



**T.C.
Harran Üniversitesi
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**FARKLI AKREP TÜRLERİNDE ZEHİR BEZLERİNİN
TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ VE ZEHRİN AMİNO ASİT PROFİLİNİN
İNCELENMESİ**

NEVİN ASLAN

BİYOLOJİ

**Şanlıurfa
2024**

T.C.
Harran Üniversitesi
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

FARKLI AKREP TÜRLERİNDE ZEHİR BEZLERİNİN
TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ VE ZEHRİN AMİNO ASİT PROFİLİNİN
İNCELENMESİ

NEVİN ASLAN

BİYOLOJİ

Şanlıurfa
2024

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şahin TOPRAK' a, tez çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübesiyle ile çalışmalarımı yönlendiren ve bana destek olan ikinci danışman hocam Sayın Doç. Dr. İsmail Koyuncu' ya,

Tez izleme komitemde yer alarak, tez çalışmalarım boyunca bilimsel tecrübelerini esirgemeyen ve her konuda bana destek olan Sayın hocalarım Doç. Dr. Akın YİĞİN' e ve Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ' a,

Tez çalışmalarım boyunca hiçbir desteği esirgemeyen, yardımlarıyla her aşamada yanımda bulunan değerli dostum Sayın Öğr. Gör. Dr. Ahmet İsmail ÖZKAN' a ve değerli hocam Sayın Doç. Dr. Alevcan KAPLAN' a,

Akreplerin bakımında bana yardımcı olan çalışma arkadaşım Uzm. Biyolog Kudret PERTAV' a, arazi çalışmalarım esnasında bana eşlik eden aile dostumuz Hakkı DEMİR' e ve Uzm. Biyolog Rıdvan KURT' a,

Doktora çalışmamın gerçekleştirilmesi ve uygulanması aşamasında bütçe olanaklarıyla katkıda bulunan Harran Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne,

Son olarak yaşamım boyunca bana her konuda güvenen, kararlarımı saygı duyan ve her koşulda beni destekleyen canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ii
KISALTMALAR	iii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	8
2.1. LİTERATÜR İNCELEMESİ	8
2.2. GENEL BİLGİLER	13
2.2.1. OMİKLERE GENEL BAKIŞ	13
2.2.1.1. GENOMİK	14
2.2.1.2. PROTEOMİK	15
2.2.1.3. TRANSKRİPTOMİK	16
2.2.1.3.1. Mikrodiziler	16
2.2.1.3.2. İfade Edilmiş Dizi (EST) Sıralaması	17
2.2.1.3.3. Gen İfadesinin Seri Analizi (SAGE)	17
2.2.1.3.4. RNA Sekanslama	17
2.2.1.4. METABOLOMİK	18
2.2.2. ZEHİRLER	19
2.2.2.1. Na ⁺ kanallarına etki eden toksinler (NaTx)	23
2.2.2.2. K ⁺ kanallarına etki eden toksinler (KTx)	23
2.2.2.3. Kalsiyum Kanallarına Etki Eden Toksinler (CaTx)	23
2.2.2.4. Cl ⁻ kanallarını etkileyen toksinler (ClTx)	23
2.2.2.5. TRP kanallarına etki eden toksinler (TRPTx)	23
2.2.2.6. α-TRPTx (TRPA ₁ olarak transkriptler için)	24
2.2.2.7. Enzimler	24
2.2.2.8. Proteaz inhibitörleri	24
2.2.2.9. Ana Savunma Peptitleri (HDP)	24
2.2.2.10. Diğer Peptidik Bileşenler, (Transkriptler için üç karakterli kodda "Oth" olarak adlandırılır)	25
2.2.3. AKREPLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER	26
2.2.3.1. Akreplerin Morfolojileri	26
2.2.3.2. Akreplerin Yaşam Biçimleri	30
2.2.3.3. Akreplerde Beslenme	31
2.2.3.4. Akreplerde Üreme	32
2.2.3.5. Akreplerde Embriyonik Gelişim ve Gebelik	34
2.2.3.6. Akreplerde Doğum	36
2.2.3.7. Akreplerde Yavruların Gelişimi	37
2.2.3.8. Akreplerde Gömlek Değişimi	38
2.2.3.9. Akreplerde Partenogenezis	39
2.2.3.10. Türkiye'deki Akrep Faunası	39
2.2.3.11. Akrep Venomunun Biyolojisi	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. ARAZİ ÇALIŞMALARI	44
3.2. ZEHİR SAĞIMI	45
3.3. ZEHİR BEZİNİN TRANSKRİPTOMİK ANALİZLERİ	46
3.3.1. mRNA İzolasyonu ve cDNA Kütüphanesi hazırlama	46
3.3.2. RNA Kalite Kontrol	48
3.3.3. Kütüphane Hazırlığı (mRNA Prep)	48
3.3.4. Dizileme (Illumina NovaSeq 6000)	48
3.3.5. Biyoinformatik analizler	49
3.4. ZEHRİN METABOLİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ	49

4. BULGULAR	50
4.1. Zehir Bezinin Transkriptom Analizleri	50
4.2. Zehirlerin Metabolit Profilinin İncelenmesi	64
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇLAR	73
7. ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	84



ÖZET

DOKTORA TEZİ

FARKLI AKREP TÜRLERİNDE ZEHİR BEZLERİNİN TRANSKRİPTOMİK ANALİZİ VE ZEHİRİN AMİNO ASİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

NEVİN ASLAN

Harran Üniversitesi
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ

2024, Sayfa : 85

Akrep zehri, enzimler, toksik peptitler, serbest amino asitler, karbonhidratlar, lipidler ve diğer metabolitler dahil olmak üzere farklı biyolojik olarak aktif bileşiklerin karmaşık karışımlarından oluşur. Hayvan zehirleri üzerine yapılan çalışmalar, yeni biyoaktif moleküllerin keşfedilmesi için fırsatlar yaratan teknolojik ilerlemelerle sürekli olarak geliştirilmiştir. Proteomik, transkriptomik, genomik ve metabolomik gibi zehir araştırmalarına yönelik "omik" teknolojilerinin tanıtılması, büyük ölçekli veri toplamayı ve bunların analizini mümkün kılmıştır. Farklı akrep türleri üzerinde yaptığımız zehir bezi transkriptom analizlerinde elde edilen zehir dokusundan QIAGEN izolasyon kitiyle RNA izole edildi. İzole edilmiş RNA materyalinin kütüphane hazırlığında, Illumina Stranded mRNA Prep kiti (Illumina, ABD, #20040534) kullanıldı. Biyoinformatik analizlerde diziler, fastp v0.23.4 kullanılarak düzenlendi ve filtre edildi. Bu işlem sırasında 3' ve 5' uçlarındaki minimum kalite değeri 30 (1bp ile), minimum ortalama okuma kalite değeri 30, minimum belirsiz baz sayısı 0 ve minimum okuma uzunluğu 100bp olarak ayarlandı. Aminoasit çalışması için JASEM aminoasit kiti kullanıldı. Analiz için LC-MS/MS cihazında ki HPLC kısmında bulunan tepsisi bölmesine yerleştirildi ve okutuldu. Sonuç olarak *Androctonus carssicauda* türünde 8 farklı protein elde edildi. En uzun aminoasit dizisi colorectal mutant cancer protein-like isoform X1 proteininde 974, en kısa aminoasit dizisi apoptosis regulator R1-like proteininde 189 olarak elde edildi. *Hottentotta saulcyi* türünde 8 farklı protein elde edildi. En uzun aminoasit dizisi breast cancer anti-estrogen resistance protein 3-like proteininde 910, en kısa aminoasit dizisi apoptosis regulator R1-like proteininde 189 olarak elde edildi. *Leiurus abdullahbayrami* türünde 7 farklı protein elde edildi. En uzun aminoasit dizisi colorectal mutant cancer protein-like isoform X2 proteininde 970, en kısa aminoasit dizisi apoptosis regulator R1-like proteininde 189 olarak elde edildi. LC/MS MS sonuçlarına göre *A. crassicauda* akrep zehrinde; taurin, alfa aminobütirik asit, fosfoetanolamin, lizin, lösin ve arginin amino asitlerinin varlığı tespit edildi. *H. saulcyi* akrep zehrinde; taurin, lizin, fosfoetanolamin, arginin, alfa-aminopimelik asit ve lösin amino asitlerinin varlığı tespit edildi. *L. abdullahbayrami* akrep zehrinde; alfa amino bütirik asit, taurin, lizin, fenilalanin, arginosuksinik asit, lösin, histamin, arginin, prolin amino asitlerinin varlığı tespit edildi.

ANAHTAR KELİMELER: Akrep, Zehir Bezi, Transkriptomik, Metabolit, Omikler

ABSTRACT

DOCTORATE THESIS

TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS OF VENOM GLANDS AND AMINO ACID PROFILE OF VENOM IN DIFFERENT SCORPION SPECIES

NEVİN ASLAN

Harran University
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
BİYOLOJİ

2024, Sayfa : 85

Scorpion venom consists of complex mixtures of different biologically active compounds, including enzymes, toxic peptides, free amino acids, carbohydrates, lipids and other metabolites. The study of animal venoms has been continually enhanced by technological advances that create opportunities for the discovery of new bioactive molecules. The introduction of “omics” technologies for venom studies, such as proteomics, transcriptomics, genomics, and metabolomics, has enabled large-scale data collection and analysis. RNA was isolated from the venom tissue obtained from the venom gland transcriptome analyzes we performed on different scorpion species with the QIAGEN isolation kit. Illumina Stranded mRNA Prep kit (Illumina, USA, #20040534) was used for library preparation of the isolated RNA material. In bioinformatics analyses, sequences were edited and filtered using fastp v0.23.4. During this process, the minimum quality value at the 3' and 5' ends was set to 30 (with 1bp), the minimum average read quality value to 30, the minimum number of ambiguous bases to 0, and the minimum read length to 100bp. JASEM amino acid kit was used for amino acid study. For analysis, it was placed in the tray compartment in the HPLC section of the LC-MS/MS device and read. As a result, 8 different proteins were obtained from *Androctonus carssicauda* species. The longest amino acid sequence was 974 in the colorectal mutant cancer protein-like isoform X1 protein, and the shortest amino acid sequence was 189 in the apoptosis regulator R1-like protein. 8 different proteins were obtained from the *Hottentotta saulcyi* species. The longest amino acid sequence was 910 in the breast cancer anti-estrogen resistance protein 3-like protein, and the shortest amino acid sequence was 189 in the apoptosis regulator R1-like protein. 7 different proteins were obtained from the *Leiurus abdullahbayrami* species. The longest amino acid sequence was 970 in the colorectal mutant cancer protein-like isoform X2 protein, and the shortest amino acid sequence was 189 in the apoptosis regulator R1-like protein. According to LC/MS MS results, in *A. crassicauda* scorpion venom; The presence of amino acids taurine, alpha aminobutyric acid, phosphoethanolamine, lysine, leucine and arginine was detected. *H. saulcyi* in scorpion venom; The presence of amino acids taurine, lysine, phosphoethanolamine, arginine, alpha-aminopimelic acid and leucine was detected. *L. abdullahbayrami* on scorpion venom; The presence of alpha amino butyric acid, taurine, lysine, phenylalanine, arginosuccinic acid, leucine, histamine, arginine and proline amino acids was detected.

KEY WORDS: Scorpion, Venom Gland, Transcriptomics, Metabolites, Omics

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.2. “Omik” teknolojileri arasındaki ilişki (Utkin, 2017)	1
Şekil 1.3. Akreplerin dünya üzerindeki dağılışı (tr.wikipedia.org, 2010)	2
Şekil 1.4. Ultraviolede <i>Androctonus crassicauda</i> ve floresens özellikteki 4-metil-7-hidsoksikumarin’ in molekül yapısı (Frost. ve ark., 2001)	3
Şekil 1.5. Akrepte cDNA kütüphanesi yapım adımları: (a) Telson diseksiyonu. (b) Doku homojenizasyonu. (c) Toplam RNA saflaştırması. (d) Ters transkripsiyonla birinci iplikçik cDNA sentezi. (e) PCR ile çift sarmallı cDNA sentezi. (f) Vektöre ligasyon. (g) Bakteriyel dönüşüm. (h) Kolonilerin büyümesi ve seçimi (Rendo’ n-Anaya ve arkadaşları, 2013)	4
Şekil 2.2. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik ilişkisi (Kaşıkçı, 2019)	13
Şekil 2.3. Akrep zehirlerinin inflamatuvar etkisinin şematik temsili. Buthidae ailesine ait akreplerin zehirleri tarafından tetiklenen yerel ve sistemik inflamatuvar olaylar özetlenmiştir (Teixeira ve diğerleri, 2017)	20
Şekil 2.4. <i>Androctonus crassicauda</i> ’ nın genel morfolojisi (Demir, 2020). 1.Yürüme bacakları 2.Pedipalp 3. Keliser 4.Trochanter 5. Femur 6. Tibia 7. Manus 8. Sabit parmak 9. Hareketli parmak 10. Chela 11. Sternum 12. Pecten 13.Stigma 14. Telson 15. Anal açıklık 16. Lateral gözler 17. Median gözler 18. Genital operculum 19. Prosoma 20. Mesosoma 21. Metasoma (ölçek: 3cm)	25
Şekil 2.5. Laboratuvar ortamında <i>Hottentotta saulcyi</i> ve <i>Androctonus crassicauda</i> ’ nın beslenmesi	30
Şekil 2.6. Erkek akrepte genital operculum ve sperm kesesi (Lorurenco; 2000)	31
Şekil 2.7. Akreplerin çiftleşme esnasında yaptıkları dans (Lorurenco; 2000)	32
Şekil 2.8. Keliser masajı (Bookman, 2006)	33
Şekil 2.9. Akreplerde görülen doğum pozisyonu (Hjelle, 1973)	35
Şekil 2.10. Yeni doğum yapmış <i>Androctonus crassicauda</i> ve yavruları (Demir, 2020)	36
Şekil 2.11. Anne akrebin yavrularını sırtına çıkarma davranışı (Lourenço, 2000)	37
Şekil 2.12. Yeni gömlek değiştirmiş <i>Androctonus crassicauda</i> ve UV görüntüsü (Demir, 2020)	37
Şekil 3.2. Gece ve gündüz yapılan arazi çalışmaları	43
Şekil 3.3. Araziden toplanan örneklerin laboratuvar ortamında adaptasyonu (A: <i>Androctonus crassicauda</i> , B: <i>Hottentotta saulcyi</i> , C: <i>Leiurus abdullahbayrami</i>)beslenmesi	43
Şekil 3.53. . Akreplerden elektrik stimülasyonu yöntemiyle zehir sağımı	44
Şekil 3.54. İzolasyon öncesi telsonlardan zehir bezlerinin kesilmesi	45
Şekil 3.55. Akrep zehir bezlerinde izolasyon işlem basamakları	46
Şekil 4.1. <i>Androctonus crassicauda</i> , <i>Hottentotta saulcyi</i> ve <i>Leiurus abdullahbayrami</i> türlerinin zehirlerindeki Amino Asit dağılımının metabolit analiz profilleri	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Farklı akrep türlerinde zehir bezi transkriptom analizlerinin genel istatistikleri (AC: Androctonus crassicauda, HS: Hottentotta saulcyi, LA: Leiurus abdullahbayrami)	49
Çizelge 4.1. Androctonus crassicauda türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 8 farklı protein adı, ID kodu, benzerlik oranları ve amino asit dizileri	50
Çizelge 4.2. Hottentotta saulcyi türünün transkriptom analizi sonucunda elde edilen 8 farklı protein adı, ID kodu, benzerlik oranları ve amino asit dizileri	54
Çizelge 4.2. Leiurus abdullahbayrami türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 7 farklı proteinin isimleri, ID kodları, benzerlik oranları ve amino asit dizileri	59
Çizelge 4.3. Hottentotta saulcyi, Androctonus crassicauda ve Leiurus abdullahbayrami zehirlerinin serbest amino asit profilinin LC-MS/MS ile incelenmesinin sonuçları. (Zehirde tespit edilen miktar (nmol/L)	63



KISALTMALAR

AMP : Antimicrobial Peptide

bp : Baz çifti

Ca²⁺ : Kalsiyum

CE : Kapiler Elektroforez

Cl⁻ : Klor

EST : İfade edilen dizi etiketi

GWAS : Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları

HDP : Savunma peptidi

HPLC : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IGFBP : İnsülin büyüme faktörü bağlayıcı proteinler

K⁺ : Potasyum

KScTx : Potasyum kanalı toksinleri

LC-MS/MS : Sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi

Na⁺ : Sodyum

NaScTx : Sodyum kanalı toksinleri

NDBP : Disülfid bağı içermeyen peptitler

NMR : Nükleer Manyetik Rezonans

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

PIN : Proteaz inhibitörü

SAGE : Gen İfadesinin Seri Analizi

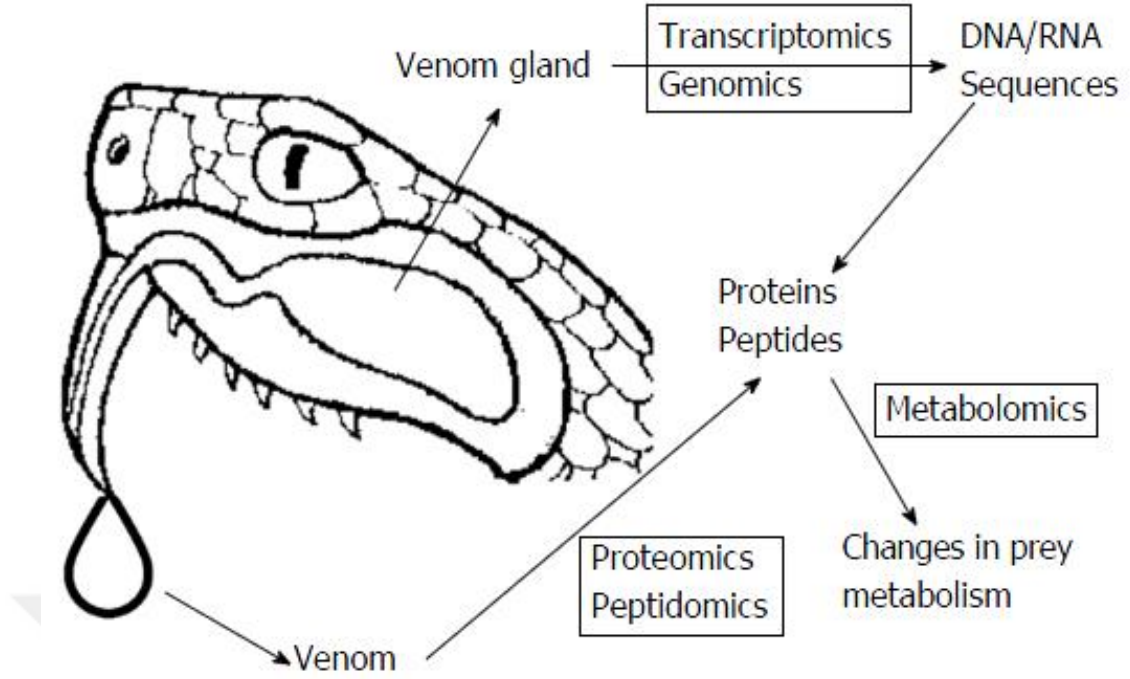
1. GİRİŞ

Zehir sistemleri, hayvanların geniş bir filogenetik yelpazede önemli evrimsel yenilikleridir. Savunma, rakipleri caydırma veya avlanma (veya bunların bir kombinasyonu) için kullanılır. Zehir iletim yöntemleri çeşitli ve karmaşıktır ve zehir bileşenlerinin enjekte edildiğinde neredeyse tüm önemli fizyolojik yolları ve dolaşım sistemi tarafından erişilebilen doku tiplerini etkilemesini sağlarlar (Fry ve diğerleri, 2009). Zehirli hayvanlar arasında, Scorpiones takımı en eski ve korunan karasal eklem bacaklılardan birini oluşturur. Bu örümcek benzeri canlılar, yaklaşık 450 milyon yıl önce Silurian döneminde sucul organizmalar olarak ortaya çıktılar ve o zamandan beri az sayıda morfolojik değişiklik geçirmişlerdir (Lourenço, 2018).

Zehir bilimi, hayvan zehri ve zehir bezlerinin oldukça hassas ve yüksek verimli teknikler kullanılarak incelenmesi olarak tanımlanabilir (Von Reumont ve ark., 2014). Hem zehirler hem de toksik salgılar, hayvan dünyasında savunma, avlanma, iletişim ve rekabet konularında yardımcı olan karmaşık karışımlardır. (Von Reumont ve ark., 2014; Sunagar, K. ve ark., 2016). Proteinler, peptitler, tuzlar gibi değişken biyoaktif moleküllerden ve ayrıca aminler, amino asitler ve alkaloidler gibi metabolitlerden oluşurlar. Tek bir hayvandan alınan zehir çok çeşitli biyolojik işlevlere sahip yüzlerce farklı bileşen içerebilir (Utkin, 2017).

Hayvan zehirleri üzerine yapılan çalışmalar, yeni biyoaktif moleküllerin keşfedilmesi için fırsatlar yaratan teknolojik ilerlemelerle sürekli olarak geliştirilmiştir. Proteomik, transkriptomik, genomik ve metabolomik gibi zehir araştırmalarına yönelik "omik" teknolojilerinin tanıtılması, büyük ölçekli veri toplamayı ve bunların analizini mümkün kılmıştır. Yukarıda sıralanan teknolojilere benzer şekilde yeni "zehir" terimi ifade edilmiştir. Zehir bilimi, hayvan zehri ve zehir bezlerinin oldukça hassas ve yüksek verimli teknikler kullanılarak incelenmesi olarak tanımlanabilir (Von Reumont ve ark., 2014).

Başlangıçta “zehir” kelimesi yalnızca zehirlerin proteomik analizlerini ifade ediyordu (Juárez ve ark., 2004; Bazaa ve ark., 2005). 2006 yılında çeşitli zehirli hayvanlardan alınan genomların, transkriptomların ve proteomların tamamının incelenmesine yönelik bir proje bu terimle açıklanmıştır (Ménez ve ark., 2006).

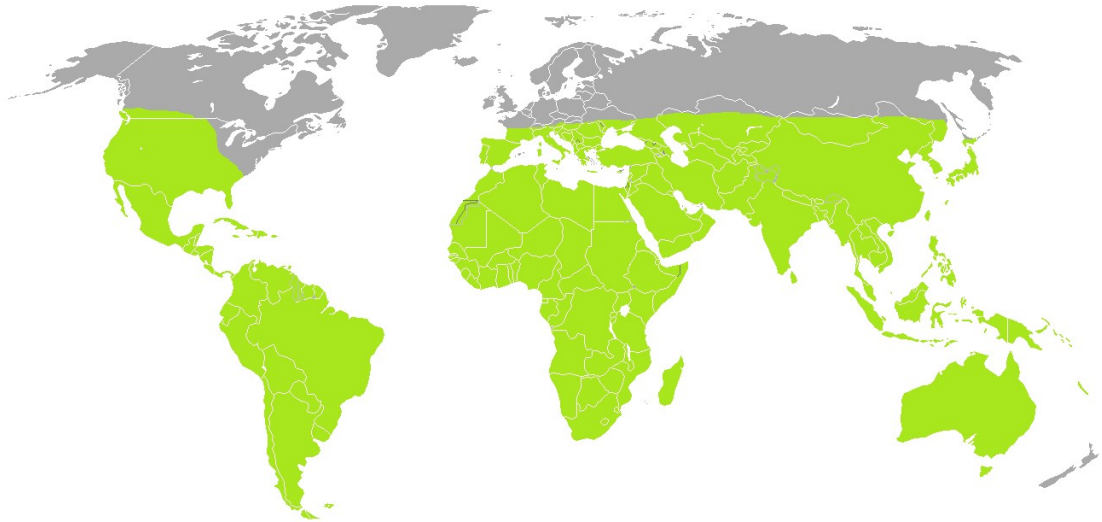


Şekil 1.2. “Omik” teknolojileri arasındaki ilişki (Utkin, 2017)

Çoğunlukla hayvan zehrinin benzersiz doğal bileşiklerinin sayısı oldukça değişkendir; örneğin akrep zehrinde 300'den 1000'e kadar benzersiz moleküler varlık bulunmaktadır (Quintero Hernández ve ark., 2013) ancak henüz tam olarak kanıtlanmamıştır. Şimdiye kadar akrep zehrinin protein bileşenleri iki kategoriye ayrılıyordu: küçük peptitler (<10 kDa) ve büyük proteinler (>10 kDa). Küçük peptitler, esas olarak nörotoksin özellikleri sergileyen, en çok çalışılan akrep zehiri bileşenleridir; akrep zehrinin büyük protein türevleri ise enzimatik aktiviteler göstermektedir (Zhang ve Zhang, 2016).

Yeryüzünde akrelerin 430 milyon yıl öncesine dayanan geçmişleri vardır ve ekolojik başarısı olan en eski canlı grupları arasındadır. Zehir (hayvansal kaynaklı toksin) bezlerinde sentezledikleri çok sayıda biyoaktif bileşeni zehirlerinde biraraya getirerek avlarını yakalamada ve doğada kendilerini savunmada kullanmışlardır. Akreler, tarihsel geçmişleri, venomlarında bulunan biyoaktif bileşenleri ve halk sağlığı açısından önemleri nedeniyle ilginç organizmalardır. Akrep venomları ise farmakolojik ve fizyolojik özellikleri olan biyoaktif bileşenlerin kompleks karışımlarıdır (Possani ve Rodriguez 2006, Carcamo-Noriega ve ark., 2019).

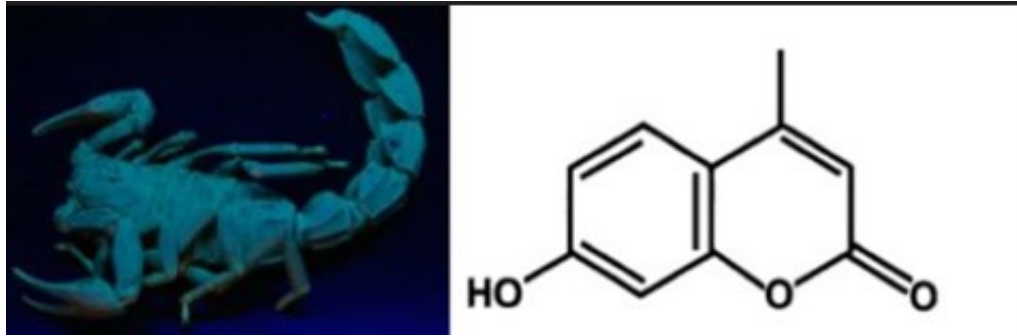
Yeryüzünde akreler, Yeni Zelanda ve Antartika hariç, dünyadaki tüm büyük adalar, büyük kıtalar üzerinde yer alıp; tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde yayılış gösterirler (Nenilin ve Fet, 1992; Yağmur, 2011).



Şekil 1.3. Akreplerin dünya üzerindeki dağılışı (tr.wikipedia.org, 2010)

Tüm akrep türleri zehirlidir fakat hepsi insanlar için öldürücü derecede zehire sahip değildir. Çoğu bal arısı kadar zehirlidir. Sokulan kişide bu zehre karşı herhangi bir alerji yok ise tehlike söz konusu değildir. İnsanlarda ölümcül etkiye sahip olma durumları kuyruk boğumlarındaki kalınlık, makasın ince olmasıyla tespit edilir (Herms, 1956; Yağmur,2005).

Akrepler UV ışıktaki parlamalar ve floresans özellik gösterirler. Bu parlamanın sebebi, akrelerde doğumdan sonra kutikulada 4-metil-7-hidroksi-kumarin birikmesidir. Yeni doğan akreplerde bu durum görülmez (Frost ve ark. , 2001; Yağmur, 2011).

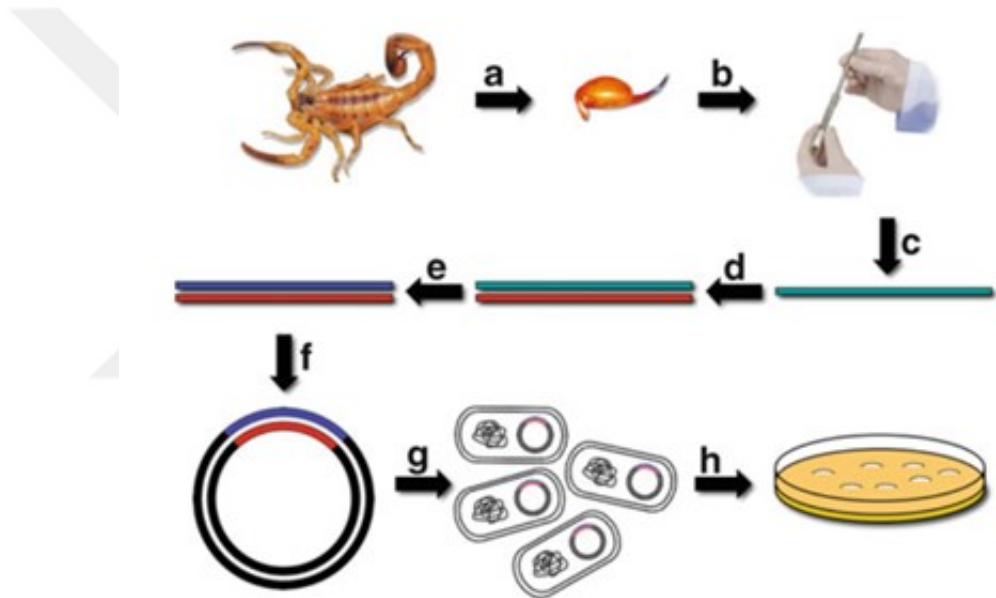


Şekil 1.4. Ultraviolede *Androctonus crassicauda* ve floresans özellikteki 4-metil-7-hidsoksikumarin' in molekül yapısı (Frost. ve ark., 2001)

Akrep zehri, enzimler (hiyalüronidaz, fosfolipaz ve proteaz gibi), toksik peptitler, serbest amino asitler, karbonhidratlar, lipitler ve diğer metabolitler dahil olmak üzere farklı biyolojik olarak aktif bileşiklerin karışımlarından oluşur (Bruntz ve ark., 2014; Baradaran ve ark., 2012). Temel olarak zehir bileşiminin heterojenliği,

karmaşıklığı ve yüksek değişkenliği ile mevcut zehir proteini ayırma yöntemlerinin düşük çözünürlüğü nedeniyle, keşfedilen zehir peptidlerinin miktarı beklenen miktardan çok daha azdır (Vetter ve ark., 2011; Ahmadi, Shirin ve ark., 2020; Ma ve ark., 2012).

Vektörlere klonlanmış cDNA dizilerinin koleksiyonlarını oluşturan ilk akrep zehiri bezi cDNA kütüphanesi, 1989 yılında akrep *Androctonus australis* için oluşturulmuştur (Bougis ve ark., 1989). Daha sonra, akrep zehiri bezinin transkriptomik analizleri, yüksek verimli dizilemenin ortaya çıkmasıyla büyük ölçüde geliştirildi.



Şekil 1.5. Akrepte cDNA kütüphanesi yapım adımları: (a) Telson diseksiyonu. (b) Doku homojenizasyonu. (c) Toplam RNA saflaştırması. (d) Ters transkripsiyonla birinci iplikçik cDNA sentezi. (e) PCR ile çift sarmallı cDNA sentezi. (f) Vektöre ligasyon. (g) Bakteriyel dönüşüm. (h) Kolonilerin büyümesi ve seçimi (Rendo' n-Anaya ve arkadaşları, 2013)

Bu çalışmanın amacı *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi* ve *Leiurus abdullahbayrami* akrep türlerinin zehir bezlerinden toplanan dokulardaki mRNA transkriptlerinin transkriptomik analizi ve metabolik zehir analizini yapmaktır. Bu akrep türlerindeki transkriptom çalışma sonucunda zehir bezlerinde yer alan olası proteinlerdeki aminoasit dizileri belirlenip, serbest aminoasit profili incelemesiyle zehir içerikleri ve zehirde yer alan aminoasitler birbiriyle kıyaslanacaktır. *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi* ve *Leiurus abdullahbayrami* akreplerinin zehir bezlerinden alınan dokulardan alınan mRNA

profillerinin transkriptomik analizi yapılarak elde edilen zehirlerin peptid haritalarının ve metabolik analizlerinin aydınlatılması amaçlanmaktadır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. LİTERATÜR İNCELEMESİ

Akrep zehri, zehir bezlerinden elde edilen zehir bileşenlerini kodlayan transkriptlerin dizilimi, zehirdeki düşük bollukları veya engelleyici fizikokimyasal özellikleri nedeniyle proteomik analizlerle tespit edilemeyen potansiyel yeni yapılara ve işlevlere sahip varsayılan zehir bileşenlerinin tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Akrep zehri bezlerinin ilk transkriptomik analizleri, EST'lerin (eksprese edilen dizi etiketi) zincir sonlandırma dizilimi (Sanger dizilimi) ile gerçekleştirilmiştir (Schwartz ve ark., 2007). Bir EST, klonlanmış bir cDNA'nın tek seferlik dizilenmesinden kaynaklanır. EST üretimi için kullanılan cDNA'lar tipik olarak bir cDNA kütüphanesinden ayrı ayrı klonlardır. Bu klonlar mRNA'yı tamamlayıcı DNA'dan oluştuğu için EST'ler eksprese edilen genlerin kısımlarını temsil eder.

Transkriptomik analizler pirosekanslama (Rendón-Anaya ve ark., 2012) ve sentez yoluyla sekanslama (Illumina) (Luna-Ramírez ve ark., 2015) gibi yeni nesil sekanslama (NGS) teknolojilerine dayanmaktadır. Bu teknolojilerde cDNA parçalanır ve parçalar rastgele sıralanır (shotgun dizilimi). Daha sonra transkriptom montajı için güçlü bilgisayar algoritmaları kullanılır. Bu yüksek verimli teknolojilerin kullanımı, zehir bileşenlerini kodlayan geri kazanılan dizileri zenginleştirir ve maliyetleri düşürür.

2019' a kadar, mevcut 20 akrep familyasından 7'sine ait olan 37 akrep zehri bezi transkriptomu rapor edilmiştir. Geri kazanılan zehir bileşenlerinin sayısının, 2007 yılında *Hadrurus gertschi* akrebi ile Sanger dizileme teknolojisi ile gerçekleştirilen ve 9 benzersiz zehir bileşeni dizisinin geri kazanıldığı ilk transkriptomik çalışmadan bu yana önemli ölçüde arttığı görülmüştür (Schwartz ve ark., 2007). Karşılaştırma olarak, 2018 yılında Illumina sıralama teknolojisi kullanılarak *Tityus serrulatus* akrebiyle gerçekleştirilen ve 2019' a kadar tanımlanan en fazla sayıda zehir bileşenine sahip raporda 235 zehir bileşeni dizisi rapor edilmiştir.

Bir akrebin zehir bezi tarafından kopyalanan genlerin ilk transkriptom analizini Meksika akrebi *Hadrurus gertschi*'nin (2007) zehir bezinde yapılmıştır. Bu çalışmada, Akrep zehri bezi biyolojisi hakkında bilgi edinmek için, bir cDNA kütüphanesi oluşturulmuş ve transkriptlerin rastgele sıralama taraması gerçekleştirilerek transkriptomik bir analiz yapılmıştır. *Hadrurus gertschi* akrepinin

tek zehir bezinden hazırlanan cDNA kütüphanesinden 160 ifade edilmiş dizi etiketi (EST) analiz edilmiştir. Bu transkriptler ayrıca ortalama 919 bp uzunluğa sahip 68 benzersiz diziye (20 bitişik ve 48 tekli) kümelendirilmiştir. Tanımlanan gen ürünlerinin ana grubu, bilinen akrep toksinlerine benzer EST'leri veya daha önce tanımlanmış diğer akrep zehiri bileşenlerini içerir ve bunlar, tanımlanan proteinlerin yaklaşık %60'ını oluşturur. Bilinen zehir bileşenlerine benzer ürünleri kodlayan genlerdeki zenginleşmeyi gösteren, aynı zamanda hücresel bileşenlerin, moleküler fonksiyonların, biyolojik süreçlerin ve akrep zehiri bezinin bazı benzersiz dizilerinin ilk taslağını sağlayan 160 EST analiz edilmiştir.

Mısır akrebi *Scorpio maurus palmatus*' un zehrinin proteomik ve zehir bezlerinin transkriptomik analizinde (2013), proteomik analizi, ters fazlı HPLC ayırma ve ardından kütle spektrometresi belirleme kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Molekül kütleleri 413 ila 14.009 Da arasında değişen altmış beş bileşen tanımlanmıştır. Peptitlerin yüksek yüzdesi (%41,5) 3 ila 5 KDa arasında ve bu, doğrusal antimikrobiyal peptitleri ve KScTx'leri temsil edebilir. Ayrıca, bir çift zehir bezinden hazırlanan cDNA kütüphanesinin oluşturulması yoluyla 155 ifade edilmiş dizi etiketi (EST'ler) analiz edilmiştir. EST'lerin yaklaşık %77'si, belirli açık okuma çerçevelerine sahip toksin benzeri peptidlere ve proteinlere karşılık gelmektedir. cDNA dizileme sonuçları ayrıca, varsayılan ürünleri antimikrobiyal peptitler (%24), böcek öldürücü toksinler, β -NaScTx'ler, κ -KScTx'ler, α -KScTx'ler, kalsinler ve La1 benzeri peptitlerle dizi benzerliğine sahip olan dizilerin varlığını da gösterir. Ayrıca diğer akrep türlerinde kaydedilmeyen 23 atipik zehir molekülü türü elde edilmiştir. Bu çalışma, bu türden tanımlanan ve içinde çeşitli zehir moleküllerinin tanımlandığı ilk moleküler kütle ve transkript kümesidir.

2017 yılında yapılan çalışmada, Illumina sıralama platformunu kullanılarak Caraboctonidae familyasından erkek ve dişi kara sırtlı akreplerin (*Hadrurus spadix*) zehir bezi transkriptomları sıralanmış ve zehirlerinin bağımsız niceliksel kütle spektrometri analizlerini gerçekleştirilmiştir. Proteomik olarak doğrulanmış 79 zehir proteini, diğer türlerden gelen toksinlerle homoloji gösteren ilave 69 transkript ve zehir bezlerinde yüksek seviyelerde eksprese edilen 596 toksin olmayan protein belirlenmiştir. *H. spadix* zehiri antimikrobiyal peptitler, K^+ kanal toksinleri ve çeşitli peptidaz sınıfları açısından zengin olduğu görülmüştür. Bireyler arasında hem transkriptomik hem de proteomik bolluklar arasında iyi bir uyum tespit edilmiş, ancak transkriptomik ve proteomik bolluklar her bireyde büyük ölçüde farklılık göstermiştir. K^+ kanalı toksinleri ve antimikrobiyal peptitler gibi küçük peptit toksinlerinin, en azından kısmen olgunlaşmalarında yer alan önemli proteolitik

işlemlerden dolayı proteomik olarak tespit edilmesinin zor olduğu kanıtlanmıştır.

Hentz akreplerin (*Centruroides hentzi*; Buthidae) zehir bezi transkriptomikleri ve zehir proteomikleri adlı çalışmada (2018), bir erkek ve bir dişi Hentz çizgili akrebin (*Centruroides hentzi*) zehir bezlerinin transkriptomlarını ayrı ayrı karakterize etmek için Illumina dizileme kullanılmış ve her bireyin zehirini bağımsız nicel kütle spektrometrisi analiziyle incelenmiştir. Böylece insanlar için ciddi bir tehdit oluşturmayan bir *Centruroides* türünün ilk tam zehir karakterizasyonu sağlanmıştır. Onaylanmış 59 zehir proteini tanımlanmış, bilinen toksinlere dayalı olarak tanımlanan 63 ek transkripti belirlenmiş ve zehir bezlerinde ifade edilen 355 toksin olmayan geni belirlenmiştir. En bol miktarda bulunan toksinler, Na⁺ ve K⁺ kanal toksin sınıflarına ait olduğu bildirilmiştir. Antimikrobiyal peptitler ve peptidazlar da tanımlanmış, ayrıca homolojiye dayalı olarak sınıflandırılmayan birçok zehir proteini grubu da bulunmuştur, bu da *C. hentzi*'nin daha önce keşfedilmemiş toksin çeşitliliği kaynağı olduğunu düşündürmektedir.

Akrep *Heterometrus spinifer*'in zehir bezlerinin de novo transkriptomik analizinde, Yeni Nesil Dizileme (NGS) tekniği kullanılmış, bugüne kadar yalnızca birkaç toksik ve tam bileşenin tanımlandığı Buthidae olmayan bir akrep olan *Heterometrus spinifer*'in zehirli bezlerinin transkriptomu bildirilmiştir. *H. spinifer*'in zehirli bezlerinden ekstrakte edilen toplam mRNA, de novo birleştirme stratejisiyle illumina dizilimine tabi tutulup ve belirlenen toplam 88.311.600 okumadan toplam 54.189 transkript belirlendi. NR veri tabanından 18.567 (%34,26), SWISSPROT veri tabanından 12.258 (%22,62), GO veri tabanından 11.161 (%20,60), COG veri tabanından 10.159 (%18,75) ve KEGG veri tabanından 5059 (%9,34) unigene açıklama eklenmiştir. SWISSPROT'un toksinle ilgili alt veri tabanına göre ayrıca 2843 unigen seçilmiştir. Fazlalığın kaldırılmasından sonra, 8 K-toksin, 1 kalsin, 3 Imperatoksin I benzeri, 2 La1 benzeri, 1 akrep benzeri, 3 antimikrobiyal peptit, iki tip proteaz dahil olmak üzere 62 unigene sahip 13 ortak toksinle ilgili alt aile manuel olarak doğrulanmıştır. Bu çalışma, *H. spinifer* akrebindeki zehir bezlerin ilk transkriptomik analizidir.

Meksika'da tehlikeli bir akrep olan *Centruroides hirsutipalpus*'un zehir ve zehir bezlerinin transkriptomik ve proteomik analizlerinde (2020), zehir bezlerinden saflaştırılmış RNA ile gerçekleştirilen yüksek verimli proteomik ve Illumina transkriptomik dizilimi kullanılarak kapsamlı bir zehir karakterizasyonunu rapor etmiştir. 2.553.529 okuma, 44.579 transkriptte birleştirmiştir. Bu transkriptlerden 23.880 tanesi Trinotate kullanılarak başarıyla not edilmiştir. Özel veritabanları

kullanarak ve biyoinformatik aramalar yaparak 147 varsayılan zehir proteini transkriptini tanımlanması mümkün olmuştur. Bunlar arasında α - ve β -tipi sodyum kanalı toksinleri (NaScTx), potasyum kanalı toksinleri (KScTx) (α -, β -, δ -, γ - ve λ -tipleri), enzimler (metaloproteazlar, hiyalüronidazlar, fosfolipazlar, serin proteazlar, ve monooksijenazlar), proteaz inhibitörleri, defensinler gibi konak savunma peptitleri (HDP'ler), disülfid olmayan köprü peptitleri (NDBP'ler), anyonik peptitler, süper aile CAP proteinleri, insülin büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (IGFBP'ler), ve diğer zehir bileşenleri (Lal peptidleri) yer almaktadır. C. hirsutipalpus zehiri, insan ölümlerinden sorumlu bileşenler olan NaScTx'leri kodlayan bildirilen en yüksek sayıda (77) transkript içerdiği bildirilmiştir.

Liocheles australasiae, *Mesobuthus martensii* ve *Scorpio maurus palmatus* akrelerinin zehir bezlerinin transkriptomik ve proteomik analizlerinde (2021), transkriptomik ve proteomik yaklaşımların bir kombinasyonu kullanılarak; *Liocheles australasiae*, *Mesobuthus martensii* ve *Scorpio maurus palmatus* akrelerinin zehir bezlerinden elde edilen varsayılan korunmuş toksinler tanımlanmış ve karşılaştırılmıştır. Diğer çalışmalara benzer şekilde, korunan toksinlerin yarıdan fazlası ağırlıklı olarak proteazlar dahil proteinlerdir. Öte yandan iyon kanalı toksinleri de dahil olmak üzere benzersiz zehir peptitleri spesifik olarak *M. martensii*'de ortaya çıkarılmıştır. *M. martensii*'de ortaya çıkarılan sodyum kanalı toksin peptidleri, Buthidae familyasındaki akrelerin avlarını oldukça nörotoksik zehirle zehirleyebildiklerini pekiştirmiştir. Bu çalışma, bu korunmuş proteinlerin, akrelerin ortak atasının zehir bezindeki cephaneliğin bir parçasını zaten oluşturduğunu ve muhtemelen akrep evrimi sırasında zehirlenmede önemli işlevsel roller üstlendiğini ileri sürmüştür.

2022' de yapılan bir çalışmada, yüksek verimli transkriptom dizilimi kullanılarak yetişkin ve genç erkek akrep *A. crassicauda*'nın zehir bezi gen ekspresyon profilleri açıklanmış ve karşılaştırılmıştır. Bu, farklı büyüme aşamalarındaki akrelerin zehir bezlerinin transkripsiyonel analizinin ilk raporu olup, zehir bezi gelişimi sırasındaki anahtar genlerin tanımlanmasına ilişkin bilgiler içermektedir. Toplam RNA-seq verilerinden toplam 209.951 mRNA transkripti tanımlanmış; bunların 963 transkripti yetişkin ve genç akrelerde farklı şekilde eksprese edilmiştir (DE) ($p < 0.01$). Genel olarak, genç akrelerle karşılaştırıldığında yetişkinde 558 yukarı regüle edilmiş ve 405 aşağı regüle edilmiş transkript belirlenmiş; bunların sırasıyla 397 ve 269 benzersiz unigeni açıklanmıştır. Bu bulgular yetişkin ve genç akrep zehiri arasındaki farklara ilişkin bilgileri genişletmiş ve özel anahtar genleri tanımlamak için karşılaştırmalı transkriptom analizinin

uygulanması konusunda yeni perspektifler açmıştır.

Omic teknolojileri aracılığıyla *Centruroides possanii*' de yapılan çalışmada, salgı bezi transkriptomunun ve zehir proteomunun elde edilmesi ve analizi yapılmıştır. Yeni tanımlanan bir tür olduğundan öncelikle farelerde olan LD50'si belirlenmiş ve fare ağırlığının 659 ng/g olduğu tahmin edilmiştir. Bu türden ekstrakte edilen RNA kullanılarak ve karşılık gelen cDNA fragmantları hazırlanarak, 76 bazlı çift uç sekanslama protokolü kullanılarak bir Genom Analizörü (Illumina) üzerinde bir transkriptom analizi elde edilmiştir. Yüksek verimli sıralama yoluyla 19.158.736 okuma elde edilmiş ve 835.204 dizide birleştirilmiştir. Bunlardan 28.399 transkript Pfam ile açıklanmıştır. *C. possanii*' nin transkriptomunda toplam 244 tam transkript tanımlanmıştır. Bunlardan 109 dizi, iyon kanalları üzerinde etkili olan toksinlere, 47 enzime, 17 proteaz inhibitörüne (PIN), 11 savunma peptidine (HDP) ve diğer bileşenlerdeki 60 diziye özdeşlik göstermiştir. Ek olarak, bu akrepten elde edilen çözünür zehirin bir örneği, 70 peptit ve proteinin (23 toksin, 27 enzim) sıvı kromatografisi ve ardından kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile tanımlanmasına izin veren bir Orbitrap Velos aparatı kullanılarak analiz edilmiştir. Burada açıklanan temel yeni bulgular, literatürdeki bilinen verilerle karşılaştırmalı olarak analiz edilmiş ve bu süreç, bu alanda bazı yeni anlayışlara olanak sağlamıştır.

2023' de yapılan bir çalışmada, akrep zehiri bezinden izole edilen biyoinsektisit proteininin tanımlanması, karakterizasyonu ve modellenmesi çalışılmıştır. *Mesobuthus eupeus*' un zehir bezinin transkriptomu, RNA ekstraksiyonu ve cDNA kütüphanesi sentezi yoluyla elde edilmiştir. Elde edilen transkriptom, sekanstaki istatistiksel olarak anlamlı benzerliğe dayalı sodyum kanalına karşı insektisit toksinlerini bulmak için protein veritabanlarına karşı kullanılmıştır. Tanımlanan proteinin fizikokimyasal özellikleri biyoinformatik yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Bu proteinin üç boyutlu yapısı homoloji modellemesi kullanılarak belirlenmiş ve son yapı, moleküler dinamik simülasyonu ile değerlendirilmiştir. *M. eupeus* zehir bezinin transkriptomunda bulunan sodyum kanal blokeri, molekül ağırlığı 7721,77 g/mol ve pI 8,7 olan, 69 amino asitten oluşan stabil bir hidrofilik protein olan meuNa10 adı altında GenBank' a sunulmuştur. Bu çalışma, meuNa10'u, stabilite ve suda çözünürlük dahil olmak üzere bazı fizikokimyasal özelliklere sahip, küçük bir böcek sodyum kanalıyla etkileşime giren protein olarak tanımlamış; bu, onun yeni bir biyoinsektisit geliştirmek amacıyla daha ileri in vivo ve in vitro deneyler için iyi bir aday haline getirdiği düşünülmüştür.

HücreSEL düzenleyici mekanizmaların son ürünlerine metabolitler denir.

Metabolitlerin içeriği biyolojik sistemlerin genetik ve çevresel değişikliklere verdiği son tepkidir. Metabolomiklerin amacı biyolojik bir sistemdeki tüm küçük molekülleri analiz etmektir. Metabolomik henüz genomik ve proteomik kadar olgun olmasa da, kanser gibi hastalıklara yönelik biyobelirteçlerin bulunmasında diğerlerine göre daha umut verici bir teknolojidir (Karahalil, 2016).

Zehirlerin (kurbağalar, örümcekler, yılanlar, akrepler ve eşekarası) düşük molekül ağırlıklı fraksiyonlarını araştıran az sayıda yayın bulunmaktadır (Nicholson ve Lindon, 1999).

Hu ve ark. iyonizasyon kütle spektrometresi kullanılarak canlı akrep ve kurbağaların salgılarında metabolitler tespit etmişlerdir. MS spektrumunda lizin, serotonin, triptofan ve bazı lipitler tanımlanmıştır (Hu ve ark., 2013)

Örümceklerin, akreplerin ve kurbağaların salgılarında bulunan amino asitler, monoaminlerin öncüsü olarak görev yapar. Her iki metabolit sınıfı da zehirlerde veya zehirlenmelerde değişken biyolojik işlevlere sahiptir. *Tityus serrulatus* akrebinin zehirindeki lizin ve triptofan, avı hareketsiz hale getirir ve kaçmasını engeller (Hassani ve ark., 1999).

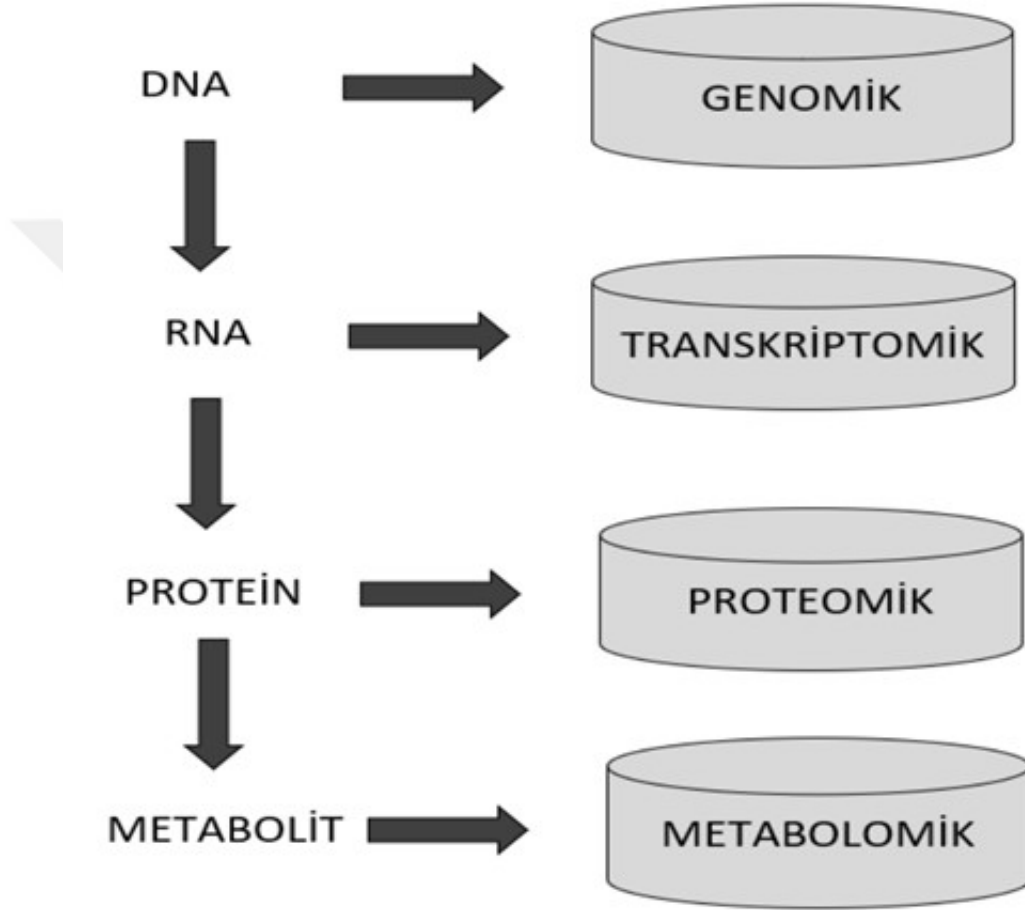
2.2. GENEL BİLGİLER

2.2.1. OMİKLERE GENEL BAKIŞ

"Omik" kavramı, moleküler biyoloji ve biyoteknolojinin gelişmesiyle birlikte ortaya çıkmış ve farklı biyolojik moleküler seviyeleri daha ayrıntılı ve kapsamlı bir şekilde incelemek amacıyla kullanılan bir terimdir (McShane ve ark., 2013). Omik teknolojileri öncelikle dört omik araştırma alanına yöneliktir. Bunlar; genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomiktir. Zamanla, tüm lipid setinin yapısı ve işlevini inceleyen lipidomik, gıdaların genlerimizi nasıl etkilediğini inceleyen nutrigenomik gibi omikler sürekli olarak eklenmektedir. Omik kavramı kullanılmadan önceki araştırma alanları, genlerin, proteinlerin statik dizilerini sağlayan genetik, farmakogenetik, toksikogenetik olarak adlandırılıyordu. 'Omik' terimi biyolojik uygulamalarda farklı sistemler için geliştirilmiş ve kabul edilmiştir.

Omikler yeni teknolojiler getirmiş ve yeni nesil teknolojilerin tanımlanmasında ek olarak kullanılmıştır. Yeni nesil/yeni teknolojiler, gen ekspresyon profillemesi olan genomik ve transkriptomik, proteinlerin global analizini kolaylaştıran proteomik, tüm metabolitlerin toplanmasını temsil eden metabolomik ve dinamik fonksiyon ve etkileşimlerini ortaya koyan farmakogenomik ve

toksikogenomik olarak adlandırılmaktadır. Bu inceleme boyunca eski veya önceki teknolojiler için “geleneksel” veya “preomik” kelimeleri kullanılmıştır. Omik teknolojileri, protein/gen/metabolit sayısının eş zamanlı olarak ölçülmesini sağlar ve kısa sürede büyük ölçekli verilere ulaşmayı sağlar. Biyolojik sistemin bütün resminin daha iyi anlaşılması, tüm omiklerin kolektif analizi ile sağlanabilir (Gligorijević, Pržulj, 2015).



Şekil 2.2. Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik ilişkisi (Kaşıkçı, 2019)

2.2.1.1. GENOMİK

Genomik, nükleotid dizilerinin, genom yapısının ve kompozisyonunun analizi yoluyla yapılan bir genom araştırmasıdır. Genetik varyantlara sahip bireylerin bulunmasına olanak sağlar; dolayısıyla genler/varyantları ile hastalık veya tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi sağlar. Genetik varyasyonlar, Genom Çapında İlişki Çalışması (GWAS), aday gen vaka kontrol ilişkilendirme çalışmaları ve genom çapında bağlantı analizleri kullanılarak hastalıkların genetik temelini

aydınlatılmasına olanak sağlar. Analizler için PCR, mikrodiziler veya dizileme (Sanger dizileme veya Yeni Nesil Dizileme; NGS) yöntemleri kullanılır ve transkripsiyon ve translasyon yoluyla tüm hücresel proteinlerin üretimi için temel bilgileri içeren genomik bilgilere ilişkin bilgiler elde etmek için kullanılır. Kapiler Elektroferezde altın standart olan Sanger Dizileme, teknolojinin gelişmesiyle birlikte uzun DNA parçalarını diziler; NGS ayrıca DNA parçalarını sıralamak için de kullanıldı; ancak veriler Sanger Dizisi tekniği ile doğrulanmalıdır. Bilinen SNP ve hastalık ilişkisi çalışmalarında PCR, RFLP-PCR teknikleri rutin olarak kullanılmakta olup, doğrulama gerekiyorsa Sanger Sequence tekniği kullanılmalıdır. Genotipleme, özellikle GWAS yaygın olarak kullanılır ve genom dizisine odaklanır (McCourt ve ark., 2013; Karahalil, 2016).

2.2.1.2. PROTEOMİK

Proteomik, metabolik süreçteki gerçek enzimler hakkında bilgi verdiği için proteinler üzerinde kapsamlı araştırma yapılması açısından önemlidir. Bununla birlikte, genomik veya transkriptomiklerden farklı olarak proteomik ve onun teknikleri ve stratejileri hala büyük ölçüde geliştirilme aşamasındadır (Wright ve ark., 2012; Karahalil, 2016). Proteinlerin bolluğu ve protein-protein etkileşimleri dinamiktir. Bu özellikler hücre çoğalması ve göçü sırasında hızla değişebilir. Bu nedenle protein yapı-işlev ilişkilerini açıklamak önemlidir ve proteinlerin tanımlanmasını ve analizini sağlar. Proteomun dinamik davranışı nedeniyle analiz için protein bolluğu veya translasyon sonrası modifikasyonlar gibi tek temel parametre kullanılır. Bu tür tek boyutlu analizler değerli olmasına rağmen, bir proteinin farklı hücresel havuzlarından gelen niceliksel verilerin ortalaması alınarak biyolojik bilgi kaybına neden olurlar (Larance ve Lamond, 2015; Karahalil, 2016).

Yeni Kütle Spektrometresi (MS) tabanlı proteomik yaklaşımların enstrümantasyon ve analitik prosedürlerle birleşimi, kapsamlı biyolojik bilgi sağlar. MS bazlı proteomiklerin çoğunda proteinler, peptitlerin tespit edilmesiyle tanımlanır. Ancak peptitlerin hepsinin tek bir protein türünden gelmemesi ihtimali nedeniyle bir dezavantajı vardı. Aynı peptid birden fazla protein izoformundan ve/veya farklı fonksiyonel havuzlardan gelebilir ve bize protein hakkında çok az bilgi/eksiklik verebilir. Belirli koşullar altında benzersiz şekilde ifade edilen çok sayıda protein olabilir. Bu, proteomik düzen ile hastalık arasındaki bağlantıyı öğrenmeye yardımcı olur. Örneğin, normal ve skuamöz hücreli karsinom birbiriyle karşılaştırıldığında, hastalığa özgü bir dizi protein lekesi, kontrol veya sağlıklı hücrelerde değil, yalnızca skuamöz hücreli karsinom örneklerinde gözlenir. Bu nedenle bu protein seti biyobelirteçlerin keşfedilmesinde yararlı olabilir (Karahalil, 2016).

2.2.1.3. TRANSKRİPTOMİK

Proteinler ve gen ifadesiyle ilgilidir. Protein seviyeleri ve aktivitelerindeki değişiklikleri tahmin etmek için kullanılır (Jiang ve ark., 2015; Karahalil, 2016). Transkriptom, bir hücredeki mRNA'yı ve transkript miktarını içeren eksiksiz bir transkript setidir. mRNA'lar genomdaki belirli genlerle eşleştigiinden, genotip ile ekspresyon fenotipi arasında bir bağlantı kurmak mümkündür. RNA profili, dokular ve hücre tipleri arasındaki fonksiyonel farklılıklara, genler arasındaki fonksiyon ve etkileşime, eksprese edilen sekanslara ve bir genomun genlerine, gen regülasyonu ve düzenleyici sekanslara ve herhangi bir durum veya hastalık için aday genlerin tanımlanmasına ilişkin ipuçları sağlar (Dong ve Chen, 2013; Wang ve ark., 2009; Karahalil, 2016).

Transkriptomiğin birçok faydası vardır. Ksenobiyotik maruziyetlerine ve ilaç tedavisine karşı gen ekspresyonu yanıtlarını ve modüle edilmiş genler arasındaki fonksiyonel ilişkilerin analizini belirler ve ayrıca ilaç yanıtı ve toksisitede yer alan ana yolların belirlenmesine yardımcı olabilir. Laboratuvarlar arası çalışmaların, farklı toksik maddelere maruz kalmanın neden olduğu gen ekspresyon profillerinin iyi bir şekilde tekrarlanabilirliğini göstermesi bir avantajdır. Transkriptomik/RNA dizisi tam transkriptomun analizini sağlar; ancak translasyon sonrası değişiklikler protein ekspresyonunu etkileyebilir; bu nedenle transkriptom son adım olarak değerlendirilemez. Translasyon sonrası değişiklikler bir ara adım olarak devam eder (Dong ve Chen, 2013; Karahalil, 2016). Proteinlerdeki ana değişiklikler, gen ifadesindeki değişikliklerle tahmin edilir. Ancak gen ekspresyonuna rağmen fonksiyonel bir protein üretilmeyebilir. Bu nedenle, transkriptomdaki değişiklikler "son ürünler" modelinde bir değişiklik gösteremez (Wang ve ark., 2009; Karahalil, 2016). Transkriptom analizi için hibridizasyon veya dizi bazlı yaklaşımlar dahil olmak üzere çeşitli teknolojiler geliştirilmiştir. Hibridizasyona dayalı yaklaşımlar tipik olarak floresan etiketli cDNA'nın özel yapım mikrodiziler veya ticari yüksek yoğunluklu oligomikrodiziler ile inkübe edilmesini içerir (Dong ve Chen, 2013; Karahalil, 2016).

2.2.1.3.1. Mikrodiziler

Mikrodiziler tek bir deneyde binlerce geni analiz eder. Sadece gen ifadelerindeki değişim değil aynı zamanda DNA'daki mutasyonlar da ölçülür. Gen ekspresyon profilleri 2 farklı örnek arasında karşılaştırılabilir. Kanser gibi hastalığın altında yatan mekanizmanın aydınlatılmasını sağlar (kanseri ve kanseri olmayan numunelerin karşılaştırılması). Mikrodiziler, insan ve fare gibi farklı model türleri

için ticari olarak mevcuttur.

Mikrodiziler, spesifik DNA dizilerinin cam, silikon veya naylon gibi katı bir yüzeye, çoğunlukla da bir cam mikroskop lamine kapatılmasıyla oluşturulur. Mikrodizilere genellikle “cips” adı verilir. Her prob farklı bir gen için bir noktaya karşılık gelir. Bir prob, bir cDNA fragmentı veya sentetik bir oligonükleotid olabilir. Problar robotik yöntemlerle veya bilgisayarlar için silikon çip yapımına benzer bir yöntemle takılabilir. Mikroarray'in birçok faydası vardır. Önceden hazırlanmış çipler ticari olarak mevcuttur ve kullanımı kolaydır. Diziler ve tarayıcı kurulumu için nispeten uygun fiyatlıdır (Karahalil, 2016).

2.2.1.3.2. İfade Edilmiş Dizi (EST) Sıralaması

mRNA, cDNA'ya ters kopyalanır, ardından cDNA'ların sekanslaması yapılır. Tipik olarak mRNA'nın tam uzunluğu ters kopyalanmaz ve buna paralel olarak tüm cDNA dizilenmez. Bu nedenle elde edilen sekans fragmentlarına EST'ler adı verilir. 2 önemli avantajı var. A. Mutlak mRNA bolluğunun tahmini b. Gen keşfi için faydalıdır. Ancak pahalıdır, zaman alıcıdır ve büyük ölçekli sıralama yapılması gerekir. Yüksek oranda eksprese edilen genlerden gelen EST'ler birçok kez sekanslandığından sekanslamamanın çoğu gereksizdir. Düşük seviyelerde ifade edilen genlerin temsilini sağlamak için yüz binlerce EST'nin sıralanması gerekir. EST'ler yalnızca belirli doku veya numunedeki gen ekspresyon seviyelerini ortaya çıkardığından, spesifik dokularda, hücrelerde, gelişim aşamalarında vb. eksprese edilen genler gözden kaçabilir (Karahalil, 2016).

2.2.1.3.3. Gen İfadesinin Seri Analizi (SAGE)

Başka bir yöntemdir ve EST dizilimine benzer. Bu yöntem her cDNA'dan yalnızca kısa "etiketler" (~ 15 baz) dizilendiğinden daha verimlidir. Sıralama öncesinde etiketlerin bağlanması, bunların tek bir sıralama reaksiyonunda sıralanmasını sağlayabilir. Etiketlerin karşılık gelen genlerle doğru bir şekilde eşleştirilebilmesi için iyi bir diziye ve açıklamaya sahip olmak önemlidir. SAGE, büyük ölçekli EST dizilemesinden daha verimlidir ve mutlak transkript bolluğuna ilişkin bir tahmin verir. Aksi takdirde çok fazla sıralama yapılması gerekir; ancak nadir transkriptler için ucuz olmayabilir ve kesin olmayabilir; dahası, etiketleri genlerle eşleştirmek zordur. Doku, cinsiyet gibi farklı durumlar için tekrarlanması gerekir (Wang ve ark., 2009; Karahalil, 2016).

2.2.1.3.4. RNA Sekanslama

Transkriptomu anlamak ve ölçmek için çeşitli teknolojiler mevcuttur; örneğin

hibridizasyon veya dizi bazlı yaklaşımlar, taq bazlı yöntemler. Bu yöntemlerin çapraz hibridizasyon gibi çeşitli sınırlamaları vardır. Özellikle dizi bazlı yaklaşımlar nispeten düşük verimli, kaliteli ve ucuz değildir. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için takta dayalı yöntemler (SAGE; Gen İfadesinin Cap Analizi; CAGE, Massively Parallel Signature Sequencing MPSS) geliştirilmiştir. Yüksek verimlidirler ve kesin “dijital” gen ekspresyonu düzeyi sağlarlar ancak pahalıdır ve analiz işlemi sırasında bazı problemler yaşarlar; örneğin izoformların birbirinden ayrılması, ayırmak zordur. RNA-seq, Tam Transkriptom Av Tüfeği Dizilemesi; WTSS yeni yöntemlerdir ve yeni nesil sıralama (NGS) yöntemlerini kullanır. Önceki tekniklerle karşılaştırıldığında yeni transkriptomik görünümünün ortaya çıkarılması, transkripsiyon seviyesinin doğruluğu vb. avantajlara sahiptirler. RNAseq, yüksek verimde tüm transkriptomun kantitatif olarak araştırılmasını sağlar (Wang ve ark., 2009; Karahalil, 2016).

2.2.1.4. METABOLOMİK

Metabolitler hücrel düzenleyici süreçlerin son ürünleridir. Metabolitlerin seviyeleri biyolojik sistemlerin genetik ve çevresel değişikliklere karşı verdiği son tepkidir. 'Transkriptom' ve 'proteom' terimlerine paralel olarak metabolitler kümesine de 'metabolom' adı verilir (Fiehn, 2002; Karahalil, 2016). Metabolomiklerin amacı biyolojik bir sistemdeki tüm küçük molekülleri analiz etmektir. Diğer metabolit analizlerinde kullanıldığı gibi metabolomikte dört ana adım vardır. i. Verimlilik ii. Analitlerin ayrılması, iii. Analitlerin tespiti ve iv. Analitlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi. Gaz Kromatografisi (GC), Kapiler Elektroforez (CE), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) gibi yıllardır kullanılan çeşitli ayırma teknikleri bulunmaktadır. GC-MS ve HPLC-MS gibi iki teknik bir arada kullanıldığında duyarlılık ve seçicilik artar. Tespit için MS ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) da kullanılır. Metabolomik çalışmalar yürütülürken MS ve NMR spektroskopisinin kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır. MS'in temel avantajı hassasiyettir, femtomolar ila attomolar aralıktaki tespit seviyeleridir. MS'in LC veya GC ile birleştirilmesi, tek bir örnekte yüzlerce ayrı türün tespit edilmesini sağlar. Miktarın belirlenmesi en büyük dezavantajlardan biridir. MS sinyal yoğunluğu, kullanılan numune hazırlama yönteminden ve moleküler ortamından etkilenir. Bilinen miktarlarda dahili izotop etiketli standartların eklenmesi, belirli moleküller için doğru ölçüm yapılmasını sağlar; ancak bu tamamen keşif odaklı metabolomik araştırmalar için pratik değildir.

Metabolomik, genomik ve proteomik kadar olgun olmasa da, kanser gibi hastalıkların biyobelirteçlerini bulma konusunda diğerlerinden daha umut verici bir

teknolojidir. Metabolomik, ideal bir biyobelirteç noninvaziv olarak kolayca değerlendirilebilmelidir. Metabolomik, küçük moleküllerin vücudun her yerine hızla dağılabilmesi nedeniyle ideal biyobelirtecini keşfini sağlar. Daha büyük proteinler ve nükleik asitler biyosıvılara salgılanmadıkları için vücudun her yerine dağılamazlar (Monteiro ve ark., 2013; Veenstra, 2012; Karahalil, 2016). Sreekumar ve ark. iyi huylu prostatlı hastalardan alınan doku, idrar ve plazma numunelerindeki metabolitlerin profilini çıkarmak için LC-MS ve GC-MS'yi kullanmışlardır. NMR dışında spesifik bir metabolit bulmuşlardır. Bu metabolit, prostat kanserinin metastaza ilerlemesi sırasında idrarda yüksek konsantrasyonda bulunmuştur (Sreekumar ve ark., 2009; Karahalil, 2016). İdrarda iyi sonuç alınması örnekleme açısından iyi fayda sağladığı gibi prostat kanseri için biyobelirteç olarak da kullanılabilir. Metabolomik, genomik ve proteomikten daha fazla avantaja sahiptir. Endojen metabolitler genlerden, transkriptlerden ve proteinlerden daha az olduğundan yorumlanacak daha az veri mevcuttur. Endojen metabolitlerdeki büyük değişiklikler biyolojik durumlardaki değişiklikleri yansıtırken, diferansiyel birleşme olayları transkriptom ve proteomun karmaşıklığına neden olur (Karahalil, 2016).

2.2.2. ZEHİRLER

Zehir sistemleri, geniş bir filojenik yelpazede bulunan hayvan soyundan kaynaklanan önemli evrimsel yeniliklerdir ve savunma, rakip caydırma veya avlanma amacıyla kullanılırlar. Zehirli hayvanlar, yoğun bir şekilde araştırılan ve tıbbi açıdan önemli olan taksonları içerir (yılanlar, akrep ve örümcekler), aynı zamanda deniz anemonları, denizanası, deniz salyangozları, mürekkep balıkları, yüzgeçliler, çekirgeler, bazı böcek takımları, deniz yıldızları, balıklar, kertenkeleler gibi. Hayvanlar alemindeki zehirler, proteinlerden oluşan değişken kombinasyonları içeren karmaşık karışımlardır. Bu proteinler, çok birimli globüler enzimlerden küçük peptitlere, tuzlara ve poliaminler, amino asitler ve nörotransmitterler gibi organik moleküllere kadar uzanabilir (Zhang, 2015; Sollod ve ark., 2005). Venom etkisinin hedefleri, neredeyse tüm önemli fizyolojik yolları ve dokuları içerir. Hayvan zehirlerinin memeli türlerini hedef alması, evrimsel olarak ilgili seçilmiş baskıları zehirlemenin toksik etkilerini önlemek veya minimize etmek için "evrimsel bir yarış" içinde oluşturmuş olabilir (Higginbotham, 1965; . Palm ve ark., 2012).

Çoğunlukla hayvan zehrinin benzersiz doğal bileşiklerinin sayısı oldukça değişkendir; örneğin akrep zehrinde 300'den 1000'e kadar benzersiz moleküler varlık bulunmaktadır (Quintero Hernández ve ark., 2013) ancak henüz tam olarak kanıtlanmamıştır. Şimdiye kadar akrep zehrinin protein bileşenleri iki kategoriye ayrılıyordu: küçük peptitler (<10 kDa) ve büyük proteinler (>10 kDa). Küçük

peptitler, esas olarak nörotoksin özellikleri sergileyen, en çok çalışılan akrep zehiri bileşenleridir; akrep zehirinin büyük protein türevleri ise enzimatik aktiviteler göstermektedir (Zhang ve Zhang, 2016).

Zehir bezlerinden elde edilen venom bileşenlerini kodlayan transkriptlerin dizilenmesi, proteomik analizlerdeki düşük yoğunluktaki veya düşük iyonlaştırılabilir fizikokimyasal özellikleri (örneğin düşük iyonlaştırılabilirlik) nedeniyle tespit edilmeyen potansiyel yeni yapılar ve işlevlere sahip olan venom bileşenlerinin tanımlanmasına olanak tanımıştır. Akrep zehir bezlerinin ilk transkriptomik analizleri, EST'lerin (ifade edilen dizi etiketi) zincir sonlandırma dizileme (Sanger dizileme) ile gerçekleştirildi (Schwartz ve ark., 2007). Bir EST, bir klonlanmış cDNA'nın tek seferlik dizilenmesi sonucunda elde edilir. EST üretimi için kullanılan cDNA'lar genellikle bir cDNA kütüphanesinden bireysel klonlardır. Bu klonlar, mRNA'ya karşılık gelen DNA içerdiği için EST'ler ifade edilen genlerin bölümlerini temsil eder. Şu anda, transkriptomik analizler, prosekanslama (Rendón-Anaya ve ark., 2012) ve sentezleme ile dizileme (Illumina) (Luna-Ramírez ve diğerleri, 2015) gibi yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerine dayanmaktadır.

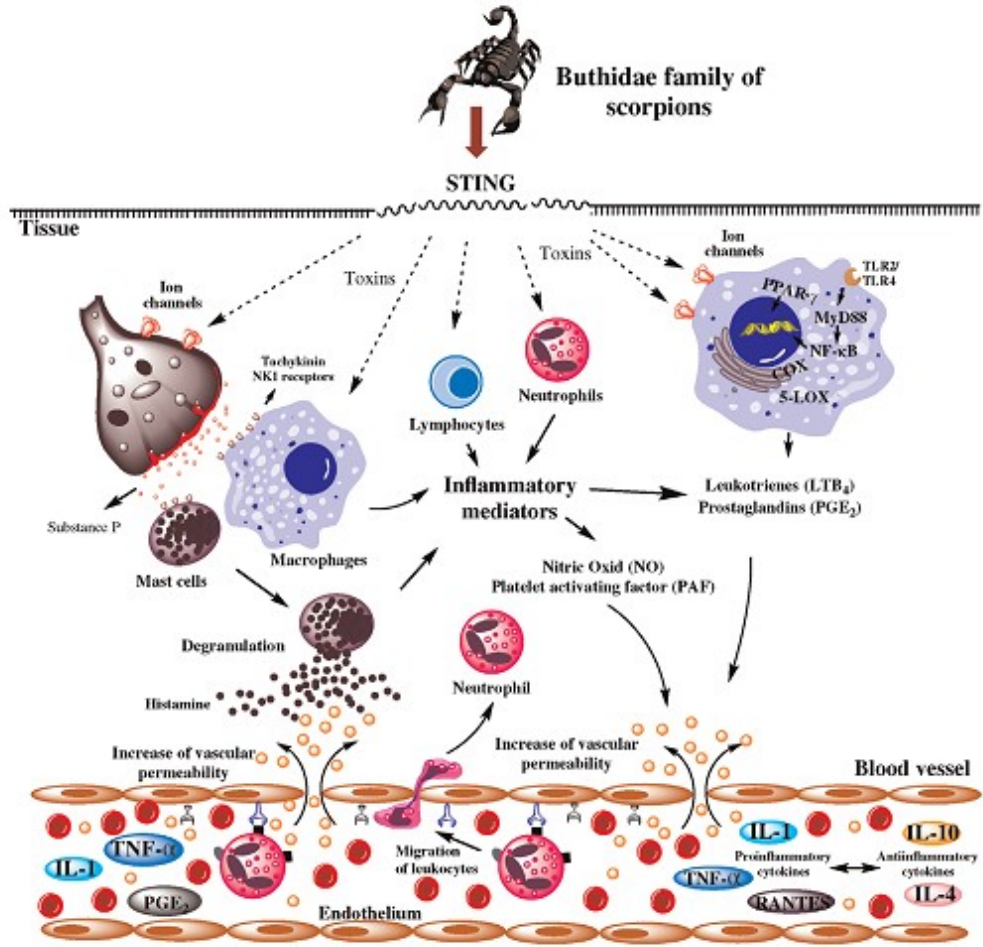
Bu teknolojilerde, cDNA parçalara ayrılır ve parçalar rastgele sıralanır (shotgun dizileme). Daha sonra, transkriptom montajı için güçlü bilgisayar algoritmaları kullanılır. Bu yüksek verimli teknolojilerin kullanımı, zehir bileşenlerini kodlayan elde edilen dizileri zenginleştirmiş ve maliyetleri düşürmüştür. Başlangıçta transkriptomik çalışma olan ve 2007'de Sanger dizileme teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilen *Hadrurus gertschi* akrebi ile yapılan çalışmadan elde edilen 9 benzersiz venom bileşeni dizisi ile karşılaştırıldığında, bugüne kadar tanımlanan en fazla venom bileşeni içeren rapor, 2018'de Illumina dizileme teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilen *Tityus serrulatus* akrebi ile yapılan çalışmada 235 venom bileşeni dizisi bildiren rapordur (Schwartz ve ark., 2007).

Akrepler, tarihsel geçmişleri, venomlarında bulunan biyoaktif bileşenleri ve halk sağlığı açısından önemleri nedeniyle ilginç organizmalardır. Akrep venomları ise farmakolojik ve fizyolojik özellikleri olan biyoaktif bileşenlerin kompleks karışımlarıdır (Possani ve Rodriguez de la Vega 2006, Carcamo-Noriega ve ark., 2019).

Akrep zehirleri genellikle yüzlerce bileşen içerir (Almeida ve ark., 2012; Xu ve ark., 2014), ve akreplerin zehirlerinde yaklaşık 100.000 biyoaktif peptidi içerdiği tahminlerine yol açmıştır, bu tür tahminler akrep türlerinin çeşitliliği ile

birleştirilerek elde edilmiştir (King, 2011). Akrep sisteinle stabilize edilmiş α/β (CS α/β) toksinleri, önemli ölçüde kısıtlanmış bir yapıya sahip disülfid köprülerle bağlı peptidlerdir, farmakolojik etkileri ise Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^- gibi iyon kanallarında görülür (Ortiz ve ark., 2015). Disülfid köprüleri olmayan peptidler, akrep zehir bileşenlerinin önemli bir grubunu oluşturur. Bu lineer peptidlerin farmakolojik özellikleri arasında antimikrobiyal, sitolitik, antiviral, antimalaryal, bradykinin potansiyel artırma ve immünomodülasyon aktiviteleri bulunur (Almaaytah ve Albalas, 2014). İlginç bir şekilde, çoğu CS α/β toksin iskeletinin pozitif seçim etkilerinin baskın olduğu gösterilmiştir, oysa çoğu non-CS α/β lineer toksinin aşırı negatif seçim etkilerine tabi olduğu bilinmektedir (Sunagar ve ark., 2013).

Akrep zehirlerinin içeriği karmaşık bir karışımdan oluşur ve büyük ölçüde sinir hücreleri ve kaslar gibi uyarılabilir hücrelerin başlıca voltaj-kapılı Na^+ , K^+ veya Cl kanallarına yönlendiren, çoğunluğu nörotoksik olan düşük moleküler kütleli proteinler de dahil olmak üzere mukopolisakkaritler, hialüronidaz, serotonin, histamin, enzim inhibitörleri ve çeşitli düşük moleküler kütleli proteinler içerir. Akrep nörotoksinlerinin postgangliyonik sinir uçlarını kontrolsüz depolarizasyona uğratması, nörotransmitterlerin sürekli olarak salınmasına yol açar (De Oliveira ve ark., 2018; Verma ve ark., 2016), bu da akrep sokması sonucu ortaya çıkan çeşitli sistemik belirtilere neden olur. Zehirlenme, hipertermi, psikomotor ajitasyon, yerel ağrı ve kardiyovasküler, solunum, gastrointestinal, ürogenital, hematolojik ve metabolik değişikliklerden kaynaklanan sistemik belirtiler içerebilir (Grzonka ve ark., 2001; Ramanaiah ve Parthasarathy, 1990).



Şekil 2.3. Akrep zehirlerinin inflamatuvar etkisinin şematik temsili. Buthidae ailesine ait akreplerin zehirleri tarafından tetiklenen yerel ve sistemik inflamatuvar olaylar özetlenmiştir (Teixeira ve diğerleri, 2017)

Romero-Gutierrez ve arkadaşları tarafından 2017 yılında önerilen sistem üzerinde yapılan güncellemeye göre, zehir bileşenlerinin ve kodlayıcı transkriptlerinin sınıflandırılması sistemine göre, kodlayıcı transkriptler ve proteinler (Pfam alanlarına göre) sekiz ana kategoriye ayrılmaktadır: Na^+ kanal toksinleri, K^+ kanal toksinleri, Ca^{2+} kanal toksinleri, Cl^- kanal toksinleri, TRP kanal toksinleri, enzimler, proteaz inhibitörleri ve konak savunma peptidleri. Bu kategoriler, şimdiye kadar akrelerde bulunmayan ancak diğer zehirli hayvanlarda tespit edilen muhtemel peptitleri kodlayan transkriptleri içeren kategorileri de kapsamaktadır. Bu sistemle, yeni keşfedilen zehir proteini veya onların kodlayıcı transkriptleri, ilgili alt kategorilere uygun bir fonksiyona sahipse kolayca sınıflandırılabilir. Bununla birlikte, bu standart sınıflandırma sürekli olarak iyileştirmeye açıktır. Örneğin, yeni zehir bileşenlerini kapsayan yeni bağımsız alt kategoriler oluşturmak veya yapısal alanları tanımlandığında belirsiz bileşenleri başka bir alt kategoriye taşımak gibi

sürekli geliştirmelere açıktır.(Romero-Gutierrez ve ark., 2017).

2010 yılına gelindiğinde, bilinen çoğu akrep zehir bileşeni, tek bir yapısal sınıfa ait olan ve sistinle stabilize edilmiş α/β (CS- α/β) iskelet etrafında inşa edilmiş peptidik iyon kanalı düzenleyicileriydi. Bu yapı, bir α -helix'in iki veya üç zincirli β yapışık bir tabaka ile birleştirildiği ve üç veya dört intramoleküler disülfid bağı ile kısıtlandığı (bu bağların ikisi tamamen korunmuş) bir yapıydı (Mouhat ve ark., 2004).

2.2.2.1. Na⁺ kanallarına etki eden toksinler (NaTx)

3-4 disülfid köprü içeren (3 tanesi tamamen korunmuş) 58-76 amino asitlik (6.3-8.4 kDa) peptitlerdir. NaTx'lerin çoğu CS- α/β iskeletini paylaşır, ancak daha karmaşık motiflere sahip $\beta\alpha\alpha\beta\beta\alpha$ katlanmış toksinler gibi toksinler de bulunur (Mouhat ve ark., 2004). NaTx'ler genellikle yüksek derecede nörotoksik zehirler üreten Buthidae ailesine ait akreplerde daha fazla bulunur. Zehirlenmeyi takip eden uyuşukluk sürecindeki merkezi rolü nedeniyle, hem biyokimyasal hem de işlevsel olarak en iyi karakterize edilen zehir bileşenleridirler (Cid-Urbe JI ve ark., 2019).

2.2.2.2. K⁺ kanallarına etki eden toksinler (KTx)

23-78 amino asit (2.4-8.5 kDa) içeren 2-4 disülfür köprü barındıran peptitlerdir (Tabakmakher VM ve diğerleri, 2019).KTx için dört yapısal katlanma şekli tanımlanmıştır: CS- α/β , sistinle stabilize edilmiş heliks-döngü-heliks (CS- α/α), Kunitz-tipi ve inhibitör sistin düğümü (ICK) (Tabakmakher VM ve ark., 2019;Mouhat S ve ark., 2008).

2.2.2.3. Kalsiyum Kanallarına Etki Eden Toksinler (CaTx)

Akreplerde bulunan CaTx'ler, 33-36 amino asit (3.8-4.2 kDa) içeren, 2-3 disülfid köprü içeren peptidlerdir. Yapısal olarak ya bir ICK (İnterkistik Kistin) veya bir disülfid yönlendirici β -saç örgü (DDH) katlanması ile karakterize edilirler. Sadece birkaç akrep toksini, voltaj kontrollü Ca²⁺ kanallarına etki eden aktiviteye sahiptir (Cid-Urbe ve ark., 2020).

2.2.2.4. Cl⁻ kanallarını etkileyen toksinler (ClTx)

Cl⁻ kanalları, epitelyal sıvı salgılama, hücre hacmi düzenlemesi, nöro-uyarılabilirlik, düz kas kasılması ve hücrel organel içi asitleşme gibi geniş bir biyolojik işlev yelpazesinde rol oynarlar (Verkman ve Galletta, 2009).

2.2.2.5. TRP kanallarına etki eden toksinler (TRPTx)

Geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanalları;acı, sıcaklık, çeşitli tatlar, basınç ve görme gibi çeşitli duyuları ileten non-selektif katyon kanallarıdır. Akrep sokmasının neden olduğu şiddetli ağrı, TRP kanallarının dahil olduğu, nöropatik sinyalleşmede rol aldığı sık görülen bir klinik belirtidir (Jami ve ark., 2017).

2.2.2.6. α -TRPTx (TRPA1 olarak transkriptler için)

Wasabi reseptör toksini (WaTx), 32 amino asitten (3.8 kDa) oluşan ve 2 disülfid köprüsü ile stabilize edilen bir α -helikal saç tokası yapısına sahip bir peptittir. Bu peptit, *Urodacus manicatus* akrebinin zehrinden izole edilmiştir. WaTx, yüksek afiniteye sahip bir sitoplazmik bağlama yeri elde etmek için plazma membranını penetrasyon yapar ($K_d = 0.33$ pM), TRPA1 kanallarını aktif bir durumda stabil hale getirir; bu durum, uzun süreli kanal açıklıkları ve düşük Ca^{2+} geçirgenliği ile karakterizedir. Sonuç olarak, WaTx akut ağrı ve ağrı hassasiyetine neden olur, ancak nöropeptidlerin ve nörojenik inflamasyonun efferent salınımını tetiklemez (Lin King ve ark., 2019).

2.2.2.7. Enzimler

Akrep zehirlerinin proteolitik (Fletcher ve ark., 2010; Almeida ve ark., 2002), fosfolipidolitik (Conde ve ark., 1999) ve hyaluronolitik (Valdez ve ark., 2004; Morey ve ark., 2006) dahil olmak üzere birçok enzimatik aktivite sergilediği bilinmektedir. Şu ana kadar, transkriptom analizi, enzimleri kodlayabilecek potansiyel olarak 749 akrep transkripti için dizi bilgisi üretmiştir. Bunlar, dizi benzerliği ile serin proteazlar (Liu ve ark., 2012), metalloproteazlar, sistin proteazlar (Ortiz ve ark., 2015), fosfolipazlar, hyaluronidazlar ve nükleotidazlar olarak belirtilmiştir. Bunların yanı sıra, *M. martensii* transkriptomunda 26 transkript "enzimler" olarak genel olarak belirtilmiştir (Luan ve ark., 2016). Geriye kalan 74 transkript, klasik biyokimyasal yöntemlerle daha önce akrep zehirlerinde tespit edilmemiş enzimleri kodlar, bunların içinde venlerde yüksek verimli proteomik analizlerle tespit edilen 22 enzimi içerir.

2.2.2.8. Proteaz inhibitörleri

Proteaz inhibitörleri, av ve avcılarının dokularında bulunan enzimler tarafından zehir peptitlerinin parçalanmasını önleyebilir ve zehirlerin etkinliğini artırabilir (Mave ark., 2016). Bu aileye ait peptitler, korunmuş yapısal ve işlevsel motiflerine dayalı olarak TIL-tipi, Kunitz-tipi ve serpinler olarak sınıflandırılabilir (Hakim ve ark., 2016).

2.2.2.9. Ana Savunma Peptitleri (HDP)

Antimikrobiyal peptitler (AMP) olarak da adlandırılırlar, nispeten küçük

boyutlara (5-100 amino asit) sahiptirler, tüm canlı organizmalarda bulunurlar ve doğal bağışıklık sisteminin bir parçasıdır (Hancock ve ark., 2016). HDP'ler iki geniş türe ayrılırlar: defensinler gibi disülfid bağları bulunanlar ve sistin içermeyen katyonik ve anyonik peptitler gibi disülfid bağları bulunmayan peptitler (NDBP). Akrep zehirlerinin bu kategoriye ait peptitlerin zengin bir kaynağı olduğu gösterilmiştir (Harrison ve ark., 2014). Transkriptom analizlerinden elde edilen verilere göre, şu ana kadar 471 olası HDP'yi kodlayan transkriptler tanımlanmıştır. Buthidae olmayan ailelere ait akrep türleri, HDP transkriptleri açısından daha çeşitlidir ve bu türler için bildirilen zehirle ilgili transkriptlerin yaklaşık %20'sini oluştururlar, ancak bu oran %55'e kadar yükselebilir (*Hadogenes troglodytes*, Hemiscorpiidae).

2.2.2.10. Diğer Peptidik Bileşenler, (Transkriptler için üç karakterli kodda "Oth" olarak adlandırılır)

Bu heterojen kategori, tanımlanmış yapısal alanlara sahip veya olmayan, ancak zehirdeki işlevi belirlenmemiş bileşenleri içermek üzere tasarlanmıştır. Bu nedenle, gelecekteki yeni işlevsel bilgiler mevcut olduğunda değişebilir bir geçici kategoridir. Alt kategoriler:

i) La1 benzeri peptitler (OthLa1 olarak transkriptler için): Şu ana kadar sadece akrep zehirlerinde tanımlanan 4 disülfid köprüsüne sahip 73-116 amino asitlik peptitler. Bu peptitler, yapısal olarak SVWC (tek alanlı von Willebrand faktörü tip C) alanını içerirler. Orijinal La1 peptiti, *Liocheles australasiae*'de ana zehir bileşeni olarak tanımlanmıştır (Martinez ve ark., 2017).

ii) Sistein zengini sekretuar proteinler (CRISP), Antijen 5 (Ag5) ve Patogeneze İlişkin (PR-1) protein üst ailesi (Transkriptler için OthCAP): Tüm organizmalar arasında yaygın olarak bulunan proteinler. Bunlar, akrep de dahil olmak üzere eklem bacaklılarda tanımlanmışlardır (Dos Santos-Pinto ve ark., 2014; Liu ve ark., 2012) ancak zehirdeki işlevleri hala bilinmemektedir.

iii) İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (Transkriptler için OthIGF): İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF), memelilerde iyi karakterize edilmiştir, burada IGF'ler biyolojik sıvılarda genellikle büyüme faktörü bağlayıcı proteinlere (IGFBP) bağlıdır. Bu sistem hücresel büyüme ve farklılaşma üzerinde belirgin etkilere sahiptir. İlginç bir şekilde, IGFBP'ye karşılık gelen iki dizi, akrep türleri *C. limpidus* (Cid-Urbe ve ark., 2019) ve *T. serrulatus* (De Oliveira ve ark., 2018) için yüksek verimli proteomik analizlerle tespit edilmiştir, ancak zehirdeki

işlevi hala bilinmemektedir.

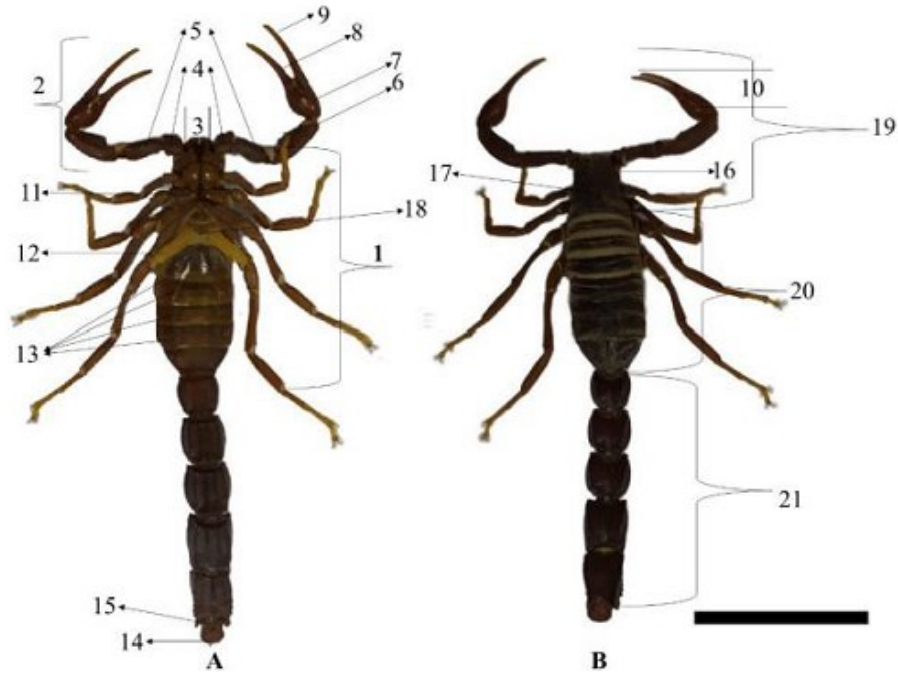
iv) Tanımlanmamış zehir bileşenleri (Transkriptler için OthUnd): Diğer peptitler veya proteinler, akrep zehirlerinde bulunan ve bilinen bir yapı veya işlevi olmayan ve muhtemelen kodlayan transkriptler. Bu son alt kategoriye 280'den fazla transkript ve 90'dan fazla peptit dahildir. Bunların yanı sıra, zehir bezlerindeki transkriptlerin en büyük bölümü henüz tanımlanmamış durumdadır. Burada, akrep zehir bileşenleri üzerine gelecekteki en heyecan verici ve umut verici araştırma potansiyelinin yattığını vurgulamak önemlidir. (Cid-Urbe ve ark., 2020).

2.2.3. AKREPLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

420 milyon yıl önce ilk şekli belirlenen akrep fosili Silurien devrine aittir. Belirlenen en eski ve ilk kara akrep (*Palaephonus nuncius*) Gotland adasında Linstom ve Thorell tarafından gözlenmiştir. (Brownell ve Polis, 2001; Yeşilyurt, 2005). Akrepler, Antartika ve Yeni Zelanda hariç, dünyadaki tüm büyük kıtalar ve büyük adalar üzerinde yer alan subtropik, tropik ve ılıman bölgelerde dağılışı gösterirler (Nenilin ve Fet, 1992; Yağmur, 2011). Son araştırmalara göre akrepler, 21 familya ve 195 cins'ten oluşan yaklaşık 2512 türünün olduğu bildirilmiştir. Bu türlerin içersinde yaklaşık 50 türün tıbbi öneminin olduğu belirtilmiştir. Orta Doğu ve Asya'nın doğu kısımlarında görülen Hemiscorpiidae familyası bir cins ve 16 türden meydana gelmektedir. Bun familyadaki *Hemiscorpius lepturus* türü tıbbi açıdan önemli ve çok tehlikeli bir türdür (Chippaux ve Goyffon, 2008; Filazi ve Özkan, 2021). Bir diğer yandan, insanlar için tehlikeli olan tüm diğer akrep türlerinin de Buthidae familyasında olduğu bildirilmiştir. Zehirlilikleri sebebiyle pekçok ülkede ve ilgili kaynaklarda en fazla dikkat çeken cinslerin; *Androctonus*, *Buthus*, *Leiurus* (Kuzey Afrika ve Orta Doğu), *Centruroides* (Kolombiya, Kuzey ve Orta Amerika), *Tityus* (Güney Amerika), *Parabuthus* (Güney Afrika) ve *Mesobuthus* (Asya) olduğu görülmektedir (Özkan ve Karaer, 2003; Chippaux ve Goyffon, 2008; Filazi ve Özkan, 2021).

2.2.3.1. Akreplerin Morfolojileri

Akreplerin vücut yapısı, genellikle dorso-ventral olarak basıktır, yani sırttan karına doğru düz ve geniş bir şekildedir. Akreplerin vücutları iki temel kısımdan oluşur: cephalothorax (baş-göğüs bölgesi) ve abdomen (karın bölgesi) dir (Çağlar, 1957; Özkan ve Karaer, 2004).



Şekil 2.4. *Androctonus crassicauda*'nın genel morfolojisi (Demir, 2020). 1.Yürüme bacakları 2.Pedipalp 3. Keliser 4.Trochanter 5. Femur 6. Tibia 7. Manus 8. Sabit parmak 9. Hareketli parmak 10. Chela 11. Sternum 12. Pecten 13.Stigma 14. Telson 15. Anal açıklık 16. Lateral gözler 17. Median gözler 18. Genital operculum 19. Prosoma 20. Mesosoma 21. Metasoma (ölçek: 3cm)

Cephalothorax, baş ve gövdenin birleştiği kısımdır. Bu bölüm, genellikle karapaks adı verilen sert bir kabukla kaplıdır ve baş kalkanı olarak da adlandırılır. Bu kısımda bir çift chelicera, bir çift pedipalp ve dört çift bacak bulunur (Özkan, 1992; Özkan ve Karaer, 2004).

Pedipalpler, canlının cephalothorax bölgesinin önünden iki yana doğru uzanır. Bütün ekstremitelerin en büyük ve en kalınıdır. Makas benzeri bir yapıya sahiptir ve av hayvanlarını yakalamak, yaralamak ve ezmek için kullanılırlar. Pedipalpler aynı zamanda dokunma organı olarak da görev yaparlar. Bu organlar, çevrelerindeki nesneleri ve yüzeyleri keşfetmek için kullanılır. Pedipalplerin üzerinde, havadaki titreşimleri algılayan "trichobothrium" adı verilen küçük duyusal tüyler bulunur. Bu tüyler, canlının çevresindeki hareketleri ve titreşimleri algılamasına yardımcı olur. Pedipalpler, farklı bölümlere ayrılır. Bu bölümler coxa, trochanter, femur, patella, tibia ve tarsus olarak adlandırılır (Alexander, 1984; Özkan, 1992; Yaman, 1995; Özkan ve Karaer, 2004).

Chelicera, pedipalplerin hemen altında yer alır. Genellikle çene benzeri

yapılar olarak görünürler ve besinleri yakalamak ve tutmak için kullanılırlar. Chelicera, üç segmentten oluşur: coxa, tibia ve tarsus. Bu segmentler akrebin ekstremitelerinin yapısını oluşturan bileşenlerdir. Chelicera, genellikle avlarını yakalamada ve tutmada özelleşmiş çeneler olarak kabul edilir. Pençe tırnakları gibi sivri uçlara sahip olabilirler (Alexander, 1984; Özkan, 1992; Özkan ve Karaer, 2004).

Bacaklar, her göğüs halkasında bir çift bulunur ve toplam dört çift bacak vardır. Bacaklar geniş bir coxa ile başlar ve yedi eklem segmentinden oluşur. Bu bölümler: coxa, femur, trochanter, patella, telotarsus tibia ve basitarsus tur. Bacakların segmentleri ince bir membranla birbirlerine bağlanır. Bacaklar, cephalothorax'ın alt kısmından çıkar ve birbirlerine yakın olarak yer alır. Bacaklar arasında farklı uzunlukta ve pozisyonda coxalar bulunur. En küçük coxa birinci coxa'dır ve ikinci coxa'nın köşeleri arasında yer alırken, en uzun coxa dördüncü coxa'dır. Cephalothorax'ın alt yüzeyinde birinci ve ikinci coxa üzerinde kitinli plaklar ve salgı bezleri bulunur. Bu oluşumların sindirim sürecinde önemli işlevleri olabileceği düşünülür. Bacaklar akreplerin hareket etmelerini ve kazmalarını sağlayan organlardır. Dişi akrepler ayrıca yavrularının hareket etmesinde de bacaklarını kullanırlar. Bacaklar üzerinde yerdeki titreşimleri algılamaya yarayan ince tüyler bulunur (Alexander, 1984; Katz ve Gwadz, 1981; Özkan, 1992; Özkan ve Karaer, 2004).

Genital Operculum, akreplerin üreme organlarını koruyan bir kapaktır. Bu kapak, dördüncü çift coxa'ya yakın bir konumda bulunur ve birinci mesosomal segmentin ventral yüzeyinde, sternum ile pectenler arasında yer alır. Dişilerde sadece tek bir genital delik bulunur ve bu delik genital operculumun altında yer alır. Bu delik, üreme organlarına erişim sağlar. Genital operculum, farklı akrep türleri arasında ve aynı türün erkek ve dişileri arasında farklılık gösterebilir. Bu nedenle, bu yapı türlerin ve cinsiyetlerin ayırt edilmesinde önemlidir. Dişi akreplerin üreme organlarını koruyan bu kapaklar birbirine bağlıdır. Erkeklerde ise genital operculum genellikle kısmen veya tamamen ayrılmıştır. Bu, erkek akreplerin üreme organlarının daha farklı bir şekilde korunduğunu gösterir. Erkeklerin genital operculumu altında, konik çiftleşme aygıtı olarak adlandırılan bir yapı bulunur. Bu yapı, üreme sırasında dişiye dölleyen organları içerir (Çağlar, 1957; Özkan, 1992; Özkan ve Karaer, 2004).

Taraklar (Pectens), akreplerin genital bölgesinde bulunan çift yapılar olarak tanımlanmıştır. Bu yapılar, ikinci sternitin üzerinde yer alır. Her bir tarağın yapısı, bir sap kısmı ve bu sapa sıra ile dizilmiş dişlerden oluşur. Bu dişler, tarakların

kemoreseptör (kimyasal uyaranları algılama) görevi gördüğü ve aynı zamanda yüzey titreşimlerini algılayarak mekano-reseptör (mekanik uyaranları algılama) işlevi gördüğü düşünülmektedir. Taraklarda yer alan pektin denilen yapı, üç parçadan oluşur. Bunlar; en uzun olan proksimal parça, orta parça ve en kısa olan an parçasıdır. Erkek ve dişi akrelerde tarakların yapısı ve sayısı farklılık gösterir. Erkek akrelerde taraklar daha geniş ve daha fazla sayıda küçük diş içerir. Bu tarağımsı yapı, akreplere özgü bir morfolojik özelliktir. Taraklar, akrelerin üreme ve çiftleşme davranışlarına katkıda bulunabilecek önemli anatomik özelliklerdir. Bu yapılar, çiftleşme sırasında kimyasal sinyallerin algılanması ve çevresel titreşimlerin hissedilmesi gibi görevlerde rol oynayabilirler (Aytaç, 1992; David, 2001; Özkan ve Karaer, 2004).

Sternum, akrelerin vücut yapısının bir parçasıdır ve genellikle üçüncü ve dördüncü coxa (bacakların bağlandığı segmentler) arasında bulunan küçük plaklardan oluşur. Buthidae ailesine ait akrelerin sternumu genellikle diğerlerinden daha uzun, üçgen şeklinde ve öne doğru daralmıştır. Chactidae ailesine ait akrelerin sternumu genellikle genişliklerinden daha uzun değildir. Bothriuridae ailesine ait türlerin sternumu belirgin olmasa bile iki ayrı parçalıdır ve oldukça geniştir. Scorpionidae ailesine ait türlerin sternumu genellikle beş köşeli, yan kenarları birbirine paralel ve boyu eninin yarısı kadardır. Sternumun şekli, akrelerin ailelerinin ve türlerinin tanımlanmasında önemlidir. Bu özellikler, taksonomik sınıflandırmada kullanılabilir ve farklı akrep türleri arasındaki benzerlikleri veya farkları belirlemeye yardımcı olabilir (Aytaç, 1992; Çağlar, 1957; Yaman N, 1995; Özkan ve Karaer, 2004).

Abdomen(opistosoma), iki bölüme ayrılır, bu bölümler preabdomen ve postabdomen olarak adlandırılır. Preabdomen, abdomenin başlangıç bölgesidir ve ilk yedi segmenti içerir. Bu segmentlerin her biri başlangıçta ekstremit (bacak veya benzeri uzantılar) taslaklarına sahiptir. Ancak zamanla bu taslaklar kaybolur ve yetişkin bir hayvanda preabdomen tamamen ekstremitesizdir. Postabdomen, preabdomenin sonrasında bulunan segmentlerin oluşturduğu ikinci bölümdür. Bu bölümde ekstremiteler bulunmaz ve genellikle organların ve yapıların bulunduğu bir bölge olarak işlev görür (Çağlar, 1957; Özkan, 1992; Özkan ve Karaer, 2004).

Preabdomen, yedi geniş halka segmentten oluşur. Bu segmentlerin her biri sırt taraflarında "tergit" adı verilen kitin plaklarla ve karın taraflarında "sternit" adı verilen kitin plaklarla kaplıdır. Preabdomenin birinci segmenti dar sternitlidir. Bu segmentin ortasında, serbest kenarı yuvarlak ve ortası yarık olan bir "genital kapak"

(genital operculum) bulunur. Genital kapak, üreme organlarına erişim sağlar. İkinci sternit üzerinde ise bir çift "tarak" (pecten) bulunur. Taraklar, organizmanın belirli fonksiyonlarını gerçekleştirmek için kullanılan yapılar olabilir. Preabdomenin 3-6. sternitlerinde, kitap trakelerine ait birer çift "solunum deliği" (stigma) bulunur. Bu solunum delikleri, organizmanın solunum sistemine hava alışverişi sağlar (Özkan, 1992; Wolfgang, 1971; Yaman, 1995; Özkan ve Karaer, 2004).

Postabdomen, arka bölümü oluşturan bu kısım, dinlenme sırasında yanlara doğru kıvrılmış bir duruş sergiler. Yürüyüş sırasında ise arkaya doğru uzanır (Alexander, 1984; Oytun, 1969; Özkan ve Karaer, 2004). Postabdomenin en son halkasında bulunan ve armuda benzeyen bir yapı zehir keseidir. Bu kesenin ucunda kıvrık bir zehir iğnesi bulunur. Zehir kesesinin ucunda bulunan iğne, sokma anında kullanılır ve kuyruk tarafından cephalothoraxa doğru kıvrıktır. Zehir kesesinin içinde iki tane zehir bezi bulunur. Bu bezler, iki ayrı kanal aracılığıyla iğneye açılır. Zehir kesesi, aşağı yöne hariç tüm yönlerle doğru hareket edebilir. Bu, akrepte savunma veya avlanma sırasında zehirini kullanma yeteneğini sağlar. Zehir kesesinin ucundaki iğnenin çıkış yeri, türlere göre değişebilir. Bazı türlerde bu çıkış yeri terminal veya subterminal olabilir (Çağlar, 1957; Merdivenci, 1981; Özkan ve Karaer, 2004).

2.2.3.2. Akreplerin Yaşam Biçimleri

Akrepler genellikle nemli ve ılık ortamlarda yaşarlar. Ekvatora doğru gidildikçe tür çeşitliliğindeki sayı ve vücut büyüklükleri artmaktadır. Akrepler yaşadıkları alanlara göre ikiye ayrılırlar (Fet ve ark., 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

Ağaç kabukları ve taşların altında yaşayan akrepler; genellikle nemli ılıklı iklimlerde yaşarlar. Muz, şeker kamışı, palmiye gibi bitkilerin diplerinde yaşarlar. *Liocheles australiensis* türü (ağaç kazan olarakta bilinir) Avustralya'daki *Araucoria huntsteinii* türüçam ağacında ve 40 metre yükseklikte hayatını sürdürdüğü gözlemlenmiştir (Fet ve ark., 2000; Demirsoy ve ark., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).

Toprak yarıklarında yaşayan yer akrepleri; çok kurak bölgelerde yaşamını sürdüren akrepler nemli alan bulmak için yerin derinliklerine oyuk kazarlar. Öyle ki yerden 812 metre derinlere doğru gidildikçe *Alacran tartarus* türüne bile rastlanmıştır (Gordon ve ark., 1996; Fet ve ark., 2000).

Sıra dışı adaptasyon yeteneğine sahip akrepler de bilinmektedir. Kaliforniyadaki Sorroca Yarımadası'nda yaşayan *Vaejovis janssi* türüne, ağaçlarda, kum ve deniz kıyısında, bitkili-bitkisiz topraklarda, balta girmemiş ormanlarda,

kısaca tüm doğal ormanlarda görülmüştür. Scorpio maurus akrep türüne de Atlas Dağı'nda ve deniz seviyesinin üç metre altında rastlanılmıştır. Chactidae ve Vejovidae familyalarına ait bazı türler 2000 metre yükseklikte görülmüştür ve donmaya karşı dayanıklıdır. Diğer taraftan *Orobothriuris crassimanus* türüne ise 5500 metre yükseklikte rastlanmıştır (Gordon ve ark., 1996).

Akrepler insanların yaşadığı yerlerde ya da bu alanlara yakın yerlerde yaşarlar. Evlerde genel olarak odunluk, mutfak ve tuvaletleri tercih ederler. Buna ek olarak yorgan ve döşek aralarında, perde aralarında, katlanmış elbiselerde ve halı-kilim altlarında da yer alabilmektedirler (Aycaan ve ark., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).

2.2.3.3. Akreplerde Beslenme

Akrepler soğukkanlı canlılardır ve bulundukları bu grupta metabolik hızları en düşük canlılardır. Bu yapılarından dolayı uzun süre (aylarca hatta yıllarca) bir şey yemeden hayatta kalabilirler. En zorlu yaşam koşullarında hayatta kalmakta uzmanlaşmışlardır ve besinlerdeki sıvılar ile su ihtiyaçlarını karşıladıklarından susuzluğa çok dirençlidirler (Fet ve ark., 2000; Özkan ve Karaer, 2007; Mullen ve Durden, 2009).

Akrepler beslenme hususunda seçici ve çok iyi avcı değildirler fakat yırtıcı-yağmacı bir doğaları vardır. Akrepler avlarını havada ve yerde oluşturdukları titreşimlerle algırlar fakat onların izini sürmezler. Onun yerine bekleyip avın kendisine gelmesini tercih ederler. Akrepler genel olarak böcek, örümcek, kırkayaklarla beslenirler ve bazı büyük akrepler de küçük yılanlar, kertenkeleler ve farelerle beslenebilirler. Akreplerde cannibalizme (yamyamlık) sıklıkla rastlanmıştır (Polis ve Farley, 1979; Stewart ve Jackman, 1979; Demirsoy ve ark., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).

Akreplerin kendilerinden büyük hayvanları ve insanları sokmalarının sebebi avlanmak değildir. Tesadüf karşılaşmalarda, kendilerini tehlikede hissettikleri zamanlarda ya da üzerlerine basıldığında sokarlar. Buna ek olarak akreplerde sokma istekleri, sıcak mevsimlerde ve geceleri daha fazladır (Stewart ve Jackman, 1979; Özkan ve ark., 2006; Özkan ve Karaer, 2007).

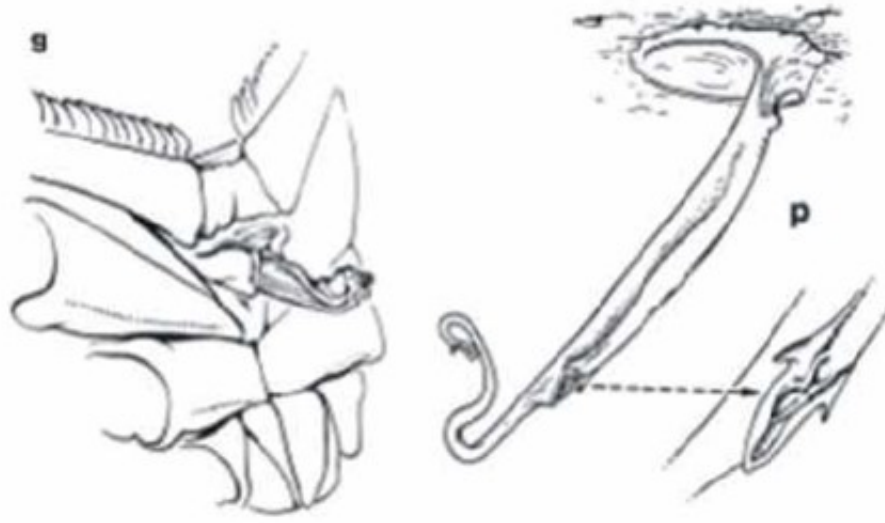


Şekil 2.5. Laboratuvar ortamında *Hottentotta saulcyi* ve *Adroctonus crassicauda*'nın beslenmesi

2.2.3.4. Akrelerde Üreme

Akrelerde üremeyle ilgili iki görüş vardır:

A) Erkek ve dişiler çiftleşmek amacıyla bir araya gelmezler. Fakat ilkbahar mevsiminde çok kısa bir sürede erkekler, dişileri arayamaya çalışarak dölemeyi yaparlar. Spermleri bir kesede oluşur ve genel olarak eşey deliğinden dışarı çıkmış bir durumdadırlar (Bücherl, 1971; Stewart ve Jackman, 1979; Merdivenci, 1981; Özkan ve Karaer, 2007). Bu kesedeki spermleri kısıkaçlarıyla alır ve bir dişiye görür görmez, onu oyalar ya da ansızın yakalar, kısıkaç yardımıyla dişinin eşey deliğine sperm kesesini yapıştırır. Bu olaydan sonra hemen kaçır, aksi takdirde ölümden kurtulamaz, yoksa dişi erkeği parçalar (Bücherl, 1971; Stewart ve Jackman, 1979; Merdivenci, 1981; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.6. Erkek akrepte genital operculum ve sperm kesesi (Lorurenco; 2000)

B) Erkek ve dişiler pektin denen yapılar da salgılanan feromonlar sayesinde birbirlerini bulurlar. Burda ilk hareketi erkek akrep yapar, karmaşık bir kur hareketiyle kendini dişi akrebe gösterir, çiftleşme esnasında, üreme organları rastlaşmaz. Genellikle erkek akrep, dişinin kısıkaçlarını yakalar ve karşılıklı bir şekilde şiddetle birbirlerini çekerler, birleşme esnasında kısıkaçlarını birbirine geçiren dişi ve erkek akrepler dönerler, bu olay genellikle insanların yaptığı dansa benzetilir (Bücherl, 1971; Hjelle, 1973; Polis ve Farley, 1979; Lourenço ve Cuellar, 1999; Lourenço, 2000; Demirsoy vd., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.7. Akreplerin çiftleşme esnasında yaptıkları dans (Lorurenco; 2000)

Dans esnasında erkek akrep abdomenini büküp kuyruğunu mümkün olduğunca ön tarafa uzatır, kuyruğun ucundaki iğnesi yardımıyla dişi akrebin abdomen segmentlerinde bulunan yumuşak membranı kaşıyarak araştırır. Ağız

kısımlarını çoğunlukla karşılıklı getirirler ve bu davranış keliser masajı veya öpüşme olarak adlandırılmıştır (Bullington, 1996; Gordon vd., 1996; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.8. Keliser masajı (Bookman, 2006)

Erkek akrepler vücutlarının alt kısmında yer alan bu tarağımsı yapıyı çiftleşme başladığı andan sonlanana kadar titretirler, dönme hareketleriyle 15-40 cm²'lik bir alan da temizlenmiş olur. Dans esnasında erkek akrep, içerdiği yapışkanla kese şeklindeki sperm paketini yere bırakır. Bu esnada erkek, bazı manevralar yaptırarak dişiye yerdeki spermlere doğru çekmeye çalışır. Bu esnada dişinin genital açıklığı yerde bulunan spermlere değer. Spermler yapışkan olduğundan, dişinin genital deliğine yapışır, mücadele devam ettiği için sperm kesesi patlar. Spermler genital açıklıktan içeri girme yolunu bulur, sonrasında erkek ve dişi birbirlerinin canını acıtarak ayrılırlar. Çiftleşmeleri 45 dakika kadar sürer, küçük erkek akrepler hızlı bir şekilde kaçma fırsatını bulurlar ama genellikle bu kaçış eylemleri başarılı olmaz ve erkek akrep, dişi akrep tarafından öldürülür (Bücherl, 1971; Bullington, 1996; Aycan vd., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).

Akrelerde çiftleşme genel olarak geceleri, yeni ayda çoğunlukla da ayın olmadığı dönemlerde olduğu belirtilmektedir. Yeni doğum yapmış olan dişiler tekrar çiftleşebilirler, erkekler ise birden fazla sayıda çiftleşme yapabilme becerisine sahiptirler. Bundan dolayı erkek akrep kısa sürede yeni sperm kesesi üretebilmektedir (Polis ve Farley, 1979; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

2.2.3.5. Akrelerde Embriyonik Gelişim ve Gebelik

Dişi akrepler, bazen döllemek yerine spermleri depolayabilirler. Bu, örneğin *Isometrus maculatus* gibi bazı türlerde gözlemlenen bir davranıştır ve tek bir

çiftleşme ile birden fazla doğum yapmalarını sağlar. Dölllenmiş yumurta ve embriyolar, dişi akrebin vücudundaki bir kuluçka odasında gelişir. Bu kuluçka odası, embriyoların gelişimini destekler. Akreplerde embriyonik gelişimi iki farklı yol izleyebilir:

a. Apoikogenikal gelişim tipinde, döllenmiş yumurta ve bir zar (keseli) bulunur. Yavrular bu zarın içinde gelişirler ve doğduklarında bu zarla birlikte dışarı çıkarlar.

b. Katoikogenikal gelişim tipinde, döllenmiş yumurta için bir zar (kesesi) bulunmaz ve yavrular membransız bir şekilde doğarlar. Centruroides taksonundaki akrep türlerinde gözlenen apoikogenikal gelişim, embriyoların gelişimi için ilginç bir stratejiyi ifade eder. Bu gelişim tipi, embriyonun döllemiş yumurta içinde bir zar (keseli) bulunurken, embriyo gelişimi sırasında kesenin içinde bulunan bazı besin maddelerini tüketmez. Bunun yerine, embriyo, ihtiyaç duyduğu bazı besin maddelerini doğrudan annesinin vücut sisteminden alır.

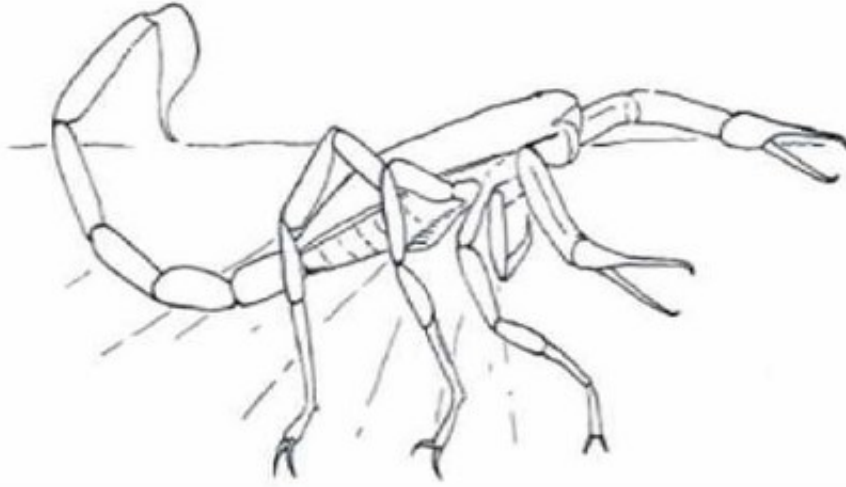
Apoikogenikal gelişim tipinde, embriyolar ovariterus adı verilen dişi üreme organının içinde doğrudan bir temasla besinlerini alırlar. Bu, döllenmiş yumurtanın bir zar içinde bulunduğu ve embriyonun bu zarın içinde geliştiği bir gelişim tipidir. Katoikogenikal gelişim tipinde ise, embriyolar, dişi ovariuterusdan uzanan özel bir divertikül kanalı aracılığıyla besinlerini alırlar. Bu tip gelişimde, özellikle kesenin varlığı belirgin değildir ve embriyolar dışının iç sisteminden gerekli besinleri alırlar. Bazı kaynaklarda, apoikogenikal gelişimi görülen akrepler "ovovivipar" olarak sınıflandırılabilirler. Bu terim, yumurtaların vücut içinde geliştiği, ancak embriyoların annenin kan dolaşımından beslenmediği üreme stratejisini tanımlar. Bununla birlikte, apoikogenikal gelişim gösteren akreplerin embriyolarının bazı besinleri anne sisteminden aldığı göz önüne alındığında, "vivipar" terimi daha uygundur. "Vivipar" terimi, yumurtaların vücut içinde geliştiği ve embriyoların anneden beslenmek için özel bir bağlantıya sahip olduğu üreme stratejilerini ifade eder (Gordon vd., 1996; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

Akreplerin gebelik süreleri oldukça uzun olabilir ve bu süre türlere ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilir. Özellikle tropikal bölgelerde yaşayan bazı akrep türlerinde, gebelik süreleri birkaç aydan bir yıldan fazla sürebilir. Ovaryum içinde gelişim sürecinin ilk evresinde preabdomen adı verilen yapıda, sonradan kaybolacak ekstremite taslaklarının oluşması, embriyonun gelişimindeki aşamalardan birini gösterir. Bu taslaklar daha sonra embriyonun ilerleyen evrelerinde

şekil değiştirir veya kaybolur (Stewart ve Jackman, 1979; Lourenço, 2000; Demirsoy ve ark., 2001; Özkan ve Karaer, 2007).

2.2.3.6. Akrelerde Doğum

Akreler annelerinin vücudunda yaklaşık 7-12 ay kalarak gelişimlerini tamamlarlar ve genellikle ilkbahar-yaz mevsimlerinde doğarlar. Fakat tropik bölgelerde yer alan türler yıl içerisinde kendi tercih ettikleri zamanlarda doğum yaparlar. Anne akrep, doğumun birkaç saat öncesinde doğum yapacağı duruş pozisyonuna hazırlanır. Doğum için olan bu duruş pozisyonu da türlere göre farklılık gösterebilir. Fakat genel olarak son iki çift bacakların kullanımıyla vücutlarını kaldırırlar, bu şekilde vücudun ön bölümü ve karın yerden yükseltilmiş olur. Bu sırada ilk iki bacak çifti ise havada serbest bir şekilde durur. Kısaçlar bükük bir şekilde vücuttan uzak bir konumdadır. Doğum esnasında dişi akrep yürümek zorunda kalsa da bu pozisyonunu bozmaz, korur (Hjelle, 1973; Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.9. Akrelerde görülen doğum pozisyonu (Hjelle, 1973)

Akrelerdeki doğum süresi; yavruların büyüklüğü, yavru sayısı ve akrebin türüne göre değişkenlik gösterebilir. Bu süre saatlerce bazen de günlerce sürebilmektedir. Doğum sepetindeki yavruların genital operkulumdan teker teker dışarı çıkmasıyla beraber doğum gerçekleşir. Yeni doğan yavrular başlarda bir zarla kaplıdır. Yavrular bu zardan ya kendi mücadeleleriyle ya da annelerinden aldıkları destekle çıkarlar. Doğan yavrular bu zardan kurtulduktan sonra ise hala doğum

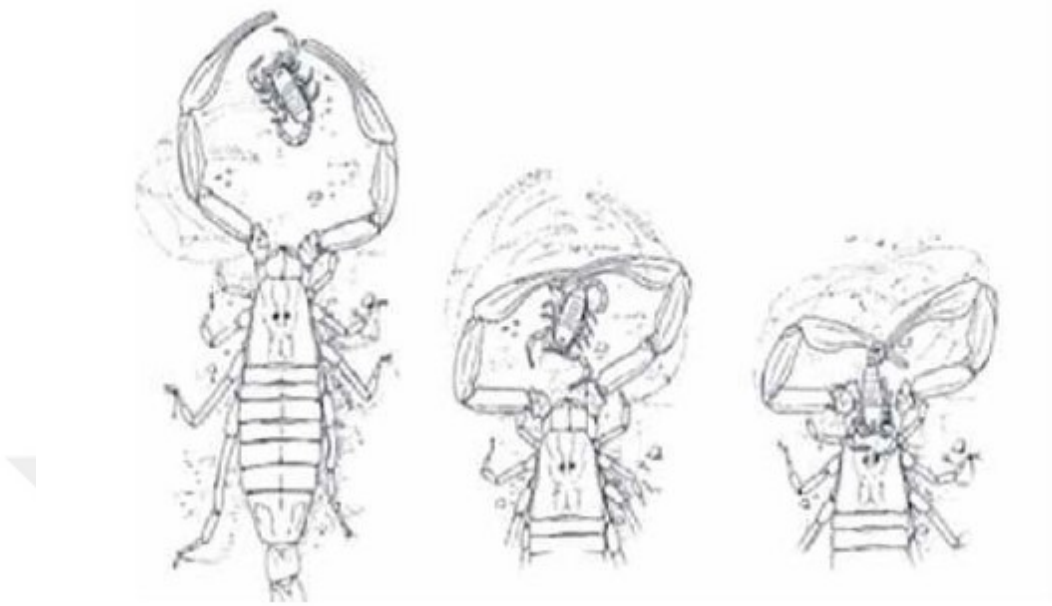
pozisyonundaki annelerinin birinci çift bacakları yardımıyla annelerinin sırtına çıkarlar (Hjelle, 1973; Polis ve Farley, 1979; Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.10. Yeni doğum yapmış *Androctonus crassicauda* ve yavruları (Demir, 2020)

2.2.3.7. Akrelerde Yavruların Gelişimi

Yeni doğan yavrular annelerinin bacakları yardımıyla annelerinin sırtına çıkarlar. Neonetal (birinci instar) evresindeki bu yavruların görüntüleri beyaz toplu cisimcikler gibidir. Anne sırtında oldukları dönemde annelerinin sırtından yere düşen yavrular tekrar anne sırtına çıkamazlarsa, su kaybından dolayı ölebilirler. Yavru gelişimi juvenil ve pro-juvenil şeklinde ikiye ayrılır. Yavrular anne sırtında oldukları süre içerisinde ilk gömlek değişimini gerçekleştirirler ve bu dönemdeki yavrular pro-juvenil dönemlerindedir. Bu dönemdeki yavrularda yeme ve sokma özelliği görülmez (Bullington, 1996; Gordon vd., 1996; Fet ve ark., 2000; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007). İlk gömlek değişimi tamamlanan yavrular sonrasında juvenil dönemine geçerler. İlk gömlek değişimi sonrası yavrular pembe renkli olurlar ve erginlerin minyatürü şeklinde görünürler. Kısa süre zarfında renk değişimi göstererek, grimsi kahverengi bir görünüme kavuşurlar. Yavru bu sürede de anne sırtında bulunurlar (Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007). Doğumdan birkaç hafta sonra yavrular etrafı keşif amacıyla anne sırtından ayrılarak küçük gezilere çıkarlar ve bu gezilerden sonra yavru yine anne sırtına dönerler (Benton, 1991; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.11. Anne akrebin yavrularını sırtına çıkarma davranışı (Lourenço, 2000)

2.2.3.8. Akrelerde Gömlek Değişimi

Anne sırtından ayrılan yavru akrepler 67 ay kadar annelerinin ardında dolaşırlar. Akrelerin yaşam ömürleri 26 yıl kadardır, cinsel olgunluğa ise 13 yılda erişirler. Bir akrep yaşadığı süre zarfında yaklaşık olarak 69 kez gömlek değiştirir. Akrep ölümlerinin çoğunluğu, gömlek değişimleri sırasında gerçekleşir (Gordon vd., 1996; Demirsoy ve ark., 2001; Aycan vd., 2007; Özkan ve Karaer, 2007).



Şekil 2.12. Yeni gömlek değiştirmiş *Androctonus crassicauda* ve UV görüntüsü (Demir, 2020)

2.2.3.9. Akrelerde Partenogenezis

Akrelerde partonegenezis (eşaysız yani döllenmemiş yumurtalarla çoğalma) *Tityus serrulatus* türünde ilk kez görülmüştür. Bununla beraber *T. uruguayensis*, *T. metuendus*, *T. columbianus* (Thorell), *Liochelis australaiase*, *Hottentota hottentota* (Fabricius), *Ananteris coineau* (Fabricius), *T. trivittatus*, türlerinde de parthenogenesis ile üreme olduğu bilinmektedir (Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

Akrelerdeki bu çoğalma şeklinde iki tip görülmektedir. Arrehenotoky diye adlandırılan bu eşaysız üreme tipinde döllenmemiş yumurtalardan yalnızca erkek yavrular doğar; thelytoky ise döllenmemiş yumurtalardan yalnızca dişi yavrular doğar (Lourenço ve Cuellar, 1995; Lourenço, 2000; Özkan ve Karaer, 2007).

2.2.3.10. Türkiye’deki Akrep Faunası

Ülkemizde geçmişten şimdiye kadar, Türkiye akrep faunası üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda son kaynaklara göre dört familya (Buthidae, Iuridae, Scorpionidae, Euscorpiidae), bu çalışmaların sonucunda 16 cins ve 45 tür akrep tespit edilmiştir (Filazi ve Özkan, 2021; Kurt, 2022).

Endemik bölgeler arasında yer alan ülkemizde akrep sokmalarının büyük çoğunluğundan *Androctonus crassicauda* ve *Leiurus abdullahbayrami* türleri

sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca ciddi klinik bulgular ve mortaliteden sorumlu tutulan en önemli iki tür *A. crassicauda* ve *L. abduallahbayrami*'dir (Çağlar, 2021). *Hottentotta saulcyi* türünün zehirinin toksik oranı *Androctonus crassicauda* türüne göre biraz daha düşüktür. Ancak akrep sokmalarında şiddetli ağrı ve terlemeye neden olduğundan insan sağlığı açısından önemlidir (Kurt, 2022). *Androctonus crassicauda*, Türkiye'de yaygın olarak görülen ve insanlarda ciddi zehirlenmelere neden olabilen bir akrep türüdür. *Androctonus crassicauda*'nın Türkiye'nin en çok Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde, Elazığ (Palu), Diyarbakır, Şanlıurfa (Harran - Akçakale), Mardin, Adana, Hatay, Malatya ve Mersin illerinde bulunduğu rapor edilmiştir (Trugut, 1964). *Androctonus crassicauda* zehiri özellikle sodyum kanallarında etkili olan toksinleri içermektedir (Çalışkan ve ark., 2006).

Hottentotta saulcyi'nin zehri *Androctonus crassicauda*'nın zehirinden biraz daha az toksiktir. Ancak akrep sokmalarında şiddetli ağrı ve terlemeye neden olduğundan insan sağlığı açısından önemlidir. *Hottentotta saulcyi* genel olarak Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Mardin, Batman, Şırnak ve Hakkari illerinde yayılım göstermektedir (Vachon, 1951). *Leiurus abduallahbayrami* Türkiye'ye endemik olup, Güneydoğu Anadolu'da, Gaziantep, Adıyaman, Kilis, Mardin, Şanlıurfa illeri ve çevresinde yayılım göstermektedir (Yağmur ve ark., 2009).

***Androctonus crassicauda*'nın Taksonomisi**

Âlem (Regnum): Animale

Şube (Phylum): Arthropoda

Alt şube (Subphylum): Chelicerata

Sınıf (Classis): Arachnida

Takım (Ordo): Scorpiones

Üst familya : Buthoidea

Familya : Buthidae

Cins : *Androctonus*

Tür : *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807)

***Hottentotta saulcyi*'nin Taksonomisi**

Âlem (Regnum): Animale

Şube (Phylum): Arthropoda

Alt şube (Subphylum): Chelicerata

Sınıf (Classis): Arachnida

Takım (Ordo): Scorpiones

Üst familya: Buthoidea

Familya: Buthidae

Cins: *Hottentotta* (Birula, 1908)

Tür: *Hottentotta saulcyi* (Simon, 1828)

***Leiurus abdullahbayrami*'nin Taksonomisi**

Âlem (Regnum): Animale

Şube (Phylum): Arthropoda

Alt şube (Subphylum): Chelicerata

Sınıf (Classis): Arachnida

Takım (Ordo): Scorpiones

Üst familya: Buthoidea Simon, 1879

Familya: Buthidae

Cins: *Leiurus*

Tür: *Leiurus abdullahbayrami* (Yağmur, Koç & Kunt, 2009)

2.2.3.11. Akrep Venomunun Biyolojisi

Akreplerde her sokma olayında zehirlenme durumuna rastlanmaz sebebi zehir boşaltımlarını kontrollü yapabilme özelliklerinin olmasıdır. Akrep zehrinin bir kısmını ya da tümünü boşaltabilir veya hiç boşaltmayabilir (kuru sokma). Telsonunun çizgili kas tabakasıyla çevrili olması, bu zehir enjeksiyonunu düzenlemeyi kolaylaştırır. Görülen belirtilerin yoğunluğuna göre ile zehirlenmenin olmadığı durumları (kuru sokmaları) açıklar (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012; Demir, 2020).

Akrep türlerinin zehirlerinin etkisi miktarına ve kişinin vücut ağırlığına, yaşına ve sağlık durumuna bağlı olarak değişebilir. Şu ana kadar bilinen tüm akrep türlerinde zehir salgı bezi vardır ve bundan dolayı hepsi zehirlidir, fakat içerdikleri zehir etkinliği hepsinde aynı değildir. Bazı türlerde zehir sitotoksik bazı türlerde ise nörotoksiktir. Buthidae ailesine ait akrep türlerinin zehirleri nörotoksik yapılıdır, yani sinir sistemi üzerinde etkilidir. Diğer ailelere ait akrep türlerinin zehirleri ise sitotoksik yapılıdır, yani hücrelere zarar verme eğilimindedir (Yağmur, 2011).

Akrep zehirleri, enzim ve polipeptitler gibi çeşitli aktif maddelerin karışımıdır. Akrep zehrinde bulunan toksinlerin en önemlileri nörotoksinlerdir. Nörotoksinler sodyum(Na^+) kanallarını bloke eden (beta toksinler) peptitleri içerir. Sodyum nöronal kanallarındaki aktivasyonu zehir tarafından geciktirilerek, dolaşımda katekolaminlerin yoğun bir şekilde salınımı olur. Bu nörotoksinlerin temel hedefleri, voltaj kapılı sodyum kanalları ve kalsiyumla aktive edilmiş potasyum kanallarıyla beraber potasyum kanallarıdır. Akrep zehir toksinlerinin sodyum ve potasyum kanallarını bloke etmesi otonom sinirlerin aşırı uyarılmasına ve çeşitli otonomik tepkilere yol açabilir. Ayrıca, nitrejik sinirlerin uyarılması da priapizmi tetikleyebilir. Bu nedenle, şiddetli akrep zehirlenmeleri otonomik fırtına ve priapizm gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012; Demir, 2020).

Akrep zehri, sokulan yerde lokal ağrıya neden olabilen bir bileşen olan serotonin içerir. Bu, akrep sokmalarının ağrılı olmasının nedenlerinden biridir. Bazı durumlarda, birden fazla akrep türünün zehirleri bir araya geldiğinde, bu toksinlerin

sinerjik etkileri olabilir. Yani, bu toksinler birlikte daha güçlü etkilere sahip olabilirler. *Tityus trinitalis* türünün zehrinde bulunan Trinidad pankreas psödokistleri, akut pankreatit (pankreasın akut iltihaplanması), akut ödem (doku şişmesi) veya hemorajik pankreatit (kanamalı pankreatit) gibi pankreatit türlerinin gelişimine neden olabilir. (Viswanathan ve Prabhu, 2011; Bawaskar ve Bawaskar, 2012; Demir, 2020).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

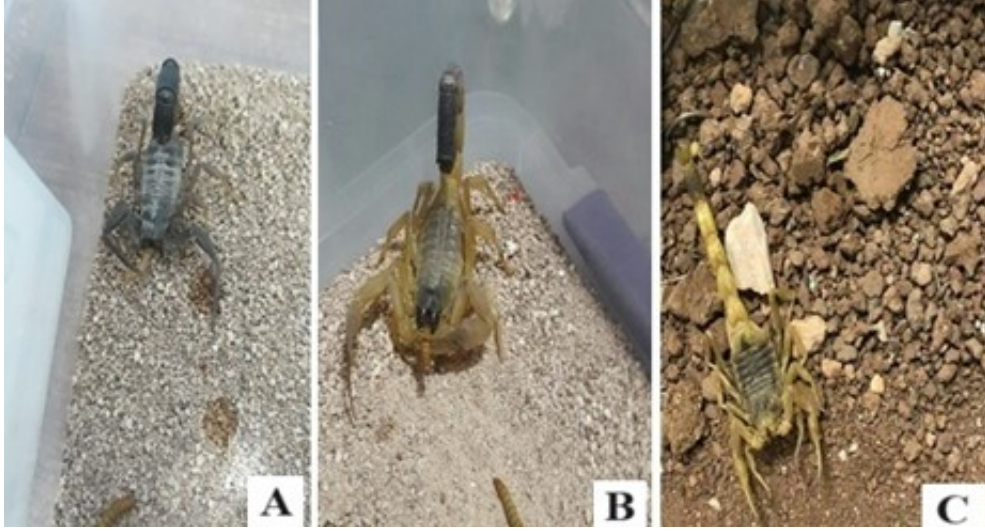
3.1. ARAZİ ÇALIŞMALARI

Arazi çalışmaları Şanlıurfa ve Şırnak illerinde yapılmıştır. *Andoctonus crassicauda* ve *Leiurus abdullahbayrami* türleri Şanlıurfa’ da, *Hottentotta saulcyi* türü ise Şırnak’ ta yapılan arazi çalışmalarında toplandı. Her türden 10 adet olmak üzere toplamda 30 adet akrep toplandı. Akrepler gece ve gündüz yapılan arazi çalışmalarıyla toplandı. Gece yapılan arazi çalışmaları 21:00-24:00 saatleri arasında, sıcaklığın uygun olduğu günlerde, el fenerleri kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 3.1). Örnekler taş ve kaya altlarından, bitki diplerinden, zeminden pens yardımıyla toplanarak elde edildi. Gündüz aramalarında örnekler taş, çürümüş ağaç kütüklerinin altlarından ve içinden pens yardımıyla yakalandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Gece ve gündüz yapılan arazi çalışmaları

Yakalanan örnekler Harran Üniversitesi Venom Araştırma Laboratuvarında havalandırma delikleri açılmış 25×14×13 cm boyutlarındaki plastik kaplara konuldular. Laboratuvara getirilen akrepler ortama adapte olmaları için plastik kaplar toprakla dolduruldu ve içerisine su kapları konuldu. Beslenmeleri un kurduyla yapıldı. Akrep kapları haftada bir olmak üzere temizlendi.



Şekil 3.3. Araziden toplanan örneklerin laboratuvar ortamında adaptasyonu (A: *Androctonus crassicauda*, B: *Hottentotta saulcyi*, C: *Leiurus abdullahbayrami*) beslenmesi

3.2. ZEHİR SAĞIMI

Arazide toplanan örneklerin zehir sağımları için akrepler koli bandıyla masaya sabitlendi ve elektrik stimülasyonu yöntemiyle 16 volt elektrik verilerek yapıldı. Venomlar ependorf tüplere toplandı. Sağımdan 3 gün sonra akrep telsonları steril şartlarda kesildi. Sağımı yapılan akreplere ait venom ve telsonlar, gerekli analizler yapılncaya kadar -80°C dondurucuda saklandı.

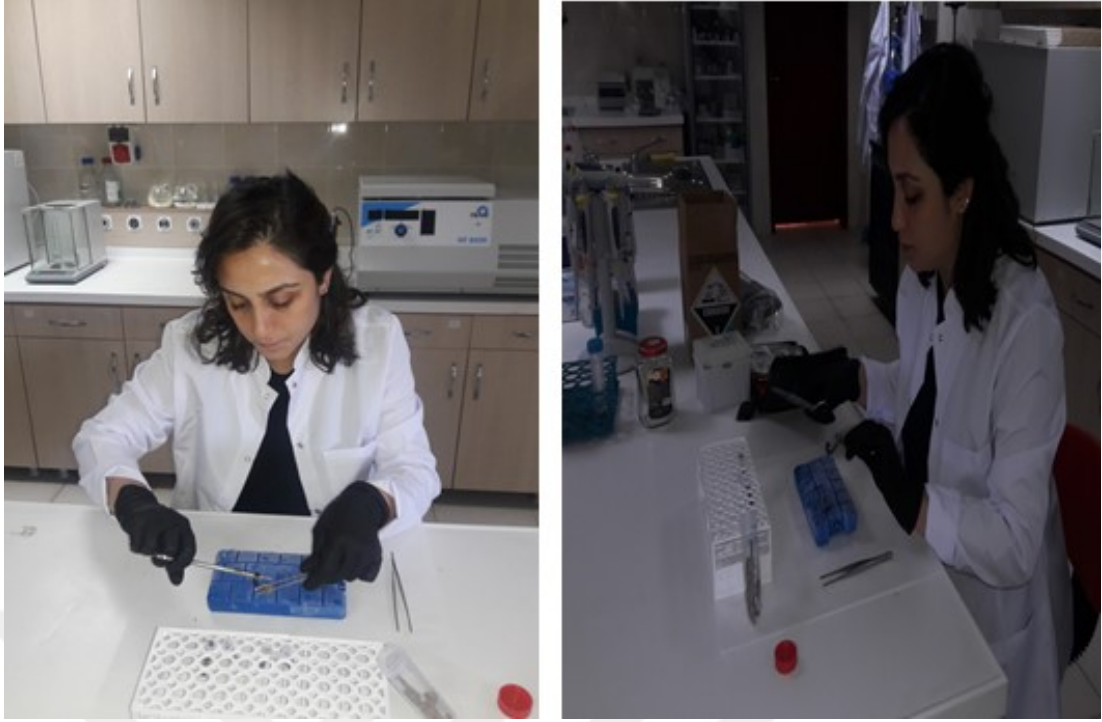


Şekil 3.53. . Akrelerden elektrik stimölasyonu yöntemiyle zehir sağımı

3.3. ZEHİR BEZİNİN TRANSKRİPTOMİK ANALİZLERİ

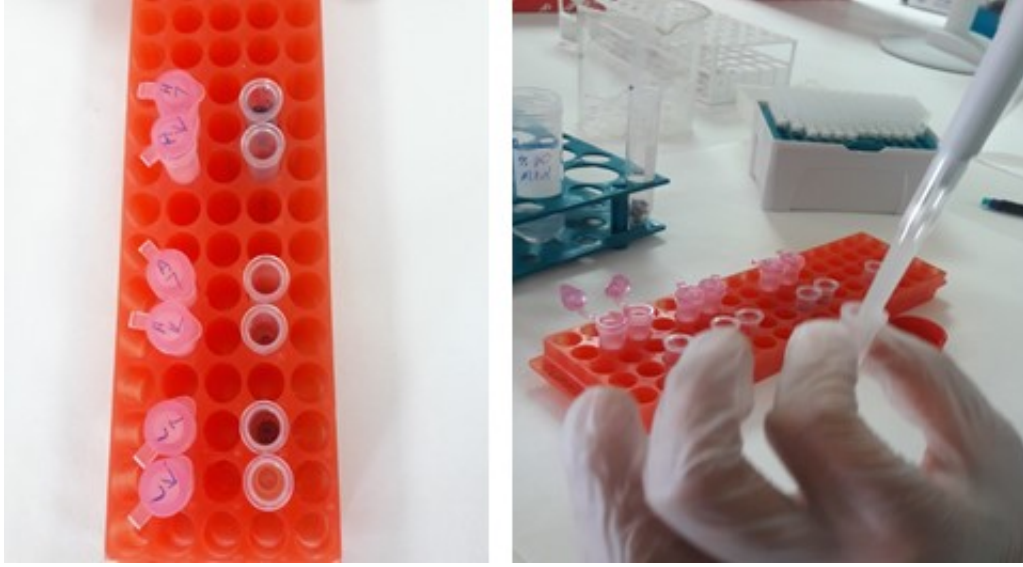
3.3.1. mRNA İzolasyonu ve cDNA Kütüphanesi hazırlama

Elde edilen zehir dokusundan transkriptom analizi yapmak için QIAGEN izolasyon kitiyle RNA izole edildi. İzolasyona başlarken öncelikle her bir akrep türünün zehir bezleri kesilip ayrı ayrı ependorf tüplere konuldu.



Şekil 3.54. İzolasyon öncesi telsonlardan zehir bezlerinin kesilmesi

Tüplere 500 μ L qiazole eklenip homojenizatörde 30-40 dakika homojenizasyona bırakıldı. Daha sonra üzerlerine 200 μ L kloroform ekleyip 15 saniye vortekslendi ve 10.000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Tüplerde oluşan 3 fazdan en üstteki faz temiz tüplere alındı, % 100 etanol ile pipet yapılarak 700 μ l alındı ve filtreli tüplere eklendi. Ardından 5000 rpm' de 15 saniye santrifüj edildi. Bu işlem hazırlanan karışım bitene kadar devam edildi. Filtreli tüplere ilk olarak 700 μ l KW1 eklendi ve 5000 rpm' de 15 saniye santrifüj edildi. Ardından 500 μ l RPE eklendi ve 5000 rpm' de 15 saniye santrifüj edildi. Daha sonra 500 μ l RPE eklendi ve 5000 rpm' de 2 dakika santrifüj edildi. Son aşamada filtreler temiz tüplere alındı ve filtrelerin üzerine RNAase free buffer 30 μ l eklenerek, 5000 rpm' de 1 dakika santrifüj edildi ve izolasyon işlemi tamamlandı.



Şekil 3.55. Akrep zehir bezlerinde izolasyon işlem basamakları

Agilent Biyoanalizör 2100 cihazında RNA 6000 Pico Kit (Agilent Technologies, ABD) kullanılarak RNA konsantrasyonu ve kalite kontrolü yapıldı.

3.3.2. RNA Kalite Kontrol

İzole edilmiş total RNA materyaline ait kalite kontrol işlemlerinde elektroforez tabanlı yöntemler kullanılarak, miktar, saflık ve yapısal bütünlük tayini gerçekleştirilir. Ölçümlerde 4200 TapeStation sistemi (Agilent, ABD, #G2991BA) kullanıldı.

3.3.3. Kütüphane Hazırlığı (mRNA Prep)

İzole edilmiş RNA materyalinin kütüphane hazırlığında, Illumina Stranded mRNA Prep kiti (Illumina, ABD, #20040534) kullanıldı. Kit, tüm RNA içindeki hedeflenen mRNA'ların poly-A kuyruklarından yakalanması, rastgele parçalanması ve ardından birincil ve ikincil cDNA zincirlerinin oluşturulması esasına dayanır. Kütüphane hazırlık sürecinde sırasıyla, yakalama, parçalama, mRNA pürifikasyonu, cDNA sentezi, index-barkod dizilerinin eklenmesi ve pürifikasyon işlemleri üretici firmanın kit yönergeleri takip edilerek gerçekleştirildi.

3.3.4. Dizileme (Illumina NovaSeq 6000)

Dizileme çalışmasında Illumina NovaSeq 6000 yeni nesil dizileme platformu kullanılmaktadır. Bu basamakta 150 bp uzunlukta çift yönlü (paired-end) okuma elde edilmesi planlanır. Kütüphane ölçümü, seyreltme ve yükleme işlemleri, üretici firmanın ilgili yönergeleri takip edilerek gerçekleştirildi.

3.3.5. Biyoinformatik analizler

Diziler, fastp v0.23.4 (Chen ve ark., 2018) kullanılarak düzenlendi ve filtre edildi. Bu işlem sırasında 3' ve 5' uçlarındaki minimum kalite değeri 30 (1bp ile), minimum ortalama okuma kalite değeri 30, minimum belirsiz baz sayısı 0 ve minimum okuma uzunluğu 100bp olarak ayarlandı. Düzeltme işlemi için kullanılan adaptör dizileri, Nextera transpozaz dizileriydi. (R1 TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG, R2-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG). Kırpılmış ve filtrelenmiş okumalar, akrep türü *Centruroides sculpturatus*'un (Erişim: GCF_000671375.1) koşullandırma dizileriyle eşlendi, BWA (Li, 2013) (sürüm 0.7.17-r1188) kullanılarak eşlenen ve samtools (Danecek ve ark., 2021) (sürüm 1.15.1) idxstats işlevi kullanılarak nicelendirilen diziler, R (R Core Team, 2022) (sürüm 4.2.1) temel işlevleri kullanarak TPM değeri hesaplamak için bir formül kullanıldı ve değerlendirildi.

3.4. ZEHRİN METABOLİT PROFİLİNİN İNCELENMESİ

Androctonus crassicauda, *Hottentotta saulcyi*, ve *Leiurus abduhbayrami* türlerine ait zehirler -80°C dondurucudan çıkarılarak, ultra saf su ilavesiyle 1:1 oranında dilüe edildi ve 5 dakika vortekslendi. Zehirler vortekslendikten sonra ultrasonikatörde 30 dakika bekletildi. Daha sonra 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi, supernatant alınarak yeni bir ependorf tüpe aktarıldı. Amino asit çalışması için JASEM amino asit kiti kullanıldı. Akrep örneklerinin zehirlerinden steril ependorf tüplere 50µl alındı. Bu tüplerin üzerine aminoasit kitinde bulunan Internal Standart solüsyonundan 50µl eklendi. Her tüp 5 sn'ye vortekslendi. Ardından vortekslenen tüplerin üzerine kit içerisinde bulunan Reagent-1 solüsyonundan 700µl eklendi. Tüpler tekrar 15 sn'ye vortekslendi. Vortekslenen tüpler 5 dk 3000 rpm de santrifüj edildi. Santrifüjden dikkatli bir şekilde alınan örneklerin süpernatant kısmı steril pipet yardımı ile HPLC vial tüplerine aktarıldı. Analiz için LC-MS/MS (Shimadzu 8045, Japan) cihazında ki HPLC kısmında bulunan tepsisi bölmesine yerleştirildi ve okutuldu. Mobil faz olarak aminoasit kiti içerisindeki Mobil Faz-A ve Mobil Faz-B kullanıldı. Kolon olarak Restek LC Columns kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Zehir Bezinin Transkriptom Analizleri

Farklı akrep türleri üzerinde yaptığımız zehir bezi transkriptom analizleri sonucunda 35.540 adet peptid tespit edildi. Bunlardan 9.254'ü tanımlanamayan proteinler, 124'ü zehir proteinleri (zehir alerjisi, zehir faktörü benzeri, zehir metaloproteinaz) ve diğerleri enzimler, anti mikrobiyal peptitler (AMP) ve kanserle ilişkili proteinler olarak tanımlandı. Zehir bezi transkriptom analizlerinin genel istatistikleri aşağıdaki çizelgede verilmektedir. Tekrarlı okumalar *Androctonus crassicauda* için %81,2, *Hottentotta saulcyi* için %82,5 ve *Leiurus abdullahbayrami* için %75,9 oranında yapıldı. GC oranları sırasıyla *A. crassicauda* %37, *H. saulcyi* %36 ve *L. abdullahbayrami* %37 idi. Okuma uzunlukları sırasıyla *A. crassicauda* 134 bp, *H. saulcyi* 133 bp ve *L. abdullahbayrami* 134 bp idi. Son olarak toplam diziler sırasıyla *A. crassicauda* 41.6, *H. saulcyi* 27.0 ve *L. abdullahbayrami* 20.7 milyon olarak ölçüldü.

Çizelge 4.1. Farklı akrep türlerinde zehir bezi transkriptom analizlerinin genel istatistikleri (AC: *Androctonus crassicauda*, HS: *Hottentotta saulcyi*, LA: *Leiurus abdullahbayrami*)

Sample Name	% Dups	% GC	Read Length	M Seqs
RP23-025-AC	81.2%	37%	134 bp	41,600,000
RP23-025-HS	82.5%	36%	133 bp	27,000,000
RP23-025-LA	75.9%	37%	134 bp	20,700,000

İncelediğimiz *Androctonus crassicauda* türünde transkriptom analizi sonucunda 8 farklı protein elde edildi. Bu proteinler; meme kanseri anti-östrojen direnci protein 3 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 910), BRCA2 ile etkileşime giren transkripsiyonel baskılayıcı EMSY benzeri izoform X1 (amino asit dizisi uzunluğu 889), apoptoz düzenleyici R1 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 189), venom fosfodiesteraz 2 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 770), serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 3 homologu (amino asit dizisi uzunluğu 377), C3 ve PZP benzeri alfa-2-makroglobulin alanı içeren protein8 (amino asit dizisi uzunluğu 367), kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X1 (amino asit sekansı uzunluğu 974) ve venom metaloproteinaz 3 benzeri izoform X1' dir (amino asit dizisi uzunluğu 658). Bu proteinlerin adı, ID kodu, benzerlik oranları ve amino asit dizileri aşağıdaki çizelgede verilmiştir. En uzun aminoasit dizisi kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X1 proteininde 974 aminoasit dizisi, en kısa aminoasit dizisi apoptoz düzenleyici R1 benzeri proteinde 189 amino asit dizisi

içermektedir.

Çizelge 4.1. *Androctonus crarsicauda* türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 8 farklı protein adı, ID kodu, benzerlik oranları ve amino asit dizileri

N	Protein Adı	ID Kodu	Benzerlik Oranı	Amino Asid Dizisi
1	Breast Cancer Anti-Estrogen Resistance Protein 3-Like	XP_023215813.1	%97.74	MEPMIGTEASPEELKKALEWELSLSNSDL RSHAWYHGTIPRQRAEELMSNDGDFLIRD CISHPGDYVLTC KWKNSSLHVFVINKVVFQ PFTVYEKVVQYQFEEDSFDTVPDLVTYYVG NKRAVSAASGAIINCPVNRTMPLTTYASR YGLQCQLHYAALAAETDIREADRSPCLAR RHSQPCEDGSLSAESHPTFNKTATSSVA GFATLRPHHQPAGWKGMARIGSDPQLSPT QERDGPVPPKPSRLPSQHVYTEPIYKDGNA SNGHSPNINITDMSTPNLNPPSCYDLNKF ATTLLQTENKPLLKEPMIGTEASPEELKKAL EWELSLSNSDLRSHAWYHGTIPRQRAEEL MSNDGDFLIRDCISHPGDYVLTC KWKNSS LHFVINKVVFQVFPFTVYEKVVQYQFEEDSF TVPDLVTYYVGNKRAVSAASGAIINCPVN RTMPLTTYASRYGLQCQLHYAALAAETD IREADRSPCLARRHSQPCEDGSLSAESHPT FNKTATSSVAGFATLRPHHQPAGWKGM ARIGSDPQLSPTQERDGPVPPKPSRLPNQHV YTEPIYKDGNA SNGHSPNINITDMSTPNL NPPSCYDLNKFATTLLQTENKPLESSTLLQ IRRLLENGPRILANHLTRIDLMLKNSTD FDFGLGVVSGLELITLPQGKQLRMDLMER NHCLRYFVAVTILTCSNEEERANLVHKWI QIAIETKTALGNLYGFTAIMQGLALQQIDR LRSTWLTVRQNFTENAFTYETKLRPTLKS MQECSNPQAPNTCIPYLLSLITILQRHIEVI ENNELNAEPQVEPSGKKTVNLSLGLQWE QSASDYGLQLLLLHLELGRTFVQQCTTYR RNGEIVLDNVKFDNSILDMFKTEFHLKFL WGSKGANVAAAERYTKFDQVLQVMSE CESS

2	BRCA2-interacting transcriptinonal repressor EMSY-like isoform X1	XP_023216198.1	%81.19	MMWPMLLDFSRDECKRILRKLELEAYAA IVSAFRAQGELTKDKKKLLQELSTVLSISL ERHRAEIRRAVNDERLNTIADRIYGPNTSV DWAIEGRRLIPLLPRLPQTAFATAVANSV ASIQAANKNATMPLPSASGVKEGAIPPTSSA PPTPSRTPTPTQTCRVSLPSSIPLKTTSVNG NNSGNLTGGIITRLPQETNEENQSEDFNGK KRKRSASLDSASLPEKITISSNPLVSDENQ APEKPVTITTNGMLCSSTPVTQTATITRTF ATTPIRITLPSQKQNAAVSSSAIPKQVVLQ QLQTSNASTTANVFQRSVSIPVVKTVSAT ATTITQKQSKQTVSPSVQGTLLLTGKVSTT TTTGQSHPLNVPIATVGTIARTRPKTLPPPR QSIRPRSSVLSINQNRMQFVGQNFTSQLPT PVAKSSLQIGTPIQVKQVSSDGRTVQIRQE GGVKIVAQGLPVAASKILPKPSTSPIVMVS STQGSNASKFSASSTVIQNQIGTKMVSIAS PQNNQSSNKVTAIGNVSLVSRTSQAFSTRT GSAVVQSPGVKPNVIVVHKAQVWPQSQG QGTIVVSGNPVVKLSTETVQETVITYIKS EGGRTNSSPAVVSVSSCNPANISALNSTAI TNFEQSEKNESSTVNQENKTTLVNSKQA DEKGEIDKKNNLLADVIEASGILSDGTESF PPSINAKSALSNOEEKISEELEPTETVVIE KETEVNLNVEETWTDESRLQEIAPLENDEK QNEEVNLNVDTSLSLEDINLPLSQLEDGQIL EIQTQDDAGVLSESTRITKEMLELLQQAG LHIQEIEVKSDLSNDSYQGSVPVKSTNEEE AVEMKNKESCELLKHEDNDSCEKLILCQQ DEYESSEVDKTINESTQSKNIQSNF
3	Apoptosis regulator R1-like	XP_023217360.1	%96.30	MAEHSTEEMEVSIVNDYISYQLHMNGY EWRSPATPTKVNSSLRSLGNEFKTRYRD SFLEMTDSLDIQPSTARATFLGVANELFSE GVTWARIVALFVFASEMALICHRMSHTEI VNDVAEWLSSYIKSNLLTWIRDHDGWDG LVTFHEGYDDLRSSESPWPVLKKFVCGVA AGVIGALTVGAILSSKS
4	Venom phosphodiesterase 2-like	XP_023218281.1	%95.56	MMERQTLLALVAFMVVAIVVIFIGGYFC GVNVAYAQRGQKHLNTGPSSEKLTEQTG PWYQQPCFPERNICPSDFRNPPLLLISLDGF RPDYFDKTPTLKRLAHCGASAPYMKPVFP TKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNNIYDPKL RRLFSVRRGQDNYNPIWWEAEPLWVTAE KQGKITGTYFWPGSEIKINGTRPTYIYKYN

NKVSWKTRLDITLSWLELPEESRPSFLTLY
 INEPDHASHAHGPESPQVNAVLAKLDSFIE
 LMITSLQQRNLLGCINIIIVSDHGMASDC
 NKVIELDNYINSSEVFLSPGPIGKIRPKGKR
 TVESVVEILRCNRPELLVYKKNDLPKRYH
 YSYNNKIEPIIIDLPTGWAIENKFDARRCR
 GGNHGYDYLHPEMNAIFLAFGPSFKKNLL
 VEPFINIELYELMAELIDVIPNPNGSKGSL
 HYILNNPKTLSASSMHKAITACVITNLQSS
 KFKGCNCPNGSLHQISPPSDFKHKQEVILP
 WGAPMIKDSEFTSICHLMNPDYVTAFFHKK
 LKQPSWISFPLTRKTSIMSGEARFFHGKCW
 ILDQRIPFENQANCTDYSILNRDHSIAIQR
 SLFPPAFAISENSESSVQLMTNAVPMYKTF
 HSEIWTQFLILLSKWTQKYDSLNIIMGPAF
 DERGNGLKMSVGELLERHNNKIPIPTHFF
 VVITRCEASNVPLNSCRSADLDVLSFLIPH
 KFPENCQNINEYFLKHSATVKDIEVLTGL
 KFFTSLSPYTAIALQTRLTDYEFNVK

5	Serologic ally Defined Colon Cancer Antigen 3 Homolog	XP_023224.1	%7 3.17	MENGA KSKDNPF S FKNFLKGSQDIDS NPG RRSVNEDADNPFSFRKFLS QGKSSETKRT YNQNVESSRSQDTASSSPKLSSQTTTSSSF EIYSDFVQELPDFIQDHLELKYEDDKIESN EHLYSNEHYTHTDYSRETYGNSGSSIES GQAEASLESFNGSSVSTSHNESRIENQIKN ESYCGLPDFISGTSKSETVATWSSSHLEES NCIGHSQSSLEDEIYKLREENAFLHEQLEK ARRTSDIQASKIVELQQKMIELREAEAQET AALEKMVQQVELNLKVTTTERAVLAEGQA AKLKQELKSLQALFKNVMKENDKLTGSS SDMECIAEKANSLASQIKVAADNAEQPLR NLLEGVEHLRLLATLVSSIGKVEEN
6	C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 8	XP_023212.1	%6 8.42	MPVGCGEQNMMYMGPTLYTLRFLKVKG DVTPEREGKIYNFIREGYNRQLTYRKEDG SYGAWIQTPSSTWLTAF TMKVFCQANKFI FVDENVICSGIKWLISHQKDDGAFEDAHP VYHYDMTGGVSGRIPMTAFVLIALQECSS CESEELNVARLKAELFLEISLPTINDPYIMA VVAYALSQSSSDLKHEANEK LKQMSIFDE DLNQRHWKENTRSHSIEVAAYALLTQLA LNDLSYSLPIVNWLN TQRLVGGSF PSTQD TVIALQALSQYSMQSPDLSLMCNVTSS NDRNLAKTLEFKNDNALVLQQFEV NKVG GTLFFRTAGNGVGS LAVKLRYNVPVPVE

KLCKVSRNIKSIKTLLKIKII

7	Colorectal mutant cancer protein-like isoform X1	XP_023227.30 728.1	%98.30	MASDGNSESSGSDSGSTPEEERIRRLFQTC DGNGDGYIDSQDLLAVCRQLNLEHCVEEI MEQLGADEQGRISYSEFLRRRMQLMNEIN ALTMQDQLQDPEHRTNTTDIHVAPPQOTS PAPGSGSTGHWPTGSDTSQGAASGKHES WEFDSGARDLSPEPNTLQKLIEAAGGSISG NSSDLLDLANKLHLAALASLKGEILELTN RLQHIGQERDMLERQLNRSQLDRLRLARE HEERLDQQAQRYEERLTELSIIAELSKKL EIQRTNVIKEEDEFSSQSGEESRQSEAQSH CTSNDNNATESCSDRDFFLGNDSCVELSR FGETDSHPEVTRTILQDGEEASSGLGDNES SEDRLQLREVSDLPALTENRATSCHSLQI SQLQEEVLSLRAENTALQEQLGRQEAELN RTRASLASSREERDRLQRRIRELQTKLASL QSQSSQGSQTGSSPTRSKSPHINPTTGERTP TSREEVPIAKMAERVRLKKVESGDRHILG SEISSLGLSTTKVAEHLVHNVQEESHAQEI FQTLFSSGSTVPESKIREFEVEMERLNSRIE HLKSQNDLLNLTLEESKGQCDRLSVLIGK YESNNTALQLALSYSDQTIEAFEVLLALM ETEQGLILSNCRAAGLGALVKGSGEDDQE EVTALLKRSQDNRKSAENVARHFLQKLD RSFGIACSIPOGCNLSPWEDLSSHSTTTSTS SASSSSDGDFTKVDEQRLRDYIVQLKGDR AAVRTTVVELESVHVDPTVKDPPTFMDA QKLDLENVLMQELMAMKEEKAELKAQ VYLLEKEKTALELQLSSREAQEQAYLVQI EHLKSEVKENQQIAERLRTTQGGKVNQ QPWLERSPSGEMAEELAEAMKREMCMK ARIQELVNTLEKVTKNSEMRAQQSTEFVN DLKRANSALVTAFEKAKKKQQAKLKKVE QQMASMVERHSAQIRMLKQRIAMLEGET GHLMQTSNSDLQV
8	Venom metalloproteinase 3-like isoform X1	XP_023234.770.1	%70.35	MSFAVIFFGLATLWICGESKFEKFHERLSQ EELRKIFHVDLHNNVPEYDVVHVRSLSKR SIPSDDTKRVHLSAFGQNFHLNLKRNEHL EDRLKSMKLFAAETKGNELRYKEMEPQE HAISDMGVSYHDENQMAALLVNHAEDGS LRLEGTIGNHLVIKPIPKQLIVVEDNYVDD EMFLDEGDNTSTTHDMQRHLPTLSSVNH VVYKRKQNFPLSHSDYMELEAGYANNSD WTIRSRRTKRKAPTTVWPEVLVVIDYNTF

LLHGSDSRALKRYFVSFWNGVDLRYKVL
 ANPKVKISLAGMVVAKDKDATPYLEKNR
 LRPPNYDAVDAAGALSDMGKYLYREDRL
 PTFDLAVVITKLDMCRRQFNGGRCRGTA
 GFAYVGGACVVNKRLEKVNSVAIIEDSGG
 FSGIIVAAHEVGHLLGCVHDGSQPPSYLG
 GPGASNCPWEDGFIMSDLRHTDRGFQWS
 ACSIQQFKHFLQGETAVCLYNYPHDNQIL
 SRVLP GTTMSLDDQCRKDRGTTACFKDA
 RVCAQLFCYDTSSGFCVSFRPAAEGSTCG
 HGQVCRDGRVCGETENIIPDYTHYTPTYA
 GRHPNFVYRRTDRRGTPYISRTTREIITRT
 TPSQSPSSCEDNAQQLAGGLTCTEFLQRY
 GFRYCKHRYMKQKCKSQLKLCSHS

İncelediğimiz *Hottentotta saulcyi* türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 8 farklı protein; venom proteaz benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 390), venom metaloproteinaz antareaz benzeri TtrivMP_A (amino asit dizisi uzunluğu 739), Meme kanseri anti-östrojen direnç proteini 3 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 910), BRCA2 etkileşimli transkripsiyonel baskılayıcı EMSY -benzeri izoform X2 (amino asit dizisi uzunluğu 888), apoptoz düzenleyici R1 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 189), venom fosfodiesteraz 2-benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 770), serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 3 homologu (amino asit dizisi uzunluğu 377) ve kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X3'tür (amino asit dizisi uzunluğu 812). Bu proteinlerin adı, ID kodu, benzerlik oranları ve amino asit dizileri aşağıdaki çizelgede listelenmiştir.. En uzun aminoasit dizisi meme kanseri anti-östrojen direnç proteini 3 benzeri proteinde 910 amino asit dizisi, en kısa dizisi apoptoz düzenleyici R1 benzeri proteinde 189 amino asit dizisi içermektedir.

Çizelge 4.2. *Hottentotta saulcyi* türünün transkriptom analizi sonucunda elde edilen 8 farklı protein adı, ID kodu, benzerlik oranları ve amino asit dizileri

N o	Protein Adı	ID Kodu	Ben zerli k Or anı	Amino Asid Dizisi
1	Venom pr otease- like	XP_0 23210 205.1	%93 .33	MLHELFLLLVAVSFLMTSTLSSETVRERQ LFVVRRRPPYQLVNNVFGRVNECRMVDG SLGECSHIARCTFMLFDLRRRAFCLRNYLIP

GVCCPVKNQTKASLVQSTPVPVTPTSVPIV
IFTYPPAFQPVTVPALQCGISKTISRIVGG
FESAPSQWPWMAAIFLNTHRGREYWCGG
ALIDSRVVTAGHCLSDLREQKYRAKEM
SVRLGDHHLFFRGEDANPVDYRVAKVIQ
HPNFSRHGFFNDIGLLRLEKEVSFDDRIRPI
CLPERNSSGKNLVGMMATVIGWGTVNYG
GASSGSLHQVSIPIWDNADCDKRYFQPITR
GFVCAGFRAGGKDACQGDGSGSPLMLPDN
DRRWTVGLVSFGSRCAQEGYPGVYTRV
DTYLDWIRNHTGR

2	Venom metalloproteinase-like Ttriv MP_A	XP_023212.236.1	%81.25	MFVYLTISLFITITSVPTGREDVVYPSVE TLRSGIKRIKFRAIDQDIDLRLIPAGELISDD FVIYEGDHERRQPTEKIKSLKKKLYRDSEK GAALHIEEDGFTSIHGIISKKLRIEPEETITE GRRHRVFEVENMERGRIRTNDALMIPPG AIRNVTEAEKRSGICIVVEIVIVSEKTFTHS FGGKYDETAEYYHLRYLYVTITQVQNLMD DTMKLTLKVLLIGVITYDNTNEASFIQKSA IKICPNYLDSGDLIENMAEYYKNAKIPLID EADGVMLVTLTYGHIYVSILMNDDITPVD ANTIRPDYLSRNLAECYVYKADKKLSTG YIAIMFVYLTISLFITITSVPTGREDVVYP SVETLRSGIKRIKFRAIDQDIDLRLIPAGELI SDDFVIYEGDHERRQPTEKIKSLKKKLYR DSEKGAALHIEEDGFTSIHGIISKKLRIEPEE TITEGRRHRVFEVENMERGRIRTNDALM IPPGAIRNVTEAEKRSGICIVVEIVIVSEKTF THSFGGKYDETAEYYHLRYLYVTITQVQNL LMDTMKLTLKVLLIGVITYDNTNEASFIQ KSAIKICPNYLDSGDLIENMAEYYKNAKIP LIDEADGVMLVTLRPMADVYKRKCDLGT IGIAYVGSVCDNGYKYGISEDDEGNFYEY CHTFAHELAHMIACPHDEDSVSYIPGNP GTVECKWKYGYIMSYETNEQNGTKFSPC SRACVQQFVSLSMASCIVEEC
3	Breast cancer anti-estrogen resistance protein 3-like	XP_023215.813.1	%98.08	MEPMIGTEASPEELKKALEWELSLSNSDL RSHAWYHGTIPRQRAEELMSNDGDFLIRD CISHPGDYVLTCKWKNSSLHFVINKVVFQ PFTVYEKVQYQFEEDSFDTVPDLVTYYVG NKRAVSAASGAINCVPVNRMTPLTYYASR YGLQCQLHYAALAAETDIREADRSPCLAR RHSQPCEDGSLSAESHPGTFNKTATSSVA GFATLRPHHQPAGWKGMARIGSDPQLSPT

QERDGPPPKPSRLPSQHVVYTEPIYKDGNAP
 SNGHSPNINITDMSTPNLNPPSCYDLNKFAT
 TTLLQTENKPLLKEPMIGTEASPEELKKAL
 EWELSLSNSDLRSHAWYHGTIPRQRAEEL
 MSNDGDFLIRDCISHPGDYVLTCKWKNSS
 LHFVINKVVFQPFVYQYQFEEDSFD
 TVPDLVTYYVGNKRAVSAASGAINCPVN
 RTMPLTTYASRYGLQCQLHYAALAAETD
 IREADRSPCLARRHSQPCEDGSLSAESHPG
 TFNKTATSSVAGFATLRPHHQPAGWKGM
 ARIGSDPQLSPTQERDGPPPKPSRLPNQHV
 YTEPIYKDGNAPSNGHSPNINITDMSTPNL
 NPPSCYDLNKFATTTLLQTENKPLESSTLLQ
 IRRLLENGPRILANHLTRIDLMLKNSTD
 FDFGLGVVSGLELITLPQGKQLRMDLMER
 NHCLRYFVAVTILTCSNEEERANLVHKWI
 QIAIETKTALGNLYGFTAIMQGLALQQIDR
 LRSTWLTVRQNFTENAFTYETKLRPTLKS
 MQECSNPQAPNTCIPYLLSLITILQRHIEVI
 ENNELNAEPQVEPSGKKTVNLSLGLQWE
 QSASDYGLQLLLHLELGRTFVQQCTTYR
 RNGEIVLDNVKFDNSILDMFKTEFHLKFL
 WGSKGANVAAAERYTKFDQVLQVMSE
 RCESS

4	BRCA2-i nteracting transcripti onal repressor EMSY- like isoform X2	XP_0 23216 199.1	%10 0	MWPMLLDFSRDECKRILRKLELEAYAAIV SAFRAQGELTKDKKKLLQELSTVLSISLER HRAEIRRAVNDERLNTIADRIYGPNTSVD WAIEGRRLIPLLPRLVPQTAFTAVANSVAS IQAAKNATMPLPSASGVKEGAIPTTSSAPP TPSRTPTPTQTCRVSLPSSIPLKTTSVNGNN SGNLTGGIITRLPQETNEENQSEDFNGKKR KRSASLDSASLPEKITISSNPLVSDENQAPE KPVTTTNNGMLCSSTPVTTQATITRTFATT PIRITLPSSQKQNAAVSSSAIPKQVVLQQL QTSNASTTANVFQRSVSIPVVKTVSATATT ITQKQSKQTVSPSVQGTLTLLTGKVSTTTT GQSHPLNVPIATVGTIARTRPKTLPPPRQSI RPRSSVLSINQNRMQFVGQNFTSQLPTPV AKSSLQIGTPIQVKQVSSDGRVQIRQEGG VKIVAQGLPVAASKILPKPSTSPIVMVSST QGSNASKFSASSTVIQNQIGTKMVSIAASPQ NNQSSNKVTAIGNVSLVSRTSQAFASTRTGS AVVQSPGVKPNVIVVHKAQVWPQSQGGQ TTIVVSGNPVVKLSTETVQETVTYIQKSEG
---	---	------------------------	----------	---

GRTNSSPAVVSVCNPNISALNSTAITN
 FEQSEKNESSTVNQENKTTLNVNSKQADE
 KGEIDKKNNLLADVIEASGILSDGTESFPPS
 INAKSALSNDQEEKISEELEPTETTVVIEKET
 EVLNVEETWTDESRLQEIAPLENDEKQNE
 EVLNVDTSLSLEDINLPLSQLEDGQILEIQT
 QDDAGVLSESTRITKEMLELLQQAGLHIQ
 EIEVKSDLSNDSYQGSVPVKSTNEEEAVE
 MKNKESCELLKHEDNDSCEKLILCQQDEY
 ESSEVDKTINESTQSKNIQSNF

5	Apoptosis regulator R1-like	XP_0 23217 360.1	%95 .24	MAEHSTEEMEVSCIVNDYISYQLHMNGY EWRSPATPTKVNSSLRSLGNEFKTRYRD SFLEMTDSLDIQPSTARATFLGVANELFSE GVTWARIVALFVFASEMALICHRMSHTEI VNDVAEWLSSYIKSNLLTWIRDHDGWDG LVTFHGYDDLRSERPWPVLKKFVCGVA AGVIGALTVGAILSSKS
6	Venom p hosphodie sterase 2-like	XP_0 23218 281.1	%70 .91	MMERQTLALVAFMVVAIVVIFIGGYFC GVNVAYAQRGQKHLNTGPSSEKLTEQTG PWYQQPCFPERNICPSDFRNPPLLLISLDGF RPDYFDKTPTLKRLAHCGASAPYMKPVFP TKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNNIYDPKL RRLFSVRRGQDNYNPIWWEAEPLWVTAE KQGKITGTYFWPGSEIKINGTRPTYIYKYN NKVSWKTRLDTILSWLELPEESRPSFLTLY INEPDHASHAHGPESPQVNAVLAKLDSFIE LMITSLQQRNLLGCINIIIVSDHGMASDC NKVIELDNYINSSEVFLSPGPIGKIRPKGKR TVESVVEILRCNRPELLVYKKNLDPKRYH YSYNNKIEPIIIDLPTGWAIENKFDARRCR GGNHGYDYLHPEMNAIFLAFGPSFKKNLL VEPFINIELYELMAELIDVIPNPNGSKGSL HYILNNPKTSLASSMHKAITACVITNLQSS KFKGCNCPNGSLHQISPPSDFKHKQEVILP WGAPMIKDSEFTSICHLMNPDYVTAfhkk LKQPSWISFPLTRKTSIMSGEARFFHGKCW ILDQRIPFENQANCTDYSILNRDHSIAIQQR SLFPPAFAISENSESSVQLMTNAVPMYKTF HSEIWTQFLILLSKWTQKYDSLNIIMGPAF DERGNGLKMSVGELLERHNNKIPIPTHFF VVITRCEASNVPLNSCRSADLDVLSFLIPH KFPENCQNINEYFLKHSATVKDIEVLTGL KFFTSLSPYTAIALQTRLTDYEWfNVK

7	Serologic ally defined colon cancer antigen 3 homolog	XP_023224.251.1	%87.23	MENGA KSKDNPF S FKNFLKGSQDIDSNPG RRSVNEDADNPFSFRKFLSQGKSSETKRT YNQNVESSRSQDTASSSPKLSSQTTTSSSF EIYSDFVQELPDFIQDHLELKYEDDKIESN EHLYSNEHYTHTDYSRETYGNSGSSIES GQAEASLESFNGSSVSTSHNESRIENQIKN ESYCGLPDFISGTSKSETVATWSSSHLEES NCIGHSQSSLEDEIYKLREENAFLHEQLEK ARRTSDIQASKIVELQQKMIELREAEAQET AALEKMVQQVELNLKVTTTERAVLAEGQA AKLKQELKSLQALFKNVMKENDKLTGSS SDMECIAEKANSLASQIKVAADNAEQPLR NLLEGVEHLRLLATLVSSIGKVEEN
8	Colorectal mutant cancer protein-like isoform X3	XP_023227.730.1	%98.39	MEENKCIKGRGQRSRCDLHPQRGELHLA ALASLKGEILELTNRLQHIGQERDMLERQ LNRSQDLRLRLAREHEERLDQQAQRYEER LTELHSIIAELSKKLEIQRTNVIKEEDEF SQ QSGEESRQSEAQSHCTSDNNDNATESCSDR DFFLGNDSCVELSRFGETDSHPVTRTILQ DGEEASSGLGDNESEDRLQLREVSDLP ALTENRATSCHSLQISQLQEEVLSLRAENT ALQEQLGRQEAELNRTRASLASSREERDR LQRRIRELQTKLASLQSQSSQGSQTGSSPT RSKSPHINPTTGERTPTSREEVPIAKMAER VRLKKVESGDRHILGSEISSLGLSTTKVAE HLVHNVQEESHAQEIFQTLFSSGSTVPESK IREFEVEMERLNSRIEHLKSQNDLLNLTLE ESKGQCDRLSVLIGKYESNNTALQLALSY SDQTIEAFEVLLALMETEQGLILSNCRAAG LGALVKGSGEDDQEEVTALLKRSQDNRK SAENVARHFLQKLDRSFGIACSIPGCNLSP WEDLSSHSTTTSTSSASSSSDGDFTKVDE QRLRDYIVQLKGDRAAVRTTVVELESVH VDPTVKDPPTFMDAQKLDLENVLMQEL MAMKEEKAELKAQVYLLEKEKTALELQL SSREAQEQAYLVQIEHLKSEVKENQQIAE RLRTTQGGKVNNQQPWLERSPSGEMAE LAEAMKREMKMKARIQELVNTLEKVTKN SEMRAQQSTEFVNDLKRANSALVTAF EK AKKKQQA KKKVEQQMASMVERHSAQI RMLKQRIAMLEGETGHLMQTSNSDLQV

Çalıştığımız *Leiurus abdullahbayrami* türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 7 farklı protein; meme kanseri anti-östrojen direnç proteini 3 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 910), BRCA2 etkileşimli transkripsiyonel baskılayıcı EMSY benzeri izoform X2 (amino asit dizisi uzunluğu 888), apoptoz düzenleyici R1 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 189), venom fosfodiesteraz 2 (amino asit dizisi uzunluğu 770), serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 3 homologu (amino asit dizisi uzunluğu 377), C3 ve PZP benzeri alfa-2-makroglobulin alanı içeren protein 8 (amino asit dizisi uzunluğu 367) ve kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X2' dir (amino asit dizisi uzunluğu 970). Bu proteinlerin isimleri, ID kodları, benzerlik oranları ve amino asit dizileri aşağıdaki çizelgede listelenmiştir. En uzun dizi kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X2 proteininde 970 amino asit dizisi, en kısa dizi apoptoz düzenleyici R1 benzeri proteinde 189 amino asit dizisi içermektedir.

Çizelge 4.2. *Leiurus abdullahbayrami* türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 7 farklı proteinin isimleri, ID kodları, benzerlik oranları ve amino asit dizileri

N	Protein Adı	ID Kodu	Benzerlik Oranı	Amino Asit Dizisi
1	Breast cancer anti-estrogen resistance protein 3-like	XP_023215.813.1	%80.65	MEPMIGTEASPEELKKALEWELSLSNSDL RSHAWYHGTIPRQRAEELMSNDGDFLIRD CISHPGDYVLTCKWKNSSLHVFVINKVVFQ PFTVYEKVVQYQFEEDSFDTVPDLVTYYVG NKRAVSAASGAINCVPVNRTMPLTTYASR YGLQCQLHYAALAAETDIREADRSPCLAR RHSQPCEDGSLSAESHPTFNKTATSSVA GFATLRPHHQPAGWKGMARIGSDPQLSPT QERDGPMPKPSRLPSQHVYTEPIYKDGNA SNGHSPNINITDMSTPNLNPPSCYDLNKFA TTLLQTENKPLLKEPMIGTEASPEELKKAL EWELSLSNSDLRSHAWYHGTIPRQRAEEL MSNDGDFLIRDCISHPGDYVLTCKWKNS LHVFVINKVVFQPFVYEKVVQYQFEEDSF TVPDLVTYYVGNKRAVSAASGAINCVPN RTMPLTTYASRYGLQCQLHYAALAAETD IREADRSPCLARRHSQPCEDGSLSAESHPT FNKTATSSVAGFATLRPHHQPAGWKGM ARIGSDPQLSPTQERDGPMPKPSRLPNQHV

YTEPIYKDGNA PSNGHSPNINITDMSTPNL
 NPPSCYDLNKFATTLLQTENKPLESSTLLQ
 IRRLLLENGPRILANHLTRIDLDMKNSTD
 FDFGLGVVSGLELITLPQGKQLRMDLMER
 NHCLRYFVAVTILTCSNEEERANLVHKWI
 QIAIETKTALGNLYGFTAIMQGLALQQIDR
 LRSTWLTVRQNFTENAFTYETKLRPTLKS
 MQECSNPQAPNTCIPYLLSLITILQRHIEVI
 ENNELNAEPQVEPSGKKTVNILSLGLQWE
 QSASDYGLQLLLLHLELGRTFVQQCTTYR
 RNGEIVLDNVKFDNSILDMFKTEFHLKFL
 WGSKGANVAAAERYTKFDQVLQVMSE
 RCESS

2	BRCA2-interacting transcriptional repressor EMSY-like isoform X2	XP_023216.199.1	%76.09	MWPMLLDFSRDECKRILRKLELEAYAAI VSAFRAQGELTKDKKKLLQELSTVLSISLE RHRAEIRRAVNDERLNTIADRIYGPNTSVD WAIEGRRLIPLLPRLVPQTAFTAVANSVAS IQAAKNATMPLPSASGVKEGAIPTTSSAPP TPSRTPTPTQTCRVSLPSSIPLKTTSVNGNN SGNLTGGIITRLPQETNEENQSEDFNGKKR KRSASLDSASLPEKITISSNPLVSDENQAPE KPVTTTNGMLCSSTPVTQTATITRTFATT PIRITLPSSQKQNAAVSSSAIPKQVVLQQL QTSNASTTANVFQRSVSIPVVKTVSATATT ITQKQSKQTVSPSVQGTLTLLTGKVSTTTTT GQSHPLNVPIATVGTIARTRPKTLPPPRQSI RPRSSVLSINQNRMQFVGQNFTSQLPTPV AKSSLQIGTPIQVKQVSSDGRVQIRQEGG VKIVAQGLPVAASKILPKPSTSPIVMVSST QGSNASKFSASSTVIQNQIGTKMVSIA SPQ NNQSSNKVTAIGNVSLVSRTSQAFSTRTGS AVVQSPGVKPNVIVVHKAQVWPQSQQGG TTIVVSGNPVVKLSTETVQETVTYIQKSEG GRTNSSPAVVSVCNPNANISALNSTAITN FEQSEKNESSTVNQENKTTLNVNSKQADE KGEIDKKNNLLADVIEASGILSDGTESFPPS INAKSALS NQEEKISEELEPTETV VIEKET EVLNVEETWTDESRLQEIAPLENDEKQNE EVLNVDTSLSLEDINLPLSQLEDGQILEIQT QDDAGVLSESTRITKEMLELLQQAGLHIQ EIEVKSDLSNDSYQGSVPVKSTNEEEAVE MKNKESCELLKHEDNDSCEKLILCQQDEY ESSEVDKTINESTQSKNIQSNF
3	Apoptosis	XP_0	%96	MAEHSTEEMEVS CIVNDYISYQLHMNGY

	regulator R1-like	23217 360.1	.30	EWRSPATPTKVNSSLRSLGNEFKTRYRD SFLEMTDSLDIQPSTARATFLGVANELFSE GVTWARIVALFVFASEMALICHRMSHTEI VNDVAEWLSSYIKSNLLTWIRDHDGWDG LVTFHGYDDLRSSESPWPVLKKFVCGVA AGVIGALTVGAILSSKS
4	Venom p hosphodie sterase 2	XP_0 23218 281.1	%95 .65	MMERQTLLALVAFMVVAIVVIFIGGYFC GVNVAYAQRGQKHLNTGPSSEKLTEQTG PWYQQPCFPERNICPSDFRNPPLLLISLDGF RPDYFDKTPTLKRLAHCGASAPYMKPVFP TKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNNIYDPKL RRLFSVRRGQDNYNPIWWEAEPLWVTAE KQGKITGTYFWPGSEIKINGTRPTYIYKYN NKVSWKTRLDTILSWLELPEESRPSFLTLY INEPDHASHAHGPESPQVNAVLAKLDSFIE LMTSLQQRNLLGCINIIIVSDHGMASDC NKVIELDNYINSSEVFLSPGPIGKIRPKGKR TVESVVEILRCNRPELLVYKKNDLPKRYH YSYNNKIEPIIIDLPTGWAIENKFDARRCR GGNHGYDYLHPEMNAIFLAFGPSFKKNLL VEPFINIELYELMAELIDVIPNPNGSKGSL HYILNNPKTLSASSMHKAITACVITNLQSS KFKGCNCPNGSLHQISPPSDFKHKQEVILP WGAPMIKDSEFTSICHLMPDYVTAFFHKK LKQPSWISFPLTRKTSIMSGEARFFHGKCW ILDQRIPFENQANCTDYSILNRDHSAIQQR SLFPPAFAISENSESSVQLMTNAVPMYKTF HSEIWTQFLILLSKWTQKYDSLNIIMGPAF DERGNGLKMSVGELLERHNNKIPIPTHFF VVITRCEASNVPLNSCRSADLDVLSFLIPH KPPENCQNINEYFLKHSATVKDIEVLTGL KFFTSLSPYTAIALQTRLTDYEFNVK
5	Serologic ally defined colon cancer antigen 3 homolog	XP_0 23224 251.1	%86 .67	MENGAKSKDNPFSFKNFLKGSQDIDSNPG RRSVNEDADNPFSFRKFLSQGKSSETKRT YNQNVESSRSQDTASSSPKLSSQTTTSSSF EIYSDFVQELPDFIQDHLELKYEDDKIESN EHLYSNEHYTHTDYSRETYGNSGSSIES GQAEASLESFNGSSVSTSHNESRIENQIKN ESYCGLPDFISGTSKSETVATWSSSHLEES NCIGHSQSSLEDEIYKLREENAFLHEQLEK ARRTSDIQASKIVELQQKMIELREAEAQET AALEKMVQQVELNLKVTTTERAVLAEGQA AKLKQELKSLQALFKNVMKENDKLTGSS SDMECIAEKANSLASQIKVAADNAEQPLR

NLLEGVEHLRLLATLVSSIGKVEEN

6	C3 and PZP-like alpha-2-m acroglobu lin domai n-containi ng protein 8	XP_0 23212 124.1	%66 .67	MPVGCGEQNM MYMGPTLYTLRFLKVKG DVTPEREGKIYNFIREGYNRQLTYRKEDG SYGAWIQTPSSTWLTAF TMKVFCQANKFI FVDENVICSGIKWLISHQKDDGAFEDAHP VYHYDMTGGVSGRIPMTAFVLIALQECSS CESEELNVARLKAELFLEISLPTINDPYIMA VVAYALSQSSSDLKHEANEK LKQMSIFDE DLNQRHWKENTRSHSIEVAAYALLTQLA LNDLSYSLPIVNW LNTQRLVGGSPSTQD TVIALQALSQYSMQSQSPDLSLMCNVTSS NDRNLAKTLEFKNDNALVLQQFEVNKVG GTLFFRTAGNGVGS LAVKLRYNVPVPVE KLCKVSRNIKSIIKTLLKIKII
7	Colorecta l mutant cancer pr otein-like isoform X2	XP_0 23227 729.1	%9 7.49	MASDGNSESSGSDSGSTPEEERIRRLFQTC DGNGDGYIDSQDLLAVCRQLNLEHCVEEI MEQLGADEQGRISYSEFLRRRMQLMNEIN ALTMQDQLQDPEHRTNTTDIHVAPPQOTS PAPGSGSTGHWPTGSDTSQGAASGKHES WEFDSGARDLSPEPNTLQKLIEAAGGSISG NSSDLLDLANKLHLAALASLKGEILELTN RLQHIGQERDMLERQLNRSQLDRLRLARE HEERLDQQAQRYEERLTELHSIIAELSKKL EIQR TNVIKEEDEF SQQSGEESRQSEAQSH CTSNDNNATESCSDRGNDSCVELSRFGET DSHP EVTRTILQDGEEASSGLGDNESED R LLQLREVSDLPALTENRATSCHSLQISQLQ EEVLSLRAENTALQEQLGRQEAELNRTRA SLASSREERDRLQRRIRELQTKLASLQSQS SQGSQTGSSPTRSKSPHINPTTGERTPTSRE EVPIAKMAERVRLKKVESGDRHILGSEISS LGLSTTKVAEHLVHNVQEESHAQEIFQTL FSSGSTVPESKIREFEVEMERLNSRIEHLKS QNDLLNLTLEESKGQC DRLSVLIGKYESN NTALQLALSYS DQTIEAFEVLLALMETEQ GLILSNCR AAGLGALVKGSGEDDQEEVTA LLKRSQDNRKSAENVARHFLQKLDRSFGI ACSIPGCNLSPWEDLSSHSTTSTTSSASSS SDGDFTKVDEQRLRDYIVQLKGDRAAVR TTVVELESVHVDPTVKDPPTFMDAQKLDL ENAVLMQELMAMKEEKAELKAQVYLLE KEKTALELQLSSREAQEAYLVQIEHLKS EVKENQQIAERLR TTQGGKVNNQQPWLE RSPSGEMAEELAEAMKREMKMKARIQEL

VNTLEKVTKNSEMRAQQSTEFVNDLKRA
 NSALVTAFEKAKKKQQA KLKKVEQQMA
 SMVERHSAQIRMLKQRIAMLEGETGHLM
 QTSNSDLQV

4.2. Zehirlerin Metabolit Profilinin İncelenmesi

Akrep zehiri, çeşitli peptitler ve enzimler gibi molekül ağırlığı 5000 daltonun üzerinde makromoleküller ve küçük mikromoleküller içerir. Bu çalışmada *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi* ve *Leiurus abdullahbayrami* zehirlerinde serbest amino asit miktarları LCMS/MS yöntemleriyle belirlendi. Zehrin serbest amino asit profili LC-MS ile analiz edildi ve sonuçlar aşağıdaki çizelgede sunulmuştur.

LC/MS MS sonuçlarına göre: *Androctonus crassicauda* akrep zehirinde taurin, alfa-amobütirik asit, fosfoetanolamin, lizin, lösün ve arginin amino asitlerinin varlığı tespit edildi.

LC/MS MS sonuçlarına göre: *Hottentotta saulcyi* akrep zehirinde taurin, lizin, fosfoetanolamin, arginin, alfa-aminopimelik asit ve lösün amino asitlerinin varlığı tespit edildi.

LC/MS MS sonuçlarına göre: *Leiurus abdullahbayrami* akrep zehirinde alfa-aminobütirik asit, taurin, lizin, fenilalanin, arginosüksinik asit, lösün, histidin, arginin, pro-line amino asitlerinin varlığı belirlendi.

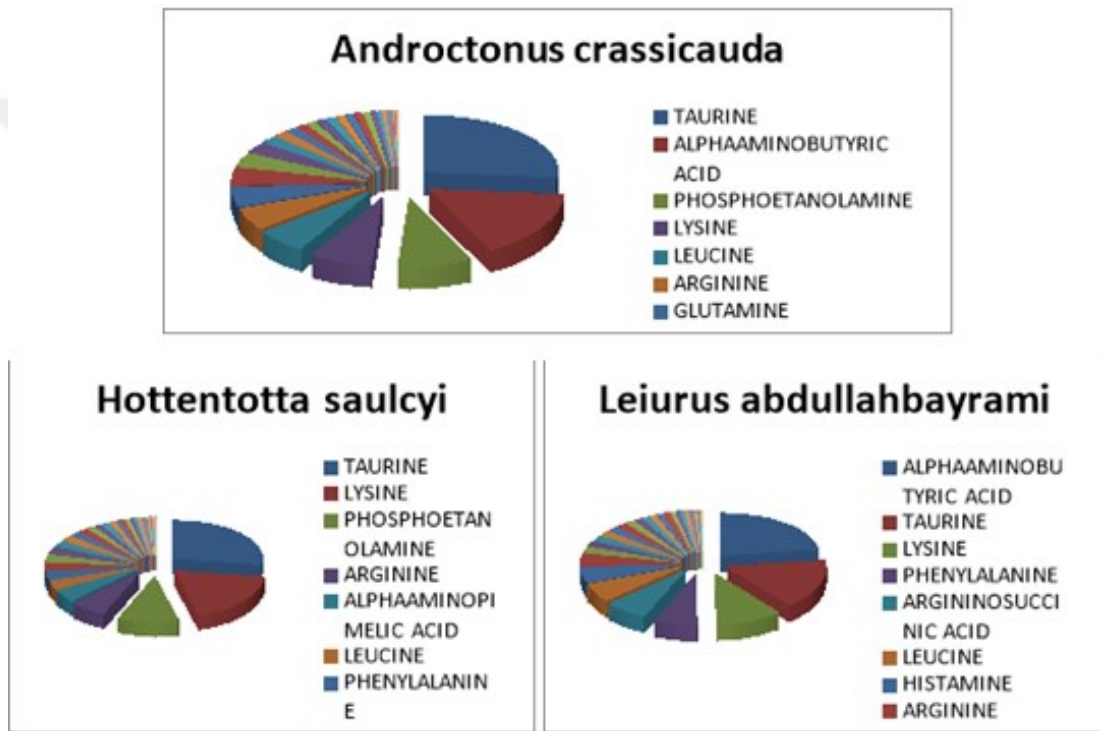
Çizelge 4.3. *Hottentotta saulcyi*, *Androctonus crassicauda* ve *Leiurus abdullahbayrami* zehirlerinin serbest amino asit profilinin LC-MS/MS ile incelenmesinin sonuçları. (Zehirde tespit edilen miktar (nmol/L))

Amino asit adı	<i>H. saulcyi</i> (nmol/L)	<i>A. crassicauda</i> (nmol/L)	<i>L.abdullahbayrami</i> (nmol/L)
Alanine	17,3	18,3	163,6
Arginine	58,9	49,5	371,9
Asparagine	11,4	15,0	159,1
Aspartic Acid	12,5	4,6	2,9

Citrulline	4,7	3,2	39,2
Glutamine	25,1	43,7	101,5
Glutamic Acid	14,3	7,6	144,2
Glycine	24,6	10,9	14,2
Histidine	4,2	2,8	28,8
Leucine	29,1	56,4	511,6
Isoleucine	20,1	10,6	87,4
Alloisoleucine	0,0	0,0	0,4
Lysine	173,2	70,5	948,2
Methionine	12,3	7,6	156,1
Ornithine	1,5	0,7	54,8
Phenylalanine	28,5	31,5	608,6
Proline	26,1	25,7	175,0
Serine	19,1	11,1	144,4
Threonine	3,4	12,9	29,5
Tryptophan	6,8	5,5	53,9
Tyrosine	6,6	9,1	39,6
Valine	9,4	9,1	88,5
Alphaaminoadi pic Acid	1,4	1,2	1,5
Alphaaminopi melic Acid	39,8	39,6	32,3
Anserine	0,0	0,0	0,0
Argininosuccin ic Acid	7,2	0,9	601,8
Alphaaminobut yric Acid	3,4	155,4	2050,8
Betaaminoisob utyric Acid	1,6	1,1	4,8
Gammaminobu tyric Acid	1,8	3,4	4,6
Beta-Alanine	0,3	0,5	0,0
Sarcosine	0,0	0,0	0,0
Cystathionine	0,2	0,0	4,8
Thiaproline	0,0	0,0	0,0
1-Methylhistidi ne	0,9	0,0	127,3
3-Methylhistidi ne	0,0	0,0	0,0
Hydroxylysine	4,7	0,4	119,2
	6,4	12,0	90,9
Hydroxyproline			
Cystine	0,0	0,0	1,1
Homocystine	0,0	0,0	0,0
Serotonin	0,0	0,0	54,0

Histamine	0,0	0,1	432,2
Etanolamine	0,3	0,2	0,6
Phosphoetanola mine	100,5	84,4	4,1
5-Oh-Trp	0,0	0,0	0,0
Taurine	251,7	251,8	1417,3

Androctonus crassicauda, *Hottentotta saulcyi* ve *Leiurus abdullahbayrami* türlerine ait zehirlerin metabolit analizlerindeki amino asit dağılım profilleri Şekil 4.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.1. *Androctonus crassicauda*, *Hottentotta saulcyi* ve *Leiurus abdullahbayrami* türlerinin zehirlerindeki Amino Asit dağılımının metabolit analiz profilleri

5. TARTIŞMA

Transkriptomik analizler son yıllarda yapılan moleküler çalışmaların en önemlilerindendir. Özellikle, zehir bezlerinden gelen zehir bileşenlerini kodlayan transkriptlerin dizisi, proteomik analizlerde düşük yoğunluklu veya düşük iyonlaşabilir potansiyel yapıların saptanmasına olanak sağlamıştır. Bu sayede zehir bileşenlerinin fizikokimyasal özellikleri nedeniyle tespit edilemeyen bu küçük potansiyel yeni yapıları ve işlevlerini anlamak mümkün olacaktır. Akreplerin zehir bezlerinin ilk transkriptom analizini gerçekleştirmek için eksprese edilen dizi etiketlerinde (EST'ler) Sanger dizilimi kullanılmıştır (Schwartz ve ark., 2007).

Şu anda, prosekanslama da dahil olmak üzere NGS teknolojileri, transkriptom analizinin (Rendón-Anayave ark., 2012) ve ifadeye göre sıralamanın (Illumi-na) (Luna-Ramírez ve ark., 2015) temelini oluşturmaktadır. Önceki çalışmalar, mevcut 20 akrep familyasının 7'sine ait akrep zehiri bezlerinden 37 transkriptom bildirmiştir. Yeniden kapsanan zehir bileşenlerinin sayısı, 2007 yılında akrep *Hadrurus gertschi* üzerinde Sanger sıralama teknolojisi kullanılarak 9 benzersiz zehir bileşeni dizisinin geri kazanıldığı ilk transkriptomik çalışmadan bu yana önemli ölçüde artmıştır (Schwartz ve ark., 2007).

Farklı akrep türleri üzerinde yaptığımız zehir bezi transkriptom analizleri sonucunda 35.540 adet peptid tespit edildi. Bunlardan 9.254'ü tanımlanamayan proteinler, 124'ü zehir proteinleri (zehir alerjeni, zehir faktörü benzeri, zehir metalo-proteinaz) ve diğerleri enzimler, anti mikrobiyal peptitler (AMP) ve kanserle ilişkili proteinler olarak tanımlandı. Yaptığımız zehir bezi transkriptom analizlerinin genel istatistikleri şu şekildedir: tekrarlı okumalar *Androctonus crassicauda* için %81,2, *Hottentotta saulcyi* için %82,5 ve *Leiurus abdullahbayrami* için %75,9 idi. GC oranları sırasıyla *A. crassicauda*'da %37, *H. saulcyi*'de %36 ve *L. abdullahbayrami*'de %37 idi. Okuma uzunlukları sırasıyla *A. crassicauda*'da 134 bp, *H. saulcyi*'de 133 bp ve *L. abdullahbayrami*'de 134 bp idi. Son olarak *A. crassicauda*'da toplam dizi sayısı 41,6 milyon, *H. saulcyi*'de 27,0 ve *L. abdullahbayrami*'de 20,7 milyon olarak ölçüldü.

Urodacus yaschenkoi akrep türü zehir bezi transkriptomunda, araştırmacılar 83.812.864 ham okuma elde etmişlerdir. Bağdaştırıcıların, belirsiz okumaların ve düşük kaliteli okumaların kaldırılmasının ardından dizi verileri 83.808.178 eşlenebilir okumayla sonuçlandırmışlardır. Aynı çalışmada; 62.505 tek genden yalnızca %51'i aranan veri tabanlarında önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu

dizilerden yalnızca 3.900'ü toksinlere, zehirle ilişkili bileşenlere (hiyalüronidaz, fosfolipaz ve diğer enzimler gibi) ve temizlik genlerine (örneğin ısı şoku proteini, β -aktin, RNA bağlayıcı protein) benzer dizilere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Zehir genleri için GenBank'ta bildirilen dizilerle uyumlu toplam 3900 dizi (unigen) elde etmişlerdir. Zehir toksinleri ve zehir üretiminde yer alan proteinler dahil olmak üzere 111 benzersiz amino asit dizisini kodlayan 210 dizi tanımlamışlardır (Luna-Ramírez ve ark., 2015).

So ve ark., (2021) transkriptomik ve proteomik yaklaşımların bir kombinasyonunu kullanarak, *Liocheles australasiae*, *Mesobuthus martensii* ve *Scorpio maurus palmatus* akrelerinin zehir bezlerinden elde edilen varsayılan korunmuş toksinler tanımlamış ve karşılaştırmışlardır. *M. martensii*, *S. maurus palmatus* ve *L. australasiae* için sırasıyla 43.481, 24.054 ve 40.432 transkript dizisi tespit etmişlerdir. Bu transkriptler arasında 22.215, 10.045 ve 14.145 dizi işlevsel olarak açıklandığını belirtmişlerdir. Zehir bezi proteomları için toplam sayı 1.644 (*M. martensii*), 830 (*S. maurus palmatus*) ve 1.269 (*L. australasiae*) olarak belirtmişlerdir (So ve ark., 2021).

Bu çalışmada; *Androctonus crassicauda* türü ve *Hottentotta saulcyi* türünde 8 farklı protein, *Leiurus abdullahbayrami* türünde ise 7 farklı protein tanımlanıp seçildi. Seçilen proteinlerin zehir ve kanserle ilişkili proteinler olduğu dikkate alınarak bu seçim yapıldı. Bu çalışmadan elde edilen verilerle kanser tedavi potansiyeli olabilecek proteinler belirlendi.

Kayhan ve ark. 2023'te; ham akrep zehirinin MCF-7 ve A549 kanser hücreleri ile L929 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin sonuçları Mann Whitely U testi kullanılarak ayrı ayrı istatistiksel olarak analiz etmişlerdir. Sonuç olarak L929 hücrelerinin % canlılık değerinin A-549 değerine çok yakın olmasına rağmen MCF-7 hücrelerinin % canlılık değerinin L929 değerinden yüksek olduğunu ancak çalışmadaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gözlemlemişlerdir. Bu hücrelerin çoğalma grafikleri incelendiğinde en yüksek zehir dozunun MCF-7 ve L929 hücrelerinin çoğalmasını bir miktar azalttığı ancak A549 hücrelerinin çoğalmasını etkilemediğini belirlemişlerdir. *Mesobuthus gibbosus* akrep ham zehirinin MCF-7 ve A549 kanser hücreleri üzerindeki apoptotik ve antiproliferatif etkilerini bir dereceye kadar gözlemlemişlerdir (Kayhan ve ark., 2023).

Mille ve ark. 2014 yılında *Parabuthus stridulus* akrep türü üzerinde yaptıkları çalışmada, transkriptom yaklaşımını kullanarak önemli sayıda ve çeşitlilikte

nörotoksin ve zehir peptidi tespit etmişlerdir. Çalışmalarında 111 EST elde edilmiş olup, bunların %20'si hücresel süreç transkriptlerine, %7'si varsayımsal proteinlere ve %17'si zayıf eşleşmiş dizilere karşılık gelmektedir. Ancak EST'lerin çoğunluğu, %56'sı, farklı zehir bileşenlerini, potasyum ve kalsiyumu, 'kanal toksinlerini,' kodlayan transkriptlere karşılık gelmektedir. Antimikrobiyal peptitler ve diğer zehir ve hücresel proteinlere karşılık gelen 111 EST analiz edilmiştir ve bu analiz, bilinen akrep zehiri bileşenlerine benzer ürünleri kodlayan önemli sayıda gen ortaya çıkarmıştır. Toplamda 17 benzersiz ve yeni dizi tanımlamışlardır (Mille ve ark., 2014)

İncelediğimiz *Androctonus crassicauda* türünde transkriptom analizi sonucunda 8 farklı protein elde edildi. Bu proteinler; meme kanseri anti-östrojen direnci protein 3 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 910), BRCA2 ile etkileşime giren transkripsiyonel baskılayıcı EMSY benzeri izoform X1 (amino asit dizisi uzunluğu 889), apoptoz düzenleyici R1 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 189), venom fosfodiesteraz 2 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 770), serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 3 homologu (amino asit dizisi uzunluğu 377), C3 ve PZP benzeri alfa-2-makroglobulin alanı içeren protein8 (amino asit dizisi uzunluğu 367), kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X1 (amino asit sekansı uzunluğu 974) ve venom metaloproteinaz 3 benzeri izoform X1' dir (amino asit dizisi uzunluğu 658).

Parabuthus stridulus akrep türünde venom proteini olarak, venom Nöropeptidini venom proteini tanımlanmıştır. Çalışmamızda *A. crassicauda* türünde venom fosfodiesteraz- 2 benzeri proteinini tanımladık.

İncelediğimiz *Hottentotta saulcyi* türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 8 farklı protein; venom proteaz benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 390), venom metaloproteinaz antareaz benzeri TtrivMP_A (amino asit dizisi uzunluğu 739), meme kanseri anti-östrojen direnç proteini 3 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 910), BRCA2 etkileşimli transkripsiyonel baskılayıcı EMSY -benzeri izoform X2 (amino asit dizisi uzunluğu 888), apoptoz düzenleyici R1 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 189), venom fosfodiesteraz 2-benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 770), serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 3 homologu (amino asit dizisi uzunluğu 377) ve kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X3'tür (amino asit dizisi uzunluğu 812).

U. yaschenkoi akrep türünde venom proteini olarak; venom proteini f-

spondin-1 benzeri, venom proteini (spondin benzeri) venom proteini-9, venom insülin benzeri venom proteini 302 benzeri, toksin benzeri zehir proteini-7 tespit edilmiştir. Çalışmamızda *H. saulcyi* akrep türünde tespit ettiğimiz venom proteinleri; venom metaloproteinaz antareaz benzeri TtrivMP_A, venom proteaz benzeri, venom fosfodiesteraz 2 benzeri' dir.

NaderiSoork ve ark. 2016 yılında *Odonthubuthus doriae* akrep türü üzerinde yaptıkları çalışmada 11 izole EST'nin sodyum kanalıyla ilişkili olduğu tespit etmişlerdir. Bu 11 izole EST'nin kodlama dizileri ve peptid dizileri belirleyip ve ardından her bir EST'nin sinyal peptidleri, sinyal peptid tahmin araçları kullanılarak tahmin etmişlerdir. Son olarak, sinyal peptidleri silinerek olgun peptidler tahmin etmişlerdir. Bu olgun ODNaTx peptidlerinin analizi, bu peptidlerin 8'indeki toplam amino asit sayısının Buthidae familyasındaki ODNaTx peptidlerine benzer olduğunu göstermiştir (NaderiSoork ve ark., 2016)

Romero-Gutierrez ve ark., Meksika akrep türü *Thorellius atrox*'un zehir bezi transkriptlerinin ve zehir kompozisyonunun ayrıntılı bir incelemesini bildirmişlerdir. Illumina protokolüyle gerçekleştirilen RNA sekansı ile 20.000'den fazla birleştirilmiş transkript elde etmişlerdir. Bir veri tabanı araştırması ve açıklama stratejisinin ardından, potansiyel olarak zehir bileşenlerini kodlayan 160 transkript belirlemişlerdir. LC-MS ile yapılan toplu parmak izi, 135 ayrı zehir bileşenini tanımlamışlar; bunlardan beşi, transkriptomdan çevrilen varsayılan peptidlerin teorik kütleleriyle eşleşmiştir (Romero-Gutierrez ve ark., 2017).

Çalıştığımız *Leiurus abduhbayrami* türünde transkriptom analizi sonucunda elde edilen 7 farklı protein; Meme kanseri anti-östrojen direnç proteini 3 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 910), BRCA2 etkileşimli transkripsiyonel baskılayıcı EMSY benzeri izoform X2 (amino asit dizisi uzunluğu 888), Apoptoz düzenleyici R1 benzeri (amino asit dizisi uzunluğu 189), Venom fosfodiesteraz 2 (amino asit dizisi uzunluğu 770), Serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 3 homologu (amino asit dizisi uzunluğu 377), C3 ve PZP benzeri alfa-2-makroglobulin alanı içeren protein 8 (amino asit dizisi uzunluğu 367) ve kolorektal mutant kanser proteini benzeri izoform X2' dir (amino asit dizisi uzunluğu 970).

Uzair ve ark., akrep zehirinin antimikrobiyal, antiviral, anti-kanser ve immün hastalıklarda yürüttüğü biyolojik aktivitelerini kapsayan bir derleme hazırlamışlardır. Bu derleme aynı zamanda farklı akrep zehirlerinden türetilen peptitlerin evrimsel

perspektifini de açıklamaktadır. En önemli zehir peptidleri; Ctriporin, Klorotoksinler (cltx), Neoplidin I ve II, Meucin 24, Meucin 25 ve Hp 1090 olarak açıklanmıştır. Farmasötik aktiviteye sahip en bilinen akrep türleri; *Pandinus imperator*, *Buthus martensii*, *Mesobuthus eupeus*, *Leiurus quinnquestriatus*, *Tityus disrepans* ve *Heterometrus bengalensis* olarak belirtilmiştir. Peptitlerin kardiyovasküler olaylarda ve osteoporoz tedavisindeki rolü onların önemini ortaya koymaktadır. Peptitlerin patojenlere karşı rolü, cilt enfeksiyonları, ağrı giderici etkileri, anti-sıtma ve anti-viral etkileri ayrıntılı olarak tartışılmaktadır (Uzair ve ark., 2018).

Suhas'ın (2022) yürüttüğü çalışma, akrep peptidlerinin terapötik uygulamalarına ilişkin en son gelişmelerin bir derlemesidir. Çoğu durumda, peptidlerin birincil dizisinin yanı sıra etki mekanizması da verilmektedir ve bu nedenle daha fazla gelişme için kurşun moleküllerin araştırılması uygun görünmektedir. Bu nedenle, burada sunulan ilgili bulgular hem farmakolojik profilin iyileştirilmesi hem de yeni ilaçların geliştirilmesi için değerli bir kaynak olarak hizmet edebilir (Suhas, 2022).

Yaptığımız çalışmada LC/MS MS sonuçlarına göre: *Androctonus crassicauda* akrep zehirinde taurin, alfa-amobütirik asit, fosfoetanolamin, lizin, lösün ve arginin amino asitlerinin, *Hottentotta saulcyi* akrep zehirinde taurin, lizin, fosfoetanolamin, arginin, alfa-aminopimelik asit ve lösün amino asitlerinin, *Leiurus abdullahbayrami* akrep zehirinde alfa-aminobutirik asit, taurin, lizin, fenilalanin, arginosüksinik asit, lösün, histidin, arginin, pro-line amino asitlerinin varlığı diğer amino asitlere göre daha yüksek oranda tespit edildi.

Hücrel düzenleyici mekanizmaların son ürünleri olan metabolitlerin içeriği biyolojik sistemlerin genetik ve çevresel değişikliklere verdiği son tepkidir (Hu ve ark., 2013). Metabolomiklerin amacı biyolojik bir sistemdeki tüm küçük molekülleri analiz etmektir. Metabolomik henüz genomik ve proteomik kadar olgun olmasa da, kanser gibi hastalıklara yönelik biyobelirteçlerin bulunmasında diğerlerine göre daha umut verici bir teknolojidir (Karahalil, 2016).

Hu ve ark. iyonizasyon kütle spektrometresi kullanarak canlı akrep ve kurbağaların salgılarında metabolitler tespit etmişlerdir. MS spektrumunda lizin, serotonin, triptofan ve bazı lipitler tanımlamışlardır (Hu ve ark., 2013).

Örümceklerin, akreplerin ve kurbağaların salgılarında bulunan amino asitler, monoaminlerin öncüsü olarak görev yapar. Her iki metabolit sınıfı da zehirlerde veya

zehirlenmelerde değişken biyolojik işlevlere sahiptir. *Tityus serrulatus* akrebinin zehrindeki lizin ve triptofan, avı hareketsiz hale getirir ve kaçmasını engellemektedir (Hassanı ve ark., 1999).



6. SONUÇLAR

Bu çalışmada *A.crassicauda*, *H. saulcyi* ve *L. abdullahbayrami* zehirlerindeki serbest aminoasit miktarları LC-MS/MS yöntemleriyle belirlendi. LC-MS/MS sonuçlarına göre *A. crassicauda*'nın zehrinde taurin, alfa-aminobutirik asit, fosfoetanolamin, lizin, lösin ve arginin amino asitlerinin varlığı tespit edildi. *H. saulcyi*'de; taurin, lizin, fosfoetanolamin, arginin, alfa-aminopimelik asit ve lösin amino asitleri tespit edildi. *L.abdullahbayrami* zehrinde alfa-aminobutirik asit, taurin, lizin, fenilalanin, arginosüksinik asit, lösin, histamin, arginin ve prolin amino asitlerinin varlığı tespit edildi.

Sonuç olarak çalışmamız, *A. crassicauda*, *H. saulcyi* ve *L. abdullahbayrami* akrep türlerinin zehir bezlerindeki mRNA transkriptlerinin transkriptomik analizlerini ve dokularındaki zehirlerinin metabolik analizlerini gerçekleştiren dünyada ilk çalışma oldu. Bu akrep türlerindeki transkriptom çalışmada zehir bezlerinde yer alan olası proteinlerdeki aminoasit dizileri belirlendi, serbest aminoasit profili incelemesiyle zehir içerikleri ve zehirde yer alan aminoasitler birbiriyle kıyaslandı. Ayrıca akrep zehrinin amino asit profilinin moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak ortaya çıkarılmasıyla kanser tedavisinde yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olacak veriler elde edildi ve bu çalışmadan elde edilen verilerle kanser tedavi potansiyeli olabilecek proteinler tespit edildi.

7. ÖNERİLER

Çalıştığımız akrep türlerindeki transkriptom çalışmasında zehir bezlerinde yer alan olası proteinlerdeki aminoasit dizileri belirlendi, serbest aminoasit profili incelemesiyle zehir içerikleri ve zehirde yer alan aminoasitler birbiriyle kıyaslandı.

Akrep zehrinin amino asit profilinin moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak ortaya çıkarılması vekanser tedavi potansiyeli olabilecek proteinler tespit edilmesiyle,kanser tedavisinde yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olacak veriler elde edilebilir.



KAYNAKLAR

- A Polis, G., D Farley, R. (1979) Behavior and ecology of mating in the cannibalistic scorpion, *Paruroctonus mesaensis* Stahnke (Scorpionida: Vaejovidae) *Journal of Arachnology*, 7(1), 33-46.
- ABDEL-RAHMAN, M.; QUINTERO-HERNANDEZ, V., POSSANI, L. (2013) Venom proteomic and venomous glands transcriptomic analysis of the Egyptian scorpion *Scorpio maurus palmatus* (Arachnida: Scorpionidae). *Toxicon*, 73(2013), 193-207.
- Ahmadi, S.; M Knerr, J.; Argemi, L.; CF Bordon, K.; B Pucca, M.; ACerni, F.; C Arantes, E.; Çalışkan, F., H Laustsen, A. (2020) Scorpion venom: detriments and benefits *Biomedicines*, 8(5), 118.
- Almaaytah, A., Albalas, Q. (2014) Scorpion venom peptides with no disulfide bridges: A review *Peptides*, 51(2014), 35-45.
- Almeida, F.; Pimenta, A.; Figueiredo, S. D.; Santoro, M.; Eaucilaire, M. M.; Diniz, C., De, M. (2002) Enzymes with gelatinolytic activity can be found in *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus* venoms *Toxicon*, 40(7), 1041–1045.
- Aparecido dos Santos-Pinto, J. R.; Delazari dos Santos, L.; Andrade Arcuri, H.; Morato Castro, F.; Elias Kalil, J., Sergio Palma, M. (2014) Using proteomic strategies for sequencing and post-translational modifications assignment of antigen-5, a major allergen from the venom of the social wasp *Polybia paulista* *Acs Publications*, 13(2), 855-865.
- Baradaran, M.; Jalali, A.; Jolodar, A., Ghasemian, S. (2012) A new caerin-like antibacterial peptide from the venom gland of the Iranian scorpion *Mesobuthus eupeus*: cDNA amplification and sequence analysis *African Journal of Biotechnology*, 11(44), 10176–10181.
- Bawaskar, H., Bawaskar, P. (2012) Scorpion sting: update *J Assoc Physicians India*, 60(1), 46-55.
- Bazaa, A.; Marrakchi, N.; El Ayeb, M.; Sanz, L., (2005) Snake venomomics: Comparative analysis of the venom proteomes of the Tunisian snakes *Cerastes cerastes*, *Cerastes vipera* and *Macrovipera lebetina* *Proteomics*, 5(2005), 4223–4235.
- Bougis, P.; Rochat, H., Smith, L. A. (1989) Precursors of *Androctonus australis* scorpion neurotoxins: Structures of precursors, processing outcomes, and expression of a functional recombinant toxin II *Biol Chem*, 264(32), 19259–65.
- Bruntz, R.; Lindsley, C., Brown, H. A. (2014) Phospholipase D signaling pathways and phosphatidic acid as therapeutic targets in cancer *Pharmacological reviews*, 66(4), 1033-1079.
- Bryan, G. F.; Roelants, K.; E Champagne, D.; Scheib, H.; DA Tyndall, J.; F King, G.; J Nevalainen, T.; A Norman, J.; J Lewis, R.; S Norton, R.; Renjifo, C., C Rodríguez de la Vega, R. (2009) The Toxicogenomic Multiverse: Convergent

Recruitment of Proteins Into Animal Venoms *Annual Reviews*, 10(2009), 483–511.

- Bullington, S. (1996) Natural history and captive care of the flat rock scorpion *Hadogenes troglodytes* *Vivarium*, 7(5), 18-21.
- Caliskan, F.; Coronas, F.; Batista, C.; Zamudio, F., Possani, L. (2006) Characterization of venom components from the scorpion *Androctonus crassicauda* of Turkey: peptides and genes *Toxicon*, 48(1), 12-22.
- Chen, S.; Zhou, Y.; Chen, Y., Gu, J. (2018) fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor *Bioinformatics*, 34(17), i884–i890.
- Chippaux, J., Goyffon, M. (2008) Epidemiology of scorpionism: a global appraisal *Acta Tropica*, 107(2), 71-79.
- Cid-Urbe, J.; P Meneses, E.; Batista, C.; Ortiz, E., Possani, L. (2019) Dissecting toxicity: The venom gland transcriptome and the venom proteome of the highly venomous scorpion *Centruroides limpidus* (Karsch, 1879) *Toxins*, 11(5), 247.
- Cid-Urbe, J.; Veytia Bucheli, J. I.; Romero Gutierrez, T.; Ortiz, E., Possani, L. (2020) Scorpion venomics: a 2019 overview *Expert review of proteomics*, 17(1), 67-83.
- Conde, R.; Zamudio, F.; Becerril, B., Possani, L. (1999) Phospholipin, a novel heterodimeric phospholipase A2 from *Pandinus imperator* scorpion venom *FEBS Letters*, 460(3), 447-450.
- D Almeida, D.; C Scortecci, K.; S Kobashi, L.; F Agnez-Lima, L.; R B Medeiros, S.; A Silva-Junior, A.; Junqueira Azevedo, I., Fernandes-Pedrosa, M. (2012) Profiling the resting venom gland of the scorpion *Tityus stigmurus* through a transcriptomic survey *BMC Genomics*, 13(2012), 362.
- Danecek, P.; K Bonfield, J.; Liddle, J.; Marshall, J.; Ohan, V.; O Pollard, M.; Whitwham, A.; Keane, T.; A McCarthy, S.; M Davies, R., Li, H. (2021) Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience Giga Science*, 10(2), giab008.
- David, C. (2005) Scorpion stings *eMedicine Journal*, 2(12), .
- DEMİRİSOY, A.; DURMUS, Y., AKBULUT, A. (2001) Türkiye scorpiones (akrep) faunasinin sistematik ve biyolojik yönden incelenmesi *Çevre Bakanlığı Çevre Koruma Genel Müdürlüğü Hayvanları Koruma Dairesi Başkanlığı*, 1998(2001), .
- Deng, Y.; Gu, J.; Yan, Z.; Wang, M.; Ma d, C.; Zhang, J.; Jiang, G.; Ge, M.; Xu, S.; Xu, Z., Xiao, L. (2018) De novo transcriptomic analysis of the venomous glands from the scorpion *Heterometrus spinifer* revealed unique and extremely high diversity of the venom peptides *Toxicon*, 143(2018), 1-19.
- Dong, Z., Chen, Y. (2013) Transcriptomics: Advances and approaches *Springer Link*, 56(2013), 960-967.
- F King, G. (2011) Venoms as a platform for human drugs: translating toxins into therapeutics *Expert opinion on biological therapy*, 11(11), .
- F Schwartz, E.; Diego-Garcia, E.; C Rodríguez de la Vega, R., Possani, L. (2007) Transcriptome analysis of the venom gland of the Mexican scorpion *Hadrurus*

- gertschi (Arachnida: Scorpiones) *Springer Link*, 8(119), .
- Fet, V.; Sissom, W.; Lowe, G., Braunwalder, M. (2000) Catalog of the scorpions of the world (1758-1998) *BIOLOGICAL SCIENCES FACULTY RESEARCH* , 1(2000), .
- Fiehn, O. (2002) Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes *Springer Link*, 48(2002), .
- Fleissner, G., Fleissner, G. (2001) Night vision in desert scorpions *Scorpions 2001;In Memoriam Gary A Polis*, 2001(2001), .
- Fletcher, P.; D Fletcher, M.; Weninger, K.; E Anderson, T., M Martin, B. (2010) Vesicle-associated membrane protein (VAMP) cleavage by a new metalloprotease from the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus* *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, 285(10), .
- G Mille, B.; Peigneur, S.; Diego García, E.; Predel, R., Tytgat, J. (2014) Partial transcriptomic profiling of toxins from the venom gland of the scorpion *Parabuthus stridulus* *Toxicon*, 83(2014), .
- García-Villalvazo, P. E.; Jiménez-Vargas, J. M.; Lino-López, G. J.; Patricia Meneses, E.; Bermúdez-Guzmán, M. d. J.; Barajas-Saucedo, C. E.; Enciso, I. D.; Domingos Possani, L., Valde, L. L. (2023) Unveiling the Protein Components of the Secretory-Venom Gland and Venom of the Scorpion *Centruroides possanii* (Buthidae) through Omic Technologies *Toxins*, 15(8), 498.
- Gligorijević, V., Pržulj, N. (2015) Methods for biological data integration: perspectives and challenges *Journal of the Royal Society Interface*, 12(112), .
- Gordon, D.; Martin-Eauclaire, M.; Cestèle, S.; Kopeyan, C.; Carlier, E.; Ben Khalifa, R.; Pelhate, M., Rochat, H. (1996) Scorpion Toxins Affecting Sodium Current Inactivation Bind to Distinct Homologous Receptor Sites on Rat Brain and Insect Sodium Channels *Journal of Biological Chemistry*, 271(14), 8034-8045.
- Grzonka, Z.; Jankowska, E.; Kasprzykowski, F.; Kasprzykowska, R.; Łankiewicz, L.; Wicz, W.; Wiczczak, E.; Ciarkowski, J.; Drabik, P.; Janowski, R.; Kozak, M.; Jaskólski, M., Grubb, A. (2001) Structural studies of cysteine proteases and their inhibitors *Acta Biochimica Polonica*, 48(1), 1-20.
- Hakim, M. A., Yang, S. (2016) Discoveries of Serine Protease Inhibitors from Scorpions *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 9(4), .
- Hakim, M.; Xiao Peng, T.; YANG, S. L.; LU, Q. M., LAI, R. (2016) Protease inhibitor in scorpion (*Mesobuthus eupeus*) venom prolongs the biological activities of the crude venom *Chinese journal of natural medicines*, 14(8), .
- Hancock, R. E.; F Haney, E., E Gill, E. (2016) The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity *Nature Reviews Immunology*, 16(5), .
- Hassani, O.; Mansuelle, P.; Cestèle, S.; Bourdeaux, M.; Rochat, H., Sampieri, F. (2001) Role of lysine and tryptophan residues in the biological activity of toxin VII (Ts γ) from the scorpion *Tityus serrulatus* *European journal of biochemistry*, 260(1), .
- Higginbotham, R. (1965) Mast cells and local resistance to Russell's viper *The journal of*

immunology, 95(5), .

- Hu, B.; Wang, L.; Ye, W., Yao, Z. (2013) In vivo and real-time monitoring of secondary metabolites of living organisms by mass spectrometry *Scientific reports*, 3(1), .
- Jami, S.; Erickson, A.; M Brierley, S., Vetter, I. (2018) Pain-Causing Venom Peptides: Insights into Sensory Neuron Pharmacology *Toxins*, 10(1), .
- Juárez, P.; Sanz, L., J Calvete, J. (2004) Snake venomomics: Characterization of protein families in Sistrurus barbouri venom by cysteine mapping, N-terminal sequencing, and tandem mass spectrometry analysis *Proteomics*, 4(2), .
- Karahalil, B. (2016) Overview of systems biology and omics technologies *Current medicinal chemistry*, 23(37), 4221-4230.
- L Harrison, P.; Abdel-Rahman, M.; Miller, K., N Strong, P. (2014) Antimicrobial peptides from scorpion venoms *Toxicon*, 88(2014), 115-137.
- Lok So, W.; CN Leung, T.; Nong, W.; G Bendena, W.; Ming Ngai, S., HL Hui, J. (2021) Transcriptomic and proteomic analyses of venom glands from scorpions *Liocheles australasiae*, *Mesobuthus martensii*, and *Scorpio maurus palmatus* *Peptides*, 146(2021), .
- Luan, N.; Shen, W.; Liu, J.; Wen, B.; Lin, Z.; Yang, S.; Lai, R.; Liu, S., Rong, M. (2016) A combinational strategy upon RNA sequencing and peptidomics unravels a set of novel toxin peptides in scorpion *Mesobuthus martensii* *Toxins*, 8(10), 286.
- Luna Ramírez, K.; Quintero Hernández, V.; Juárez González, V. R., Possani, L. (2015) Whole transcriptome of the venom gland from *Urodacus yaschenko* scorpion *PLoS One*, 10(5), .
- Ma, Y.; He, Y.; Zhao, R.; Wu, Y.; Li, W., Cao, Z. (2012) Extreme diversity of scorpion venom peptides and proteins revealed by transcriptomic analysis: implication for proteome evolution of scorpion venom arsenal *Journal of Proteomics*, 75(5), .
- M McCourt, C.; G McArt, D.; Mills, K.; A Catherwood, M.; Maxwell, P.; J Waugh, D.; Hamilton, P.; M O'Sullivan, J., Salto Tellez, M. (2013) Validation of next generation sequencing technologies in comparison to current diagnostic gold standards for BRAF, EGFR and KRAS mutational analysis *PLoS One*, 8(7), .
- Martinez, G.; Hograindleur, J. P.; Voisin, S.; Abi Nahed, R.; M Abd El Aziz, T.; Escoffier, J.; Bessonnat, J.; Fovet, C. M.; De Waard, M.; Hennebicq, S.; Aucagne, V.; F Ray, P., Schmitt, E. (2016) Spermaurin, an La1-like peptide from the venom of the scorpion *Scorpio maurus palmatus*, improves sperm motility and fertilization in different mammalian species *Molecular Human Reproduction*, 23(2), .
- Monteiro, M.; Carvalho, M.; Bastos, M., Pinho, G. d. (2013) Metabolomics analysis for biomarker discovery: advances and challenges *Current medicinal chemistry*, 20(2), .
- MOUHAT, S.; JOUIROU, B.; MOSBAH, A.; DE WAARD, M., SABATIER, J. M. (2004) Diversity of folds in animal toxins acting on ion channels *Biochemical Journal*, 378(3), .
- NaderiSoorki, M.; Galehdari, H.; Baradaran, M., Jalali, A. (2016) First venom gland

transcriptomic analysis of Iranian yellow scorpion “*Odonthobuthus doriae*” with some new findings *Toxicon*, 120(2016), .

Nenilin, A., Fet, V. (1992) Zoogeographical analysis of the world scorpion fauna (Arachnida: Scorpiones) *Arthropoda Selecta*, 1(2), 3-31.

Nicholson, J. K.; Lindon, J., Holmes, E. (2008) 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data *Xenobiotica*, 29(11), .

Norberto Carcamo Noriega, E.; Domingos Possani, L., Ortiz, E. (2019) Venom content and toxicity regeneration after venom gland depletion by electrostimulation in the scorpion *Centruroides limpidus* *Toxicon*, 157(2019), 87-92.

ALEXANDER J. (1984). *Arthropods and human skin* (1. bs). Springer- Verlag. New York.

A. Merdivenci. (1981). *Medikal entomoloji ders kitabı* (3. bs). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi . İstanbul.

Ortiz, E.; Gurrola, G. B.; Ferroni Schwartz, E., Possani, L. (2015) Scorpion venom components as potential candidates for drug development *Toxicon*, 93(2015), 125-135.

Ouedraogo, M.; Baudoux, T.; Stévinny, C.; Nortier, J.; Colet, J.; Efferth, T., Duez, P. (2012) Review of current and “omics” methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms *Journal of ethnopharmacology*, 140(3), 492-512.

Ramanaiah, M.; Parthasarathy, P., Venkaiah, B. (1990) Purification and properties of phospholipase A2 from the venom of scorpion, (*Heterometrus fulvipes*) *Europe PMC*, 20(5), .

R Rokyta, D., J Ward, M. (2017) Venom-gland transcriptomics and venom proteomics of the black-back scorpion (*Hadrurus spadix*) reveal detectability challenges and an unexplored realm of animal toxin diversity *Toxicon*, 128(2017), .

Rendón Anaya, M.; Camargos, T., Ortiz, E. (2013) Scorpion venom gland transcriptomics *Toxinology Springer Dordrecht, The Netherlands*, 14(2013), .

Rendón-Anaya, M.; Delaye, L.; . Possani, L., Herrera Estrella, A. (2012) Global Transcriptome Analysis of the Scorpion *Centruroides noxius*: New Toxin Families and Evolutionary Insights from an Ancestral Scorpion Species *PLoS One*, 7(8), .

Romero Gutierrez, T.; Peguero Sanchez, E.; Cevallos, M.; Batista, C.; Ortiz, E., Possani, L. (2017) A Deeper Examination of *Thorellius atrox* Scorpion Venom Components with Omic Technologies *Toxins*, 9(12), 399.

S Morey, S.; Kiran, K., Gadag, J. (2006) Purification and properties of hyaluronidase from *Palamneus gravimanus* (Indian black scorpion) venom *Toxicon*, 47(2), .

Salabi, F., Jafari, H. (2022) Differential venom gland gene expression analysis of juvenile and adult scorpions *Androctonus crassicauda* *BMC Genomics*, 23(636), .

- AYTAÇ, G. (1992). *Mesobuthus gibbosus türü akrep zehirinin sıçanlara etkili minimal lethal dozunun (MLD50) saptanması* [YÜKSEK LİSANS TEZİ, EGE ÜNİVERSİTESİ].
- Salabi, F.; Vazirianzadeh, B., Baradaran, M. (2023) Identification, classification, and characterization of alpha and beta subunits of LVP1 protein from the venom gland of four Iranian scorpion species *Scientific reports*, 13(1), .
- Sollod, B.; Wilson, D.; Zhaxybayeva, O.; Gogarten, P.; Drinkwater, R., F King, G. (2005) Were arachnids the first to use combinatorial peptide libraries? *Peptides*, 26(2005), .
- Steawert, J., Jackman, J. (1979) House and landcape pests: Scorpions *Texas Agricultural Extension Service*, 1(1678), .
- Stephanie, M.; Nicolas, A.; Besma, J., Jean Marc, S. (2008) Animal toxins acting on voltage-gated potassium channels *Current pharmaceutical design*, 14(24), .
- Suhas, R. (2022) Structure, function and mechanistic aspects of scorpion venom peptides-A boon for the development of novel therapeutics *European journal of medicinal chemistry reports*, 6(2022), 100068.
- Sunagar., K.; Undheim, E.; Chan, A.; Koludarov., I.; Muñoz-Gómez, S.; Antunes, A., Fry, B. (2013) Evolution stings: the origin and diversification of scorpion toxin peptide scaffolds *Toxins*, 5(12), 2456-2487.
- Tabakmakher, V.; Krylov, N.; Kuzmenkov, A.; Efremov, R., Vassilevski, A. (2019) Kalium 2.0, a comprehensive database of polypeptide ligands of potassium channels *Scientific data*, 6(1), 73.
- T Hjelle, J. (1973) Observations on the birth and post-birth behavior of *Syntropis macrura* Kraepelin (Scorpionida: Vaejovidae) *The journal of arachnology*, 1(3), .
- TRUGUT, T. (1964) Turkey scorpions and the paraspecific effect of anti-*Androctonus crassicauda* scorpion serum prepared in Turkey *Turkish Journal of Hygiene and Experimental Biology*, 24(2), 146-155.
- Utkin, Y. (2017) Modern trends in animal venom research-omics and nanomaterials *World journal of biological chemistry*, 8(1), 4.
- UZAIR, B.; EIRSHAD, B.; KHAN, B.; AZAD, B.; MAHMOOD, T.; REHMAN, M., BRAGA, V. (2018) Scorpion venom peptides as a potential source for human drug candidates *Protein and peptide letters*, 25(7), 702.
- Vachon, M. (1951) A propos de quelques scorpions de Turquie collectés par M. le Professeur Dr. Curt Kosswig *Revue de la Faculté des Sciences de l'Université d'Istanbul*, 16(1951), 341-344.
- Valdez, L.; Cid-Urbe, J.; Romero, M.; Olamendi, T.; Jimenez-Vargas, J., Possani, L. (2020) Transcriptomic and proteomic analyses of the venom and venom glands of *Centruroides hirsutipalpus*, a dangerous scorpion from Mexico *Toxicon*, 179(2020), 21-32.
- Valdez Cruz, N.; Batista, C., Possani, L. (2004) Phaiodactylipin, a glycosylated heterodimeric phospholipase A2 from the venom of the scorpion *Anuroctonus*

- phaiodactylus *European journal of biochemistry*, 271(8), 1453-1464.
- V Lin King, J.; J Emrick, J.; JS Kelly, M.; Herzig, V.; F King, G.; F Medzihradzsky, K., Julius, D. (2019) A cell-penetrating scorpion toxin enables mode-specific modulation of TRPA1 and pain *Cell Genomics*, 178(6), .
- Veenstra, T. (2012) Metabolomics: the final frontier? *Genome medicine*, 4(40), 1-3.
- Verkman, A., Galletta, L. (2009) Chloride channels as drug targets *Nature reviews Drug discovery*, 8(2), 153-171.
- Verma, S.; Dixit, R., Pandey, K. (2016) Cysteine proteases: modes of activation and future prospects as pharmacological targets *Frontiers in pharmacology*, 7(2016), .
- Vetter, I.; Davis, J.; Rash, L.; Anangi, R.; Mobli, M.; Alewood, P., King, G. (2011) Venomics: a new paradigm for natural products-based drug discovery *Amino acids*, 40(1), 15-28.
- Viswanathan, S., Prabhu, C. (2011) Scorpion sting nephropathy *Nephrology Dialysis Transplantation Plus*, 4(6), 376-382.
- Von Reumont, B.; Campbell, L., Jenner, R. (2014) Quo vadis venomics? A roadmap to neglected venomous invertebrates *Toxins*, 6(12), 3488-3551.
- W Palm, N.; K Rosenstein, R., Medzhitov, R. (2012) Allergic host defences *Nature*, 484(7394), 465-472.
- Wang, Z.; Gerstein, M., Snyder, M. (2009) RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics *Nature reviews genetics*, 10(1), 57-63.
- Ward, M.; Ellsworth, S., Rokyta, D. (2018) Venom-gland transcriptomics and venom proteomics of the Hentz striped scorpion (*Centruroides hentzi*;Buthidae) reveal high toxin diversity in a harmless member of a lethal family *Toxicon*, 142(2018), 14-29.
- WILSON, L. (2000) Reproduction in scorpions, with special reference to parthenogenesis *European arachnology*, 2002(2000), 71-85.
- Wilson, L., Cuellar, O. (1999) A new all-female scorpion and the first probable case of arrhenotoky in scorpions *Journal of Arachnology*, 23(1), 149-153.
- Wilson R, L. (2018) The evolution and distribution of noxious species of scorpions (Arachnida: Scorpiones) *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 24(1), .
- Wright, P.; Noirel, J.; Ow, S., Fazeli, A. (2012) A review of current proteomics technologies with a survey on their widespread use in reproductive biology investigations *Theriogenology*, 77(4), 738-765.
- Xu, X.; Duan, Z.; Di, Z.; He, Y.; Li, J.; Li, Z., Li, W. (2014) Proteomic analysis of the venom from the scorpion *Mesobuthus martensii* *Journal of Proteomics*, 106(2014), 162-180.
- Yağmur, E.; Koç, H., Kunt, K. (2009) Description of a new species of *Leiurus ehrenbergi*, 1828 (Scorpiones: Buthidae) from Southeastern Turkey *Euscorpius*, 2009(85), 1-20.

- Zhang, X., Zhang, P. (2016) Scorpion venoms in gastric cancer (Review) *Oncology letters*, 12(5), 3683-3686.
- Zhang, Y. (2015) Why do we study animal toxins? *Zoological research*, 36(4), 183.
- Bücherl W. (1971). *Venomous animals and their venoms : Classification, Biology and Venom Extraction of scorpions, Venomous Invertebrates*(3. bs). Academic Press Inc.. London.
- ÇAĞLAR A. (2021). *Türkiye Klinikleri :Çocukluk Çağı Zehirlenmelerine Acil Yaklaşım*(1. bs). Türkiye Klinikleri. Ankara.
- ÇAĞLAR M. (1952). *Omurgasız hayvanlar :Anatomi-Sistematik*(1. bs). Zooloji Yayınları. İstanbul.
- H.L. ,*arXiv preprint arXiv:1303.3997*. <https://arxiv.org/abs/1303.3997>. <https://arxiv.org/abs/1303.3997> 22.09.2023
- Herms W. (1956). *Medical Entomology* . The Canadian Veterinary Journal. Canada.
- KATZ M. ve GWADZ R. (1981). *Parasitic Diseases* . Springer Verlag. New York.
- KURT, R. (2022). *ŞIRNAK İLİ AKREP (ARACHNIDA: SCORPIONES) FAUNASI* [YÜKSEK LİSANS TEZİ, HARRAN ÜNİVERSİTESİ].
- Mehmet Ali, D. (2020). *Androctonus crassicauda (Oliver, 1807) AKREP TÜRÜNÜN DIŞ MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOPLA BELİRLENMESİ VE ZEHİRİNİN BİYOKİMYASAL ANALİZİ* [YÜKSEK LİSANS TEZİ, KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ].
- Mullen G. ve Durden L. (2009). *Medical and veterinary entomology* . Royal Entomological Society. London.
- ÖZKAN, N. (1992). *Mesobuthus gibbosus türü akrep zehirinin sıçanlara etkili minimal lethal dozunun (MLD50) saptanması* [YÜKSEK LİSANS TEZİ, EGE ÜNİVERSİTESİ].
- Possani L. ve Vega R. (2006). *Handbook of Biologically Active Peptides :Scorpion venom peptides*(1. bs). Elsevier. London.
- T.C.,M.V, ve G.J, , (2017) Venoms.. C,Professor Jean-Marc ve S,Professor Mervyn(Ed.), , *Inflammation: From Molecular and Cellular Mechanisms to the Clinic* (s. 99-128). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. . <https://doi.org/10.1002/9783527692156.ch5>
- T.R. C. ,<http://www.R-project.org/>. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1574231874043578752>. <http://www.R-project.org/> 22.09.2023
- YAĞMUR, E. (2011). *Güneydoğu Anadolu Akrep (Arachnida: Scorpiones) Faunası: Sistematigi Ve Zoocoğrafyası* [Doktora Tezi, EGE ÜNİVERSİTESİ].
- YAMAN N. (1995). *Akrepler ve Tıbbi Önemleri* . A.Ü Sağlık Bilimleri Enst. Parazitoloji Anabilimdalı Entomoloji ve protozooloji Bilim dalı . Ankara.
- Gilbert. (2009) Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate

cancer progression *Nature*, 457(7231), 910-914.

Inác. (2018) Proteomic endorsed transcriptomic profiles of venom glands from *Tityus obscurus* and *T. serrulatus* scorpions *PLoS One*, 13(3), e0193739.

Ortiz Cuellar. (1995) Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1(2), 51-62.

Özcan ÖZKAN. (2020) Türkiye’de akrep serumunun tarihi *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 78(1), .

Özgür ansiklopedi. ,*WIKİPEDIA*. Vikipedi.
https://tr.m.wikipedia.org/wiki/Dosya:Scorpiones_distribution.png 20.06.2023

Yun Zhang. (2012) Venomic and transcriptomic analysis of centipede *Scolopendra subspinipes dehaani* *Acs Publications*, 11(12), 6197–6212.

Zafer Karaer. (2004) Akreplerin Vücut Yapıları *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 28(1), 54-58.