

Nohut Geveni İşlevsel Sentromerlerinin İmmüno Floresan Yöntemiyle Tanımlanması

Ahmet L. Tek^{1,2}, Ahmet Yılmaz¹, Saim Üner İkincikarakaya³, Kiyotaka Nagaki²

¹Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

²Institute of Plant Science and Resources, Okayama University, Kurashiki 710-0046, Japan

³Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

Sorumlu yazar e-posta: altek2@gmail.com

Giriş: Yaygın ismiyle geven olarak bilinen *Astragalus* cinsi 2.500'den fazla üyesiyle çiçekli bitkiler içerisinde en çok sayıda türe sahip taksonomik gruptur. Ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren, aynı zamanda yem bitkisi olarak kullanılabilme potansiyeline sahip nohut geveni (*Astragalus cicer* L.) çok yıllık bir baklagil bitkisidir. Nohut geveni üzerinde çimlenme, yem kalitesi gibi tarımsal özelliklerin iyileştirilmesiyle birlikte, çeşit/populasyon geliştirme aşamalarında ilerlemeler kaydedilmiştir. Ayrıca doku kültüründe bitki rejenerasyonu çalışmaları da önemlidir. Nohut geveni hakkında yukarıda bahsedilen temel çalışmaların dışında bilgi birikimi sınırlıdır. Özellikle, genom ve kromozom yapısının temel unsurlarının sitogenetik olarak araştırılmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmayla nohut geveni kromozom yapısı ve özellikle de işlevsel sentromerlerin ayrıntılı olarak tanımlanmasında başlangıç teşkil edecek analizler hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler: Bu projede nohut geveni (*A. cicer* L., $2n = 8x = 64$) kullanılmıştır. Kromozom hazırlama ve immüno floresan yöntemleri için kök uçlarından alınan meristematik dokular paraformaldehitte fikse edilip, Sellulaz/Pectolayaz enzimleriyle parçalanmıştır. Lama yapıştırılan kromozomlar, tavşan anti-GmCENH3 antikora inkübe edilmiştir. İmmüno lojik bağlanan antikor molekülleri, Alexa Fluor 546-conjuge anti-tavşan ikincil antikolarıyla (Molecular Probes) bağlanmıştır. DAPI ile boyanan kromozomlar mavi, GmCenH3 antikor molekülleri kırmızı olacak şekilde Carl Zeiss Axioskop 2 Plus floresan mikroskopu üzerinde gözlemlenmiş ve bilgisayarda birleştirilmiştir.

Bulgular: Nohut geveni somatik kromozomlarıyla $2n = 8x = 64$ kromozomlu oktoploid bir bitki olduğu teyit edilmiştir. Nohut geveni kromozomları üzerinde sentromerik bölgelerini tanımlamak amacıyla immüno floresan boyama yöntemi kullanılmıştır. Daha önce geliştirdiğimiz anti-GmCenH3 antikor proteininin nohut geveni sentromerleriyle reaktifliği test edilmiştir. GmCenH3 antikoru tüm nohut geveni kromozomları üzerinde sentromerik bölgelere spesifik olarak bağlanmıştır. Bu immüno lojik bağlanma ikincil antikora kırmızı renkli sinyaller olarak tespit edilmiştir. GmCenH3 antikoru interfaz aşamasında dahil nohut geveni hücre döngüsünün tüm safhalarında sentromerik bölgeleri tanımlar.

Sonuç ve Tartışma: Bu çalışmada, immüno floresan yöntemiyle nohut geveni kromozomlarının sentromerik bölgelerinde bulunan sentromerik histon H3 proteinine spesifik olarak bağlandığı gösterilmiştir. Baklagillerden soya, fasulye ve *A. sinicus* türlerinde sentromer satelit DNA dizileri, kromatin immüno presipitasyon yöntemiyle klonlanmıştır. Bu DNA klonlamaları sonucunda, bu bitkilerin sentromerlerinin ilgili türe özgü sentromerik satelit DNA dizilerine sahip olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, buradaki çalışmayla, GmCenH3 antikorunun bu bağlanma özelliği sayesinde nohut geveni bitkisinin de sentromer satelit DNA tekrarlarının klonlanması mümkün olacaktır. Sonuç olarak, nohut geveni işlevsel sentromerik bölgelerinin DNA ve protein özellikleri bakımından tanımlanmasıyla, baklagil bitkilerinin sentromer bölgelerinin evrimsel dinamikleri aydınlatılabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Baklagil, Sentromer, CENP-A, Antikor

Teşekkür: Bu çalışma, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 12034 no'lu proje ile desteklenmiştir.