Burada üç ana aktin izotopu (alfa, beta ve gama) izotoplar arasında %90 aminoasit homolojisi gösterir ve özellikle izotop gruplarının üyeleri içinde %98 homoloji gösterir. İzotop heterojenitesinin çoğunluğu amino uca yerleşmiştir (Vaz Jr ve ark., 2004).

Dört memeli kas aktin geni farklı kas tiplerinden (iskelet, kalp, düz kas ve bağırsak kası) ifade edilir ve iki iskelet izoformu (β ve γ) hücrelerde bulunur. Böcek ve diğer omurgasızlarda kas ve sitoplazmik aktini memeli kas aktininden daha çok memeli sitoplazmik aktinine benzemektedir (Vanderkerckhove ve Weber, 1978; Vaz Jr ve ark., 2004).

Eklembacaklı kas aktin geni eklembacaklı filumları içinde atasal aktin sitoplazmik geninden meydana geldiğine inanılır, oysa omurgalı aktin genleri kordalı nesli içinde gelişmiştir (Mounier ve ark., 1992). Omurgasız kas aktini, omurgalı β -aktini ile omurgalı α -aktininden daha sıkı ilişki göstermiştir. Mounier ve ark. (1992)'ye göre böcek kas aktini şekli farklı bir familyadan elde edilen mevcut yaklaşık 10 kasa özel kalıntı ile karakterize edilmiştir. Her aktin monomerinin amino ucu F-aktinde duble heliksin dış çevresinde yerleşmiştir (Holmes ve ark., 1990), ve bu yerin aynı zamanda miyozin ile etkileşim halinde olduğu düşünülür (Rayment ve ark., 1993).

Aktin belki de bütün prokaryotik hücrelerde yüksek korunmuş protein olarak bulunur ve tipik olarak kasta toplam hücre proteininin %10'unu (Santos ve ark., 1997) ve kas olmayan hücrelerin toplam ağırlığının %1-5'ini oluşturur (Lodish ve ark., 2000). Bu genlerin protein ürünlerinin karakterizasyonu aktinlerin 35-45 kDa protein familyasını kodladığı gösterir ve iki adet (170-181 ve 211-222) geri dönüşümsüz hücresel taşıyıcı sinyal (NES) içerdiği varsayılır (Wada ve ark., 1998).

Nükleik asit sekansı ve aktinlerin moleküler yapısı türlerin büyük kısmında belirlenmiştir ve protozoa, bitki ve omurgalı aktini hakkındaki çalışmalar aktinlerin ciddi fonksiyonel sınırlamalardan dolayı gelişim (evrim) boyunca yüksek yoğunlukta korunduğunu göstermiştir (Van Troys ve ark., 1999). Kullanılan aktin geni sekansı ve protein yapısı farklı organizmalar arasında moleküler filojeniye ifade etmede, önemli ilişkileri kurmaya imkan sağlar. Bu durumda sekans bölgesinin çeşitliliği her iki sekans bölgesinin tanımlayabilir veya sekanslar farklı izoformların özel fonksiyonları için önemlidir (Vaz Jr ve ark., 2004).

Vaz Jr. ve ark. (2004) yılında yapmış oldukları çalışmaya göre *Boophilus microplus*, *Haemaphysalis longicornis* ve *Rhipicephalus appendiculatus*'un aktin kodlayan dizisinin tamamını belirlemişlerdir ve sekans verileri Gen bankasına *B. microplus* için AY255624 (ActBm 1), *H. longicornis* için AY254898 (ActHl 1) ve *R. appendiculatus* için AY254899 (ActRa 1) kayıt numaraları altında kayıt etmişleridir. Tanımlan open reading frame (ORFs) aktin 1128 nükleotide sahiptir ve 376 aminoasit kodlamaktadır. Kod bölgesinin içinde *B. microplus* ile *R. appendiculatus*

%98, *B. microplus* ile *H. longicornis* arasında %96 ve *H. longicornis* ile *R. appendiculatus* arasında %96 benzerlik olduğunu tespit etmişleridir. Ayrıca tavşan iskelet kası aktini ile üç kenenin aktinini kıyaslandıklarında ATP bağlayıcı etkiye sahip bölgelerde kalıntıların benzerliğe sahip olduğunu göstermişlerdir.

Vaz Jr. ve ark. (2004) yılında yapmış oldukları başka bir çalışmada ise aktin izole edilen keneler ile diğer eklem bacaklı türleri arasındaki evrimsel ilişkiyi araştırmışlardır. Bunun sonucunda da keneler ve diğer yedi adet eklem bacaklı türlerinden elde edilen aktin kodlayan dizilerin tamamını kullanarak filogenetik ağacı oluşturmuşlardır. Filogenetik ağaçta *B. microplus* ile *R. appendiculatus* arasında aktin kodlayan dizilerin *H. longicornis* aktin dizisinden daha fazla benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Anderson ve ark. (2004) yılında yaptıkları çalışmada aktin filamentlerinin bozulması KKHA virüsünün Nükleokapsid Proteini'nin, hücrelerin perinükleer bölgelerine hedeflenmesini engellediği ve bu da transportta ve NP'nin perinükleer bölgelerde muhafazasında yer aldığını desteklemektedir. Bu ayrıca aktin filamentlerinin, NP'nin perinükleer bölgede muhafazası için önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca KKHA virüsünün Nükleokapsidiyle aktin proteinlerinin ilişkide olup olmadığını bulmak için yapay enfekte ve rekombinant BHK-21 hücrelerini 24 h.p.i de 1 saat metabolik olarak etiketlemişlerdir. Bunun sonucunda da yapay enfekte hücrelerde NP antikorları gözlenememiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Tokat merkez ve ilçelerinden 2008 yılında (Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül) insanlardan aylık toplanan 6500 kene örneği kene faunası tespitinde ve 100 sert kene örneği de kene cinsleri arasında Aktin geninin karşılaştırılması amacıyla kullanılabilecek kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler

Agaroz, Etidium bromür, Bromophenol blue (Sigma), Etanol, Glasiyal asetik asit (Merck), Sodyum asetat, HCl (Carlo Erba), Tris, EDTA, Gliserol, Xylene cyanol, İsoopropanol (Amresco), Sıvı azot, Moleküler ağırlık standartı (Vivantis), hyact- F1 (IDT), hyact- R1 (IDT) primer seti, Viral RNA izolasyon kiti (Qiagen), RT-PCR kiti (Roche), PCR kiti (Promega), PCR Purification kiti (Qiagen), Erlen, Beher, Cam Şişeler (100 ml, 500 ml, 1000 ml' lik), Mezür, Bistüri, Forcep, Enjektör, Petri kapları (Isolab), Pipet uçları (Corning, Neptune, Eppendorf), Mikrosantrifüj ve PCR tüpleri (Axygen) ile diğer laboratuvar malzemeleri kullanıldı.

2.1.2. Cihazlar

Thermal cycler (Peqlab), Santrifüjler (Eppendorf, Hettich), Stereo Mikroskop (Olympus CX21) UV transillüminatör (Syngene), Yatay elektroforez (Scie-plas), Güç kaynağı (Consort), Hassas terazi (Acculab), pH metre (Hanna), Otomatik pipetler (Eppendorf, Brand), Manyetik karıştırıcılar, Vorteks (Ika), Buz makinesi (Scotsman), Otoklav (Hiclave), Etüv (Memmert), Mikrodalga fırın (Arçelik), 4, -20 ve -80 °C'deki buzdolapları (Uğur, Arçelik, U410 premium), Fotoğraf makinesi (Sony) ve Saf su cihazları (Mes mp minipure, Millipore) kullanıldı.

2.1.3. Tampon ve Solüsyonların Hazırlanışı

2.1.3.1. 50X Tris Acetate EDTA (TAE) Tamponu

242 g Tris, 57.1 ml Glasiyal asetik asit ve 100 ml 0.5 M EDTA (pH:8) manyetik karıştırıcı yardımı ile partüküller çözününceye kadar karıştırıldı. Hazırlanan çözeltinin pH'ı Glasiyal asetik asitle 8.5'e ayarlandı ve toplam hacim distile su ile 1 L'ye tamamlandı. Steril edildikten sonra +4 °C'deki buzdolaplarında muhafaza edildi.

2.1.3.2. 1X TE Tamponu

1.2 g 10 mM Tris HCl ile 0.37 g 1 mM EDTA, 900 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı yardımı ile çözüldü. pH:8'e ayarlandıktan sonra hacim 1000 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan tampon steril edildikten sonra +4 °C'deki buzdolaplarında muhafaza edildi.

2.1.3.3. 3M Sodyum Asetat Solüsyonu

41 g Sodyum asetat, 90 ml distile su içerisinde çözüldü. pH:5.0'a ayarlandıktan sonra hacim 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilerek +4 °C'de muhafaza edildi.

2.1.3.4. Etidium Bromür

10 mg Etidium bromür, 10 ml distile su içerisinde hazırlandı ve 4 °C'de muhafaza edildi.

2.1.3.5. 6X Bromophenol Blue

15 ml Gliserol, 0.25 g Bromophenol blue ile 0.25 g Xylene cyanol; 100 ml distile su içerisinde çözününceye kadar karıştırılarak hazırlandı.

2.1.3.6. Primerlerin Hazırlanışı

Hyact F1 (5'-AGA TCT GGC ACC ACA CCT TCT ACA -3') ve Hyact-R1 (5'-AGC AAA GCT TCT CCT TGA TGT CGC -3') primerleri (IDT) (konsantrasyon ve miktarlarına göre) TE tamponu veya RNase free ddH₂O kullanılarak hazırlandı. Şöyle ki;

Hyact F1: 88,5 nmol ile Hyact R1 81,3 nmol miktarında olan oligolar ise pmol'e çevrildikten sonra 10 µM konsantrasyonunda hazırlandı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Kenelerin Sistemik Açından İncelenmesi

2.2.1.1. Kenelerin Saklanması

Toplanan materyallerin bozulup morfolojik özelliklerinin kaybetmemeleri ve teşhisinin kolayca yapılabilmesi için % 70'lik alkol içinde saklanır.

2.2.1.2. Kenelerin Temizlenmesi

Kenelerin ventral kısmı coxaların sekresyonu yüzünden çok fazla kirlenir. Aynı zamanda konakçıdan toplanırken hypostomlarında deri parçaları kalabilir. Teşhisi kolaylaştırmak için kenelerin morfolojik karakterlerine zarar vermeden orta uçlu

fırça yardımı ile % 70'lik alkol ile temizliği sağlanır. Hypostomdaki deri parçacığı kalıntıları ise pens yardımı ile alınır.

2.2.1.3. Kenelerin Teşhisi

Keneler farklı teşhis anahtarları (Kurtpınar, 1954; Özkan, 1978; Arthur, 1960; Nutall ve ark., 1915; Nutall ve ark., 1911; Walker ve ark., 2005) kullanılarak cinslerine ayrıldı.

2.2.2. Kenelerden Total RNA Ekstrasyonu

Kenelerden total RNA ekstrasyonu için Qiagen'nin 'QIAamp Viral RNA izolasyon' kiti kullanıldı.

-80 °C'den çıkarılan keneler sıvı azot içerisinde alınır. Steril bir bistüri yardımı ile ortadan ikiye kesilen kenenin bütün dokuları (sadece dış iskeleti kalıcak şekilde) forcep yardımıyla mikrosantrifüj tüplerine alınır. Dokular, 500 µl RNase free ddH₂O ile sulandırıldıktan sonra 20'lik iğneden geçirilerek homojenize edilir. Oluşan homojenat 14 000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilerek, süpernatant kısmı alınır ve Qiagen kiti kullanılarak aşağıdaki şekilde total RNA izole edilir:

1. Carrier RNA içerisinde 310 µl AWE Buffer (%0.04 sodyum azid) eklenerek solüsyon hazır hale getirildi.
2. 56 µl carrier RNA, 5600 µl AWL Buffer (Guanidin tiosiyanat) içerisinde karıştırıldı (10 numune için).
3. 560 µl hazırlanan karışımdan, 560 µl de etanolden alınarak her biri eppendorf tüplerine eklendi.
4. Hazırlanan karışımın üzerine ise dokunun süpernatant kısmından 280µl ilave edilerek vortekslendi.

5. Filtreli kolonlara, 630 µl hazırlanan karışımdan ilave edildi.
6. 8 000 rpm'de 1 dk santrifüj edilip, collection kısımları atıldı ve yerine yenisi yerleştirildi. Karışım bitene kadar bu işleme devam edildi.
7. Sonrasında her bir tüpe, 500 µl AW1 Buffer'ı (Guanidin hidroklorid) eklendi.
8. 14 000 rpm'de 3 dk. santrifüj edilip, collection tüpleri atılarak yeni tüpler yerleştirildi.
9. Daha sonra 500 µl AW2 Buffer'ı (Sodyum azid) eklendi.
10. 14 000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilip, collection tüpleri atılarak yeni tüpler yerleştirildi.
11. Sonrasında 1 dk. kadar tekrar santrifüj yapıldıktan sonra collection tüpleri atıldı ve yerine eppendorf tüpleri yerleştirildi.
12. Filtreli kısma 60 µl Elution Buffer ilave edilip 14 000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi.
13. Son basamakta ise, filtreli kolonlar atılarak eppendorf tüplerinde kalan ekstraksiyon ürünleri etiketlenerek -20 °C'ye kaldırıldı.

Bu yöntem sonucunda izole edilen RNA'lar Aktin gen varlığının tespiti için RT-PCR yöntemiyle test edilmiştir.

2.2.3. Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

RNA ekstraksiyonu sonucunda elde edilen örneklerin, Roche kiti kullanılarak RT-PCR yapıldı. PCR reaksiyonları aşağıdaki gibidir.

1. Basamak:

dNTP mix	2 µl
DMSO	2,5 µl
DTT	2,5 µl
RNase Inhibitor	0,5 µl
Upstream primer	1 µl
Downstream primer	1 µl
Template RNA	1-5 µl
RNase free su	25 µl'ye tamamlandı.

2. Basamak:

RNase free su	13 µl
5X RT-PCR buffer	10 µl
<i>C.therm.</i> polymerase mixture	2 µl

İki basamak sonucunda numunelerin toplam hacmi 50 µl'ye tamamlanacak şekilde hazırlandı.

RT-PCR işleminde, Aktin geni için Hyact F1 (5'-AGA TCT GGC ACC ACA CCT TCT ACA -3') ve Hyact-R1 (5'- AGC AAA GCT TCT CCT TGA TGT CGC -3') primerleri kullanıldı.

2.2.3.1. RT-PCR için Thermal Cyclers'in Program Ayarı

Thermal cyclers'in programı; Denatürasyon için 94 °C'de 2dk.'ya, 58 °C'de 15 s (annealing), 72 °C'de 1dk.'ya (extension) ve Final extension için ise 72 °C'de 5 dk.'ya ayarlandı.

2.2.4. PCR

RT-PCR sonucunda elde edilen ürünler ‘‘Promega ‘‘ kiti kullanılarak çoğaltıldı.

5x Green or Colorless Go Taq®Flexi Buffer	10 µl
dNTP	1 µl
MgCl ₂ Solution, 25 mm	8 µl
Upstream primer	2 µl
Downstream primer	2 µl
Go Taq® DNA Polymerase	0,25 µl
Template DNA	3 µl
Nuclease-Free Water to	23,75 µl

Bu işlemler sonucunda numunelerin toplam hacmi 50 µl’ ye tamamlanacak şekilde hazırlandı.

2.2.4.1. PCR için Thermal Cycler’in Program Ayarı

Thermal cycler’in programı; Denatürasyon için 95 °C’de 2dk.’ya, 42-65 °C’de 0.5-1 dk.’ya (annealing), 72 °C’de 1dk.’ya (extension) ve final uzama (extension) için ise 72 °C’de 5 dk.’ya ayarlandı.

2.2.5. Agaroz Jel Elektrofrez

PCR işlemi sonucunda oluşan PCR ürünleri aşağıda açıklandığı şekilde %1’lik Agaroz jel elektrofrezde koşturulmuş ve görüntülenmiştir. Kısaca, 30 mg Agaroz 30 ml 1x TAE (pH’ı 7.5-8.5 olan yaklaşık 50 mM) tamponu içinde bir mikrodalga fırın kullanılarak tamamen çözdürülür ve elektrofrez tanka dökmeden önce eritilmiş agaroz 0.7 µl etidium bromür katılarak bir elektrofrez tankına dökülür. Tanka döküldükten sonra taraklar yerleştirilir. Jel katıldıktan sonra tank 350 ml TAE tamponu ile doldurulur. 2 µl Bromfenol blue (BFB) ve 5 µl örnek karışımı jeldeki kuyucuklara yüklenir. Jelin ilk kuyucuğuna ise 2 µl Vivantis (100 bp)

standardı eklenir. Örnekler 100 mA'de yaklaşık 18 dakika koşturulur. Koşturma işleminden sonra Agaroz jel bir UV transillüminatör kullanılarak görüntülenir ve fotoğraflanır.

2.2.6. PCR'dan DNA Saflaştırılması

Dizi analizinde kullanılmak üzere PCR ürünlerinin bir kısmı Qiagen'nin 'QIAquick PCR Purification kiti' kullanılarak saflaştırılmıştır.

1. 1 volüm PCR için 5 volüm buffer PBI (Guanidin hidroklorid ve İsoopropanol) kullanıyoruz. Bu karışımın sonucunda renk değişimi turuncu ya da mor olursa, karışıma 10 µl 3 M sodyum asetat ekliyoruz ve rengin sarıya döndüğünü görüyoruz (PH: 5.00).

2. Hazırladığımız bu karışımı kitteki filtreli tüpe alıyoruz ve 30-60 sn. 13.000 rpm'de santrifüj yapıyoruz. Çıktıktan sonra alttaki kısmı döküp üst kısmı ayrı bir tüpe alıyoruz.

3. 750 µl buffer PE ekleyip 30-60 sn. 13.000 rpm'de santrifüj edilir. Çıkan tüpün filtreli kısmı başka bir tüpe koyulur.

4. 1 dk. 13.000 rpm'de santrifüj edilir. Daha sonra eppendorf tüplerinin kapakları kesilir ve kesilen tüp üzerine santrifüjden çıkan filtreli kısım yerleştirilir.

5. Filtrenin tam ortasına gelecek şekilde 50 µl buffer EB eklenir ve 1 dk. 13.000 rpm'de santrifüj edilir.

6. Çıkan tüpün filtresinin yine tam ortasına gelecek şekilde 30 µl elution buffer eklenir ve 1 dk. Bekletilir daha sonra 1 dk. 13.000 rpm'de santrifüj edilir.

7. Çıkan tüplerin filtreli kısımları atılır ve daha önceden kesmiş olduğumuz kapaklar kapatılır.

8. Hazırlanan ürünler -20 °C 'de saklanır.

2.2.7. DNA Dizi Analizi ve Kene Aktin Sekanslarının Diğer Kenelerle Karşılaştırılması

Üç farklı kene cinsinden izole edilen total RNA dan RT-PCR yoluyla elde edilen PCR ürünlerinin jelden DNA saflaştırıldıktan sonra sekans analizine tabi tutuldu ve DNA dizisi belirlendi. Dizisi belirlenen örnekler NCBI BLAST Nükleotid Search (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ortamında homoloji analizine tabi tutuldu.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Tokat İli Merkez ve İlçelerinde 2008 Yılı Sert Kene Cinslerinin Dağılımı

Çizelge 3.1 Tokat ili merkez ve ilçelerinde 2008 yılı Sert kene cinslerinin dağılımı

Cins Adı	Tokat Merkez	Turhal	Niksar	Zile	Almus	Pazar	Reşadiye	Artova	Sulusaray	Yeşilyurt	Başiftlik	Erbaa
<i>Hyalomma</i>	657	546	473	665	358	327	361	311	127	248	2	14
<i>Rhipicephalus</i>	288	143	88	255	8	36	19	45	56	9	–	5
<i>Haemaphysalis</i>	102	45	34	178	36	47	79	60	31	49	2	3
<i>Dermacentor</i>	38	10	20	52	3	4	23	27	10	6	1	–
<i>Boophilus</i>	4	17	2	–	4	3	9	4	1	2	–	–

Çizelge 3.2 2008 yılı Tokat ili genelinde sert kene cinslerinin dağılımı

Cins Adı	NİSAN	MAYIS	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	EYLÜL
<i>Hyalomma</i>	73	715	1616	1037	504	144
<i>Rhipicephalus</i>	14	44	328	417	120	28
<i>Haemaphysalis</i>	134	332	51	17	10	126
<i>Dermacentor</i>	15	33	14	12	36	82
<i>Boophilus</i>	-	-	16	21	5	4
<i>Ixodes</i>	1	31	15	8	16	5

Tokat ili genelinde en fazla miktarda *Hyalomma* cinsine ait kene türlerinin bulunduğu ve bu cinse ait türlerin en fazla Haziran- Temmuz aylarında bulunduğu tespit edilmiştir (Orhan ve ark., 2009). 2008 yılı *Hyalomma* cinsine ait kenelerin özellikle Haziran ayında maksimum seviyeye (%40) ulaşmıştır (çizelge 3.2).

Yaptığımız çalışmaya göre *Hyalomma* cinsine ait kenelerin 2008 yılı Tokat ili ve ilçelerinde en çok Zile (%16,2), Tokat merkez (%16) ve Turhal (%13) görüldüğü anlaşılmaktadır (çizelge 3.1). Tokat ili ve ilçelerinde *Hyalomma* cinsinden sonra *Rhipicephalus* cinsine ait kene türlerinin de diğer kene cinslerinin türlerinden daha fazla miktarda bulunduğu tespit edilmiş ve *Hyalomma* cinsine ait kene türlerinde de olduğu gibi *Rhipicephalus* kene cinslerinin türleri de Haziran ve Temmuz aylarında diğer aylara göre daha fazla miktarda olduğu gözlemlenmiştir.

Haemaphysalis cinsine ait kene türleri ise bölgemizde en fazla miktarda Mayıs ve Eylül aylarında olduğu tespit edilmiştir. *Ixodes* cinsine ait kene türleri de Tokat ili ve ilçelerinde diğer kene cinslerinin türlerine göre daha az miktarda yayılış gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat Tokat ilinin bazı ilçelerinde diğer ilçelere göre daha fazla miktarda yayılış gösterdiği gözlemlendi. *Dermacentor* cinsine ait kene türleri Eylül ayında yaz mevsimine göre miktarında artış olduğu tespit edildi.

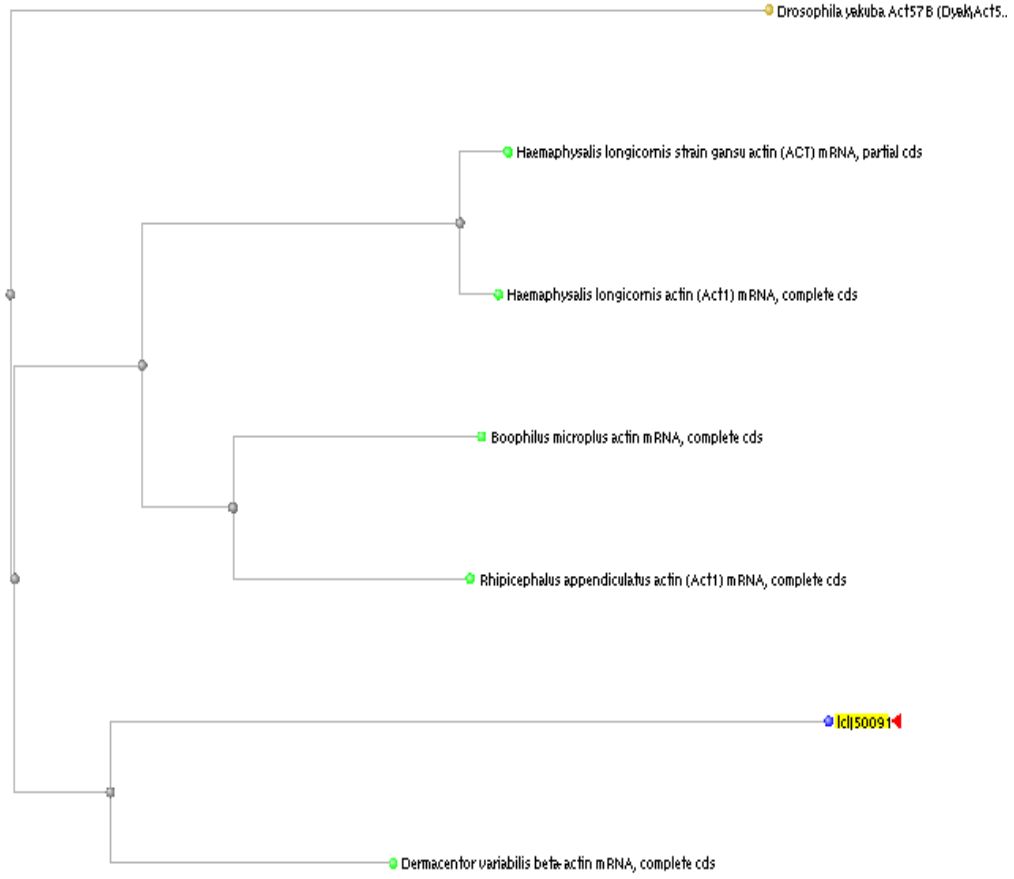
3.2. Sert Kene Cinslerinin Aktin Genlerinin Tespit Edilmesi ve Aktin Genlerinin Birbirleri Arasındaki Benzerlikler

Hyalomma, *Rhipicephalus* ve *Dermacentor* cinsi kenelerden elde edilen RNA'nın RT-PCR ürünlerinin DNA dizisi belirlendi ve dizisi belirlenen örnekler NCBI BLAST Nükleotid Search ortamında homoloji analizine tabi tutuldu. Buna göre sonuçlar alınmıştır:

3.2.1. *Dermacentor* Aktin Sekansı ve diğer kenelerle olan benzerliği

Çizelge 3.3 *Dermacentor sp.* Aktin kısmi dizisi

```
5'TCGGTGGGGATCTTCACGTTGTAGTCGGTGAGGACGCGGCCCGCCAGATC  
TAAACGCAGGATGGCGTGGGGAAGGGCGTAACCTTCGTAGATGGGCACTGT  
GTGGGAGACAGCGTCGCCTGAGTCGAGCACGATACCGGTGGTACGACCGGA  
AGCGTACAGCGACAGCACGGCCTGGATGGCCACGTACATGGCGGGCGTGT  
GAAGGTCTCAAACATGATCTGCGTCATCTTCTCACGGTTGGCCTTGGGGTTA  
ATGGGGGCCACAGCAAGCATAACAGGGTGCTCCTCGGGGGCAACAC3'
```



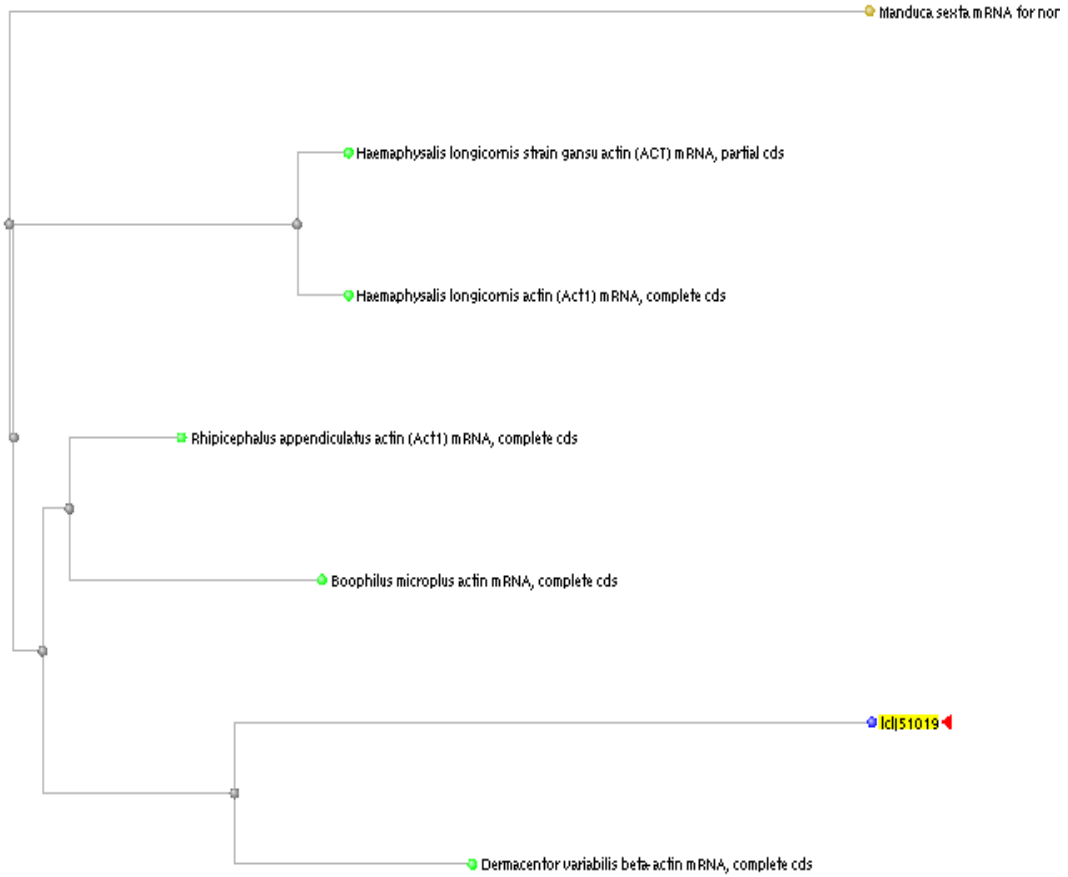
Şekil 3.1 *Dermacentor sp.* aktin dizisi ve diğer kenelerle olan benzerliği (Zhang et al. 2000).

BLAST analizleri *Dermacentor* aktin dizisinin *Dermacentor variabilis* beta-actin mRNA' sına 91 %, *Rhipicephalus appendiculatus* aktin (Act1) mRNA' sına (%90), complete cds (89), *Boophilus microplus* aktin, *Haemaphysalis longicornis* strain gansu aktine 88 % benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır. *Dermacentor* aktininin diğer kene aktinleriyle olan akrabalığını gösteren filogenetik ağaç yukarıda verilmiştir (Şekil 3.1).

3.2.2. *Hyalomma* Aktin Sekansı ve Diğer Kenelerle Olan Benzerliği

Çizelge 3.4 *Hyalomma sp.* aktini kısmi dizisi

5'TTCCAGACCTTCAACACGCCCGCCATGTACTTGGCCATCCTGGCCGTGATG
CCCCTGTACACTTCCGGTCGTACAACCGGTATCGTGCTCAACTCCGGCGATG
GTGTCTCCCCACTGTGCCATCTACAACGGTTACGCCCTTCCCCACGCCATC
CTGCTTCTCGACTTGGCCGGCCGCGACCTGACCGACTACCTCATGAAGATCC
TCACCGAGCGTGGCTACTCTTTCACCACCACGGCTGAGCGTGAAATCATGCG
CAACATCAAGGAGAAGCTTTGCTAC-3'



Şekil 3.2 *Hyalomma sp.* aktin dizisi ve diğer kenelerle olan benzerliği (Zhang et al. 2000).

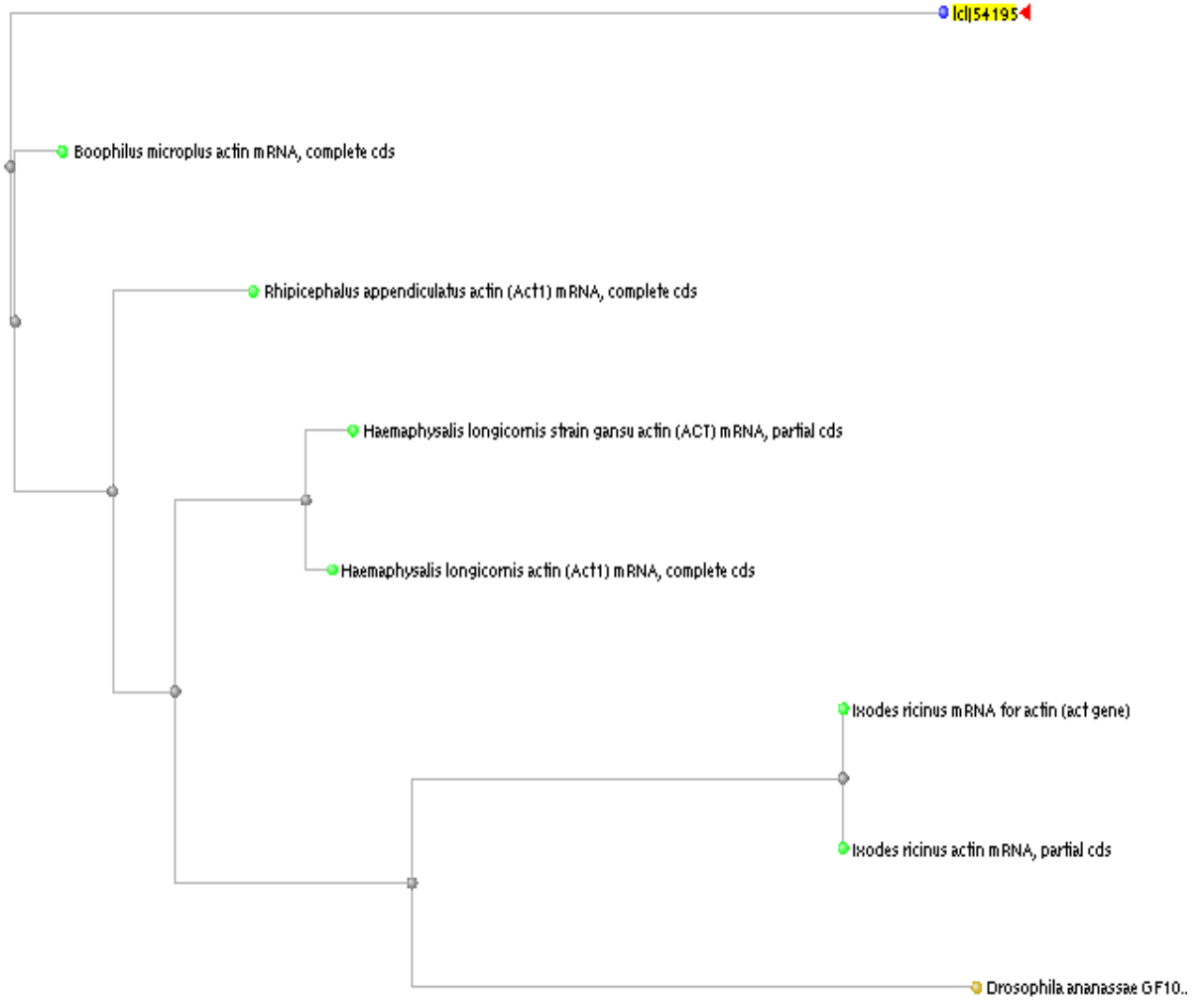
BLAST analizleri, *Hyalomma* dizisinin *Rhipicephalus appendiculatus* aktin (Act1) mRNA'sına (%93), *Dermacentor variabilis* beta-aktin mRNA'sına 92, *Haemaphysalis*

longicornis ve *Boophilus microplus* aktin dizisine 91%, *Haemaphysalis longicornis* strain gansu actine 88 % benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır. *Hyalomma* aktininin diğer kene aktinleriyle olan akrabalığını gösteren filogenetik ağaç yukarıda verilmiştir (Şekil 3.2).

3.2.3 *Rhipicephalus* Aktin Sekansı ve Diğer Kenelerle Olan Benzerliği

Çizelge 3.5 *Rhipicephalus sp.* aktini kısmi dizisi

```
GTGAAAAGATGAAACGCATTATGCTCAACACCTTCAAGACGGCCGCCATGT  
AGGTGGTTATCCTGGCCTTGCTGTCGCTGTACGCCTCCGGTCATACCACCGG  
TATCGTGCTCGACTCCGGCGACGGCGTCTCTCACACCGTGCCCATCTACAAC  
GGTTACGCCCTCCCCCGGCATCCTGCGTCTCGACTTGGCGGGCCGCAACA  
TGACAGATTACCTCATGAAAATCCTCCCCGAGAGTGGCTACTCGTTCCCCAC  
CACAAGCTGAGTGTGACATCGTGATGCGACATCAAGGTAGAAGCTTTGCTA
```



Şekil 3.3 *Rhipicephalus sp.* aktin dizisi ve diğer kenelerle olan benzerliği (Zhang et al. 2000).

BLAST analizleri, *Rhipicephalus* aktininin, *Rhipicephalus appendiculatus* actin (Act1) mRNA'sına (%92), *Dermacentor variabilis* beta-actin mRNA sına 91, *Haemaphysalis longicornis* ve *Boophilus microplus* aktin sekanslarına 90%, benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. *Rhipicephalus* aktininin diğer kene aktinleriyle olan akrabalığını gösteren filogenetik ağaç yukarıda verilmiştir (Şekil 3.3).

4. SONUÇ

Bu çalışmada Tokat ilinde insanlardan toplanan sert kene örnekleri öncelikle sistematik açıdan incelenip cins seviyesinde teşhis edilmiş ve bunların mevsimsel dağılımı belirlenmiştir. Ayrıca *Hyalomma*, *Rhipicephalus* ve *Dermacentor* cinslerinden seçilen kene örneklerinden elde edilen aktin sekansları diğer kenelerin aktinleriyle karşılaştırılarak aralarındaki homoloji tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışma ülkemizde ilk defa yapılmakta olup sonuçları kene mücadelesinde en uygun zamanlamanın belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Taksonomik çalışma sonuçlarına göre bölgemizde *Amblyomma* haricinde 6 sert kene cinslerinin yaygın olarak görüldüğü belirlenmiştir. Çalışmada Nisan –Eylül 2008 ayları arasında kenelerin mevsimsel dağılımı ve sayıları belirlenmiştir. Buna göre tüm cinsler hemen hemen bu aylarda görülmüştür. Fakat özellikle *Hyalomma* ve *Rhipicephalus* cinslerine ait kene türlerine çok sayıda rastlanmıştır. *Hyalomma* cinsine ait kenelerin en kalabalık grubu oluşturduğu belirlenmiştir.

Bölgemizde Tokat geneli ve ilçelerde sert kenelerin mevsimsel dağılımına bakıldığında özellikle *Hyalomma* ve *Rhipicephalus* türlerinin haziran ayında en yüksek sayılara ulaştığı görülmüştür. Her iki cinste de kene sayısında genel olarak temmuzdan sonra düşüş başlamıştır. Bu durum bu türlerin özellikle sıcak ve nemin fazla olduğu aylarda arttığını göstermektedir. Haziran ve Temmuz aylarında *Hyalomma* ve *Rhipicephalus* türlerinde görülen artışla KKHA hastalığının görülme sıklığı arasında doğru ilişki olduğu da gözlemlenmiştir. Ayrıca *Dermacentor* türleri Ağustos ayının sonlarına doğru artarken ve *Ixodes* türlerinin sadece Merkez, Pazar ve Erbaa ilçelerinde görüldüğü tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonucuna göre bölgemizde özellikle sert kenelerin aktif olduğu zaman Mart-Ağustos arası olup, özellikle Haziran-Temmuz aylarında sayılarının en fazla arttığı ve dolayısıyla bu aylarda bu kenelerin en fazla riskli oldukları dönemlerdir. Ayrıca çalışma sonuçlarına göre *Hyalomma* ve *Rhipicephalus* türlerin çok rastlandığı ilçelerin KKHA açısından daha fazla risk taşıdığı düşünülmektedir. Zile

den çok sayıda KKHA vakası çıkması da bu hipotezin doğru olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak Tokat ili ve ilçelerindeki kene faunasının çıkarılmasıyla ilgili çalışmalar hem Tokat ili kene faunasının ortaya çıkarılması hem de bunların taşıdığı hastalıklara karşı daha etkin önlemler alınması açısından önem arz etmektedir.

Ayrıca bu çalışmada *Hyalomma*, *Rhipicephalus* ve *Dermacentor* cinslerinden seçilen kene örneklerinin aktin geni sekansları diğer kenelerin aktinleriyle karşılaştırılmıştır. Elde ettiğimiz aktin dizilerinin BLAST analiz sonuçlarına göre; *Hyalomma* örneklerinin dizisinin Blast analizleri sonucu *Rhipicephalus appendiculatus* actin (Act1) mRNA'sına (%93), *Dermacentor variabilis* beta-aktin mRNA'sına % 92 benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Dermacentor aktin dizisinin BLAST analizleri sonucu *Dermacentor variabilis* beta-actin mRNA'sına %91, *Rhipicephalus appendiculatus* actin (Act1) mRNA'sına %90 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Aynı şekilde *Rhipicephalus* dizisinin BLAST analizleri sonucu *Rhipicephalus appendiculatus* actin (Act1) mRNA'sına %92, *Dermacentor variabilis* beta-actin mRNA'sına % 91 benzerlik gösterdiği ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak moleküler teşhisler sonucu yapılan dizi analizlerinin Blast sonuçlarına göre *Rhipicephalus* ve *Hyalomma* türlerinin aktinlerinin birbirlerine *Dermacentor* cinsine göre daha fazla benzediği tespit edilmiştir. Genel olarak burada test edilen kene türlerinin aktin sekansları arasında yüksek oranda homoloji olduğu sonucuna varılmıştır.

Tokat ili ve ilçelerinde bulunan kene türlerinin mevsimsel dağılımının belirlenmesi hem de bunların bazı genlerinin moleküler açıdan birbirleriyle olan benzerliklerinin belirlenmesi ileride yapılacak biyolojik kontrol çalışmalarına ışık tutması açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Anderson, I., Simon, M., Lundkvist, A., Nilsson, M., Holmström, A., Frerdik, E., Mirazimi, A., 2004. Role of Actin Filaments in Targeting of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus Nucleocapsid Protein to Perinuclear Regions of Mammalian Cells. *Journal of Medical Virology* 72, 83-93
- Anderson, R.R. and Harrington, L.C., 2005. Tick Biology For The Homeowner. <http://www.entomology.cornell.edu/MedEnt/TickbioFS/TickbioFS.html>.
- Anonim, 2007a. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi <http://www.ism.gov.tr/indir/KIRIMKONGO.ppt>
- Anonim, 2009b. *Amblyomma* http://zmmu.msu.ru/eng/r_i_txcc.htm
- Arthur, D.R., 1961. Ticks and Disease Pergamon. 1-445
- Arthur, D.R., 1960. A Manograph of the Ixododae. Part V, On the Genera *Dermacentor*, *Anocentor*, *Cosmioma*, *Boophilus* and *Margarapus*. Cambridge University. Pres 1- 1251.
- Baker, E.W., and Wharton G.W., 1952. An Introduction to Acarology. Marine Biology Laboratory Library. The Macmillan Company Newyork city. First Printing
- Balashov, Y.S., 2005. Bloodsucking Insects and Ticks and Mites, Vectors Of Transmissible Infections Of Humans and Domestic Animals *Entomological Reviewv.* 58, 990–1007.
- Barker, S.C., and Mumell, A., 2004. Systematici and evolution of ticks with a list of valid genus an species names. *Parasitology* 12g Suppl, 515- 536.
- Barker, A.S., 1999. Mites and Ticks Of Domestic Animals. An Identification Guide and Information Sounce, The Stationary Office, London, 240.
- Dunster, L., Dunster, M., Ofula, V., Bet, D., Kazooba-Voskamp, F., Burt, F., Swanepoel, R., DeCock, K.M., 2002. First documentation of human Crimean-Congo hemorrhagic fever, Kenya. *Emerg Infect Dis*, 8, 1005–1006.
- el- Azazy, O.M., Scrimgeour, E.M., 1997. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection in the western province of Saudi Arabia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 91, 275–278.
- Erman, O., Özkan, M., Ayyıldız. N., Doğan, S., 2007. Check list of the Mites (Arachnida: Acari) of Turkey. Second supplement, *Zootaxa* 1532: 1–27
- Flarherty, K.M., Mckay, D.B., Kabsch, W., Holmes, K.C., 1991. Similarity of the 3-dimensional structures of actin and the ATPase fragment of a 70- kDA heat-

shock cognate protein. Proc. Natl.Acad. Sci. USA 88, 5041-5045

Holmes, K.C., Popp, D., Gebhard, W., Kabsch, W., 1990. Atomic model of the actin filament. Nature 347, 44-49.

Hoogstraal, H., 1959. Biological Observations On certain Turkish Haemaphysalis ticks (Ixodidae: Ixodidae), The J.R. of Parazitology. April. Vol.45., No:2., pp.227-232

Horak, G.I., Camicas, L.J., Keirans, E.J., 2002. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. Experimental and Applied Acarology, 28, 27-54.

Kabsch, W., Vandekerckhove, J., 1992. Structure and function of Actin. Biophys. Biomol. 21, 49-76

Karaer, Z., Yukarı, B.A., Aydın, L., 1997. Türkiye keneleri ve vektörlükleri. Parazitoloji' de Ahtropod Hastalıkları Vektörler, Editörler: Özcel, M.A., Doldal, N. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir, 13.

Krantz, G.W., 1971. A Manual of Acarology Thirty Printing (emended). Published by O.S.U Book

Kurtpınar, H., 1954. Türkiye keneleri. Güven Matbaası, Ankara, 112, 1- 112.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J., 2000. Molecular Cell Biology. W.H. Freeman and Company, New York

Merdivenci, A., 1969. Türkiye keneleri üzerine araştırmalar. Kurtuluş Matbaası, İstanbul, 420, 1- 420

Mounier, N., Gouy, M., Mouchiroud, D., Prudhomme, J.C., 1992. Insect muscle actins differ distinctly from invertebrate and vertebrate cytoplasmic actins. J. Mol. Evol. 34, 406-415

Nutall, G.H.F and Warburton, C., 1911. Ticks A Manograph of the Ixodoidea. Cambridge At the University Press. Part IV

Nutall, G.H.F., F.R.S., Warburton, C., 1915. A Manograph of the Ixodoidea. Cambridge At the University Press. Part II

Özkan, M., 1978. Erzurum ve çevre illeri kenelerinin sistematik yönden incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum, 524, 2-50.

Özkan, M., Ayyıldız, N., Soysal, Z., 1987. Türkiye akar faunası., Doğa TU., Zooloji D. 12, 1, 1988

Özkan, M., Ayyıldız, N., Erman, O., 1994. Check list of the Acari of Turkey. First supplement. EURAAC news letter., February

- Rayment, I., Holden, H.M., Whittaker, M., Yohn, C.B., Lorenz, M., Holmes, K.C., Milligan, R.A., 1993. Structure of the actin myosin complex and its implications for muscle contraction. *Science* 261, 58-65
- Santos, C.R.A., Power, D.M., Kille, P., Llewellyn, L., Ramsurn, V., Wigham, T., Sweeney, G.E., 1997. Cloning and sequencing of a full-length sea bream (*Sparus aurata*) β - actin cDNA. *Comp. Biochem. Phys. B* 117, 185-189.
- Swanepoel, R., 1995. *Nairovirus* infections. Exotic viral infections. Ed: Porterfield, J.S., Chapman & Hall, London, pp. 285- 293.
- Van Troys, M., Vandekerckhove, J., Ampe, C., 1999. Structural modules in Actin-binding proteins: towards a new classification. *Biochim.Biophys. Acta* 1448, 323-348
- Vandekerckhove, J., Weber, K., 1978. At least six different actins are expressed in higher mammal: an analysis based on the amino acid sequences of the amino-terminal tryptic peptide. *J. Mol. Biol.* 126, 783-802.
- Vaz Jr, I.S., Imamura, S., Nakajima, C., Cardoso, F.C., Ferreira, C.A.S., Renard, G., Masuda, A., Ohashi, K., Onuma, M., 2004. Molecular cloning and Sequence Analysis of cDNAs encoding for *Boophilus micropulus*, *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus appendiculatus* actins. *Veterinary Parasitology* 127, pp 147-155
- Wada, A., Fukuda, M., Mishima, M., Nishida, E., 1998. Nuclear export of actin: a novel mechanism regulating the subcellular localization of a major cytoskeletal protein. *EMBO* 17, 1635-1641
- Watts, D.M., Kziasek, T.G., Linthicum, K.J., Hoogstraal, H., 1988. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever.
- Walker, J.B., Karians, J.E., Horak, I.G., 2005. The Genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae). Cambridge University Press.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W., 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences", *J Comput Biol* 2000; 7(1-2):203-14.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Mehmet ORHAN
Doğum Tarihi ve Yer: 1984, Viranşehir
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0505 6926963 / 0212 6530792
e-mail : mehmet_2109@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi / TOKAT	2006-2009
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi / TOKAT	2006
Lise	Bakırköy Yahya Kemal Beyatlı Lisesi/ İSTANBUL	2001