

GEN ETKİLEŞİMLERİ VE HÜCRESEL YOLAKLAR

Editör
MUZAFFER DUKEL



BİDGE Yayınları

GEN ETKİLEŞİMLERİ VE HÜCRESEL YOLAKLAR

Editör: MUZAFFER DUKEL

ISBN: 978-625-372-775-8

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 2025-06-25

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



İÇİNDEKİLER

EXPRESSION PROFILES OF S100 GENES IN BREAST AND OVARIAN CANCERS: ASSOCIATION WITH BRCA MUTATIONS	1
<i>MUZAFFER DUKEK</i>	
UZUN KODLAMA YAPMAYAN RNA'LAR: ETKİ MEKANİZMALARI VE FONKSİYONLARI	26
<i>KÜBRA GÜNDÜZ, ENDER COŞKUNPINAR</i>	
D-GALAKTOZ DERİVATLARI VE İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ	43
<i>ŞULE MUTLU, ALİ GÜCÜKOĞLU</i>	
Üre Devri Enzimleri İçin Fare Cdna Primerlerinin Dizayn Edilmesi	70
<i>MEHMET ÇİFTÇİ</i>	

Expression Profiles of S100 Genes in Breast and Ovarian Cancers: Association with BRCA Mutations

BÖLÜM 1 Muzaffer DÜKEL¹

Introduction

Cancer is one of the leading global health burdens and remains a major cause of mortality worldwide. According to GLOBOCAN 2018 estimates, cancer accounted for approximately 9.6 million deaths, representing one in six deaths globally and ranking as the second leading cause of death (Siegel et al., 2023). According to the most recent cancer statistics, breast cancer is the most diagnosed malignancy and the second leading cause of cancer-related death among women. (Siegel et al., 2025). On the other hand, ovarian cancer is the most lethal malignancy of the female reproductive system and ranks as the fourth most commonly diagnosed cancer among women. (Malek & Walker, 2013). Although breast cancer is often diagnosed at an early stage due to the availability of effective screening methods, ovarian cancer is typically asymptomatic in its early phases, which significantly hampers early detection. (Thulesius et al., 2004). The development of novel early detection biomarkers remains a major clinical need for both breast and ovarian cancers. Germline mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes are commonly detected in patients with these malignancies. (Welsh, 2001). Breast cancer patients carrying germline BRCA1 or BRCA2 mutations have been found to develop metastatic tumors more frequently. (Arun et al., 2024). Moreover, in a pivotal study analyzing over 8,000 unselected cases of breast and ovarian cancer, the estimated lifetime risk of developing ovarian cancer was found to be approximately 39% in BRCA1 mutation carriers and 11% in those with BRCA2 mutations. (Neff et al., 2017). Several members of the S100 protein family are involved in, or initiate, during key biological processes associated with malignant phenotypes, including cell proliferation, metastasis, and angiogenesis. Altered expression of S100 proteins has been reported in various pathological conditions such as cancer, inflammatory diseases, cardiomyopathies, and neurodegenerative disorders (Bresnick et al., 2015). In this study, we first examined the

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

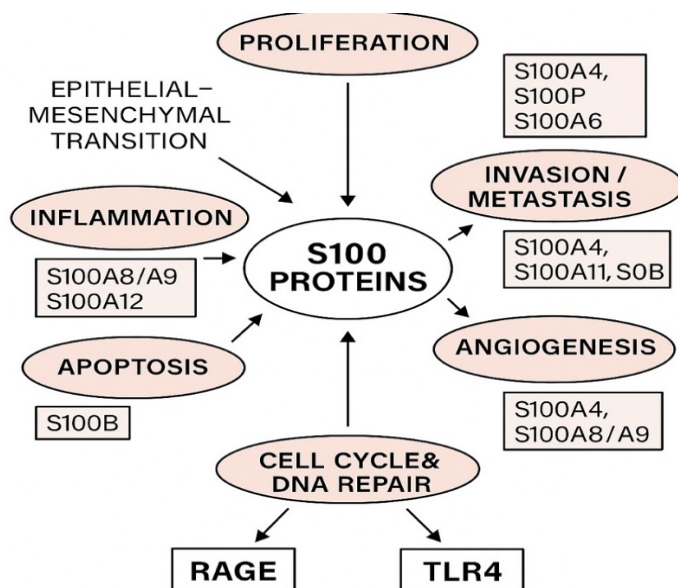
expression profiles of S100 family proteins in breast and ovarian cancers. We then reviewed the current understanding of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast, ovarian, and other cancer types. Finally, we investigated the potential association between selected S100 proteins and BRCA1/BRCA2 mutational status specifically in breast and ovarian cancers. To evaluate their clinical relevance, we performed survival analysis using the cBioPortal database.

S100 Proteins

The S100 protein family consists of 21 well-characterized members, all of which share EF-hand calcium-binding motifs. These proteins are believed to function as both intracellular and extracellular regulators. S100 proteins interact with a broad range of molecular targets, including nucleic acids, receptors, cytoskeletal components, and enzymes. Through these interactions, they are implicated in the regulation of various physiological and pathological processes such as cell proliferation, differentiation, apoptosis, calcium homeostasis, energy metabolism, inflammation, cell migration, and invasion (Donato, 2001). Although S100 proteins lack intrinsic enzymatic activity, they have been shown to modulate the function of other proteins through direct protein–protein interactions (Boye & Mælandsmo, 2010). Members of the S100 protein family are involved in, or initiate, biological processes that contribute to the development of malignant diseases, including cell proliferation, metastasis, and angiogenesis. Altered expression of S100 proteins has also been reported in various pathological conditions, such as cancer, inflammatory diseases, cardiomyopathies, and neurodegenerative disorders (Schneider et al., 2008). These proteins are considered promising novel targets for cancer diagnosis and therapy (Dahlmann et al., 2016). Experimental studies using murine models have indicated that S100 family proteins may serve as effective therapeutic targets in cancer. Importantly, genetic alterations in these proteins appear to cause minimal disruption to normal physiological functions, supporting their potential safety for targeted interventions (Figure 1) (Bresnick et al., 2015).

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

Figure 1. The roles of s100 proteins in carcinogenesis
(Figure was generated by the author based on data adapted from
(Allgöwer et al., 2020; Bresnick et al., 2015; Donato et al., 2013;
Salama et al., 2008))



The Role of S100 Proteins in the Development of Breast and Ovarian Cancer

S100 proteins have been shown to exert both oncogenic and tumor-suppressive functions, depending on the type and context of the cancer (Allgöwer et al., 2020). This study specifically focuses on the role of S100 proteins in breast and ovarian cancers. The proteins discussed herein are either those that exhibit altered expression in breast and ovarian cancer cells or those previously associated with DNA repair mechanisms. S100A7, in particular, has been reported to be highly overexpressed in breast cancer cells. Functional studies have shown that inactivation of S100A7 leads to increased invasion and migration of breast cancer cells, while having no significant effect on their proliferation or survival. Moreover, in vivo studies

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

have demonstrated that S100A7 inactivation suppresses tumor growth (Krop et al., 2005). S100A7 is member of the S100 protein family with a low molecular weight of approximately 11.4 kDa. It regulates inflammatory responses by modulating cytokine production in various cell types and enhancing chemotaxis in T cells. In addition, S100A7 has been implicated in the development of several epithelial malignancies, including breast cancer (Deol et al., 2011).

S100A2, also known as S100L or CaN19, is a member of the S100 protein family. Its expression has been reported to be downregulated in several cancers, including those of the breast, skin, lung, kidney, and prostate. In contrast, an increased expression of S100A2 has been observed in ovarian cancer. Notably, elevated S100A2 levels in ovarian tumors have been associated with advanced disease stages and poor prognosis (Wolf et al., 2011; Bai et al., 2018). S100A2 is believed to play a role in the activation of the tumor suppressor protein p53, suggesting its potential importance in the regulation of cancer metastasis (van Dieck et al., 2009).

S100A9, a member of the S100 protein family, plays a significant role in both breast and ovarian cancers. It commonly forms a heterodimer with S100A8, and the two proteins are known to function cooperatively in the regulation of inflammatory responses. Their expression is highly tissue-specific and typically occurs in parallel. However, differential expression patterns have been observed under pathological conditions, including cancer (Delabie et al., 1990). In breast cancer, elevated S100A9 expression has been particularly associated with tumors that are estrogen and progesterone receptor-negative (ER-/PgR-) and HER2-positive, and this overexpression correlates with poor prognosis. High levels of S100A9 promote inflammation within the tumor microenvironment by enhancing the production of pro-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-8, and IL-1 β in tumor cells. This pro-inflammatory state is inversely associated with patient survival (Bergenfels et al., 2015). In ovarian cancer, S100A9 expression is also elevated and has been linked to advanced disease stages. High

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

S100A9 levels may enhance tumor cell proliferation and invasion through modulation of cell cycle regulation and activation of the PI3K/AKT signaling pathway. Moreover, increased S100A9 expression may suppress immune responses, thereby contributing to cancer progression (Bai et al., 2018; Huang et al., 2019).

S100A4, another member of the S100 protein family, is strongly associated with metastasis and tumor progression in both breast and ovarian cancers. In a study involving 111 ovarian cancer cases, S100A4 gene expression was found to be significantly higher in individuals with advanced-stage disease. Immunohistochemical analyses further revealed that increased nuclear localization of S100A4 correlated with poorer prognosis in ovarian cancer patients (Kikuchi et al., 2006). Similarly, studies conducted on ovarian cancer cell lines and patients with epithelial ovarian cancer have demonstrated increased expression of the S100A4 gene. Reduced expression of S100A4 was shown to impair cell motility and diminish metastatic capacity, whereas elevated S100A4 levels enhanced the invasive potential of epithelial ovarian cancer cells (Yan et al., 2016). In breast cancer, S100A4 expression is notably upregulated in cases exhibiting lymph node metastasis, and this elevation has been correlated with unfavorable clinical outcomes. Mechanistically, S100A4 interacts with cytoskeletal components to facilitate cytoskeletal remodeling, thereby promoting enhanced cellular motility and invasive capacity, ultimately contributing to the metastatic potential of breast tumor cells (Ismail et al., 2008).

Another S100 family member exhibiting altered expression in breast and ovarian cancers is S100B. In breast cancer, elevated S100B expression has been particularly observed in estrogen receptor-negative (ER-) patients. In vitro studies using MDA-MB-231 and Hs578T cells have shown that recombinant S100B expression suppresses cell migration while upregulating epithelial cadherin (E-cadherin) expression (Yen et al., 2017). In ovarian cancer, S100B expression has been associated with tumor stage. Elevated S100B levels correlate with increased expression of cancer stem cell-associated markers such as CD133, Nanog, and Oct4. Mechanistically, S100B is proposed to contribute to the acquisition

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

of stem-like properties by suppressing p53 expression, thereby facilitating cancer stem cell characteristics (Yang et al., 2017). These findings indicate that S100B plays a critical role in regulating metastasis, prognosis, and therapeutic response in both breast and ovarian cancers. Its involvement in cancer biology supports its potential utility as a therapeutic target and prognostic or predictive biomarker.

S100A11 is a member of the S100 protein family that has been implicated in DNA repair mechanisms. It has been shown to be highly expressed in breast cancer. Mutations in the S100A11 gene have been observed to directly influence disease progression, suggesting its potential as a prognostic biomarker in breast cancer (He et al., 2023). Similarly, elevated S100A11 expression in ovarian cancer patients has been shown to negatively impact overall survival and is associated with a more aggressive disease course. Moreover, S100A11 expression has been correlated with tumor progress and histological grade in ovarian cancer (Y. Li & Zhang, 2017).

In conclusion, the aberrant overexpression of S100 proteins in both breast and ovarian cancers is associated with poor prognosis, aggressive disease progression, and the development of therapy resistance. Therefore, S100 proteins emerge as promising prognostic biomarkers and potential therapeutic targets in both cancer types.

BRCA1 and BRCA2 Proteins

BRCA1 and BRCA2 proteins are essential mediators of homologous recombination-mediated repair of DNA double-strand breaks. Loss of their function compromises genomic integrity and contributes to genomic instability, a hallmark of cancer development (Gorodetska et al., 2019). BRCA1 functions as a multifunctional regulator in DNA damage response. Upon the formation of DNA double-strand breaks (DSBs), it is activated through phosphorylation by ATM/ATR kinases and is subsequently recruited to the sites of damage. BRCA1 interacts with the Rad50–Mre11–NBS1 (MRN) complex to facilitate the generation of single-stranded DNA (ssDNA), thereby preparing an appropriate substrate for homologous recombination (HR). In parallel, it promotes the

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4363

formation of γ -H2AX, aiding in the recruitment of DNA repair proteins to damaged chromatin. Additionally, BRCA1 modulates c-Abl kinase activity to regulate apoptotic responses and maintain genomic stability. Through these diverse functions, BRCA1 acts as a central coordinator of the cellular DNA repair machinery (Yoshida & Miki, 2004). Similarly, BRCA2 serves as a key regulator in the repair of DNA double-strand breaks (DSBs) through homologous recombination. It facilitates the recruitment of repair proteins to sites of DNA damage by interacting with RAD51 and γ -H2AX via its BRC repeats and C-terminal domain (Zhao et al., 2013). In BRCA2-deficient cells, impaired nuclear transport of RAD51 compromises the efficiency of the homologous recombination repair pathway, leading to mitotic abnormalities in the presence of replication stress (Feng & Jasin, 2017). Current models suggest that the BRCA2–RAD51 complex transitions between inactive and active conformations, and that this switch is regulated by post-translational modifications in response to DNA damage (Yoshida & Miki, 2004). PALB2 also functions as a critical intermediary adaptor protein in the homologous recombination repair of DNA double-strand breaks by bridging BRCA1 and BRCA2. Following the localization of BRCA1 to the DNA damage site, PALB2 recruits BRCA2 to the same region, thereby facilitating the loading of RAD51 onto single-stranded DNA (Zhang et al., 2009). This mechanism underscores the critical role of BRCA2 in maintaining genomic stability and preventing tumorigenesis (Figure 2).

Figure 2 BRCA1–BRCA2 Interaction in the maintenance of genomic stability (Figure was generated by AI)

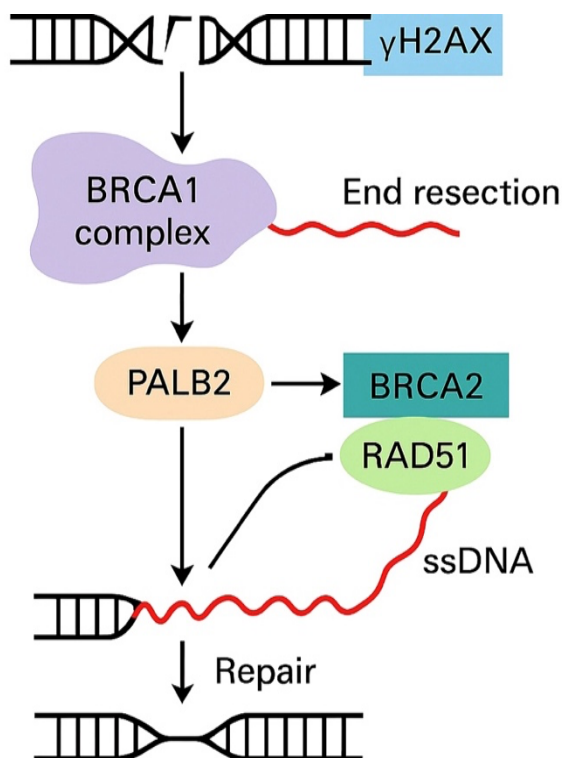


Table 1 summarizes the roles of BRCA1 and BRCA2 in DNA damage response, cell cycle regulation, and maintenance of genomic stability, highlighting their key functional differences.

Table 1. Primary roles and key Differences Between BRCA1 and BRCA2

Feature	BRCA1	BRCA2	Reference
---------	-------	-------	-----------

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

Primary role	Early DNA damage recognition, checkpoint activation, and end resection regulation	RAD51 loading onto single-stranded DNA for homologous recombination	(Roy et al., 2012)
Checkpoint involvement	Activates ATM/ATR and cell cycle checkpoints (G1/S and G2/M arrest)	Not directly involved in checkpoint control	(Roy et al., 2012; Lord & Ashworth, 2016)
End resection regulation	Interacts with CtIP and MRN complex to promote DNA end resection; antagonizes 53BP1	Not directly involved in end resection	(Venkitaraman, 2014; D'Andrea, 2018)
Protein partners	Interacts with BARD1, CtIP, PALB2, MRN complex, and ATM	Interacts mainly with PALB2, DSS1, and RAD51	(Holloman, 2011; D'Andrea, 2018)
RAD51 interaction	Indirect — recruits PALB2-BRCA2-RAD51 complex	Direct — binds RAD51 through BRC repeats to load RAD51 on ssDNA	(Lord & Ashworth, 2016; D'Andrea, 2018)
Loss leads to	Genomic instability, defective checkpoint arrest, chromosomal rearrangements	Genomic instability, defective HR repair, but checkpoint function often remains intact	(Roy et al., 2012; Venkitaraman, 2014)
Cancer spectrum	Higher lifetime risk for triple-negative breast cancer and ovarian cancer	Higher risk for hormone receptor-positive breast cancer and male breast cancer	(Foulkes et al., 2010; Kuchenbaecker et al., 2017)

The Roles of BRCA1 and BRCA2 Proteins in Tumorigenesis

As outlined above, the BRCA1 and BRCA2 genes play essential roles in the cellular response to DNA damage, and this

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353

function underlies their classification as tumor suppressor genes in the context of carcinogenesis (King et al., 2003). These genes play particularly critical roles in the repair of DNA double-strand breaks through the homologous recombination (HR) pathway. By facilitating accurate DNA repair, they help preserve genomic integrity and prevent the accumulation of mutations during cell division (Lord & Ashworth, 2016). However, germline or somatic mutations in the BRCA1 or BRCA2 genes impair accurate DNA repair, leading to the accumulation of damage and promoting genomic instability (Xu et al., 2025).

BRCA1 functions in the detection of DNA damage, the organization of repair complexes, and the regulation of cell cycle checkpoints, whereas BRCA2 primarily facilitates the recruitment of RAD51 and plays a direct role in the homologous recombination repair pathway (Holloman, 2011; Xu et al., 2025). Beyond its central role in DNA repair, BRCA1 also participates in the transcriptional regulation of gene expression, modulation of chromatin architecture, and the control of apoptotic signaling pathways (Deng & Brodie, 2000). In contrast, the primary function of BRCA2 is to initiate the repair of DNA double-strand breaks (DSBs) by facilitating the recruitment and loading of RAD51 onto single-stranded DNA. Germline mutations affecting one allele of either the BRCA1 or BRCA2 breast cancer susceptibility gene compromise the cell's ability to respond to DNA damage, leading to increased vulnerability and the accumulation of cumulative genetic alterations (Andreassen et al., 2021).

The principal oncogenic role of BRCA1 and BRCA2 arises from the loss of their essential functions in DNA repair. Dysfunction of these genes compromises genomic surveillance, leading to increased genomic instability and accelerating the process of carcinogenesis (Hatano et al., 2020; Venkitaraman, 2019). Therefore, advancing our understanding of BRCA gene function holds significant importance for elucidating cancer biology and guiding the development of personalized treatment strategies.

The Impact of BRCA1 and BRCA2 Mutations on the Development of Ovarian and Breast Cancer

Hereditary mutations in BRCA1 and BRCA2 have been extensively shown to increase the risk of developing breast and ovarian cancers. Women carrying a germline BRCA1 mutation are estimated to have a 60–80% lifetime risk of developing breast cancer and a 40–60% risk of developing ovarian cancer. In comparison, individuals with germline BRCA2 mutations also exhibit elevated risk, though the estimated percentages are generally lower for both cancer types (Milne & Antoniou, 2011; Momozawa et al., 2022). Loss of BRCA1 and BRCA2 function leads to defective DNA repair, genomic instability, and cellular transformation. These defects contribute to the acquisition of malignant phenotypes and the initiation of tumorigenesis. In particular, cells harboring BRCA mutations accumulate unrepaired DNA damage due to dysfunction not only in homologous recombination but also in associated pathways, including p53 signaling, checkpoint control proteins, and apoptotic mechanisms (Roy et al., 2012; Venkitaraman, 2014). Moreover, a recent study demonstrated that male individuals carrying mutations in either BRCA1 or BRCA2 have a statistically significant increase in breast cancer risk (Momozawa et al., 2022). Studies have suggested that one of the underlying mechanisms contributing to the high penetrance of BRCA mutations in breast and ovarian cancers involves hormone response pathways and interactions with the tumor microenvironment (Loizzi et al., 2023; Roy et al., 2012; Widschwendter et al., 2013). In particular, BRCA1 mutations have been shown to influence the proliferative capacity of breast and ovarian epithelial tissues by modulating estrogen metabolism and receptor-mediated signaling, potentially contributing to tumor development (Rajan et al., 2021).

BRCA1 and BRCA2 Mutations in Other Cancer Types

Although BRCA germline mutations are most commonly observed in patients with breast and ovarian cancers, they have also

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

been associated with an increased risk of other malignancies, including pancreatic cancer, prostate cancer, and certain subtypes of melanoma. Among these, pancreatic cancer demonstrates a statistically significant elevation in risk among individuals carrying BRCA1 or BRCA2 mutations. A recent study reported that the cumulative lifetime incidence of pancreatic cancer is approximately 2.2% in female BRCA1 mutation carriers and 3% in female BRCA2 mutation carriers (Katona et al., 2025).

Meta-analyses have shown that individuals carrying BRCA mutations have approximately 2-fold increased risk of developing prostate cancer. Notably, male carriers of BRCA2 mutations exhibit over 2-fold increase in lifetime prostate cancer risk, whereas the risk associated with BRCA1 mutations appears to be comparatively lower (Oh et al., 2018; Nyberg et al., 2022). Although BRCA mutations contribute to cancer development in several malignancies, the associated risk is highest for breast and ovarian cancers.

Correlation of S100 Gene Expression with BRCA1/2 Mutations

In breast and ovarian cancers, interactions between BRCA1/2 gene mutations and members of the S100 protein family hold promise for understanding carcinogenesis and improving early detection strategies. As previously discussed, BRCA1 and BRCA2 play a pivotal role in the repair of DNA double-strand breaks, and mutations in these genes are key drivers of hereditary breast and ovarian cancer. S100 proteins, on the other hand, regulate numerous cellular processes in a calcium-dependent manner, and their direct involvement in cancer development has been demonstrated in numerous studies.

A few S100 genes have been associated with BRCA mutations in breast and ovarian cancers. For instance, expression of the S100A2 gene has been shown to depend on the co-presence of BRCA1 and Δ Np63 proteins, and it is absent in the context of mutant BRCA1. Notably, induced expression of S100A2 in BRCA1-mutant breast cancer cells has been reported to suppress cell proliferation (Buckley et al., 2014). As previously noted, S100A9 expression is elevated in both breast and ovarian cancers. A recent study

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

demonstrated that S100A9 upregulation promotes the development of BRCA1-mutant breast cancer. Furthermore, suppression of S100A9 expression has been proposed as a potential therapeutic strategy in breast cancer immunotherapy (J. Li et al., 2022). Finally, S100A11 is recognized as an oncogenic factor in the context of both breast and ovarian cancer (Liu et al., 2015; He et al., 2023). A recently published study indicates that S100A11 plays essential roles in the regulation of DNA repair pathways (Chen et al., 2025). However, no studies have directly investigated the relationship between S100A11 and BRCA mutations in either breast or ovarian cancer.

The Effect of S100 Gene Expression on Patient Survival in Breast and Ovarian Cancer Patients with BRCA Mutations

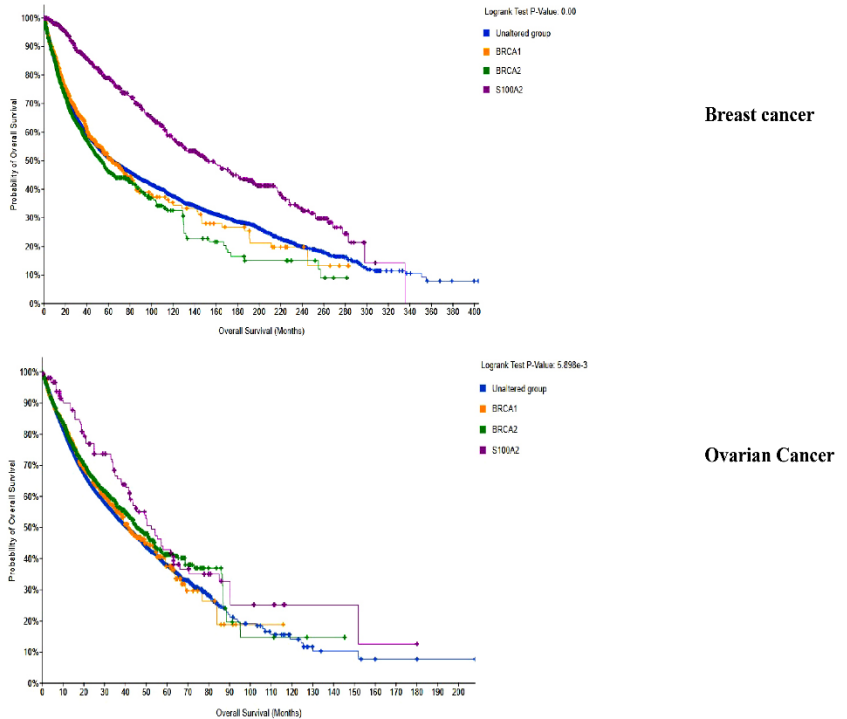
Finally, using the cBioPortal database, we examined the impact of S100A2, S100A4, S100A9, and S100A11 gene expression on overall survival in breast and ovarian cancer patients harboring BRCA mutations. Although not all survival plots are shown, the analysis revealed that high S100A2 expression was significantly associated with reduced overall survival in BRCA-mutant breast and ovarian cancer patients. This suggests a potential prognostic role for S100A2 in BRCA-associated cancers (Figure 3). In contrast, alterations in S100A4 or S100A11 expression did not show any statistically significant association with patient survival in either cancer type (data not shown). Interestingly, a slight decrease in survival was observed in ovarian cancer patients carrying S100A9 mutations, whereas S100A9 expression did not appear to influence survival in BRCA-mutant breast cancer cases.

Collectively, our findings reinforce the pivotal role of BRCA1 and BRCA2 in the pathogenesis of both breast and ovarian cancers and highlight the differential expression patterns of S100 family genes in these malignancies. Notably, the observed association between high S100A2 expression and poor survival outcomes in BRCA-mutated cancers suggests that S100A2 may serve as a clinically relevant prognostic biomarker. In light of recent studies proposing S100 genes as potential tools for early cancer

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

detection, our data provide supportive evidence for their biomarker utility in genetically defined subgroups. Furthermore, as novel therapies targeting BRCA mutations continue to emerge, integrating S100 expression profiles may enhance patient stratification and guide future personalized treatment strategies.

Figure 3. Effect of S100A2 expression on overall survival in breast and ovarian cancer patients with BRCA1 or BRCA2 mutations



¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

References

- Allgöwer, C., Kretz, A.-L., von Karstedt, S., Wittau, M., Henne-Bruns, D., & Lemke, J. (2020). Friend or Foe: S100 Proteins in Cancer. *Cancers*, 12(8), 2037. <https://doi.org/10.3390/cancers12082037>
- Andreassen, P. R., Seo, J., Wiek, C., & Hanenberg, H. (2021). Understanding BRCA2 Function as a Tumor Suppressor Based on Domain-Specific Activities in DNA Damage Responses. *Genes*, 12(7), 1034. <https://doi.org/10.3390/genes12071034>
- Arun, B., Couch, F. J., Abraham, J., Tung, N., & Fasching, P. A. (2024). BRCA-mutated breast cancer: the unmet need, challenges and therapeutic benefits of genetic testing. *British Journal of Cancer*, 131(9), 1400–1414. <https://doi.org/10.1038/s41416-024-02827-z>
- Bai, Y., Li, L.-D., Li, J., & Lu, X. (2018). Prognostic values of S100 family members in ovarian cancer patients. *BMC Cancer*, 18(1), 1256. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5170-3>
- Bergenfels, C., Gaber, A., Allaoui, R., Mehmeti, M., Jirström, K., Leanderson, T., & Leandersson, K. (2015). S100A9 expressed in ER–PgR– breast cancers induces inflammatory cytokines and is associated with an impaired overall survival. *British Journal of Cancer*, 113(8), 1234–1243. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.346>
- Boye, K., & Mølandsmo, G. M. (2010). S100A4 and Metastasis. *The American Journal of Pathology*, 176(2), 528–535. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090526>

- Bresnick, A. R., Weber, D. J., & Zimmer, D. B. (2015). S100 proteins in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 15(2), 96–109. <https://doi.org/10.1038/nrc3893>
- Buckley, N. E., D’Costa, Z., Kaminska, M., & Mullan, P. B. (2014). S100A2 is a BRCA1/p63 coregulated tumour suppressor gene with roles in the regulation of mutant p53 stability. *Cell Death & Disease*, 5(2), e1070–e1070. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.31>
- Chen, L., Wang, M., Gao, Y., Lv, Y., Zhai, L., Dong, J., Chen, Y., Li, X., Guo, X., Chen, B., Ru, Y., & Lv, X. (2025). E3 ubiquitin ligase FBXW11-mediated downregulation of S100A11 promotes sensitivity to PARP inhibitor in ovarian cancer. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 101246. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2025.101246>
- Dahlmann, M., Kobelt, D., Walther, W., Mudduluru, G., & Stein, U. (2016). S100A4 in Cancer Metastasis: Wnt Signaling-Driven Interventions for Metastasis Restriction. *Cancers*, 8(6), 59. <https://doi.org/10.3390/cancers8060059>
- D’Andrea, A. D. (2018). Mechanisms of PARP inhibitor sensitivity and resistance. *DNA Repair*, 71, 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.08.021>
- Delabie, J., de Wolf-Peeters, C., van den Oord, J. J., & Desmet, V. J. (1990). Differential expression of the calcium-binding proteins MRP8 and MRP14 in granulomatous conditions: an immunohistochemical study. *Clinical and Experimental Immunology*, 81(1), 123–126. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1535019&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

- Deng, C. X., & Brodie, S. G. (2000). Roles of BRCA1 and its interacting proteins. *BioEssays : News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 22(8), 728–737. [https://doi.org/10.1002/1521-1878\(200008\)22:8<728::AID-BIES6>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1521-1878(200008)22:8<728::AID-BIES6>3.0.CO;2-B)
- Deol, Y. S., Nasser, M. W., Yu, L., Zou, X., & Ganju, R. K. (2011). Tumor-suppressive Effects of Psoriasin (S100A7) Are Mediated through the β -Catenin/T Cell Factor 4 Protein Pathway in Estrogen Receptor-positive Breast Cancer Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 286(52), 44845–44854. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.225466>
- Donato, R. (2001). S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33(7), 637–668. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(01\)00046-2](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(01)00046-2)
- Donato, R., Cannon, B. R., Sorci, G., Riuzzi, F., Hsu, K., Weber, D. J., & Geczy, C. L. (2013). Functions of S100 proteins. *Current Molecular Medicine*, 13(1), 24–57. <https://doi.org/10.2174/1566524011307010024>
- Feng, W., & Jasin, M. (2017). BRCA2 suppresses replication stress-induced mitotic and G1 abnormalities through homologous recombination. *Nature Communications*, 8(1), 525. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00634-0>
- Foulkes, W. D., Smith, I. E., & Reis-Filho, J. S. (2010). Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 363(20), 1938–1948. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1001389>

- Gorodetska, I., Kozeretska, I., & Dubrovskaya, A. (2019). *BRCA* Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance. *Journal of Cancer*, 10(9), 2109–2127. <https://doi.org/10.7150/jca.30410>
- Hatano, Y., Tamada, M., Matsuo, M., & Hara, A. (2020). Molecular Trajectory of BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00361>
- He, J., Lei, Y., Li, X., Wu, B., & Tang, Y. (2023). Exploring the prognostic value of S100A11 and its association with immune infiltration in breast cancer. *Scientific Reports*, 13(1), 22922. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50160-x>
- Holloman, W. K. (2011). Unraveling the mechanism of BRCA2 in homologous recombination. *Nature Structural & Molecular Biology*, 18(7), 748–754. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2096>
- Huang, M., Wu, R., Chen, L., Peng, Q., Li, S., Zhang, Y., Zhou, L., & Duan, L. (2019). S100A9 Regulates MDSCs-Mediated Immune Suppression via the RAGE and TLR4 Signaling Pathways in Colorectal Carcinoma. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02243>
- Ismail, N. I., Kaur, G., Hashim, H., & Hassan, M. S. (2008). S100A4 overexpression proves to be independent marker for breast cancer progression. *Cancer Cell International*, 8(1), 12. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-8-12>
- Katona, B. W., Lubinski, J., Pal, T., Huzarski, T., Foulkes, W. D., Moller, P., Eisen, A., Randall Armel, S., Neuhausen, S. L., Raj, R., Aeilts, A., Singer, C. F., Bordeleau, L., Karlan, B., Olopade, O., Tung, N., Zakalik, D., Kotsopoulos, J., Fruscio, R., ... Narod, S. A. (2025). The incidence of pancreatic cancer

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

in women with a *BRCA1* or *BRCA2* mutation. *Cancer*, 131(1).
<https://doi.org/10.1002/cncr.35666>

Kikuchi, N., Horiuchi, A., Osada, R., Imai, T., Wang, C., Chen, X., & Konishi, I. (2006). Nuclear expression of S100A4 is associated with aggressive behavior of epithelial ovarian carcinoma: An important autocrine/paracrine factor in tumor progression. *Cancer Science*, 97(10), 1061–1069.
<https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2006.00295.x>

King, M.-C., Marks, J. H., & Mandell, J. B. (2003). Breast and Ovarian Cancer Risks Due to Inherited Mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. *Science*, 302(5645), 643–646.
<https://doi.org/10.1126/science.1088759>

Krop, I., März, A., Carlsson, H., Li, X., Bloushtain-Qimron, N., Hu, M., Gelman, R., Sabel, M. S., Schnitt, S., Ramaswamy, S., Kleer, C. G., Enerbäck, C., & Polyak, K. (2005). A Putative Role for Psoriasin in Breast Tumor Progression. *Cancer Research*, 65(24), 11326–11334.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-1523>

Kuchenbaecker, K. B., Hopper, J. L., Barnes, D. R., Phillips, K.-A., Mooij, T. M., Roos-Blom, M.-J., Jervis, S., van Leeuwen, F. E., Milne, R. L., Andrieu, N., Goldgar, D. E., Terry, M. B., Rookus, M. A., Easton, D. F., Antoniou, A. C., McGuffog, L., Evans, D. G., Barrowdale, D., Frost, D., ... Olsson, H. (2017). Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for *BRCA1* and *BRCA2* Mutation Carriers. *JAMA*, 317(23), 2402.
<https://doi.org/10.1001/jama.2017.7112>

Li, J., Shu, X., Xu, J., Su, S. M., Chan, U. I., Mo, L., Liu, J., Zhang, X., Adhav, R., Chen, Q., Wang, Y., An, T., Zhang, X., Lyu, X., Li, X., Lei, J. H., Miao, K., Sun, H., Xing, F., ... Xu,

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

- X. (2022). S100A9-CXCL12 activation in BRCA1-mutant breast cancer promotes an immunosuppressive microenvironment associated with resistance to immunotherapy. *Nature Communications*, 13(1), 1481. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29151-5>
- Li, Y., & Zhang, J. (2017). Expression of S100A11 is a Prognostic Factor for Disease-free Survival and Overall Survival in Patients With High-grade Serous Ovarian Cancer. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 25(2), 110–116. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000275>
- Liu, Y., Han, X., & Gao, B. (2015). Knockdown of S100A11 expression suppresses ovarian cancer cell growth and invasion. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 9(4), 1460–1464. <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2257>
- Loizzi, V., Dellino, M., Cerbone, M., Arezzo, F., Cazzato, G., Damiani, G. R., Pinto, V., Silvestris, E., Kardhashi, A., Cicinelli, E., Cascardi, E., & Cormio, G. (2023). The Role of Hormonal Replacement Therapy in BRCA Mutated Patients: Lights and Shadows. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 764. <https://doi.org/10.3390/ijms24010764>
- Lord, C. J., & Ashworth, A. (2016). BRCAness revisited. *Nature Reviews Cancer*, 16(2), 110–120. <https://doi.org/10.1038/nrc.2015.21>
- Malek, A., & Walker, J. M. (2013). *Ovarian Cancer: Methods and Protocols*.
- Milne, R. L., & Antoniou, A. C. (2011). Genetic modifiers of cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Annals*

of *Oncology*, 22, i11–i17.

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdq660>

- Momozawa, Y., Sasai, R., Usui, Y., Shiraishi, K., Iwasaki, Y., Taniyama, Y., Parsons, M. T., Mizukami, K., Sekine, Y., Hirata, M., Kamatani, Y., Endo, M., Inai, C., Takata, S., Ito, H., Kohno, T., Matsuda, K., Nakamura, S., Sugano, K., ... Kubo, M. (2022). Expansion of Cancer Risk Profile for *BRCA1* and *BRCA2* Pathogenic Variants. *JAMA Oncology*, 8(6), 871. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.0476>
- Neff, R. T., Senter, L., & Salani, R. (2017). *BRCA* mutation in ovarian cancer: testing, implications and treatment considerations. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 9(8), 519–531. <https://doi.org/10.1177/1758834017714993>
- Nyberg, T., Tischkowitz, M., & Antoniou, A. C. (2022). *BRCA1* and *BRCA2* pathogenic variants and prostate cancer risk: systematic review and meta-analysis. *British Journal of Cancer*, 126(7), 1067–1081. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01675-5>
- Oh, M., Aljadeed, R., Al Khushaym, N. M., Althagafi, A., Fallatah, S., Babiker, H. M., McBride, A., & Abraham, I. (2018). The association of *BRCA1* and *BRCA2* mutations on prostate cancer risk, frequency, and mortality: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*, 36(15_suppl), 5060–5060. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.5060
- Rajan, A., Nadhan, R., Latha, N. R., Krishnan, N., Warriar, A. V., & Srinivas, P. (2021). Deregulated estrogen receptor signaling and DNA damage response in breast tumorigenesis.

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer, 1875(1), 188482. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188482>

- Roy, R., Chun, J., & Powell, S. N. (2012). BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nature Reviews Cancer*, 12(1), 68–78. <https://doi.org/10.1038/nrc3181>
- Salama, I., Malone, P. S., Mihaimeed, F., & Jones, J. L. (2008). A review of the S100 proteins in cancer. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, 34(4), 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2007.04.009>
- Schneider, M., Hansen, J. L., & Sheikh, S. P. (2008). S100A4: a common mediator of epithelial–mesenchymal transition, fibrosis and regeneration in diseases? *Journal of Molecular Medicine*, 86(5), 507–522. <https://doi.org/10.1007/s00109-007-0301-3>
- Siegel, R. L., Kratzer, T. B., Giaquinto, A. N., Sung, H., & Jemal, A. (2025). Cancer statistics, 2025. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 75(1), 10–45. <https://doi.org/10.3322/caac.21871>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- Thulesius, H. O., Lindgren, A. C., Olsson, H. L., & Håkansson, A. (2004). Diagnosis and prognosis of breast and ovarian cancer A population-based study of 234 women. *Acta Oncologica*, 43(2), 175–181. <https://doi.org/10.1080/02841860310022481>
- van Dieck, J., Teufel, D. P., Jaulent, A. M., Fernandez-Fernandez, M. R., Rutherford, T. J., Wyslouch-Cieszyńska, A., & Fersht, A. R. (2009). Posttranslational Modifications Affect the

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

Interaction of S100 Proteins with Tumor Suppressor p53.
Journal of Molecular Biology, 394(5), 922–930.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.10.002>

Venkitaraman, A. R. (2014). Cancer Suppression by the Chromosome Custodians, BRCA1 and BRCA2. *Science*, 343(6178), 1470–1475.
<https://doi.org/10.1126/science.1252230>

Venkitaraman, A. R. (2019). How do mutations affecting the breast cancer genes BRCA1 and BRCA2 cause cancer susceptibility? *DNA Repair*, 81, 102668.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102668>

Welsh, P. L. (2001). BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. *Human Molecular Genetics*, 10(7), 705–713. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.7.705>

Widschwendter, M., Rosenthal, A. N., Philpott, S., Rizzuto, I., Fraser, L., Hayward, J., Intermaggio, M. P., Edlund, C. K., Ramus, S. J., Gayther, S. A., Dubeau, L., Fourkala, E. O., Zaikin, A., Menon, U., & Jacobs, I. J. (2013). The sex hormone system in carriers of BRCA1/2 mutations: a case-control study. *The Lancet Oncology*, 14(12), 1226–1232.
[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70448-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70448-0)

Wolf, S., Haase-Kohn, C., & Pietzsch, J. (2011). S100A2 in cancerogenesis: a friend or a foe? *Amino Acids*, 41(4), 849–861. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0623-2>

Xu, Z., Xie, H., Song, L., Huang, Y., & Huang, J. (2025). BRCA1 and BRCA2 in DNA damage and replication stress response: Insights into their functions, mechanisms, and implications for

¹Assistant Professor, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Molecular Biology and Genetic, Orcid: 0000-0002-6464-4353.

- cancer treatment. *DNA Repair*, 150, 103847.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2025.103847>
- Yan, W., Chen, J., Chen, Z., & Chen, H. (2016). Deregulated miR-296/S100A4 axis promotes tumor invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition in human ovarian cancer. *Am J Cancer Res*, 6(2), 260–269.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27186401>
- Yang, T., Cheng, J., Yang, Y., Qi, W., Zhao, Y., Long, H., Xie, R., & Zhu, B. (2017). S100B Mediates Stemness of Ovarian Cancer Stem-Like Cells Through Inhibiting p53. *Stem Cells*, 35(2), 325–336. <https://doi.org/10.1002/stem.2472>
- Yen, M.-C., Huang, Y.-C., Kan, J.-Y., Kuo, P.-L., Hou, M.-F., & Hsu, Y.-L. (2017). S100B expression in breast cancer as a predictive marker for cancer metastasis. *International Journal of Oncology*. <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.4226>
- Yoshida, K., & Miki, Y. (2004). Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Science*, 95(11), 866–871.
<https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2004.tb02195.x>
- Zhang, F., Ma, J., Wu, J., Ye, L., Cai, H., Xia, B., & Yu, X. (2009). PALB2 Links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-Damage Response. *Current Biology*, 19(6), 524–529.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.02.018>
- ZHAO, W.-T., WANG, Y.-T., HUANG, Z.-W., & FANG, J. (2013). BRCA2 affects the efficiency of DNA double-strand break repair in response to N-nitroso compounds with differing carcinogenic potentials. *Oncology Letters*, 5(6), 1948–1954.
<https://doi.org/10.3892/ol.2013.1269>

BÖLÜM 2

UZUN KODLAMA YAPMAYAN RNA'LAR: ETKİ MEKANİZMALARI VE FONKSİYONLARI

KÜBRA GÜNDÜZ¹
ENDER COŞKUNPINAR²

Giriş

İnsan genom projesinin tamamlanmasının ardından genom çapında ilişkilendirme çalışmaları, insan genomundaki kodlayan gen sayısının yaklaşık 20.000 olduğunu öngörmektedir. İnsan genomunun yaklaşık %75'i seçici olarak transkripsiyona uğramasına rağmen yalnızca ~%2'si protein kodlamaktadır (ENCODE Project Consortium, 2012; Djebali & ark., 2012). Memeli genomunun büyük bir kısmı daha önce "karanlık madde" olarak kabul edilen, proteinler hakkında bilgi kodlamayan RNA'lara transkribe edilir. Herhangi bir protein kodlama kapasitesine sahip olmayan bu transkriptler, kodlamayan RNA (ncRNA) olarak adlandırılır (Djebali & ark., 2012). ncRNA'lar, uzunluklarına göre

¹ Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul/Türkiye, Orcid: 0000-0003-0824-2357, gunduzzkubra@gmail.com

² Prof. Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul/Türkiye Orcid: 0000-0002-1003-5544, ecoskunpinar@gmail.com

iki ana kategoriye ayrılır. Küçük ncRNA'lar (small non-coding RNA: sncRNA), 200 nükleotitten daha kısadır ve büyük ölçüde mikroRNA'ları (miRNA) ve küçük nükleolar RNA'ları (snRNA) içerir. Uzun ncRNA'lar (long non-coding RNA: lncRNA), 200 nükleotitten daha uzundur ve protein kodlama potansiyeli olmayan farklı RNA'ları kapsar. İnsan GENCODE projesi, 16.000 insan lncRNA'sı olduğunu ortaya koymuştur (Derrien & ark., 2012; Deniz & Erman, 2016; Fang & ark., 2018). LncRNA'lar, DNA, RNA ve/veya proteinlerle etkileşime girerek transkripsiyon, epigenetik modifikasyonlar, protein/RNA stabilitesi, translasyon ve post-translasyonel modifikasyonları düzenleyebilir (Fang & ark., 2016). Ayrıca, lncRNA'ların doğrudan sinyal reseptörleriyle etkileşime girdiği gösterilmiştir (Schmidt & ark., 2020). Bununla birlikte, nispeten az sayıda lncRNA'nın işlevi karakterize edilmiştir. Pek çok lncRNA'nın çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu bulunmuştur ancak bu lncRNA'ların hastalık patofizyolojisine tam olarak nasıl katkıda bulunduğu konusundaki bilgilerimiz hala sınırlıdır. Bu bölüm, lncRNA'ların hücre içerisindeki etki mekanizmaları ve fonksiyonlarına dair genel bir bakış açısı sunmakta ve ileri araştırmalar için bir temel oluşturmaktadır.

LncRNA'ların Özellikleri ve Evrimi

LncRNA, 200 nükleotitten fazla transkripsiyon uzunluğuna sahip, RNA polimeraz II (Pol II) ile transkripsiyona uğrayan, protein kodlamayan ancak önemli biyolojik işlevlere sahip RNA molekülü sınıfıdır (Beylerli & ark., 2022). Potansiyel açık okuma çerçevesinin (ORF) uzunluğuna, ORF'nin bilinen protein kodlayan genlere benzerliğine, çerçeve içi nükleotid heksamerlerinin sıklığına veya diğer ampirik dizi özelliklerine dayalı olarak kodlama olasılığını hesaplayan çeşitli algoritmalar vardır (Guo & ark., 2016). Genel olarak, bilinen peptit dizileriyle hiçbir homolojisi olmayan ve kütle spektrometrisi taramalarında tanımlanan peptitlerle eşleşmeyen, kısa (<100nt) korunmayan ORF'ler içeren RNA transkriptleri,

kodlamayan olarak kabul edilir (Harrow & ark., 2012). Ancak son bulgulara göre bazı lncRNA'ların 300 nükleotidden kısa ORF içerebildiği ve translasyona uğrayarak küçük proteinler veya peptitler üretebildikleri gösterilmiştir (Choi & ark., 2019). LncRNA'lar, mRNA'lara benzer şekilde RNA polimeraz II tarafından transkripsiyona uğrarlar, çoğunlukla 5' uçlarına 7-metil guanozin kep eklenir ve 3' uçları poliadenile edilir. Birçok lncRNA poliadenilasyon yoluyla stabilize edilir, poliadenile edilmemiş lncRNA'lar ise 3' uçlarındaki üçlü sarmal yapılar gibi ikincil yapılar yoluyla stabilize edilebilir (Statello & ark., 2021).

Evrimsel olarak lncRNA genleri, protein kodlayan genlere kıyasla daha az korunmuştur; özellikle, ekzon bölgeleri ortalama olarak mRNA'lardan daha az sayıdadır, genellikle promotör bölgelerine ve gen dizilerinin bazı kısa bölümlerine kıyasla daha farklıdır. lncRNA genlerinin farklı bölgeleri korunma açısından analiz edildiğinde, promotörlerin, ekzonlar ve intronlara kıyasla genin en korunan kısımları olduğu bulunmuştur (Schmitz & ark., 2016). lncRNA ekspresyon seviyeleri tipik olarak protein kodlayan genlerden daha düşük seviyededir, daha güçlü dokuya özgü ekspresyon gösterirler ve hücre tipi spesifik süreçlerde önemli rollere sahiptirler. mRNA'ların türler arasındaki yüksek dizi korunumu, genellikle lncRNA'lardan daha fazladır. Bu durum lncRNA'ların fonksiyonunu değerlendirmeyi daha zor hale getirirken, lncRNA'ların farklı türlerdeki rollerine ilişkin evrimleştiği kanısını da sağlayabilir. Aynı zamanda, dizi veya genomik pozisyon düzeyinde koruma gösteren ve türler arasında benzer şekilde işlev görebilen lncRNA alt kümeleri de bulunur (Bridges & ark., 2021). lncRNA'ların hücre çoğalması, morfogenez, pluripotensi, nöronal süreçler, apoptoz, farklılaşma ve gametogenez gibi çok çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rollere katıldığı gösterilmiştir (Akhade & ark., 2017).

LncRNA'ların Hücre İçi Lokalizasyonu

İşlevsel olarak karakterize edilen lncRNA'lar öncelikle nükleusta olmak üzere, özellikle kromatin fraksiyonunda yoğunlaşmıştır. LncRNA'ların gen ekspresyonunu aktive etmek veya baskılamak için kromatin etkileşimleri ile transkripsiyonel programları modüle ettiği gösterilmiştir. Nüklear lncRNA'lar aynı zamanda transkripsiyon faktörlerini genomik hedeflerinden ayırmak için, skaffold olarak nüklear kompartmanın oluşumunda işlev görebilir. LncRNA'lar daha çok nükleusta lokalize olsa da sitoplazmada da birçok işlevleri vardır; mRNA stabilitesini düzenleyebilir, tuzak olarak işlev görerek miRNA'ları hapsedebilir (miRNA süngerleri) veya hedef mRNA'ların translasyonunu düzenleyebilir (Deniz & Erman, 2016). Örneğin, yakın zamanda lncRNA TUG1'in prostat kanserinde ana tümör baskılayıcı gen olan PTEN'e karşı bir sitoplazmik miRNA süngeri olarak görev yaptığı bulunmuştur. Bu çalışma, lncRNA'ların onkojenik veya tümör baskılayıcı işlevlere sahip olabileceğini göstermektedir (Du & ark., 2016). Ayrıca, lncRNA'lar sinyal iletim yollarına, translasyonel programlara ve gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası kontrolüne aracılık etme işlevi görür. LncRNA'lar miRNA'ları ve proteinleri izole ederek bunların aktivitelerini ve seviyelerini düzenleyebilir, proteinlerin post-translasyonel modifikasyonlarını etkileyebilir veya mRNA translasyonu ve stabilitesine aracılık edebilir (Bridges & ark., 2021). Yapılan bir çalışmada, lncRNA'ların, TLR-TRIF (Toll benzeri reseptör/TIR alanı içeren adaptör indükleyen IFN- β) immünite yolağı gibi düzenlenmiş sinyal iletim programlarında işlev gören karmaşık protein ağlarını oluşturmak için sitoplazmada skaffold görevi gördüğünü ortaya koymuştur (Aznaourova & ark., 2020). Nüklear lncRNA'lar genel olarak daha fazla miktarda bulunmalarına rağmen, sitoplazmik olanlardan daha az kararlıdır. Nüklear lncRNA'ların kararsızlığının, gen ekspresyonu modifikasyonundaki rollerini yansıttığı ve

transkripsiyon faktörlerinin değişiminde uyaranlara yanıt olarak seviyelerinin dinamiğini kolaylaştırdığı öne sürülmüştür (Bridges & ark., 2021). Nükleusta yer alan lncRNA'lar esas olarak epigenetik ve transkripsiyonel modifikasyonda, sitoplazmadaki lncRNA'lar ise genellikle post-transkripsiyonel modifikasyonda rol oynar ve böylece mRNA stabilitesi, protein translasyonu ve rekabetçi endojen RNA (ceRNA) ağını düzenlerler (Gao & ark., 2020).

LncRNA'lar ayrıca farklı hücre altı bölmelere yerleşebilir ve buralarda fonksiyona etki edebilirler. rRNA ve tRNA dışındaki kodlamayan RNA'ların insan mitokondriyal transkriptomunun %15'ini oluşturduğu açıklanmıştır. Mitokondriyal olarak kodlanan lncRNA düzenlenmesinin hücre ve dokuya özgü olduğu ve nüklear kodlanmış proteinler tarafından kontrol edildiği bulunmuştur (Rackham & ark., 2011). Mitokondri homeostazisinde, nüklear-DNA'dan transkripsiyona uğrayan lncRNA'ların önemli rolleri vardır. Nükleolusta kodlanan ve RNA bağlayıcı proteinler tarafından mitokondriye taşınan bir lncRNA olan RMRP (RNase MRP), mitokondriyal DNA replikasyonunu düzenler, oksidatif fosforilasyon ve RNA işlenmesinde önemli rol oynar (Noh & ark., 2016).

Endoplazmik retikulumda lokalize edilmiş az sayıda lncRNA ailesi bulunmaktadır. Yakın tarihli bir çalışmada, endoplazmik retikulum membranında yer alan transkriptlerin %97'sinin mRNA olmasına karşın, TUG1 ve NORAD adlı iki lncRNA'nın fazla miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (Fazal & ark., 2019). Ancak, lncRNA'ların ER ile olan rolü ve ilişkisi hala tam olarak keşfedilmemiştir.

LncRNA'lar Aracılığıyla Gen Ekspresyonu Modifikasyonu

LncRNA'lar DNA, RNA ve proteinlerle etkileşime girerek gen ekspresyonunu düzenlerler. DNA metilasyonu ve kromatin modifikasyonu dahil farklı işlevsel adımlarla kromatin yapısını

düzenlerler. Aynı zamanda, organellerin ve nüklear kondensatların oluşumu ve düzenlenmesinde rol oynarlar. LncRNA'ların hedef genlerin transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel süreçlerini etkileyerek gen ekspresyonunu düzenlediği bulunmuştur (Statello & ark., 2021).

Kromatin Yapının Modifikasyonu

LncRNA'ların histon modifikasyon kompleksleri ile etkileşimi, kromatin modifiye edici enzimlerden biri olan polycomb baskılayıcı kompleks 1 (PRC1)'in, polycomb aracılı transkripsiyonel baskılama için gerekli lizin 119'daki (H2AK119ub1) histon H2A'nın monoubikitinasyonu katalizlemesi ile olur. Diğer bir enzim PRC2 ise, histon 3 lizin 27'nin (H3K27me2/3) metilasyonunu sağlayarak transkripsiyonel baskılamaya aracı olur (Yang & Li, 2020). LncRNA ve PRC2 etkileşiminin ilk kanıtı, memelilerde X kromozomu inaktivasyonu çalışmalarından elde edilmiştir. Memeli X kromozomları tarafından kodlanan X-inaktif-spesifik transkript (Xist) RNA'sı en iyi bilinen lncRNA'dır. Xist RNA, Barr cisimciklerini oluşturan, X kromozomunun inaktivasyonunda rol oynayan önemli bir ncRNA'dır. Bu RNA tarafından hiçbir protein kodlanmaz. Embriyonik gelişim sırasında XIST molekülleri, erkekler arasında dozaj telafisi için dişilerdeki iki X kromozomundan birine yayılır ve gen ifadesini susturmak için PRC2'nin inaktif X'e alınmasını sağlar (Bammidi & Gayen, 2024).

LncRNA'lar, DNA metiltransferazlarla (DNMT) etkileşime girer ve özellikle genlerin promotor bölgesindeki CpG adacıklarının epigenetik modifikasyonu aracılığıyla transkripsiyonunu düzenlerler. KCNQ1OT1, KCNQ1 lokusunun antisens transkriptidir ve paternal olarak eksprese edilirken maternal olarak CpG metilasyonu tarafından baskılanır. KCNQ1OT1'in, DNMT1 ve histon modifikasyon kompleksleri ile etkileşimi sonucu paternal

alleldeki KCNQ1 ve diğ er hedef genleri transkripsiyonel olarak baskılanır (Zhang & ark., 2019).

LncRNA'lar gen ekspresyonu üzerinde cis- veya trans- etkili olabilir. Cis-etkili lncRNA'lar aynı kromozomda transkripsiyon bölgelerinin yakınındaki genlerin ekspresyonuna etki eder. HOTTIP (distal   tadaki HOXA transkripti), insan 7. kromozomunda HOXA gen lokusunda transkribe olan lncRNA'dır. HOTTIP, HOXA genlerinin transkripsiyonunu aktive etmek için histon modifikasyonu H3K4me3 kompleksiyle etkileşime girer. Bu nedenle, HOTTIP cis etkili lncRNA'dır (Wang & ark., 2011). Trans-etkili lncRNA'lar ise diğ er kromozomlarda bağımsız lokuslardaki gen ekspresyonunu düzenleyebilir. HOX transkript antisens intergenik RNA (HOTAIR), insan 12. kromozomunda lokalize olan HOXC gen lokusunda transkribe edilir. HOTAIR, PRC2 ve lizin spesifik demetilaz 1 (LSD1) kompleksleriyle etkileşime girerek, sırasıyla lizin 27'deki (H3K27me) histon H3' n metilasyonu ve lizin 4'teki (H3K4) histon H3' n demetilasyonunu gerçekleştirerek HoxD lokusunda transkripsiyonel baskılanmayı sağlar. Bu sonuçlar HOTAIR'in trans içinde hareket ettiğini göstermektedir (Wang & ark., 2011; Deniz & Erman, 2016).

LncRNA'lar gen ekspresyonunun modifikasyonu için kromatin yeniden şekillendirme kompleksleriyle de etkileşime girer. LncRNA SchLAP1'in (prostat-1 ile ilişkili ikinci kromozom lokusu) insan prostat kanseri hücrelerinde kromatin yeniden şekillendirme kompleksi SWI/SNF ile ilişkisi buna en iyi örneklerden biridir. LncRNA SchLAP1, SWI/SNF kompleksinin SNF5 alt birimiyle etkileşime girer ve SWI/SNF kompleksinin genom çapında lokalizasyonu ve düzenleyici işlevlerini antagonize eder, böylece gen aktivitesinin genom çapında baskılanmasına neden olur (Prensner & ark., 2013).

Ayrıca, LncRNA HOTAIR'in insan böbrek kanseri hücrelerinde SWI/SNF kompleksinin SMARCB1 ve ARID1 alt

birimleri ile etkileşime girerek kromatin yapısını değiştirdiği ve SNAIL geninin transkripsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda HOTAIR böbrek kanseri ilerlemesini teşvik etmektedir (Imai-Sumida & ark., 2020).

LncRNA'lar Tarafından Post-Transkripsiyonel Modifikasyon

LncRNA'lar pre-mRNA'nın alternatif splicingi, mRNA'nın stabilizasyonu, proteinlerin translasyonu ve stabilizasyonu dahil olmak üzere post-transkripsiyonel modifikasyon mekanizmalarında rol oynarlar. Ayrıca miRNA süngerisi olarak da fonksiyon gösterebilir ve hedef genlerin ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde değiştirebilirler (Gao & ark., 2020).

LncRNA'lar, splicing faktörleri ve RNA'ya bağlanan proteinler ile etkileşime girerek pre-miRNA'ların alternatif splicingini düzenlemektedir (Zhang & ark., 2019). Post-transkripsiyonel modifikasyonda yer alan lncRNA'ların çoğu antisens lncRNA'lardır. Örneğin; lnc-Spyr1 U2 küçük nükleer ribonükleoprotein yardımcı faktörü 65kD splicing faktörüne bağlanarak epitel-mezenkimal geçiş (EMT) ile ilgili fibroblast büyüme faktörü reseptörü pre-mRNA'sının alternatif splicing sürecini düzenler (Rodríguez-Mateo & ark., 2017).

MALAT1, nükleer beneklerde lokalize olan bir lncRNA'dır ve nükleer beneklerdeki mRNA splicing faktörleriyle etkileşime girerek alternatif splicinge katılır. MALAT1, SR (serin/arjinin) ailesi proteinlerini transkripsiyon bölgelerine yönlendirerek alternatif splicingi düzenler (Ouyang & ark., 2022).

LncRNA'lar, mRNA stabilizasyonu ve yıkımı ile ilişkili olarak da post-transkripsiyonel modifikasyona katılırlar. LncRNA Sirtuin (Sirt1) antisensi Sirt1-AS'nin, Sirt1 antisens ipliğinden transkripsiyona uğrayarak Sirt1 mRNA ile etkileşime girdiği ve transkriptinin stabilitesini artıran, yarı ömrünü uzatan ve SIRT1 protein ekspresyonunu artıran bir RNA dupleksisi oluşturduğu

gösterilmiştir. Sirt1-AS lncRNA'nın Sirt1 mRNA transkriptinin 3'UTR'si ile etkileşime girdiği gösterilmiştir. lncRNA Sirt1-AS, miR-34a'nın Sirt1 mRNA'sına bağlanmasını bloke ederek miyogeneze katılabilir ve bu da SIRT1 proteini ve miyoblast proliferasyonunda artışa sebep olur (Sebastian-delaCruz & ark., 2021).

Ürotelyal Kanser İlişkili 1 (UCA1) lncRNA'nın, hedef mRNA'ların 3'UTR'lerine doğrudan bağlanarak miRNA aracılı mRNA yıkımını engellediği ve mRNA stabilizasyonunu düzenlediği gösterilmiştir. Aynı zamanda UCA1, gen ekspresyonunu negatif yönde düzenleyen miRNA'lar için sünger görevi görerek mRNA stabilizasyonunu ve gen ekspresyonunu da kontrol edebilmektedir (Sebastian-delaCruz & ark., 2021).

β -bölge amiloid öncü proteinini parçalayan enzim 1 (BACE1) geni, Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde önemli rol oynayan bir genidir. BACE1 geninin antisensi lncRNA BACE1-AS, miRNA kaynaklı mRNA yıkımı ve translasyonel baskılamının önlenmesini içeren sinerjik bir mekanizma ile BACE1'in ekspresyonunu düzenler. miR-485-5p ve BACE1-AS, BACE1 mRNA transkriptinin 6. ekzonunda ortak bir bağlanma bölgesini paylaşır ve bu nedenle BACE1-AS'nin bu bölgeye bağlanması, miR-485-5p'nin etkileşimini önler. miR-485-5p tarafından BACE1 mRNA'nın translasyonel baskılanmasını ve destabilizasyonunu engeller ve sonunda BACE1 ekspresyonunda artış olur (Faghihi & ark., 2008).

LncRNA'lar, ayrıca rekabetçi endojen RNA'lar (ceRNA'lar) veya miRNA süngerleri olarak hareket eder ve miRNA'larla ilişki kurarak gen ekspresyonunu düzenlerler. Bu lncRNA'lar, iki mekanizma ile ceRNA olarak görev yapar. Bir veya birkaç miRNA için çoklu bağlanma bölgeleri sayesinde miRNA'yı gerçek mRNA hedeflerinden uzaklaştırarak hedef mRNA transkriptleriyle etkileşime girerler ya da miRNA'ları maskeleyerek hedef

mRNA'lara bağlanmalarını önleyebilirler (Sebastian-delaCruz & ark., 2021). miRNA süngerı olarak görev yapan PTENpg1 lncRNA, tümör baskılayıcı gen PTEN'in ekspresyonunu kontrol eder ve tümör oluşum mekanizmalarında önemli rolü vardır. Tümör baskılayıcı PTEN, PI3K/AKT sinyallemesini negatif olarak düzenleyen bir fosfatazdır ve birden fazla kanser türünde mutasyona uğrar. PTENpg1 transkripsiyonunun, PTEN'i hedef alan miRNA'lar için moleküler tuzak görevi görerek PTEN mRNA'sının ekspresyonunu kontrol ettiğı gösterilmiştir (Poliseno & ark., 2010).

FGFR3 genine antisens olan FGFR3 antisens transkript 1 (FGFR3-AS1) lncRNA ve FGFR ekspresyonunun, osteosarkomlu hastalardan alınan tümörlü dokuda kanserli olmayan dokuyla karşılaştırıldığında arttığı bulunmuştur. FGFR3-AS1 ve FGFR3'ün 1053 nükleotidden oluşan "kuyruk-kuyruk" RNA dupleksı oluşturduğunu ve bunun da FGFR3-AS1'in FGFR3 geninin ekspresyonunda potansiyel bir düzenleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Birçok miRNA'nın FGFR3'ün 3'UTR'sine bağlanarak FGFR3 mRNA bozunmasını indüklediğı bildirilmiştir. Bu nedenle, FGFR3-AS1 ile FGFR3'ün 3'UTR'si arasındaki antisens eşleşmesi, olası miRNA bağlanma bölgelerini bloke ederek FGFR3'ü miRNA kaynaklı bozunmadan ve/veya translasyon inhibisyonundan koruyabilir (Sun & ark., 2016).

lncRNA H19'un miR-29a için bir sünger gibi davrandığı, böylece anjiyogenez faktörü vazohibin 2'nin ekspresyonunda artışa sebep olduğu, glioma ve glioma ile ilişkili endotel hücrelerinin diğer biyolojik süreçlerinin anjiyogenezini desteklediğı ortaya konmuştur (Jia & ark., 2016).

lncRNA CCAT1'in, miR-7'yi sitoplazmadan süngerleyerek transkripsiyon faktörü homeobox geni B1'in ekspresyonunu ve böylece özofageal skuamöz hücreli karsinomun çoğalmasını ve metastazını desteklediğini gösterilmiştir (Zhang & ark., 2017).

LncRNA'ların Translasyonel ve Post-Translasyonel Modifikasyonları

LncRNA'lar translasyon mekanizmasında rol oynayan proteinlere etki ederek mRNA translasyonunu düzenler. LncRNA GAS5, lenfoma hücrelerinde translasyon başlatma faktörü eIF4E ile etkileşime girer. Böylece c-Myc protein translasyonunu inhibe ederek c-Myc ekspresyonunu azaltır bu da apoptoz ve hücre proliferasyonundaki değişikliklerle sonuçlanmaktadır (Hu & ark., 2014).

Tümör baskılayıcı olarak işlev gören LncRNA MT1JP, RNA bağlayıcı protein benzeri 1'e (TIAR) doğrudan bağlanarak transkripsiyon faktörü p53'ün translasyonunda artışa sebep olur. Böylece hücre döngüsü, apoptoz ve proliferasyon gibi mekanizmalarda p53'ün katıldığı translasyonel aktiviteleri düzenlediği gösterilmiştir (Liu & ark., 2016).

LncRNA'lar ayrıca protein stabilitesini düzenler. Kolorektal kanser hücrelerinde lncRNA UPAT, ubiquitinasyon mekanizmasına etki ederek stabilitesini sağlamak için ubiquitin benzeri bitki homeodomaini (PHD) ve RING parmak 1 (UHRF1) proteiniyle etkileşime girer. LncRNA UPAT'ın kolorektal kanser hücrelerinin tümör oluşumu ve ilerlemesinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir (Taniue & ark., 2016).

Sonuç

Bu bölüm, yukarıda örnekleriyle anlatılmış olan lncRNA'ların etki mekanizmaları ve fonksiyonları hakkındaki rolünü anlamada önemli bilgiler sunmaktadır. LncRNA'ların hücre içerisindeki fonksiyonları hakkındaki bilgiler hala sınırlı olmakla birlikte gen ekspresyonunun modifikasyonundaki rollerinin oldukça önemli olduğu bilinmektedir. LncRNA'lar gen ekspresyonunu çeşitli düzeylerde modifiye edebilirler. Bu nedenle etki mekanizmalarının

daha iyi anlaşılması ile gelecekteki çalışmalar hakkında daha kapsamlı bir bakış açısı sağlanabilir.

Kaynakça

Akhade, V. S., Pal, D., & Kanduri, C. (2017). Long noncoding RNA: genome organization and mechanism of action. *Long Non-Coding RNA Biology*, 47-74.

Aznaourova, M., Janga, H., Sefried, S., Kaufmann, A., Dorna, J., Volkers, S. M., ... & Schulte, L. N. (2020). Noncoding RNA MaIL1 is an integral component of the TLR4–TRIF pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(16), 9042-9053.

Bammidi, L. S., & Gayen, S. (2024). Multifaceted role of CTCF in X-chromosome inactivation. *Chromosoma*, 1-15.

Beylerli, O., Gareev, I., Sufianov, A., Ilyasova, T., & Guang, Y. (2022). Long noncoding RNAs as promising biomarkers in cancer. *Non-coding RNA research*, 7(2), 66-70.

Bridges, M. C., Daulagala, A. C., & Kourtidis, A. (2021). LNCcation: lncRNA localization and function. *Journal of Cell Biology*, 220(2), e202009045.

Choi, S. W., Kim, H. W., & Nam, J. W. (2019). The small peptide world in long noncoding RNAs. *Briefings in bioinformatics*, 20(5), 1853-1864.

Deniz, E., & Erman, B. (2017). Long noncoding RNA (lncRNA), a new paradigm in gene expression control. *Functional & integrative genomics*, 17, 135-143.

Derrien, T., Johnson, R., Bussotti, G., Tanzer, A., Djebali, S., Tilgner, H., ... & Guigó, R. (2012). The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome research*, 22(9), 1775-1789.

Djebali, S., et al., Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 2012. 489(7414):101-108.

Du, Z., Sun, T., Hacısuleyman, E., Fei, T., Wang, X., Brown, M., ... & Liu, X. S. (2016). Integrative analyses reveal a long noncoding RNA-mediated sponge regulatory network in prostate cancer. *Nature communications*, 7(1), 10982.

ENCODE Project Consortium. (2012). An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*, 489(7414), 57.

Faghihi, M. A., Modarresi, F., Khalil, A. M., Wood, D. E., Sahagan, B. G., Morgan, T. E., ... & Wahlestedt, C. (2008). Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of β -secretase. *Nature medicine*, 14(7), 723-730.

Fang, S., Zhang, L., Guo, J., Niu, Y., Wu, Y., Li, H., ... & Zhao, Y. (2018). NONCODEV5: a comprehensive annotation database for long non-coding RNAs. *Nucleic acids research*, 46(D1), D308-D314.

Fang, Y., & Fullwood, M. J. (2016). Roles, functions, and mechanisms of long non-coding RNAs in cancer. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, 14(1), 42-54.

Fazal, F. M., Han, S., Parker, K. R., Kaewsapsak, P., Xu, J., Boettiger, A. N., ... & Ting, A. Y. (2019). Atlas of subcellular RNA localization revealed by APEX-Seq. *Cell*, 178(2), 473-490.

Gao, N., Li, Y., Li, J., Gao, Z., Yang, Z., Li, Y., ... & Fan, T. (2020). Long non-coding RNAs: the regulatory mechanisms, research strategies, and future directions in cancers. *Frontiers in oncology*, 10, 598817.

Guo, X., Gao, L., Wang, Y., Chiu, D. K., Wang, T., & Deng, Y. (2016). Advances in long noncoding RNAs: identification, structure prediction and function annotation. *Briefings in functional genomics*, 15(1), 38-46.

Harrow, J., Frankish, A., Gonzalez, J. M., Tapanari, E., Diekhans, M., Kokocinski, F., ... & Hubbard, T. J. (2012). GENCODE: the reference human genome annotation for The ENCODE Project. *Genome research*, 22(9), 1760-1774.

Hu, G., Lou, Z., & Gupta, M. (2014). The long non-coding RNA GAS5 cooperates with the eukaryotic translation initiation factor 4E to regulate c-Myc translation. *PloS one*, 9(9), e107016.

Imai-Sumida, M., Dasgupta, P., Kulkarni, P., Shiina, M., Hashimoto, Y., Shahryari, V., ... & Yamamura, S. (2020). Genistein represses HOTAIR/chromatin remodeling pathways to suppress kidney cancer. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 54(1), 53.

Jia, P., Cai, H., Liu, X., Chen, J., Ma, J., Wang, P., ... & Xue, Y. (2016). Long non-coding RNA H19 regulates glioma angiogenesis and the biological behavior of glioma-associated endothelial cells by inhibiting microRNA-29a. *Cancer letters*, 381(2), 359-369.

Liu, L., Yue, H., Liu, Q., Yuan, J., Li, J., Wei, G., ... & Chen, R. (2016). LncRNA MT1JP functions as a tumor suppressor by interacting with TIAR to modulate the p53 pathway. *Oncotarget*, 7(13), 15787.

Noh, J. H., Kim, K. M., Abdelmohsen, K., Yoon, J. H., Panda, A. C., Munk, R., ... & Gorospe, M. (2016). HuR and GRSF1 modulate the nuclear export and mitochondrial localization of the lncRNA RMRP. *Genes & development*, 30(10), 1224-1239.

Ouyang, J., Zhong, Y., Zhang, Y., Yang, L., Wu, P., Hou, X., ... & Xiong, W. (2022). Long non-coding RNAs are involved in alternative splicing and promote cancer progression. *British journal of cancer*, 126(8), 1113-1124.

Poliseno, L., Salmena, L., Zhang, J., Carver, B., Haveman, W. J., & Pandolfi, P. P. (2010). A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*, 465(7301), 1033-1038.

Prensner, J. R., Iyer, M. K., Sahu, A., Asangani, I. A., Cao, Q., Patel, L., ... & Chinnaiyan, A. M. (2013). The long noncoding RNA SCHLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nature genetics*, 45(11), 1392-1398.

Rackham, O., Shearwood, A. M. J., Mercer, T. R., Davies, S. M., Mattick, J. S., & Filipovska, A. (2011). Long noncoding RNAs are generated from the mitochondrial genome and regulated by nuclear-encoded proteins. *Rna*, 17(12), 2085-2093.

Rodríguez-Mateo, C., Torres, B., Gutiérrez, G., & Pintor-Toro, J. A. (2017). Downregulation of Lnc-Spyr1 mediates TGF- β -induced epithelial–mesenchymal transition by transcriptional and posttranscriptional regulatory mechanisms. *Cell Death & Differentiation*, 24(5), 785-797.

Sebastian-delaCruz, M., Gonzalez-Moro, I., Olazagoitia-Garmendia, A., Castellanos-Rubio, A., & Santin, I. (2021). The role of lncRNAs in gene expression regulation through mRNA stabilization. *Non-coding RNA*, 7(1), 3.

Schmidt, K., Weidmann, C. A., Hilimire, T. A., Yee, E., Hatfield, B. M., Schneekloth, J. S., ... & Novina, C. D. (2020). Targeting the oncogenic long non-coding RNA SLNCR1 by blocking its sequence-specific binding to the androgen receptor. *Cell reports*, 30(2), 541-554.

Schmitz, S. U., Grote, P., & Herrmann, B. G. (2016). Mechanisms of long noncoding RNA function in development and disease. *Cellular and molecular life sciences*, 73, 2491-2509.

Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2021). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 22(2), 96-118.

Sun, J., Wang, X., Fu, C., Wang, X., Zou, J., Hua, H., & Bi, Z. (2016). Long noncoding RNA FGFR3-AS1 promotes osteosarcoma growth through regulating its natural antisense transcript FGFR3. *Molecular biology reports*, 43, 427-436.

Taniue, K., Kurimoto, A., Sugimasa, H., Nasu, E., Takeda, Y., Iwasaki, K., ... & Akiyama, T. (2016). Long noncoding RNA UPAT promotes colon tumorigenesis by inhibiting degradation of UHRF1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(5), 1273-1278.

Wang, K. C., Yang, Y. W., Liu, B., Sanyal, A., Corces-Zimmerman, R., Chen, Y., ... & Chang, H. Y. (2011). A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature*, 472(7341), 120-124.

Yang, Y., & Li, G. (2020). Post-translational modifications of PRC2: signals directing its activity. *Epigenetics & chromatin*, 13(1), 47.

Zhang, E., Han, L., Yin, D., He, X., Hong, L., Si, X., ... & Chen, J. (2017). H3K27 acetylation activated-long non-coding RNA CCAT1 affects cell proliferation and migration by regulating SPRY4 and HOXB13 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Nucleic acids research*, 45(6), 3086-3101.

Zhang, X., Wang, W., Zhu, W., Dong, J., Cheng, Y., Yin, Z., & Shen, F. (2019). Mechanisms and functions of long non-coding RNAs at multiple regulatory levels. *International journal of molecular sciences*, 20(22), 5573.

BÖLÜM 3

D-GALAKTOZ DERİVATLARI VE İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ

ŞULE MUTLU¹
ALİ GÜCÜKOĞLU²

GİRİŞ

Galaktoz, glikozun C-4 epimeri olan bir karbonhidrat monomeridir (Chen & ark., 2021). D- ve L- olmak üzere iki enantiyomeri olup doğada genellikle D- formunda bulunur. Süt ve süt ürünleri bol miktarda galaktoz içermektedir. Bunun yanı sıra muz, elma ve domates gibi bazı sebze ve meyveler ise galaktozu serbest halde bulundurur (Umbayev & ark., 2020).

Galaktoz metabolizma için enerji kaynağı olmasının yanı sıra serebrositlerin ve gangliositlerin yapısında yer almaktadır (Liu & ark., 2024). Ayrıca galaktoz, canlı dokuda schwann hücrelerinin miyelin kılıfı ve heparin/heparan sülfatların sentezi gibi fizyolojik süreçlerde de dolaylı olarak önemli bir rol oynar (Umbayev & ark., 2020).

¹ Öğrenci, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Orcid: 0009-0006-0970-6474

² Prof. Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Orcid: 0000-0002-8465-7768

Hayvanların üzerinde yapılan birçok araştırmada yaşlandırma modeli olarak galaktoz kullanılmaktadır (Liu & ark., 2024). Ancak bu olumsuz etkisinin yanında galaktoz Alzheimer'ın tedavisinde ve karaciğer sağlığı üzerinde pozitif yönde potansiyel etki göstermektedir (Fos- Codoner & ark., 2023; Liu & ark., 2024). Tüm bunlara ek olarak, gıda sanayinde düşük kalorili tatlandırıcı, ilaç sanayisinde yapı taşı veya taşıyıcı, biyokütle yakıt üretiminde ve şekerlemelerde yaygın olarak galaktoz kullanılmaktadır (Chen & ark., 2021; Umbayev & ark., 2020).

D-Galaktoz Derivatları

Doğada bulunan 7 karbonhidrat monomerinden (D-glikoz, D-fruktoz, D-galaktoz, D-mannoz, D-riboz, D-ksiloz ve L-arabinoz) biri olan D-galaktozun gıda, ilaç, kozmetik ve yem gibi alanlarda kullanılabilmesinin yanı sıra birçok fizyolojik yarar sağlayan türevleri vardır (Liu & ark., 2024). Bunlar D-galaktoz disakkaritleri, D-galaktoz oligosakkaritleri ve galaktoz yükseltici bileşikler olup tablo 1'de gruplandırılarak gösterilmiştir.

Tablo 1. D-Galaktoz Derivatları

D-Galaktoz Disakkaritleri	D-Galaktoz Oligosakkaritleri	Galaktoz Yükseltici Bileşikler
Laktoz Melibiyoz Epilaktoz	Laktosükroz	Tagatoz
Laktuloz Laktobiyonik Asit Glukozil Galaktoz İnsan Sütü Disakkaritleri	Galaktooligosakkaritler	Galaktitol
Laktitol β -D-Galaktosil-1,4-L-ramnoz Solabiyoz	İnsan Sütü Oligosakkaritleri	D-İzofloridozit

D-Galaktoz Disakkaritleri

Laktoz

Laktoz, glikoz ve galaktoz monosakkaritlerinin β -1,4-glikozidik bağı ile bağlanması sonucu oluşan ve doğada memeli sütünde bulunan bir disakkarittir (Liu & ark., 2024; Staron & ark., 2018). Peynir ve kazein üretimi sırasında yan ürün olarak açığa çıkan peynir altı suyuna geçen laktoz, kristalizasyon ve saflaştırma teknolojileri kullanılarak endüstriyel olarak elde edilmektedir (Saito & Seki, 2012).

Farmasötik kalitede olmak koşulu ile yenilebilir laktoz, şekerlemeler, bebek maması, ekmek, süt tozları, havyan yemi ve farmasötik tabletlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Saito & Seki, 2012; Staron & ark., 2018). Ayrıca galaktoz ve laktoz türevlerinin üretiminde ana bileşen olarak kullanılmasının yanında süt ve süt ürünleri ile alındığında bağırsaklarda oluşturduğu asidik ortam sayesinde çeşitli minerallerin (Ca ve P) absorpsiyonunu artırabilmektedir (Andiç & Oğuz, 2022).

Melibiyoz

Melibiyoz (α -D-galaktosil-1,6-D-glikoz), glikoz ve galaktozun α -1,6-glikozidik bağı ile bağlanması sonucu oluşan ve insanlar tarafından sindirilemeyen bir disakkarittir (Liu & ark., 2024; Tanaka, Shinoki & Hara, 2016).

İnsan sağlığını korumak ve sağlıklı yaşamı sürdürülebilir kılmak için fonksiyonel gıdalarda ve farmasötiklerde ana bileşen olarak melibiyoz kullanılmaktadır (Tanaka, Shinoki & Hara, 2016).

Melibiyozun İnsan Sağlığı İçin Önemi

Melibiyozun değerli bir katkı maddesi olarak kullanılmasının yanında birçok fizyolojik yararları mevcuttur (Tanaka, Shinoki & Hara, 2016). Örneğin yapılan bir çalışmada kemirgenlere verilen 100

mmol/L doz melibiyozun, ince ve kalın bağırsaklarda Ca emilimini teşvik ettiği görülmüştür (Mineo & ark., 2002).

Yapılan birçok çalışmada melibiyozun, parkinson hastalığında görülen oksidatif stresi ve nöroinflamasyonu azalttığı görülmüştür. Melibiyozun bu terapötik etkisi sebebiyle parkinsonun tedavisinde etkili olabileceği öngörülmüştür (Chen & ark., 2020; Lin & ark., 2020).

Diyet flavonolü olan kuersetin, doğada kuersetin glikozit olarak bulunur ve vücudumuzda biyoyararlanımı oldukça düşüktür. Yapılan diğer bir çalışmada melibiyoz takviyesinin bağırsak lümeninde glikozit hidrolizini artırarak kuersetinin emilimini desteklediği belirlenmiştir (Tanaka, Shinoki & Hara, 2016).

Laktuloz

Laktuloz (β -D-galaktosil-1,4-D-fruktoz), galaktoz ve fruktozun bir araya gelmesiyle oluşan ve doğada doğal olarak bulunmayan sentetik bir disakkarittir (Aloğlu – Şanlıdere & Uran, 2017).

Laktuloz, ince bağırsaklarda sindirilmeden doğrudan kalın bağırsağa geçer ve özellikle *Bifidobacterium* spp.'ler tarafından kullanılır (Chu & ark., 2022; Wang & ark., 2022). Bundan dolayı laktuloza bifidus faktörü de denmektedir (Wang & ark., 2022).

İlk olarak 1929 yılında Montgomery ve Hudson tarafından keşfedilen laktulozun klinik olarak ilgi görmesi ise 1957 yılında Petuely (1957)'in bebek beslenmesinde laktuloz kullanması sonucu gaitada *Bifidobacterium* spp.'lerin sayısını artırdığını gözlemlemesiyle başlamıştır (Karakan, Tuohy & Janssen-van Solingen, 2021). Bu nedenle bebek mamalarında sıklıkla laktuloz kullanılmaktadır (Aloğlu- Şanlıdere & Uran, 2017).

Küresel anlamda zamanla birçok sektörde (gıda, ilaç, nutrasötik) potansiyel yarar sağlayacağı keşfedilen laktuloz, 1990’larda yıllık 20.000 ton civarında üretilirken günümüzde ise bu miktar 50.000 tonu aşmaktadır (Wang & ark., 2022).

Laktulozun İnsan Sağlığı İçin Önemi

Kronik kabızlığın tedavisinde laktuloz yaygın bir şekilde müshil ajanı olarak kullanılır. Sindirim sistemimizde laktulozu hidrolize eden bir enzim bulunmadığından laktuloz herhangi bir değişikliğe uğramadan kalın bağırsağa ulaşır (Chu & ark., 2022). Ozmotik laksatif etkili olan laktuloz, burada zayıf bir şekilde emilerek dışkının su içeriğini artırır. Bu etkisi dışkıyı daha yumuşak hale getirerek geçişini kolaylaştırır (Pranami, Sharma & Pathak, 2017). Ayrıca müshil etkisinin ozmotik özelliğinden daha çok bağırsak hareketlerini uyarmasından kaynaklandığı da belirtilmektedir (Gunn & ark., 2024). Laktulozun laksatif etkisini gösterdiği miktar genel olarak ~ 30 - 60 mL/gün (~20-40 g/gün)’dür (Karakan, Tuohy & Janssen-van Solingen, 2021).

Laktuloz, hepatik ensefalopatinin önlenmesi veya tedavi edilmesinde detoksifiye edici ajan olarak kullanılır (Karakan, Tuohy & Janssen-van Solingen, 2021). Hepatik ensefalopati (HE), karaciğer fonksiyonlarının önemli derecede bozulmasıyla veya portosistemik şantlar nedeniyle görülen beyin disfonksiyonu şeklinde tanımlanır (De witt & ark., 2020).

Fonksiyonlarını kaybetmiş olan karaciğer, amonyağı detoksifiye edemez yani üreye dönüştüremez. Bu durumda kandaki amonyak düzeyi yükselerek hastalarda nörolojik hasara neden olur (Pranami, Sharma & Pathak, 2017). Ayrıca HE sirozun başlıca komplikasyonlarından biri olup yaşam kalitesini büyük ölçüde azaltabilmektedir (De witt & ark., 2020).

HE’ nin tedavisinde 50 yıldan fazla süredir yaygın olarak kullanıldığı bilinen laktulozun hastalarda etkisini gösterdiği doz

yaklaşık olarak >90 mL/gün (>60 g/gün) olduğu belirtilmektedir (Pranami, Sharma & Pathak, 2017; Karakan, Tuohy & Janssen-van Solingen, 2021).

Laktuloz, bağırsak mikrobiyotasında kolon bakterileri tarafından kısa zincirli yağ asitlerine (laktik asit, pirüvik asit vb.) indirgenerek ortamın asitleşmesini sağlar. Böylece amonyak (NH_3) kandan daha asit hale gelen kolona yayılıp burada amonyuma (NH_4) dönüştürülür. Amonyum ise iyonlarına iyonize edilir ve dışkı yoluyla atılır. Böylece laktuloz amonyağın emilimini azaltıp fazlasının vücuttan uzaklaştırılmasında etkili olmuştur (Chu & ark., 2022; Pranami, Sharma & Pathak, 2017).

Vücutta sindirilemeyen bir karbonhidrat bileşeni olan laktulozun prebiyotik etkisi 1957'den beri bilinmektedir (Chu & ark., 2022; Wang & ark., 2022). Prebiyotikleri, Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP) “konakçı mikroorganizmaları tarafından seçici olarak kullanılan ve sağlık yararı sağlayan bir substrat” olarak tanımlamıştır (Cardoso & ark., 2024).

Laktuloz ise yukarıda bahsedilen prebiyotik etkisini, kolon florasını dominant kılan mikroorganizmaların (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp.) ve metabolitlerin (kısa zincirli yağ asitleri-SFCA) sayı ve miktarlarının artmasına katkıda bulunarak, bu etkilerinin sonucu olarak ise patojen bakterilerin gelişimini azaltarak göstermektedir (Karakan, Tuohy & Janssen-van Solingen, 2021). Günlük olarak yaklaşık 10 g/gün (~15 mL/gün; yetişkin dozu) alınan laktulozun prebiyotik olarak kabul edilmesi için yeterli olduğu bilinmektedir (Pranami, Sharma & Pathak, 2017). Ek olarak düşük doz (10 g/gün) laktulozun ince bağırsaklardan Ca ve Mg emilimini artırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle laktulozun kemik sağlığını iyileştirici etkileri olabileceği de düşünülmektedir (Karakan, Tuohy & Janssen-van Solingen, 2021).

Epilaktoz

Epilaktoz (β -D-galaktosil-1,4-D-mannoz), mannoz ve galaktozdan oluşan veya selobioz-2 epimeraz enzimi ile laktozdan üretilen fonksiyonel disakkarittir (Cardoso & ark.,221).

Epilaktozun İnsan Sağlığı İçin Önemi

Epilaktozun, anti-inflamatuar etkili metabolitlerin (bütirat, propiyonat, asetat) üretimini desteklemesi ve kolon hücreleri için sitotoksik olan ikincil safra asitlerinin oluşumunu engellemesi nedeniyle mikrobiyota sağlığı açısından potansiyel bir prebiyotik olarak kullanılmaktadır (Cardoso & ark., 2024).

Ayrıca, plazma kolesterol seviyelerini azalttığı, bağırsaklardan mineral emilimini desteklediği, obezite ve metabolik bozuklukları önlediği bildirilmiştir. Birçok yararlı etkisiyle beraber epilaktoz, günümüzde geliştirilmekte olan bir prebiyotik olarak kabul edilmektedir. Bununla beraber günümüzde halen insanlarda toksisitesini ve fonksiyonlarını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu da vurgulanmaktadır (Cardoso & ark., 2021; Xiong & ark., 2024).

Laktobiyonik Asit

Laktobiyonik asit (LBA, β -D-galaktosil-1,4-D-glukonik asit) laktozun oksidasyonu sonucu oluşan gıda, kimya, tıp, kozmetik, eczacılık alanlarında elverişli bir şekilde kullanılabilen nispeten daha az keşfedilmiş bir galaktoz türevidir (Hossain, Kheta & Dularia, 2023).

Laktobiyonik Asidin İnsan Sağlığı İçin Önemi

Herhangi bir toksik etkisi olmadığı bilinen laktobiyonik asidin (LBA), fermente süt ürünlerinin tadını iyileştirmek, verimini artırmak, raf ömrünü uzatmak ve laktozu azaltılmış ürünler elde etmek gibi birçok faydasının olması onu gıda endüstrisinde

vazgeçilmez yapmıştır. Ayrıca kozmetik sektöründe yaşlanma karşıtı bir bileşen olarak ve biyo-çözünürlük özelliği nedeniyle de deterjan üretiminde kullanıldığı bilinmektedir (Andiç & Oğuz, 2022; Hossain, Kheta & Dularia, 2023). Bunların yanı sıra doğal bir antimikrobiyel koruyucu olan LBA'nın gıda alanında daha fazla kullanılması gerektiği düşünülmektedir. Belli dozlarda LBA'nın, önemli gıda zehirlenme patojenlerinden biri olan *Staphylococcus aureus*'un hücre zarı üzerine etkili olduğu ve etkenin gelişmesini engellediği gözlemlenmiştir. Yine et, süt, balık gibi hayvansal gıdaların bozulmasına neden olan *Pseudomonas fluorescens*'ın hücre hasarına sebep olduğu ve hücresel fonksiyonlarını etkileyebildiği de bildirilmektedir (Sáez-Orviz & ark., 2022).

İnsan Sütü Disakkaritleri

N-Asetillaktozamin (LacNAc, β -D-galaktosil-1,4-N-asetil-D-glukozamin) ve lakto-N-biyoz (LNB, β -D-galaktosil-1,3-N-asetil-D-glukozamin), anne sütü oligosakkaritlerinin ana bileşenleridir (Liu & ark., 2024).

LacNAc ve LNB'nin İnsan Sağlığı İçin Önemi

LacNAc, birçok biyolojik bileşik için (glikoprotein, glikolipit ve AB0 kan grubu antijenleri) öncü görevi görmesinin yanında kanser hücrelerinin tespit edilmesinde de etkili bir biyobelirteçtir. Aynı zamanda LacNAc bazlı antiviral ilaçların, bebeklerde ve çocuklarda ishal hastalıklarına sebep olan rotavirüsleri inhibe edici işlev gördüğü bilinmektedir. Yine insanlarda solunum yolu hastalıklarına neden olan influenza virüsüne karşı da etkili olabileceği vurgulanmaktadır. N-Asetillaktozaminin, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kullanılan ve belirli hücrelere bağlanma yeteneğine sahip manyetik nanopartiküllerin kaplanması için kullanılarak insan vücudu ile toksik etkili diğer maddelere göre daha biyouyumlu olabileceği görülmüştür (Alavijeh & ark., 2021).

Lakto-N-biyoz (LNB), anne sütünde bol miktarda katı bileşen olarak bulunan insan sütü oligosakkaritlerinin (HMO) yapıtaşıdır (Liu & ark., 2024; Okburan & Kızıler., 2023). LNB'nin anne sütü ile beslenen bebeklerde sağlık için yararlı olan *Bifidobacterium breve* ve *Bifidobacterium bifidum* türlerinin ve de bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilerek sindirilemeyen karbonhidratların oluşturduğu son ürünlerden biri olan asetatın miktarını önemli derecede artırdığı vurgulanmaktadır. Aynı zamanda LNB'nin bebek maması formüllerinde uygulanması için potansiyel bir prebiyotik olabileceği de belirtilmiştir (Rubio Del Campo & ark., 2020).

Laktitol

Laktitol (4-0-β-D-galaktopiranosil-D-sorbitol), galaktoz ve sorbitolden oluşan ve doğada bulunmayan bir disakkarit şeker alkolüdür. Sadece laktozun hidrojenasyonu sonucu sentezlenebilmektedir (Cheng & Martínez-Monteagudo, 2019; Saito & Seki, 2012).

İlk kez Senderens tarafından 1920'de rapor edilen laktitolün tatlılık derecesi sükroza benzer ancak farklı olarak laktitol düşük kalorifik (2.4 kcal/g) özelliğe sahiptir. FDA tarafından 1993 yılında güvenli kabul edilen laktitol, 2008 yılında ise AB ülkelerinde gıda katkı maddesi olarak kullanımına izin verilmiştir (Zhang & ark., 2020). Laktitol sadece düşük kalorili tatlandırıcı olarak değil aynı zamanda nemlendirici, hacim artırıcı ve prebiyotik olarak işlev görmektedir (Cheng & Martínez-Monteagudo, 2019).

Laktuloz gibi sindirilmeden kolona ulaşan laktitol, probiyotik bakteriler tarafından SFCA (kısa zincirli yağ asitleri), laktik asit, bütirik asit, hidrojen ve karbondioksit parçalanarak *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.'lerin sayısal artışı teşvik etmiştir. Aynı zamanda laktitol kullanımının insülin düzeylerini neredeyse hiç değiştirmemesi laktitolün diyabet hastaları

için düşük kalorili tatlandırıcı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (Zhang & ark., 2020).

Solabiyoz

Solabiyoz (β -D-glukozil-1,3-D-galaktoz), fosforilaz enzimi kullanarak laktoz ve sakarozdan elde edilebilmektedir. Fizyolojik zellikleri ise günümüzde tam olarak tanımlanmamıştır (Liu & ark., 2024).

Glukozil-Galaktoz

Glukozil-Galaktoz (α -D-glukozil-1,1-D-galaktoz), glukoz ve galaktozun α -1,1-glikozidik bağı ile bir araya gelmesi sonucu oluşmaktadır. Fizyolojik bir sağlık yararı olarak bağırsaklarda bulunan şekerlerin sindiriminden sorumlu disakkaridazların inhibe edilmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Liu & ark., 2024).

β -D-Galaktosil-1,4-L-ramnoz (GalRha)

β -D-Galaktosil-1,4-L-ramnoz, D-galaktoz ile L-ramnoz moleküllerinden oluşan ve doğada bazı bakteriyel ekzopolisakkaritlere ek olarak pektinin yapısında da bulunan bir disakkarittir. Bağışıklık sistemini düzenleyici bir potansiyeli olduğu bilinmektedir (Liu & ark., 2024).

D-Galaktoz Oligosakkaritleri

Laktosükroz

Laktosükroz (β -D-galaktosil-1,4- α -D-glukozil-1,2-D-fruktoz), glikoz, galaktoz ve fruktoz monosakkaritlerinden oluşan bir oligosakkarittir (Chen & ark., 2020). Doğada nadir bulunan laktosükrozun kimyasal üretiminin zorlu ve verimsiz olması nedeniyle enzimler kullanarak (β -fruktosidaz ve β -galaktosidaz) sentezlenmektedir (Mu & ark., 2013a; Seki & Saito, 2012).

Laktosükrozun İnsan Sağlığı İçin Önemi

Laktosükroz, gastrointestinal sistemde sindirim enzimlerine karşı direnç göstererek kolona ulaşabilmektedir. Burada özellikle *Bifidobacterium* spp. türlerinin çoğalmasını teşvik etme, SFCA'ların üretimini destekleyerek bağırsak pH'ını düşürme ve yüksek su tutma kapasitesi ile bağırsak peristaltizmini artırarak dışkı çıkışını kolaylaştırmak gibi kabiliyetleri olan laktosükroz, ideal bir prebiyotik olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca inflamatuvar bağırsak hastalığı (ülseratif kolit ve Crohn) olan hastaların tedavisinde faydalı olabileceği görülmüştür. Fakat laktosükrozun prebiyotik olarak kabul edilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerektiği de vurgulanmaktadır (İbrahim, 2018; Silverio & ark., 2015).

Prebiyotiklerin kullanımı sonucu diyare gelişmesi sıklıkla karşılaşılan bir yan etkidir. Laktosükroz ise laktuloz ve galaktooligosakkarit-GOS gibi galaktoz bazlı prebiyotikler ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir müshil eşiğine sahiptir (Silverio & ark., 2015). Yetişkinler için 3g/gün kadar alımı önerilmektedir (İbrahim, 2018). Ayrıca laktosükrozun uzun süreli kullanımının sağlıklı kadınlarda magnezyum, kalsiyum ve fosforun absorpsiyonunu artırdığı ve kemik erimesini azalttığı bildirilmektedir (Silverio & ark., 2015). Ek olarak son zamanlarda laktosükrozun, nöropsikiyatrik bir hastalık olarak bilinen şizofreni hastalığında görülen psikotik semptomların iyileşmesini desteklediği ve kullanılan ilaçlar nedeniyle gelişen kabızlığı giderici bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Cardoso & ark., 2021).

İnsan Sütü Oligosakkaritleri (HMO)

İnsan sütü oligosakkaritleri, anne sütünde doğal olarak bulunan ve birçok monosakkaritin (glukoz, fukoz, galaktoz, sialik asit ve N-asetil-D-glukozamin) bir araya gelmesiyle oluşmuş benzersiz karmaşık yapılara sahip karbonhidratlardır (Liu & ark., 2024).

HMO'lar, anne sütünün laktoz ve lipitlerden sonra en önemli üçüncü büyük katı bileşeni olup anne sütünde yaklaşık olarak 200'den fazla HMO tanımlanmıştır (Triantis, Bode & Van Neerven, 2018). Kimyasal sentez (2'-fukosillaktoz, lakto-N-tetraoz, lakto-N-neotetraoz veya lakto-N-neohekzaaz gibi), enzimatik sentez (lakto-N-biyoz ve 6'-sialillaktoz dahil olmak üzere 25'ten fazla HMO) ve hücre fabrikaları ile bazı HMO'ların üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir. HMO'ların ana uygulama alanı bebek mamaları olup gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır (Cardoso & ark., 2021).

HMO'ların İnsan Sağlığı İçin Önemi

Gastrointestinal sistemde asidik pH değerlerine karşı direnç gösterebilen HMO, sindirim enzimleri tarafından hidrolize edilemez ve bağırsak mikrobiyotasında seçici olarak fermente edilir. Böylece patojenlerin aktivitesini engelleyip aynı zamanda yararlı mikroorganizmaların büyümesini destekleyerek bebeklerin bağırsak mikrobiyotasının ve bağışıklık sisteminin gelişimine katkı sağlar (Okburan & Kızıler, 2023).

Ek olarak HMO'ların prebiyotik aktivitesinin yanında bebeklerin beyin nörogelişimini desteklediği ve antimikrobiyel, antiviral, anti-inflamatuar etkisine de sahip olduğu bildirilmektedir (Berger & ark., 2023; Triantis, Bode & Van Neerven, 2018).

Galaktooligosakkaritler (GOS)

Galaktooligosakkaritler, bakteri veya mantar kökenli β -galaktosidaz enziminin substrat olarak laktozu kullandığı ve laktozun transgalaktosilasyonu ile hidrolizinin aynı anda gerçekleştiği enzimatik reaksiyonlar sonucunda sentezlenebilmektedir (Huang & ark., 2020; Liao & ark., 2023).

Galaktooligosakkaritlerin (GOS) İnsan Sağlığı İçin Önemi

GOS'un bağışıklığı güçlendirme, kolesterol düşürme, prebiyotik olarak mikrobiyota sağlığını iyileştirme vb. birçok

potansiyel sağlık yararının olması nedeniyle Japonya’da özel sağlık kullanımı için gıdalar (FOSHU), ABD’de ise FDA tarafından güvenli kabul edilen gıda (GRAS) olarak kabul edilmektedir (Huang & ark., 2020; Ibrahim, 2018; Liao & ark., 2023). Günlük nerilen GOS alım miktarı vct ağırlığına göre 0.3-0.4 g/kg arasında değişkenlik göstermekte olup yüksek dozda alındığında yan etki olarak geçici osmotik diyare görüldüğü bilinmektedir (Ibrahim, 2018).

İnsan sağlığı için birçok fizyolojik fayda sağlayan GOS’lar önemli bir prebiyotik grubudur (Davani-Davari & ark., 2019). Prebiyotikler, sindirilmeden kolona ulaşarak konak sağlığının gelişimini destekleyen bileşenlerdir (Dhaneshwar & Roy, 2023). Bir bileşiğin prebiyotik olarak kabul edilmesi için 3 temel özelliğe sahip olması gerekir:

1. Midenin asidik pH’ına, sindirim enzimlerine ve midenin emilimine direnç göstermeli,
2. Bağırsak mikrobiyotasında fermente edilebilmeli,
3. Yararlı bağırsak bakterilerinin gelişimini destekleyerek konak sağlığını iyileştirebilmelidir (Davani-Davari & ark., 2019).

Bu kriterlere sahip olan GOS’ların %90’ından fazlası neredeyse hiç değişikliğe uğramadan kolona geçerek probiyotik özelliklere sahip olan *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının büyümesini seçici olarak teşvik ettiği gösterilmiştir (Ambrogi & ark., 2023; Liao & ark., 2023). *Bifidobacterium* spp.’lerin artan miktarı, bağışıklık fonksiyonlarının gelişimi ve irritable bağırsak sendromu (IBS) gibi inflamatuvar hastalıklara karşı koruma sağlaması ile bağdaştırılmaktadır (Hu, Alijumaah & Azcarate-Peril, 2024). GOS’un, invivo bir çalışmada daha çok 5 yaş altındaki çocuklarda görülme riski olan rotavirüs enfeksiyonunun sebep olduğu ishalin şiddetini azalttığı görülmüş olup bebek formulalarına eklenerek özellikle emzirilmeyen bebeklerin bu

enfeksiyona karşı savaşmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (Massot-Cladera & ark., 2022). Ek olarak GOS'un proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-1 β , TNF- α vb.) sentezini azalttığı ve anti-inflamatuvar bir sitokin olan IL-10'un sentezini ise artırdığı bildirilmiştir (Hu, Alijumaah & Azcarate-Peril, 2024).

HMO'lardan daha basit bir yapıya sahip olan GOS'lar bebek formülasyonlarında HMO'ların alternatifi olarak tercih edilirler. Düşük kalorili olmaları nedeniyle gıda sektöründeki (yoğurt, dondurma, sakız, şekerleme, unlu mamuller vb.) kullanımları da yaygınlaşmaktadır (Chen & Gänzle, 2017).

Galaktoz Yükseltici Bileşikler

D-Tagatoz

Tagatoz (D-lyxo-hex-2-ulo-pyranose), D-galaktozun ketoz izomeri olarak da adlandırılan değerli bir monosakkarittir (Andiç & Oğuz, 2022). Galaktozdan L-arabinoz izomeraz enzimi aracılığı ile direk olarak tagatoz elde edilmektedir (Liu & ark., 2024).

D-Tagatozun İnsan Sağlığı İçin Önemi

Süt ürünleri, elma, portakal gibi diyet bileşenlerinde bulunan tagatoz, doğada nadir görülen düşük kalorili bir şeker olup enerji değerinin 1.5 kcal/g olduğu tahmin edilmektedir (Ortiz & ark., 2024). D- tagatoz, 2001 yılında Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve 2004 yılında ise Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi (JECFA) tarafından güvenli bir gıda olarak kabul edilmiştir. Besin takviyeleri, sakız, tatlılar, içecekler ve tahıllar gibi birçok üründe tagatozun kullanımı yaygındır (Ortiz & ark., 2024; Zhang & ark., 2021).

D-tagatozun fizyolojik sağlık yararı için birçok etki mekanizması mevcuttur. Örneğin vücuda oral yoldan alınan D-tagatozun sağlıklı veya diyabetik kişilerde insülin düzeylerini değiştirmede, glikoz seviyelerinin artışı önemli ölçüde azalttığı

ve açlık kan şekerini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Diabetes mellitus hastalığının kontrol edilmesinde potansiyel bir diyet bileşeni olabileceği de belirtilmiştir (Ortiz & ark., 2024). D-tagatoz prebiyotik olarak da aktivite gösterebilmektedir. İnce bağırsaklarda yaklaşık olarak %15-20 oranlarında sindirildikten sonra kolona geçerek buradaki bakteriler tarafından kısa zincirli yağ asitlerine fermente edilir. Bağırsak mikroflorasının gelişimini destekleyen tagatozun bağırsak hareketliliğini hızlandırdığı ve konstipasyonun sebep olduğu semptomları hafiflettiği bildirilmektedir (Liang & ark., 2019).

Besinsel ve fonksiyonel etkilerinin yanı sıra D-tagatozun, antimikrobiyal etkisi ile oral bakterilerin metabolizmasını bozarak ve üremelerini inhibe ederek diş çürüklerini önleme potansiyeli olduğu gösterilmiştir (Ortiz & ark., 2024). Yine D-tagatoz içeren sakızları çiğneyen bireylerde *Streptococcus mutans* (ağız ve diş sağlığında önemli bakteri türü) miktarının azaldığı görülmüştür (Nagamine & ark., 2020). Bu özellikleriyle D-tagatozun, ağız ve diş sağlığını iyileştirmek için etkili bir ajan olabileceği vurgulanmaktadır (Ortiz & ark., 2024).

Galaktitol

Galaktitol, galaktozun indirgenmesiyle elde edilen şeker alkollerine sınıfına ait bir bileşik olup düşük kalorili tatlandırıcı olarak yaygın bir kullanımı vardır. Galaktitol, antikanser ilaçların geliştirilmesinde öncü olarak kullanılabilir. Aynı zamanda galaktitolün işlevsel bir türevidir olan diasetildiahidro galaktitol (DADAG) bazı kanser tiplerinde antitümör aktivite göstermektedir (Jagtap & ark., 2019).

Kalıtsal bir metabolik bozukluk olan galaktozemi hastalığında galaktozun metabolize edilememesi sonucu dokularda galaktitol birikir. Bu yüzden galaktitol, galaktozeminin tanısında ve

izlenmesinde önemli bir biyobelirteç görevi görmektedir (Hamad & ark., 2023).

D- İzofloridozit

D- İzofloridozit, deniz kırmızısı algi olan *Laurencia undulata*'dan ekstrakte edilebilen fotosentetik doğal bir deniz ürünüdür (Li & ark., 2010; Wang & ark., 2020). D-izofloridosit (1-O- α -D-galaktopiranosil-D-gliserol) ve L-izofloridosit (1-O- α -D-galaktopiranosil-L-gliserol) olmak üzere iki izomerik forma sahiptir (Wang & ark., 2020). İzofloridozit sağlık, kozmetik, gıda ve tıp gibi birçok alanda etkisini gösterebilen antioksidan aktivitesine sahip çok yönlü bir bileşiktir (Li & ark., 2010; Liu & ark., 2024).

Alkolik karaciğer hastalığının temel nedenlerinden biri uzun süreli ve aşırı alkol tüketimidir. DSÖ'nün 2018 verilerinde her yıl insanların ölüm nedenleri arasında ikinci sırada olduğu belirtilmiştir. Hastalığın ciddi semptomları (siroz, karaciğerde doku hasarı, karaciğer kanseri vb.) olup erken tanı ve tedavi önemlidir. Aşırı alkol kullanımı ile birlikte karaciğerde yüksek seviyeleri hücre ölümüne sebep olabilen reaktif oksijen türleri (ROS) birikerek oksidatif strese sebep olmaktadır. İzofloridozitin, karaciğerde alkolün sebep olduğu toksisiteyi, DNA hasarını ve ROS miktarını azaltarak aynı zamanda oksidatif stresi de inhibe ederek ALD'yi önleyebileceği ve karaciğeri koruma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiş olmasına rağmen daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu da vurgulanmaktadır (Yang & ark., 2020).

Yasal Mevzuat

Ülkemizde Tarım ve Orman Bakanlığı'nın takviye edici gıdalar listesinde laktuloz ve GOS'un yasal olarak yaşa göre günlük kullanım dozları belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Laktuloz ve GOS' un yaşa göre günlük kullanım miktarları

Etken Maddenin Adı	4-10 Yaş Günlük Alım Dozu		11 Yaş ve Üzeri Günlük Alım Dozu	
	Minimu m	Maksimu m	Minimu m	Maksimu m
Laktuloz	-	5 g/gün	-	10 g/gün
Galaktooligosakkarit	-	2000 mg/gün	-	2600 mg/gün

Anonim,2025

Bununla beraber FDA'ya göre galaktooligosakkaritlerin bebek mamalarında 7,8 g/L'ye kadar, geleneksel gıdalarda (kahvaltılık tahıllar, süt ürünleri, içecekler, tatlılar vb.) ise 11 g/porsiyon kadar kullanılması yönünde parametreler belirlenmiştir. Yine insan ve hayvan çalışmalarında GOS'un 2000 mg/kg/gün seviyesine kadar kullanımının güvenli olduğu belirtilmiştir (FDA, 2017).

EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) ise laktuloz ve tagatozun belli miktarlarda alındığında iddia edilen sağlık etkilerini doğrulamıştır (Tablo 2).

Tablo 3. Laktuloz ve tagatozun kullanım koşulları ve sağlıkla ilişkisi

Gıda Bileşeni	Beyan	Beyan Koşulu	Sağlıkla İlişkisi
Laktuloz	“Laktuloz, bağırsaktan geçişin hızlanmasına katkıda bulunur.”	İddia edilen etkiyi elde etmek için günde en az 10 g laktulozun tek bir porsiyonda tüketilmesi gerektiği belirtilmiştir.	Bağırsak geçiş süresini kısaltarak sindirim sağlığını destekler.
Tagatoz	“Tagatozun çok az sindirilmesi ve emilim hızının yavaş olması düşük glisemik tepkiye sebep olur.”	Bu etki için kullanım koşulu olarak tagatozun ≤ 7.5 g/öğün kadar olduğu belirtilmiştir.	Kan şekeri seviyelerinin dengelenmesine yardımcı olur.

EFSA, 2010; EFSA, 2011

SONUÇ

Bir karbonhidrat monomeri olan galaktozun faydaları sınırlı olmakla birlikte birçok enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen türevlerinin çoğu prebiyotik etkilidir. Aynı zamanda gastrointestinal sistemi hastalıklarına karşı koruyucu ve iyileştirici, bağırsak mikrobiyotasının dengesini düzenleyici ve immünolojik fonksiyonları geliştirici bir aktivite gösterebilirler. Bu nedenle gıda, tıp ve ilaç endüstrilerindeki kullanımları yaygındır.

Galaktoz bazlı sakkaritlerin sağlık için önemli fizyolojik işlevleri nedeniyle çeşitli enzimler tarafından galaktozdan biyodönüşümleri umut vaat edicidir. Fakat galaktoz türevlerinin

güvenliğinin, etkilerinin ve sınırlamalarının daha iyi anlaşılması için daha fazla klinik çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

Aloğlu, H. Ş., & Uran, H. (2017). Laktuloz eldesi ve tespiti edilmesinde kullanılan yöntemler. *Journal of Food and Health Science*, 3(1), 36-41.

Ambrogi, V., Bottacini, F., Cao, L., Kuipers, B., Schoterman, M., & van Sinderen, D. (2023). Galacto-oligosaccharides as infant prebiotics: Production, application, bioactive activities and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(6), 753-766.

Andiç, S., & Oğuz, Ş. (2022). Lactose and lactose derivatives. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(6), 1130-1137.

Anonim, (2025). Tarım ve Orman Bakanlığı. Takviye edici gıdalar kısıtlı maddeler listesi. (12.01.2025 tarihinde adresinden erişilmiştir).

Berger, P. K., Ong, M. L., Bode, L., & Belfort, M. B. (2023). Human milk oligosaccharides and infant neurodevelopment: A narrative review. *Nutrients*, 15(719).

Cardoso, B. B., Amorim, C., Franco-Duarte, R., Alves, J. I., Barbosa, S. G., Silvério, S. C., & Rodrigues, L. R. (2024). Epilactose as a promising butyrate-promoter prebiotic via microbiota modulation. *Life*, 14(5), 643.

Cardoso, B. B., Amorim, C., Silvério, S. C., & Rodrigues, L. R. (2021). Novel and emerging prebiotics: Advances and opportunities. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 95, pp. 41-95). Academic Press.

Chen, C., Deng, J., Lv, X., Li, J., Du, G., Li, H., & Liu, L. (2020). Biocatalytic synthesis of lactosucrose using a recombinant

thermostable β -fructofuranosidase from *Arthrobacter* sp. 10138. *Bioengineered*, 11(1), 416-427.

Chen, C.M., Lin, C.-H., Wu, Y.-R., Yen, C.-Y., Huang, Y.-T., Lin, J.-L., Lin, C.-Y., Chen, W.-L., Chao, C.-Y., Lee-Chen, G.-J., Su, M.-T., & Chang, K.-H. (2020). Lactulose and melibiose inhibit α -synuclein aggregation and upregulate autophagy to reduce neuronal vulnerability. *Cells*, 9(5), 1230.

Chen, Q., Xu, W., Wu, H., & others. (2021). An overview of D-galactose utilization through microbial fermentation and enzyme-catalyzed transformation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(7), 7161–7170.

Chen, X. Y., & Gänzle, M. G. (2017). Lactose and lactose-derived oligosaccharides: More than prebiotics? *International Dairy Journal*, 67, 61-72.

Cheng, S., & Martínez-Monteagudo, S. I. (2019). Hydrogenation of lactose for the production of lactitol. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 14(1), e2275.

Chu, N., Ling, J., Jie, H., Leung, K., & Poon, E. (2022). The potential role of lactulose pharmacotherapy in the treatment and prevention of diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 956203.

Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., ... & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, 8(3), 92.

de Wit, K., Schaapman, J. J., Nevens, F., Verbeek, J., Coenen, S., Cuperus, F. J. C., Kramer, M., Tjwa, E. T. T. L., Mostafavi, N., Dijkgraaf, M. G. W., van Delden, O. M., Beuers, U. H. W., Coenraad, M. J., & Takkenberg, R. B. (2020). Prevention of hepatic encephalopathy by administration of rifaximin and lactulose in patients with liver cirrhosis undergoing placement of a transjugular

intrahepatic portosystemic shunt (TIPS): a multicentre randomised, double blind, placebo controlled trial (PEARL trial). *BMJ open gastroenterology*, 7(1), e000531.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2010). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to lactulose and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID 806) and reduction in intestinal transit time (ID 807) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 8(10), 1806.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2011). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to the sugar replacers xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, lactitol, isomalt, erythritol, D-tagatose, isomaltulose, sucralose and polydextrose and maintenance of tooth mineralisation by decreasing tooth demineralisation (ID 463, 464, 563, 618, 647, 1182, 1591, 2907, 2921, 4300), and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 617, 619, 669, 1590, 1762, 2903, 2908, 2920) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 9(4), 2076.

FDA, (2017). GRAS Determination for the use of VITAGOS™ in infant formula and selected foods [GRAS Notice (GRN) No. 721]. ChromaDex Spherix Consulting. (12/01/2025 tarihinde adresinden ulaşılmıştır).

Fos-Codoner, F. S., Bouwman, L. M. S., Keijer, J., & van Schothorst, E. M. (2023). Dietary galactose increases the expression of mitochondrial oxphos genes and modulates the carbohydrate oxidation pathways in mouse intestinal mucosa. *The Journal of Nutrition*, 153(11), 3448–3457.

Gunn, D., Yeldho, C., Hoad, C., Menys, A., Gowland, P., Marciani, L., & Spiller, R. (2024). Mechanisms underlying the laxative effect of lactulose: A randomized placebo-controlled trial

showing increased small bowel water and motility unaltered by the 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron. *Neurogastroenterology & Motility*, 36(4), e14754.

Hamad, S., El-Said, H., Khedr, M., Elfert, A., Sobhy, G., & Ghanem, S. (2023). Galactose-1-phosphate and galactitol in red blood cells of galactosemia patients. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 90(1), 1400-1406.

Hossain, S., Khetra, Y., & Dularia, C. (2023). Biosynthesis of lactobionic acid: a systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-14.

Hu, Y., Aljumaah, M. R., & Azcarate-Peril, M. A. (2024). Galacto-oligosaccharides and the elderly gut: implications for immune restoration and health. *Advances in Nutrition*, 15(8), 100263.

Huang, J., Zhu, S., Zhao, L., Chen, L., Du, M., Zhang, C., & Yang, S. T. (2020). A novel β -galactosidase from *Klebsiella oxytoca* ZJUH1705 for efficient production of galacto-oligosaccharides from lactose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 6161-6172.

Ibrahim, O. O. (2018). Functional oligosaccharides: Chemicals structure, manufacturing, health benefits, applications and regulations. *Journal of Food Chemistry and Nanotechnology*, 4(4), 65-76.

Jagtap, S. S., Bedekar, A. A., Liu, J. J., Jin, Y. S., & Rao, C. V. (2019). Production of galactitol from galactose by the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* IFO0880. *Biotechnology for Biofuels*, 12, 250.

Karakan, T., Tuohy, K. M., & Janssen-van Solingen, G. (2021). Low-dose lactulose as a prebiotic for improved gut health and enhanced mineral absorption. *Frontiers in Nutrition*, 8, 672925.

Karimi Alavijeh, M., Meyer, A. S., Gras, S. L., & Kentish, S. E. (2021). Synthesis of N-acetyllactosamine and N-acetyllactosamine-based bioactives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(27), 7501–7525.

Li, Y. X., Li, Y., Lee, S. H., Qian, Z. J., & Kim, S. K. (2010). Inhibitors of oxidation and matrix metalloproteinases, floridoside, and D-isofloridoside from marine red alga *Laurencia undulata*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 578-586.

Liang, Y.-X., Wen, P., Wang, Y., OuYang, D.-M., Wang, D., Chen, Y.-Z., Song, Y., Deng, J., Sun, Y.-M., & Wang, H. (2019). The constipation-relieving property of D-tagatose through modulation of gut microbiota composition. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5721.

Liao, X., Li, Y., Li, Y., Xiong, W., & Pi, X. (2023). Optimization of the production conditions of tri-GOS and lactosucrose from lactose and sucrose with recombinant β -galactosidase. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 53(4), 401-411.

Lin, C. H., Wei, P. C., Chen, C. M., Huang, Y. T., Lin, J. L., Lo, Y. S., ... & Lee-Chen, G. J. (2020). Lactulose and melibiose attenuate MPTP-induced Parkinson's disease in mice by inhibition of oxidative stress, reduction of neuroinflammation and up-regulation of autophagy. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 226.

Liu, J., Feng, X., Liang, L., Sun, L., & Meng, D. (2024). Enzymatic biosynthesis of D-galactose derivatives: Advances and perspectives. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131518.

Massot-Cladera, M., Rigo-Adrover, M. D. M., Herrero, L., Franch, À., Castell, M., Vulevic, J., ... & Lagunas, M. J. R. (2022).

A galactooligosaccharide product decreases the rotavirus infection in suckling rats. *Cells*, 11(10), 1669.

Mineo, H., Hara, H., Shigematsu, N., Okuhara, Y., & Tomita, F. (2002). Melibiose, difructose anhydride III and difructose anhydride IV enhance net calcium absorption in rat small and large intestinal epithelium by increasing the passage of tight junctions in vitro. *The Journal of nutrition*, 132(11), 3394-3399.

Mu, W., Chen, Q., Wang, X., Zhang, T., & Jiang, B. (2013a). Current studies on physiological functions and biological production of lactosucrose. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(16), 7073-7080.

Nagamine, Y., Hasibul, K., Ogawa, T., Tada, A., Kamitori, K., Hossain, A., Yamaguchi, F., Tokuda, M., Kuwahara, T., & Miyake, M. (2020). D-Tagatose effectively reduces the number of *Streptococcus mutans* and oral bacteria in healthy adult subjects: A chewing gum pilot study and randomized clinical trial. *Acta Medica Okayama*, 74(307-317).

Okburan, G., & Kızıler, S. (2023). Human milk oligosaccharides as prebiotics. *Pediatrics & Neonatology*, 64(3), 231-238.

Ortiz, A. d. C., Fideles, S. O. M., Reis, C. H. B., Pagani, B. T., Bueno, L. M. M., Moscatel, M. B. M., Buchaim, R. L., & Buchaim, D. V. (2024). D-Tagatose: A rare sugar with functional properties and antimicrobial potential against oral species. *Nutrients*, 16(1943).

Pranami, D., Sharma, R., & Pathak, H. (2017). Lactulose: a prebiotic, laxative and detoxifying agent. *Drugs & Therapy Perspectives*, 33(5), 228-233.

Roy, S., & Dhaneshwar, S. (2023). Role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of inflammatory bowel

disease: Current perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 29(14), 2078-2100.

Rubio-del-Campo, A., Alcántara, C., Collado, M. C., Rodríguez-Díaz, J., & Yebra, M. J. (2020). Human milk and mucosa-associated disaccharides impact on cultured infant fecal microbiota. *Scientific Reports*, 10(1), 11845.

Sáez-Orviz, S., Marcet, I., Rendueles, M., & Díaz, M. (2022). The antimicrobial and bioactive properties of lactobionic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(9), 3495-3502.

Seki, N., & Saito, H. (2012). Lactose as a source for lactulose and other functional lactose derivatives. *International Dairy Journal*, 22(2), 110-115.

Silvério, S. C., Macedo, E. A., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2015). Perspectives on the biotechnological production and potential applications of lactosucrose: a review. *Journal of Functional Foods*, 19, 74-90.

Staroń, J., Dąbrowski, J. M., Cichoń, E., & Guzik, M. (2018). Lactose esters: Synthesis and biotechnological applications. *Critical reviews in biotechnology*, 38(2), 245-258.

Tanaka, S., Shinoki, A., & Hara, H. (2016). Melibiose, a nondigestible disaccharide, promotes absorption of quercetin glycosides in rat small intestine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(49), 9335–9341.

Triantis, V., Bode, L., & Van Neerven, R. J. (2018). Immunological effects of human milk oligosaccharides. *Frontiers in pediatrics*, 6, 190.

Umbayev, B., Askarova, S., Almabayeva, A., Saliev, T., Masoud, A. R., & Bulanin, D. (2020). Galactose-induced skin aging: the role of oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020(1), 7145656.

Wang, L., Song, L., He, X., Teng, F., Hu, M., & Tao, Y. (2020). Production of isofloridoside from galactose and glycerol using α -galactosidase from *Alicyclobacillus hesperidum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 134, 109480.

Wang, M., Wang, L., Lyu, X., Hua, X., Goddard, J. M., & Yang, R. (2022). Lactulose production from lactose isomerization by chemo-catalysts and enzymes: Current status and future perspectives. *Biotechnology Advances*, 60, 108021.

Xiong, S., Huang, Z., Xu, W., Ding, J., Ni, D., & Mu, W. (2024). Recent progress in health effects and enzymatic production of epilactose, a functional lactose derivative. *Trends in Food Science & Technology*, 144, 104338.

Yang, S., Chen, M.-F., Ryu, B., Chen, J., Xiao, Z., Hong, P., Güneş, S., Wang, D., Qian, Z.-J., & Zhou, C. (2020). The protective effect of the polysaccharide precursor D-isofloridoside from *Laurencia undulata* on alcohol-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Molecules*, 25(5), 1024.

Zhang, W., Chen, J., Chen, Q., Wu, H., & Mu, W. (2020). Sugar alcohols derived from lactose: lactitol, galactitol, and sorbitol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 9487-9495.

Zhang, X., Lu, R., Wang, Q., Hu, M., Li, Z., Xu, M., Yang, T., Zhang, R., & Rao, Z. (2021). Production of D-Tagatose by whole-cell conversion of recombinant *Bacillus subtilis* in the absence of antibiotics. *Biology*, 10(1343).

BÖLÜM 4

ÜRE DEVRİ ENZİMLERİ İÇİN FARE cDNA PRİMERLERİNİN DİZAYN EDİLMESİ

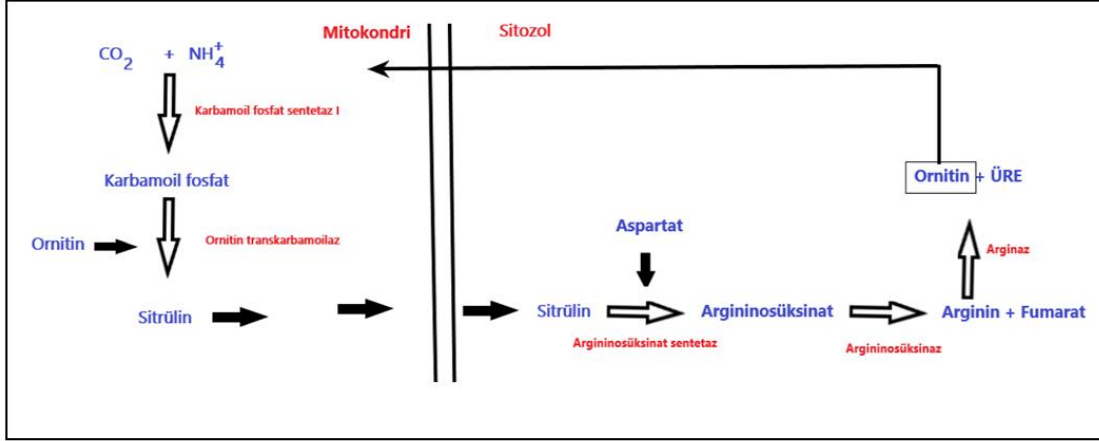
MEHMET ÇİFTÇİ¹

1. Giriş

Üre ($\text{NH}_2\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}\text{-NH}_2$) amino asitlerin amino gruplarının transferi esnasında oluşan ve atılması gereken bir bileşiktir. İdrarla atılan azotlu bileşiklerin yaklaşık olarak %90'ı üredir. Ürenin azotlarından biri amonyaktan diğeri ise aspartat amino asidinden, karbon ve oksijeni ise CO_2 'den gelir. Üre başlıca karaciğerde oluşur ve kan yolu ile böbreklere gönderilerek atılır. Üre sentezindeki ilk iki reaksiyon mitokondride, diğer reaksiyonlar ise hücrenin sitoplazmasında meydana gelir. İlk reaksiyonda CO_2 ve NH_4^+ 'un iki adet ATP'nin harcanmasıyla karbamoil fosfat sentetaz I enzimi katalizörlüğünde karbamoil fosfatın sentezi vuku bulur. İkinci reaksiyonda üre devri, ilk reaksiyonda oluşan karbamoil fosfat ile ornitin, ornitin transkarbamoilaz enzimi katalizörlüğünde sitriline dönüşmesi ile devam eder. Daha sonra oluşan sitrülün L-aspartat ile argininosüksinat sentetaz enzimi katalizörlüğünde argininosüksinata dönüşmesi söz konusudur. Sonraki reaksiyonda argininosüksinaz enzimi, oluşan argininosüksinatı arginin ve fumarata dönüştürür. Son reaksiyonda ise arginaz enzimi argininin parçalanarak ornitin ve üreye dönüşmesine sebep olur (Berg ve ark., 2014: 601; Gözükara, 1997: 932; Keha, & Küfrevioğlu, 2009: 399; Lehninger ve ark., 2004: 558). Bu reaksiyonlar şematik olarak Şekil 1'de gösterilmiştir.

¹Prof. Dr. Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Orcid: 0000-0002-1748-3729

Şekil1. Üre devri reaksiyonları



1.1. Üre devrinin metabolik önemi

İnsanlarda kandaki yüksek NH₄⁺ bazı önemli organlar ve özellikle beyin için son derece toksiktir. NH₄⁺'ün atılması için başlıca yol karaciğerdeki üre devridir. Üre döngüsündeki herhangi bir enzimin defekti veya inhibisyona uğraması durumunda döngü yavaşlar ya da durur. Bu durumda NH₄⁺ seviyesi artar (hiperammonemi). Sonuçta denge glutamat yönüne kaydığından TCA döngüsündeki α-ketoglutarat miktarı azalır. Oluşan glutamat da glutamine dönüşür. Bu tepkimeler sonucu α-ketoglutaratın azalması söz konusu olacağından TCA döngüsü yavaşlar ve ATP seviyesinde azalma meydana gelir. ATP seviyesindeki azalma beyin için son derece tehlikeli bir durumdur ve dönüşümsüz tahribata yol açabilir (Berg ve ark., 2014: 601; Gözükar, 1997: 932; Keha, & Küfrelioğlu, 2009: 399; Lehninger ve ark., 2004: 558).

Yukarıda kısaca önemi belirtilen üre döngüsü enzimlerinin bazı sebeplerden dolayı inhibisyona uğraması önemli bir metabolik problemdir. Bu bakımdan bu enzimler için moleküler ve genetik çalışmaların (özellikle in sitü çalışmalar) yapılması son derece önemlidir. Bu çalışmada genetik çalışmalarda kullanılmak üzere üre döngüsü fare enzimlerinin cDNA'ları için özgün web tabanlı primerler ve alteratif primerler dizayn edilmiştir. Primer çiftlerinin dizaynı yapılırken sırasıyla; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>, <https://primer3.ut.ee/>, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome ve <http://insilico.ehu.es/tm.php?primer=AATTCCGGATCccggaatt&basic=1&NearestNeighbor=1&cp=200&cs=50&cmg=0> (2024) web tabanlı programlar kullanıldı. Çalışma sonunda söz konusu enzimlerin her biri için, genetik çalışmalarda kullanılmak üzere, bir çifti temel olmak üzere toplamda beş çift primer dizayn edildi.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma kapsamında üre döngüsü enzimleri olan karbamoil fosfat sentetaz I, argininosüksinat sentetaz, ve arginaz enzimleri için primerler dizayn edildi. Ornitin transkarbamoilaz ve argininosüksinaz için veri tabanlarında Mus Musculus mRNA verilerine ulaşılmadığı için bu enzimler için primer dizaynı yapılamadı. Çalışma içinde örnek olsun diye kontrol noktası enzimi olan karbamoil fosfat sentetaz I enzimi için tüm ayrıntılar verildi. Diğer enzimlerin primerleri ise tablo halinde ifade edildi.

Primerlerin dizayn edilebilmesi için karbamoil fosfat sentetaz I enziminin mRNA'sı Şekil 1'den görüldüğü gibi <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide> (2024) web adresinde bulunan ve işaretli olan boşluklara "Nucleotide" ve "Mus Musculus karbamoil fosfat sentetaz I" yazılarak "search" düğmesine basıldı. İşlem sonunda Şekil 1'den de görüldüğü gibi mus musculus karbamoil fosfat sentetaz I mRNA'sı ilk sıralarda ekrana gelmiş oldu. İlk sıralardaki sekanslar incelenerek özellikle sekansı daha uzun olan birinci sıradaki mus musculus karbamoil fosfat sentetaz I mRNA dizisi tercih edildi.

Şekil 1. Karbamoil fosfat sentetaz-I enziminin mRNA sekansı

The screenshot displays the NIH Nucleotide database search results for the query "Mus musculus carbamoyl-phosphate synthetase 1". The search results are sorted by Default order, showing 1 to 20 of 447 items. The first result is "Mus musculus carbamoyl-phosphate synthetase 1 (Cps1) mRNA: nuclear gene for mitochondrial product" (Accession: NM_001080899.2, GI: 55603458). The sequence is 5,585 bp linear mRNA. The search results also show other sequences, including "Pseudomonas fluorescens SBW25 genome assembly chromosome 1" and "Stenotrophomonas maltophilia K279a complete genome strain K279a".

8. sıradaki Karbamoil fosfat sentetaz-I mRNA'sına tıklandığında Şekil 2 ve Şekil 3'teki sayfalar ekrana gelir. Burada spesifik bölgelerin bulunabilmesi için mRNA'nın CDS kısmına tıklanır.

Şekil 2. Karbamoil fosfat sentetaz-I mRNA sekansının bazı özellikleri

An official website of the United States government. [Here's how you know](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Nucleotide [Advanced](#) [Help](#)

GenBank

Mus musculus carbamoyl-phosphate synthetase 1 (Cps1), mRNA; nuclear gene for mitochondrial product

NCBI Reference Sequence: NM_001080809.2
[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS NM_001080809 5585 bp mRNA linear ROD 30-APR-2024
DEFINITION Mus musculus carbamoyl-phosphate synthetase 1 (Cps1), mRNA; nuclear gene for mitochondrial product.
ACCESSION NM_001080809 XM_129769 XM_901578 XM_912076 XM_986847 XM_993446 XM_993466
VERSION NM_001080809.2
KEYWORDS RefSeq; RefSeq Select.
SOURCE Mus musculus (house mouse)
ORGANISM [Mus musculus](#)
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Glires; Rodentia; Myomorpha; Muroidea; Muridae; Murinae; Mus; Mus.
REFERENCE
AUTHORS 1 (bases 1 to 5585)
Adams,D.J., Barlas,B., McIntyre,R.E., Salguero,I., van der Weyden,L., Barros,A., Vicente,J.R., Karimpour,N., Haider,A., Ranzani,H., Turner,G., Thompson,N.A., Harle,V., Olvera-Leon,R., Robles-Espinoza,C.D., Speak,A.O., Geisler,N., Meninger,W.J., Geyer,S.H., Hewinson,J., Karp,N.A., Fu,B., Yang,F., Kozik,Z., Choudhary,J., Yu,L., van Ruiten,M.S., Rowland,B.D., Lelliott,C.J., Del Castillo Velasco-Herrera,M., Verstraten,R., Bruckner,L., Henssen,A.G., Roelims,M.A., de Lange,J., Mohun,T.J., Arends,M.J., Kentistou,K.A., Coelho,P.A., Zhao,Y., Zecchini,H., Perry,J.R.B., Jackson,S.P. and Belmus,G.
CONSRTH Sanger House Genetics Project
TITLE Genetic determinants of micronucleus formation in vivo
JOURNAL Nature 627 (8002), 130-136 (2024)
PUBMED [38355793](#)
REFERENCE
AUTHORS 2 (bases 1 to 5585)
Li,P., Kuo,N., Patel,R. and Omary,M.B.
TITLE Hypoosmosis alters hepatocyte mitochondrial morphology and induces selective release of carbamoyl phosphate synthetase 1

FEATURES
source 1..5585
/organism="Mus musculus"
/mol_type="mRNA"
/strain="C57BL/6"
/db_xref="taxon:10090"
/chromosome="1"
/map="1 33.75 cM"
gene 1..5585
/gene="Cps1"
/gene_synonym="4732433H03Rik; CPS; D1Ucla3"
/note="carbamoyl-phosphate synthetase 1"
/db_xref="GeneID:227231"
/db_xref="MGI:MGI:1891996"
exon 1..264
/gene="Cps1"
/gene_synonym="4732433H03Rik; CPS; D1Ucla3"
/inference="alignment:Splice:2.1.0"
118..120
/gene="Cps1"
/gene_synonym="4732433H03Rik; CPS; D1Ucla3"
/note="upstream in-frame stop codon"
139..4641
/gene="Cps1"
/gene_synonym="4732433H03Rik; CPS; D1Ucla3"
/EC_number="E.C.3.5.15"
/note="carbamoyl-phosphate synthase [ammonia], mitochondrial; carbamoyl-phosphate synthetase I; carbamoylphosphate synthetase I; CPSase I"
/codon_start=1
/product="carbamoyl-phosphate synthase [ammonia], mitochondrial precursor"
/protein_id="NP_001074278.1"
/db_xref="CCDS:CCDS35605.1"
/db_xref="GeneID:227231"
/db_xref="MGI:MGI:1891996"
/translation="MTRILACKVVKTLKSGFGFANVTTRQWDFSRPGIRLLSVKAKTAHIVLEDTGKIGVSGFHPSSVAGEVVFNTGLGQVPEALTPAYKQILTHANPIIGNGGAPOTTAREDELGLNKVYESDQIKVAGLLVLHYSDNYRMLATKSLGQILQEIVPAIYGVDRHLTKIRDKGTHLGIKEFGQSDVDFDPNKQNLIAEVSTKDKVFGKGNPTKVVAVDCGKIKNWIRLLVKGAEVHLPVNHDFQTQIEYDGLIAGGPGNPALAQPLTIQNVKKILESROKPELFGISTGNIITGLAAGAKSYKSHANRGQNPVLNITRQAFITA

misc_feature [CDS](#)

Şekil 2'teki mRNA'nın işaretli CDS kısmına girildiğinde Karbamoil fosfat sentetaz-I'nin Şekil 3'deki koyu renkli mRNA spesifik kısım elde edilir.

Şekil 3. Karbamoil fosfat sentetaz-I'in spesifik mRNA lokusu

```

1 agcttgcctg gtagtgcctc taagcttcca atctgactgt cctcacacag tttctttcca
61 cactggttac aaacaaatgt gacatcaaaa tctcatgaga tattttgtat ttaattttag
121 tcacaaaaca tcttcaaat gacgaggatt ttgacagctt gcaaatgtgt gaagaccttc
181 bagatggct ttggttttgc caatgtgact acgaagcgac agtgggactt ctcagacctt
241 ggcacaggtc tcttttctgt gaagcacaag acagacacaa ttgtcttggg agatggaaat
301 bagatgaag gctactcctt tggccatccc tctctgtgt ctggtgaagt gtttttaatt
361 actgtgttag ggggttcccc ggaagcactt actgacccc cctacaaggg gcagatctct
421 accatggcca accctatcat tgggaacggt ggggtcccc acaccactgc ccgagacgaa
481 ctggactga ataagtacat ggagctgat gggactcaagg tggcaggtct gctgtttctg
541 aattacagta atgactataa ccatggctgt gctaccaaga gtctgggtca atggctgcag
601 gaggaaaagg tccctgaat ttatggagt gatacaagaa tctgactaaa aataattcgg
661 gataaggcta ccatgcttgg gaagattgaa ttggaagccc agtcttggg tttttggat
721 tccaataagc agaatttgat tctgaggtt tcaaccaagg atgtcaaggt gtttgccaa
781 ggaaccccca cgaagtgtgt agctgtggac ttgtggataa aaacaagt ctccgcctg
841 ctggttaagc gaggagctga agtgcatttg gtctcctgga atcagcactt caccagatg
901 gagtatgat gacttttgat tctggggga cctggaate cagctcttgc acagcacta
961 atcagaatg tgaanaagat ttggagagt gaccgcaag agccattgtt tgaatcagt
1021 acaggaaca taataacagg atggctgct ggtccaat cctacaagat gtccatgac
1081 aacagggac agaaccaccc tgtttgaat atcaacaa gacaggctt cataactgct
1141 cagatcatg gctatgctct ggaacacaa ctccctgtg gctggaacc actgtttgt
1201 aatgtcaatg atcaacaaa cgaggggatt atgcatgaga gcaaacctt ctctgctgt
1261 cagttccacc cagaggtcag cccggggcca acagacactg agtacctatt tgattcctt
1321 ttctcctga taaagaagg caaaggcacc accattactt cagtcttgc caagcagct
1381 ttgttgcct ctcgtctga gtttccaag gtctcctac tggatcagg agtctgtct
1441 atgttcagg caggtgaatt tgattactg ggaatcaag ctgtgaaag catgaagaa
1501 gaaatgtca aaacgtcct gatgaaccc aacatgcct cctgcagac caacgaggt
1561 ggaatgaagc agcagatgc agtctactt ctccctatta cccccagtt tgcacagaa
1621 gtatcaagg ctgaacgccc tgatggctg atttcgggca tgggtggcca gacagctgt
1681 aactgtggg tgaactatt caagggggt gtctcaagg aatatgggt gaagtcttc
1741 ggcacatcag ttggtccat tatggccaca gaagacagc agtcttctc agacaagct
1801 atgagatga acgagaagt cgcaccaggt ttgcagtg aatcaatga ggaatcctt
1861 aagcagcag acaccattgt ctaccctgt atgattcgt ctgcatagc tctgggtgg
1921 ttggctctg gcatctgtcc caataaggag acctaatag acctggac aaaaagctt
1981 gctatgcca accagatctt ggtggagcg tcatggacg gttggaaga aatagaatg
2041 gaagtgtcc gagatgcaga tgaactgt gtacagctt gtaacatga aatgttgac
2101 gcatgggtg ttacacagg tgactcggt gtctggccc cagccagac acttccaat
2161 gcagagtcc agatgttga agcacttca gtaactgtt ttgtcactt ggcagttgt
2221 ggcgaatgca acattcagtt tctcttca cccacttca tggaaactg tatcatgaa
2281 atgaatgcca gctgtcccc gatttctgc ctggctcca aggccatgt ctaccacta
2341 gattcattg cagcaagat tctctagga atccacttc cagaatcaa gaatttgtt
2401 tctgggaaga cctcagctg cttgcaacct agctggatt acatgtgac caagattcct
2461 cctctggatc ttgaccttt catggaaca tccagcgaa ttgtagctc aatgaanaat
2521 tgggcgagg tcatggccat tggtcgacc ttgaggaag gttccagaa ggtctgagg
2581 atgtgccat catctgtga ttggttcaat ccccgctcc caatgaataa ggaatggcca
2641 gcaaacctg atctgaagaa agagctgtct ggccttcca gcaccgcct ctacgcatt
2701 gctaaagcct tggagaaca catgtccct gacgaattg tgaagctac gtccatgac
2761 aatgttttc tttacaagat gctgacatt ttaacatgg ataagcact gaaaggctt
2821 aacagtact ctgttacaga agaaactct gaaagggca agagattgg gtctcagat
2881 aagcagatt caaagtgtt ggcagtact gaagccgaa caagagact gaggtaaag
2941 aaaaacatcc accctgggt taacagatt gatactgg ctgcagaata cccatcagta
3001 acaaatacc tgtatgtac ctacaagggc caggagcag atatcaaat tgaatgaat
3061 ggaataatgg tttggagctg tggccatc acattggca gcagtgtga attgattg
3121 ttgtctgtct ccagtatcc tacactgcgc caacttgga agaaagcagt gttgtgaat
3181 tgaaccag agacttgag cactgattt gatgattg acaactcta cttgaaga
3241 ctgtcttgg agaatcctt agactctac caccaggag catgtaagg ctgcatc
3301 tcatgtggc gccagattcc aaacaactt ggcgtcccc tttacaagaa ttgtgtcaag
3361 atcatggta caagccctct gcagatgcac agggctgagg atcgtccat ctctcagct
3421 ctcttagat agtcaaggt gcccaggct ccatggaag ctgtgaacac ttgaatgaa
3481 gcactggaat ttgcaaacct tgggtgtac cctgttca tgaaccttc ctatgtttg
3541 agtggctct ccatgaactt gttattctt gaggatgaga tgaanaagtt tcttgagg
3601 accactgag tctctagga acaccgggt gtctgacca agtttgtga ggggcccga
3661 gaagttaga tggcgtctg tggcaagaa ggaagggtc tctccatgc catcttgaa
3721 catgtgaag atcagatgt cactcagga gatgcaccc tgatctacc tacagagac
3781 atagccaag ggcatttga aaagtgaa gatgccac gaaagattgc aaaaacctt
3841 gccatctct ggcattcaa tgcctgatt ctgtcaag gaaatgatg ctgtgtgatt
3901 gattgcaatc tgagagcatc aagatcctt cctttgtct ccaagactt tgggtgga
3961 ttcatgtac ttgctacaaa gttgatgac ggggagaga ttgatgaaa gcacttccc
4021 acgtggagc agcccatcat tccctctgac tatgttcca ttaaggctc aatgttttc
4081 tggcccgac tgagagatgc tgacctatt ctgagatgt agatgttc tactggag
4141 gtgctgtct tggcgaggc cattcatacc gccttctaa agccatgct gctcaggg
4201 ttaagatac ctgagaagg catttgatt ggaatccagc aatcattcg tccaagatt
4261 ctgtgtgtg ctgagcagtt gcacaatgaa gtttcaagc ttttgcac agaagctac
4321 tcaactggc tcaatgcaa caatgtcct gcacccctg tggctggcc atctagaa
4381 ggaagaatc ccagctctc ttcatcaga aagtgtata gagatggaag cattgacta
4441 gtgattaacc tccccataa caacacaaa ttgtccatg ataattactt gattcgagg
4501 acagctgtg acagtgaat tctctctc accaatttc agtgacaa acttttgtt
4561 gaagctgac agaatctcg cactgtgac tccaagatc tttccacta cagcagatc
4621 gttgttgaa agccgccta agcagtatg ctggtctgt gaattatcc tcgagtcac
4681 tgaagctatg ctgcacaaa ggcactgtc ccagctatc tccaggaatg gatgtgtg
4741 ccaaatcta tttgtttt ctttctctt aatactct atcttaacc actaaattt

```

Alınan spesifik mRNA lokusu <https://primer3.ut.ee/> (2024) sitesindeki boşluğa yapıştırılıp ve pick primers tuşuna basıldığında Şekil 5 ve Şekil 6'daki sonuçlar elde edilir. Kırmızı okla işaretli ilk boşluğa spesifik mRNA lokusu yapıştırılır ve primer uzunluğu, sentezlenecek bölgenin büyüklüğü gibi gerekli ayarlamalar yapılarak pick primer tuşuna basılır.

Şekil 4. Karbamoil fosfat sentetaz-I için primer dizaynının yapıldığı web sitesi

Primer3web version 4.1.0 - Pick primers from a DNA sequence.

Select the **Task** for primer selection [generic]

Template masking before primer design (available species)

Select species [Example: Mus musculus] Nucleotides to mask in 5' direction [1]
Primer failure rate cutoff [0.1] Nucleotides to mask in 3' direction [0]

Paste source sequence below (5'→3', string of ACG Nacgtn -- other letters treated as N -- numbers and blanks ignored). FASTA format ok. Please N-out undesirable sequence (vector, ALUs, LINEs, etc.) or use a **Masking Library (repeat library)** [NONE]

4323 tcaagctatgct tcaatgctcaaa caatgtccctt gttaccccttg tggcttggcc attcaggaa
4383 gggcagagctc cggctctctc tctcatcgg aggtgagtaa gggctggagag ccttgagctc
4443 gtagttatgc tcc caataa caaacacaaa ttgttccttg atattctgct gattcggagag
4503 tggcgtatgg agt agagat tggctctctc tccgctctctc ttgagtcgaa tctctctctc
4563 gggcctatgc aat attcttg caattggag tctcagagctc tcttctccta cggcctatgc
4623 gattctggag aat gacccca g

☒ Pick left primer, or use left primer below ☐ Pick hybridization probe (internal oligo), or use oligo below ☒ Pick right primer, or use right primer below (5' to 3' on opposite strand)

General Primer Picking Conditions

Sequence Id [] A string to identify your output.
Targets [] E.g. 50.2 requires primers to surround the 2 bases at positions 50 and 51. Or mark the **source sequence** with [and] e.g. ...ATCT[CCCC]TCAT. means that primers must flank the central CCCC.
Overlap function List [] E.g. 27 requires one primer to overlap the junction between positions 27 and 28. Or mark the **source sequence** with < e.g. ...ATCTAC-TGTCAT. means that primers must overlap the junction between the C and T.
Excluded Regions [] E.g. 401,7 68.3 forbids selection of primers in the 7 bases starting at 401 and the 3 bases at 68. Or mark the **source sequence** with < and > e.g. ...ATCT<CCCC>TCAT. forbids primers in the central CCCC.
Pair OK Region List [] See manual for help.
Included Region [] E.g. 20,400: only pick primers in the 400 base region starting at position 20. Or use (and) in the **source sequence** to mark the beginning and end of the included region: e.g. in ATC (TTC...TCT)AT the included region is TTC...TCT.
Start Codon Position []
Internal Oligo Excluded Region []
Force Left Primer Start [-1000000] Force Right Primer Start [-1000000]
Force Left Primer End [-1000000] Force Right Primer End [-1000000]

Sequence Quality: []
Min Sequence Quality [0] Min End Sequence Quality [0] Sequence Quality Range Min [0] Sequence Quality Range Max [100]

General Primer Picking Conditions

Upload the settings from a file [Dosya seç] Dosya seçilmedi

Primer Size Min [18] Opt [20] Max [23]
Primer Tm Min [57.0] Opt [59.0] Max [62.0] Max Tm Difference [5.0] Table of thermodynamic parameters [SantaLucia 1998]
Product Tm Min [-1000000] Opt [0.0] Max [1000000]
Primer GC% Min [30.0] Opt [50.0] Max [70.0]

Product Size Ranges [601-700]
Number To Return [5] Max 3' Stability [9.0]
Max Library Mispriming [12.00] Pair Max Library Mispriming [20.00]

Şekil 5. Dizayn edilecek primerlerin ve üreteceği cDNA bölgesinin büyüklüğü ile Tm sıcaklığının girildiği bölgeler

Included Region [] E.g. 20,400: only pick primers in the 400 base region starting at position 20. Or use (and) in the **source sequence** to mark the beginning and end of the included region: e.g. in ATC (TTC...TCT)AT the included region is TTC...TCT.
Start Codon Position []
Internal Oligo Excluded Region []
Force Left Primer Start [-1000000] Force Right Primer Start [-1000000]
Force Left Primer End [-1000000] Force Right Primer End [-1000000]

Sequence Quality: []
Min Sequence Quality [0] Min End Sequence Quality [0] Sequence Quality Range Min [0] Sequence Quality Range Max [100]

General Primer Picking Conditions

Upload the settings from a file [Dosya seç] Dosya seçilmedi

Primer Size Min [18] Opt [20] Max [23]
Primer Tm Min [57.0] Opt [59.0] Max [62.0] Max Tm Difference [5.0] Table of thermodynamic parameters [SantaLucia 1998]
Product Tm Min [-1000000] Opt [0.0] Max [1000000]
Primer GC% Min [30.0] Opt [50.0] Max [70.0]

Product Size Ranges [601-700]
Number To Return [5] Max 3' Stability [9.0]
Max Library Mispriming [12.00] Pair Max Library Mispriming [20.00]

Primer3 Output

--76--

Şekil 7. Karbamoil fosfat sentetaz-I için elde edilen dört çift spesifik yedek primerler ve bazı özellikleri

```

4081 ggcatcttgattggaatccagcaatcattccgtccaaagtcttggtgtgctgagcag
4141 ttgcacaatgaagggtttcaagctttttgacacagaagctacatcagactggtcaatgcc
4201 aacaatgtccctgccccttggtggttggtcctcagaaggacagaatcccagctctc
4261 tcttccatcagaagtgtataagagatggaagcattgacctgattaaacctcccaat
4321 aacaacaccaaatgttgcataataactgattggaggagacgtgtggacagtga
4381 attgctctcctcaccaattccaggtgacccaatttttctgaagctgtgcagaaatct
4441 cgcactgtggactccaagagtctgttcactacaggcagtagctgtggaagcgcgcc
4501 taa

KEYS (in order of precedence):
>>>>> left primer
<<<<< right primer

ADDITIONAL OLIGOS
start len tm gc% any_th 3'th hairpin ssn
1 LEFT PRIMER 123 20 58.98 50.00 0.00 0.00 0.00 gaaggcaaaagacagcacaca
RIGHT PRIMER 671 20 58.95 50.00 0.00 0.00 0.00 tccacagctaccactttctgt
PRODUCT SIZE: 549, PAIR ANY_TH COIPL: 0.00, PAIR 3'TH COIPL: 0.00
2 LEFT PRIMER 33 20 59.02 55.00 0.00 0.00 0.00 gaagacccctgaagagtggct
RIGHT PRIMER 538 20 58.95 55.00 10.07 0.00 0.00 gcatggtaccctttatcccca
PRODUCT SIZE: 506, PAIR ANY_TH COIPL: 0.00, PAIR 3'TH COIPL: 0.00
3 LEFT PRIMER 2959 20 59.04 50.00 0.00 0.00 0.00 ggcagcagtgtggaatttga
RIGHT PRIMER 3537 20 58.96 60.00 16.85 16.85 0.00 gtccatctctacttcccggg
PRODUCT SIZE: 579, PAIR ANY_TH COIPL: 0.00, PAIR 3'TH COIPL: 1.40
4 LEFT PRIMER 1011 20 59.02 50.00 0.00 0.00 0.00 tggctatgctctgggcaaca
RIGHT PRIMER 1579 20 58.93 50.00 0.00 0.00 0.00 tggagcacacccctttgaat
PRODUCT SIZE: 569, PAIR ANY_TH COIPL: 0.00, PAIR 3'TH COIPL: 0.57

```

Şekil 7 ve Şekil 8’de gösterilen spesifik primer çiftleri için ayrı ayrı https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome (2024) web adresinden blastlama yapıldı ve temel spesifik çifti için elde edilen sonuçlar örnek olarak gösterildi (Şekil 8 ve Şekil 9).

Şekil 8. Karbamoil fosfat sentetaz-I için spesifik temel left primerin blastlama sonucu

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

BLAST® » blastn suite » results for RID-7UNADNWJ013

HomeRecent ResultsSaved StrategiesHelp

Edit Search
Save Search
Search Summary

How to read this report?
BLAST Help Videos
Back to Traditional Results Page

Your search parameters were adjusted to search for a short input sequence.

Job Title	Nucleotide Sequence
RID	7UNADNWJ013 Search expires on 06-28 20:04 pm Download All
Program	BLASTN Citation
Database	nt See details
Query ID	lcl Query_8192551
Description	None
Molecule type	nucleic acid
Query Length	20
Other reports	Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[Add organism](#)

Percent Identity to to
E value to to
Query Coverage to to
Filter Reset

Descriptions
Graphic Summary
Alignments
Taxonomy

Sequences producing significant alignments
Download Select columns Show 100

☒ select all 100 sequences selected

GenBank
Graphics
Distance tree of results
MSA Viewer

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	PREDICTED: Arvicantis niloticus carbamoyl-phosphate synthase 1 (Cps1). mRNA	Arvicantis niloti...	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	5570	XM_034498207.1
☒	PREDICTED: Trachypithecus francoisi carbamoyl-phosphate synthase 1 (CPS1). transcript variant X2. mRNA	Trachypithecus f...	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	5679	XM_033230408.1
☒	PREDICTED: Trachypithecus francoisi carbamoyl-phosphate synthase 1 (CPS1). transcript variant X1. mRNA	Trachypithecus f...	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	5791	XM_033230407.1
☒	PREDICTED: Rattus rattus carbamoyl-phosphate synthase 1 (Cps1). mRNA	Rattus rattus	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	3462	XM_032899749.1
☒	PREDICTED: Camelus ferus carbamoyl-phosphate synthase 1 (CPS1). mRNA	Camelus ferus	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	5660	XM_032479946.1

Şekil 9. Karbamoil fosfat sentetaz-I için spesifik temel right primerin blastlama sonucu

An official website of the United States government [Here's how you know](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-7UNGZ9G016

Home Recent Results Saved Strategies Help

[Edit Search](#) Save Search Search Summary [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title Nucleotide Sequence

RID ZUNGZ9G016 Search expires on 06-28 20:07 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lclQuery_74729

Description None

Molecule type nucleic acid

Query Length 20

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

☒ select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	PREDICTED: Geotrypetes seraphini tetratricopeptide repeat domain 27 (TTC27) .transcript variant X3...	Geotrypetes se...	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	3276	XM_033935685.1
☒	PREDICTED: Geotrypetes seraphini tetratricopeptide repeat domain 27 (TTC27) .transcript variant X2...	Geotrypetes se...	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	3399	XM_033935684.1
☒	PREDICTED: Geotrypetes seraphini tetratricopeptide repeat domain 27 (TTC27) .transcript variant X1...	Geotrypetes se...	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	3494	XM_033935682.1
☒	PREDICTED: Rattus rattus carbamoyl-phosphate synthase 1 (Cps1) .mRNA	Rattus rattus	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	3462	XM_032899749.1
☒	PREDICTED: Mus caroli carbamoyl-phosphate synthase 1 (Cps1) .mRNA	Mus caroli	40.1	40.1	100%	2.9	100.00%	5413	XM_021156158.2

Daha sonra her bir primerin Tm değerinin bulunabilmesi için <http://insilico.ehu.es/tm.php?primer=AATTCCGGATCccggaatt&basic=1&NearestNeighbor=1&cp=200&cs=50&cmg=0> (2024) web sitesi kullanıldı. Örnek olsun diye temel spesifik primer çifti için elde edilen Tm sonuçları Şekil 10 ve Şekil 11’de gösterildi.

Şekil 10. Karbamoil fosfat sentetaz-I için spesifik temel left primerin Tm değeri sonucu

Melting Temperature (Tm) Calculation

Primer (6-50 bases):
AGATGTCCATGGCCAACAGA [Compute Tm](#)

LENGTH: 20
C+G%: 50
Molecular weight: 6215.705

☒ **Basic Tm**
Degenerated nucleotides are allowed
Tm: 51.8 °C

☒ **Base-Stacking Tm**
Degenerated nucleotides are NOT allowed
Primer concentration: 200 nM
Salt concentration: 50 mM
Mg²⁺ concentration: 0 mM
Tm: 56 °C
Enthalpy: -151
Entropy: -426.75

Source code is freely downloadable at biophp.org

Şekil 11. Karbamoil fosfat sentetaz-I için spesifik temel right primerin Tm değeri sonucu

Melting Temperature (Tm) Calculation

Primer (6-50 bases):

LENGTH: 20
 C+G%: 55
 Molecular weight: 6044.525

☒ **Basic Tm**
 Degenerated nucleotides are allowed
 Tm: 53.8 °C

☒ **Base-Stacking Tm**
 Degenerated nucleotides are NOT allowed
 Primer concentration: 200 nM
 Salt concentration: 50 mM
 Mg²⁺ concentration: 0 mM
 Tm: 56 °C
 Enthalpy: -155.6
 Entropy: -440.65

Source code is freely downloadable at biophp.org

Tablo 1. Karbamoil fosfat sentetaz-I enzimi için dizayn edilen primer çiftleri ve bazı özellikleri

Enzim	Forward primer	Tm değeri (°C)	Backward primer	Tm değeri (°C)	Ürün boyutu (bp)
Karbamoil fosfat sentetaz-I	agatgtccatggccaacaga	56	catctgcctgcttcaatccc	56	513
	Yedek Forward primerler		Yedek Backward primerler		
1	gaaggcaaagacagcacaca	56,1	tccacagctaccacttctgt	56	549
2	gaagaccctgaagagtggct	56	gcatgggtacccttatcccga	56	506
3	ggcagcagtgtggaatttga	56,1	gtccatcttacttcccggg	56	579
4	tggctatgctctggacaaca	56,2	tgagcacaccctcttgaat	55,9	569

Tablo 2. Argininosüksinat sentetaz enzimi için dizayn edilen primer çiftleri ve bazı özellikleri

Enzim	Forward primer	Tm değeri (°C)	Backward primer	Tm değeri (°C)	Ürün boyutu (bp)
Argininosüksinat sentetaz	ggatcagaaaaccccgcttc	56	cggaggtgcttgattcttg	56	484
	Yedek Forward primerler		Yedek Backward primerler		
1	caagaatcaagcacctccgg	53,8	acctgcaccttccttctac	53,8	459
2	cagcccagatgtccttgaga	56,1	gaggatgtaccttgccct	56,1	430
3	cagtccagtgcacttacga	56,2	tcaaggacatctgggctgtt	55,9	440
4	gtgtggctgaaggaacaagg	56,1	ttcatccatactccaggggc	55,8	486

Tablo 3. Arginaz enzimi için dizayn edilen primer çiftleri ve bazı özellikleri

Enzim	Forward primer	Tm değeri (°C)	Backward primer	Tm değeri (°C)	Ürün boyutu (bp)
Arginaz	caatgaagagctggctggtg	56,3	cgtcgacatcaaagctcagg	56,2	476
	Yedek Forward primerler		Yedek Backward primerler		
1	gcaacctgtgtcctttctcc	55,8	tcctctgctgtcttcccaag	56	438
2	cagctctgggaatctgcatg	55,8	tgccgtgtcacagtactct	56,1	484
3	gaggaggggtagagaaaggc	56	cgcaagccaatgtacacgat	56,4	478
4	atcgtgtacattggcttgcg	56,4	gcttatggttaccctcccgt	56,2	421

3. Sonuç ve Tartışma

Çalışma kapsamında tüm enzimler için primer dizaynı çalışması sonucu biri temel spesifik primer çifti ve dördü yedek primer çifti olmak üzere toplam beş çift spesifik primer elde edilmiştir. Şekil 8 ve Şekil 9, left ve right primeler için blastlama sonucunu göstermektedir. Bu sonuçlar incelendiğinde tümünün mus musculus karbamoil fosfat sentetaz-I enzimini lokusları oldukları görülmektedir. Şekil 6 ve Şekil 7’den de görüldüğü gibi primer çiftlerinin tümü yirmişi bazdan oluşmakta ve saç tokası ve benzeri yapılar oluşturacak komplementer yapı bulundurmamaktadır. Ayrıca temel spesifik primer çifti için Tm değerleri sırası ile 56,3 ve 56,2°C, olarak bulunmuştur (Şekil 10 ve Şekil 11). Görüldüğü gibi left ve right primerler için bulunan Tm değerleri maksimum yapışma sıcaklığı olan 56°C’ye çok yakındır. Tablo 1, 2 ve 3 incelendiğinde aynı yorumları argininosüksinat sentetaz ve arginaz için de yapılabilir.

Kaynakça

Berg, J. M. Tymoczko, J.L. Stryer L. (2014). Çeviri Ed. A. Denizli, A.K. Ozden, *Biyokimya*. 7. Baskıdan Çeviri, Ankara, Palme Yayıncılık.

Gözükara, M. E. (1997). *Biyokimya*. 3. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.

Keha, E. E. Küfrevioğlu, Ö.İ. (2009). *Biyokimya*. 6. Baskı, Ankara, Aktif Yayınevi.

Lehninger, A. L. Nelson, D. L. Cox, M. M. (2004). Çeviri Ed. N Kılıç, *Biyokimyanın ilkeleri*. Üçüncü Baskıdan çeviri. Ankara, Palme Yayıncılık.

National Library of Medicine, 2024, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>.

Primer3web version 4.1.0, 2024, <https://primer3.ut.ee/>.

National Library of Medicine, 2024, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome.

Melting Temperature (Tm) Calculation, 2024, <http://insilico.ehu.es/tm.php?primer=AATTCCGGATCccggaatt&basic=1&NearestNeighbor=1&cp=200&cs=50&cmg=0>.

GEN ETKİLEŞİMLERİ VE HÜCRESEL YOLAKLAR