

DERLEME/REVIEW

MAYALARDA KATİL AKTİVİTE VE dsRNA VİRÜSLERİ

Nuray KARAKAŞ UÇAN¹, Merih KIVANÇ²

ÖZ

Saccharomyces cerevisiae katil maya suşlarının varlığı ilk defa Makover ve Bevan tarafından 1963 yılında gözlenmiştir. Bu tarihten itibaren günümüze kadar katil fenomen pekçok maya genusunda tanımlanmıştır. Bu derlemede; katil maya suşlarının özellikleri, daRNA virüslerinin yapısı ve katil aktivitenin moleküler temelleri özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Katil mayalar, Katil aktivite, dsRNA virüsleri, Katil toksinler.

KILLER ACTIVITY OF YEASTS AND dsRNA VIRUSES

ABSTRACT

The presence of killer strains of *Saccharomyces cerevisiae* was first observed by Makover and Bevan in 1963. Since then killer phenomenon was described among many yeast genera. In this review we summarised the feature of killer yeast strains, structure of daRNA viruses and molecular fundamentals of killer activity.

Key Words: Killer yeasts, Killer activity, dsRNA viruses, Killer toxins.

1. GİRİŞ

Bilimsel olarak tanımlanmaları ilk defa Antonie van Leeuwenhoek'a (1860) atfedilmiş (Berry, 1982) olan mayalardan faydalanma asırlar önce başlamış ve böylece geçen yüzyıldan itibaren hızlanan endüstriyel ve ticari ilerlemeye de önemli katkılar sağlamıştır. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de, özellikle fermentasyondaki rolleri ile bazı mayalar insan yaşamında önemli yer tutmaktadır. Bakteriler için optimum olan pH' lardan daha düşük pH' da aktif olarak gelişebilmeleri, büyük çaptaki kültürleri hızlı büyüyen kontaminant mikroorganizmalardan korumaları ve bakterilerden daha kolay ve ucuz ürün alınabilmesi gibi nedenlerle mayaların endüstriyel amaçla kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (Barnett vd., 1990).

Mayalar endüstriyel gizemlerinin yanı sıra; laktozun etanole fermentasyonunda, alkanlar ve kağıt hamuru atıklarından protein üretiminde, gliserol ve D-glucitol gibi alditollerin üretiminde, β -D-galaktozidaz ve lipaz gibi çeşitli enzimlerin kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Kimyacılar ise mayaları, yeni karbon bağları,

optik olarak aktif bileşikler, sekonder alkol türevleri ve biyolojik aktif moleküller üretmekte kullanılmaktadırlar. *S. cerevisiae*' nin yanı sıra *Candida tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Schizosaccharomyces pombe* ve *Zygosaccharomyces bailii* gibi diğer maya türleri de kimyacıların araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Barnett vd., 1990).

Ekmek mayası, nişastalı veya günümüzde daha çok şekerli ham maddelerden (melas) elde edilen üst fermentasyon tipi kültür mayasıdır (Canbaş, 1995). Tüm gelişmiş ülkelerde, çavdar ekmeği üretimi dışında ekmeçilikte ticari olarak kullanılan maya grubu *S. cerevisiae*' dir. Günümüzde halen bazı yerel ve küçük fırın işletmelerinde ekmeçilik yapımında kullanılan ekşi hamurun içinde *Saccharomyces* genusu üyesi hakiki mayalarla birlikte, değişik sayıda laktik asit, bütirik asit, asetik asit bakterileri, koliform grubu bakteriler ve koklardan oluşan geniş bir flora bulunmaktadır (Akman ve Yazıcıoğlu, 1962). Bu bakterilerin varlığından ötürü ekşi hamurdan mayalanan bir hamur iyi kabarmamakta, ekmeçilikte hoş olmayan tad ve kokular oluşturmaktadır.

¹ Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü, Bodrum, TÜRKİYE.

Tel: 0 252 316 24 91; Faks: 0 252 316 24 92 E-posta: nuray_ucan@mugla.tagem.gov.tr

² Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, TÜRKİYE.

Geliş: 30 Kasım 2000; Düzeltme: 16 Mayıs 2001; Kabul: 13 Ağustos 2001.

Buna karşın, sadece *S. cerevisiae* içeren paket ekmek mayası kullanıldığında, hamur daha iyi kabarmakta, ekmeğe daha iyi pişmekte ve hoş olmayan tad ve kokular oluşmamaktadır (Canbaş, 1995).

Ekmek mayası üretimi ve mayacılıkta kullanılan işletme kültürü saf bir maya kültüründen üretilen spor veya hücre kültürü ile olabilir. Bu endüstride alt türler arası farklar, türler arası farklılıklardan daha fazla önem taşımaktadır. Özellikle yakın bir gelecekte, patent hakkının korunması nedeni ile bu konunun daha da önem kazanacağı bildirilmektedir (Dağaşan, 1994). Son yıllarda birçok moleküler teknik endüstriyel kültürlerin geliştirilmesi amacıyla uygulama alanına sokulmuştur.

Günümüzde genetik mühendisliği teknikleri ile arzu edilen özelliklere sahip endüstriyel suşların elde edilmesi mümkün gözükmektedir. Ekmek mayacılığında kullanılacak suşların seçimi ve iyileştirilmesi çalışmalarında iki önemli amaç bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; suşun iyi kabarma-mayalanma aktivitesine sahip olması, ikincisi ise, ürün kalitesini etkilemeden az masraf ile iyi maya ürünü elde etmektir. Son yıllardaki geniş ve yeni pazarlama stratejilerinden ötürü, ekmeğe mayacılığında kullanılan geleneksel maya suşları maya üreticisinin farklı isteklerine cevap verememektedir. Üretim piyasasında rekabet ortamından doğan gereksinimler sonucu, rekombinant DNA teknikleri kullanılarak yeni özelliklere sahip bira mayası suşlarının yapımı oldukça önem kazanmıştır (Sone vd., 1988; Lancashire vd., 1989). Mayalarda fermentasyon oranı, flokulasyon, aroma bileşiklerinin üretimi gibi çeşitli fermentasyon özelliklerinin mitokondri genetik sisteminden etkilendiği bildirilmiştir (Meyers, 1995). Değişik karbonhidratları fermente edebilen, değiştirilmiş flokulasyon özelliklerine sahip ve değişik aromalar üretebilen suşlar üretilmiş ve pilot tesislerde denemeleri yapılan birçok suş ticari üretim açısından uygun bulunmuştur (Hammond, 1995).

Son yıllarda çeşitli araştırma laboratuvarlarında yürütülmekte olan maya genetiği ve moleküler biyolojisi çalışmalarından elde edilen bilgilerin ışığı altında maltozu kullanabilen mayalar, ozmotolerant mayalar, maya hücrelerinde trehaloz birikimini artırma (Kim vd., 1996), invertaz enzimi ile ilgili çalışmalar, hızlı fermentasyon kinetiğinin sağlanması, donmaya dayanıklı, melibioz kullanabilen, lipoksigenaz geni taşıyan, laktozu fermente edebilen ekmeğe mayası üretimi ve katil plazmid (killer plazmid) taşıyan ekmeğe mayaları ile ilgili çalışmalar güngeçtikçe popüleritesi artan konular haline gelmektedir (Murai vd., 1997; Reed ve Nagodawithana, 1991; Yuan ve Bellgardt, 1994; Karakaş ve Kıvanç, 1998).

2. KATİL MAYALAR VE BUNLARLA İLGİLİ ÇALIŞMALAR

İlk defa 1963'de Makeover tarafından gözlenen katil aktivite fenomeni mayalarda oldukça yaygın olarak görülmektedir (Pamir, 1984). Bu buluş günümüze kadar artan bir ilgi ile karşılanmış ve birçok araştırmacı tarafından üzerinde çalışılan bir konu haline gelmiştir. Makeover'ın çalışmasını takiben, çeşitli maya genuslarına ait katil suşlar birçok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (Young ve Yagiu, 1978; Middelbeek vd., 1980; Rosini, 1983; Radler vd., 1985; Lehmann vd., 1987; Cailliez vd., 1993). Katil fenomen ilk defa *S. cerevisiae*'da tanımlanmış olup, daha sonra diğer maya genus ve türlerinde de bu suşların varlığı tespit edilmiştir. Katil suşların ürettikleri protein veya glikoprotein yapısındaki katil toksinlerin bu toksinlere hassas maya suşlarını öldürdüğü saptanmış ve bu olayın mekanizması birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Young ve Yagiu, 1978; Middelbeek vd., 1980; Rosini, 1983; Radler vd., 1985; Radler vd., 1993; Wickner, 1996). Pfeiffer vd. (1988) duyarlı suşları inhibe eden *S. cerevisiae* KT28' in bazı patojenik fungiye ve *Trichomonas vaginalis*' e (protozoon) karşı etkili olmadığını, ayrıca deneye tabi tutulan hayvanlar üzerinde de herhangi bir farmakolojik etki göstermediğini bildirmişlerdir. Polinelli vd.' nin (1989) yaptığı çalışmada ise, dimorfik fungus olan *Sporothrix schenckii*' nin 4 izolatının misel ve maya formlarının çeşitli katil toksinlere (katil toksin 7, 8, 28 tipleri) karşı oldukça duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmacılar, katil toksinlerin veya türevlerinin sistemik mikosis vak'alarının tedavisinde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Zhu ve Bussey (1989) *S. cerevisiae* K1 toksininin *Candida*, *Kluyveromyces*, *Schwanniomyces* genusu üyelerinin sferoplastlarını öldürdüğünü, ancak bu organizmaların hücrelerinin toksine karşı duyarsız olduğunu bildirmişlerdir. Reed ve Nagodawithana (1991) bu toksinin duyarlı maya suşları dışında bazı fungi ve bakterilere karşı da etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar sonucunda katil toksinlerin, bugüne kadar sağlığa zararlı bir etkisi tespit edilememiştir (Tipper ve Bostain, 1984). Ayrıca bu toksinlerin proteaz inaktivasyonları, sıcaklık ve pH' ya bağımlı olan kararlılıkları nedeni ile terapötik olarak kullanımlarının da kısıtlandığı bildirilmiştir (Polonelli vd., 1991).

Katil suşlar ile ilgili ilk çalışmalar daha çok, çeşitli ortamlardan izole edilen suşların bu aktivite için test edilmesi ve katil aktiviteye etki eden faktörlerin belirlenmesine yönelik olmuştur. Yapılan çalışmalarda çeşitli bitkisel materyallerden izole edilen maya suşlarının yaklaşık % 50' sinin katil aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Radler vd., 1985; Radler vd., 1993). Bunun yanı sıra, bilinen genetik işaretlere sahip çok sayıda maya suşu da katil suş olarak belirlenmiştir. Radler vd. (1985) 1982 sonbaharından 1984 yazına kadar çeşitli

habitatlardan izole ettikleri *Pichia kluyveri* ve *Hanseniaspora uvarum* türlerine ait suşların katil aktiviteye sahip olup olmadığını ve buna etki eden faktörleri araştırmışlar, çalışmalarını sonucunda doğal habitatlardan izole edilen katil mayalarda mevsimsel bir değişkenlik olduğunu tespit etmişlerdir. Shimizu vd. (1985) özel bir şarap maya koleksiyonundan (Forschungsanstalt Geisenheim Şarap Maya Koleksiyonu) kontaminant bir mayayı ve ticari kuru şarap mayalarından 7 tanesini katil maya olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada izolatların katil aktivitelerine etki eden faktörler de incelenmiştir. Starmer vd. (1987) kaktüslerin çürüyen gövde ve meyvelerinden ve ağaçların yapışkan sıvılarından izole ettikleri maya suşlarını katil aktivite ve buna etki eden faktörler yönünden araştırarak, katil mayaların doğal popülasyonlardaki ekolojisini incelemişlerdir. Suzuki vd. (1989) tarafından Japonya'da yürütülen bir çalışmada miso, soya sosu ve turşulardan izole edilen halotolerant (tuza toleranslı) maya suşlarında katil aktivite ve bu aktivitenin spektrumunu araştırmışlardır. Özçelik ve Dönmez (1993) A.Ü. Gıda Teknolojisi Bölüm koleksiyonlarında bulunan mayaları katil aktiviteleri için test etmişler ve test ettikleri 78 maya suşundan sadece iki tanesinde katil aktivite belirlemişlerdir. İtalya'nın Tuscany Bölgesi şarap fermentasyon tesislerindeki katil maya suşları, bunların oluşum sıklığı, fermentasyon sırasındaki dinamikleri, katil ve duyarlı izolatların K1 ve K2 referans suşları ile olan ilişkileri Vagnoli vd. (1993) tarafından araştırılmıştır. Katil fenomen ile ilgili başka bir çalışmada Hidalgo ve Flores (1994) İspanya'nın Madrid çevresindeki şarap üretimi yapan 11 farklı üretim tesisinden alınan örneklerden izole ettikleri maya suşlarında katil karakter varlığını test etmişlerdir. Llorente vd. (1997) tarafından Portekiz'de yapılan başka bir araştırmada ise zeytin salamuralarından izole edilen maya suşlarında, sodyum klorürün katil aktivite üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada yaptıkları karyotip analizleri sonucunda, karışık fermentasyon popülasyonlarında katil suşların baskın olduğunu saptamışlardır. Karakaş (2000) tarafından yapılan bir çalışmada ise, yurdumuzda ve dünyada ilk defa boza ve ekşi hamurdan izole edilen maya suşlarında katil mayaların varlığı ve katil aktiviteye etki eden faktörler araştırılmıştır. Dört adet boza örneğinden izole edilen 97 maya suşundan 32 adedi katil (%32.98), 13 adedi duyarlı (%13.40), 52 adedi nötral izolat olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada 31 adet ekşi hamur örneğinden izole edilen 307 maya izolatının 12 adedi katil (%3.90), 79 adedi duyarlı (%25.73), 216 adedi nötral izolat (%70.35) olarak tespit edilmiştir.

Katil maya suşlarının izolasyonunu takip eden daha sonraki çalışmalarda şarap ve bira yapımında kullanılan suşlar ve bunların kontaminantlarının katil aktiviteleri ve katil suşların fermentasyon üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Kitano vd. (1984) Japon şarap endüst-

risindeki şıra ve elma püresinden izole ettikleri suşları katil aktivite yönünden incelemişler, 3 yeni katil tip belirlemişlerdir. Şıraların % 27'sinde kontaminantların katil aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. 1986 yılında Tredoux vd. (1986) "Viticulural ve Oenological Araştırma Enstitüsü"nü'nün maya kültür koleksiyonundaki suşları katil aktivite açısından test etmişlerdir. Katil suşların, şarap pH'ına sahip katı besi ortamında katil aktivite göstermediklerini, üzüm suyu ile yapılan fermentasyon deneylerinde ise, katil suş popülasyonunun % 2.5'ten az olduğu deneylerde fermentasyonun etkilendiğini, katil popülasyonun yüksek olduğu bazı fermentasyon deneylerinde ise, bu suşların fermentasyonu bozduğunu rapor etmişlerdir. Heard ve Fleet (1987) 16 adet şarap maya suşunu katil aktivite yönünden incelemişler ve bu aktiviteye sadece *S. cerevisiae* suşlarında rastladıklarını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, katil suşların fermentasyon üzerine etkilerini de araştırmışlardır. 1990 yılında yayınlanan bir çalışmada ise, katil suşların endüstriyel sistemlerde klasik yöntemlere göre daha hızlı, basit ve ekonomik olarak belirlenmesi için yeni bir yöntem önerilmiştir (Pasqual vd., 1990). Jacobs ve Van Vuuren (1991) 2 adet ticari şarap maya suşunun ellerinde bulunan 4 adet katil maya suşunun ürettiği toksine karşı duyarlılığını incelemişler ve karışık kültürlerde yaptıkları fermentasyon deneyleri sonucunda, K-103 katil suşunun fermentasyon ortamında % 0.1 oranında bulunması durumunda bile, duyarlı şarap mayasını ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir. Cansado vd. (1991) alkol ve şıra fermentasyon ortamında katil karakterin ekolojisi, yayılımı ve önemi üzerine yaptıkları çalışmada, bu fermentasyon ortamlarında çeşitli kriterlere bağlı olmak koşulu ile katil karaktere sahip maya suşlarının önemini ortaya koymuşlardır. Michalcakova vd. (1993) ellerinde bulunan *Kluyveromyces*, *Hansenula* ve *Saccharomyces* genusuna ait maya suşlarının katil aktivite ve bağışıklık özelliklerini inceleyerek, fermentasyonda yapışmaya neden olan ve istenmeyen yabancı mayalara karşı katil aktiviteye sahip maya suşlarının belirlenmesini hedeflemişler, bu özelliklere sahip suşların biyoteknolojik uygulamalara katkılarını araştırmışlardır. Özçelik vd. (1996) şarap üreticilerine katil veya nötral karakterli bir şarap mayası önerilemek amacıyla, Türkiye'nin değişik şarap bölgelerinden izole edilen mayalarda, öldürücü aktiviteye sahip şarap mayalarını tespit etmeye çalışmışlar, ancak bu aktiviteye sahip maya suşu belirleyememişlerdir. Türkiye'de ekşi hamurdan izole edilen iki adet katil maya suşunun 2 adet ticari ekmek mayası suşuna karşı katil aktivite gösterdiği Karakaş (2000) tarafından rapor edilmiştir.

Son on yılda maya katil toksin sistemleri ile ilgili çok sayıda genetik ve moleküler çalışma yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalar ile *S. cerevisiae* suşlarının ürettiği K1, K2 ve K28 toksinlerinin genetik ve moleküler temelleri büyük ölçüde ortaya konulmuş, ayrıca maya

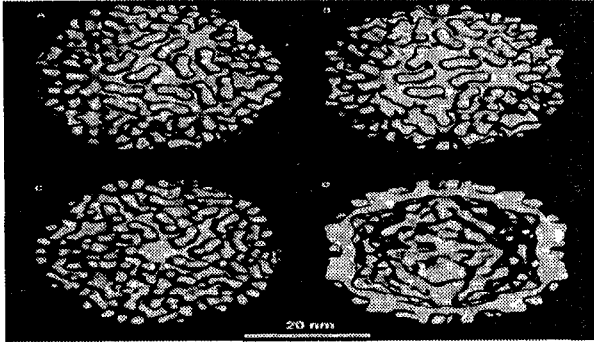
plazmid ve kromozomları arasında gen değişimi olduğu da tespit edilmiştir (Bussey vd., 1990). *K. lactis*'te katil fenomenen sorumlu iki adet doğrusal DNA plazmidi ilk defa Gunge vd. (1981) tarafından tespit edilmiştir. *K. lactis*'in doğrusal DNA katil plazmidinin *S. cerevisiae* suşlarını transforme edip etmediği ise Gunge vd. (1982) tarafından yapılan başka bir çalışma ile denenmiş ve 2 adet katil transformant elde edilmiştir. Leibowitz (1982) mayalardaki protein sentezinin translokasyon basamağı inhibitörü olarak bilinen bir antibiyotik olan cryptopleurine varlığında kültürü yapılan katil suşlarda, katil aktivitenin ortadan kaldırıldığını saptamıştır. *P. kluyveri*'nin ürettiği toksin ve bunun etki mekanizması ile ilgili ayrıntılı bir çalışma Kagan (1983) tarafından yayınlanmıştır. Seki vd. (1985) süper katil fenotipini kodlayan bir dsRNA'yı Montrachet suş 522 ve suş 694 isimli iki adet farklı şarap mayasına protoplast füzyon tekniği ile aktarmışlardır. Elde ettikleri katil şarap mayasının, hem besi ortamında hem de üzüm suyunda yapılan deneylerde, toksine karşı duyarlı suşların gelişmesini tamamen baskıladığını rapor etmişlerdir. Gniwosoz vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, distilasyon ve şarap yapımında kullanılan maya hücrelerine protoplast elektrofüzyon yöntemi ile katil faktör aktarılmış ve hibrid hücrelerde bu özelliğin iki yıllık depolama süresince kaybolmadığı tespit edilmiştir. Stark ve Boyd (1986) *K. lactis*'in ürettiği katil toksinin karakterizasyonunu ve bunu kodlayan genlerin identifikasyonunu yapmışlardır. Radler ve Schmitt (1987) *S. cerevisiae* suş 28'in ürettiği K28 toksininin maya hücre duvarı ve fraksiyonlarından protein adsorbe eden solüsyonlar ile uzaklaştırılmasına çalışmışlar, fermentasyon inhibitörlerini ve bunların adsorbsiyonunu test etmişlerdir. Zorg vd. (1988) *H. uvarum* ve *P. kluyveri*'nin katil aktivitelerinin genetik temellerini ortaya çıkarmışlardır. Wesolowski-Louvel vd. (1988) *K. lactis*'te katil fenomenin ifadesi ile ilgili nüklear genleri araştırmışlar ve doğrusal DNA plazmidi taşıdığı halde, katil fenotipini yitirmiş mutant suşlarda, mutasyonun konakçının kromozomunda tek bir lokusta bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar KEX1 olarak adlandırdıkları lokus üzerinde, yaptıkları klonlama çalışmaları sonucunda, *K. lactis*'in *kex1* geni ile *S. cerevisiae*'nin *kex2* geni arasında fonksiyonel bir ilişkinin varlığını tespit etmişlerdir. Zhu ve Bussey (1989) tarafından toksine özel hücre duvarı reseptörlerinin, toksine karşı duyarlılıkta rol aldığı ve hücre duvarı yapısının modifikasyonu ile toksine duyarlı hücrelerin oluşturulabileceği öne sürülmüştür. Radler vd. (1990) moleküler biyolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanarak *H. uvarum* katil toksininin özelliklerini ve etki mekanizmasını ortaya çıkarmışlardır. *K. lactis*'in katil aktivitesi ile ilgili ayrıntılı bir derleme Stark vd. (1990) tarafından yayınlanmıştır. Katil mayalarda dsRNA'nın transkripsiyon ve translasyonu ile ilgili ayrıntılı çalışmalar, Barbone ve Leibowitz

(1991) tarafından gerçekleştirilmiştir. In vitro dsRNA virionlarının transkripsiyonu ise, Welsh ve Leibowitz (1980) ile Barbone vd. (1992) tarafından çalışılmıştır. Tommasino (1991) ve Schaffrath ve Meacock (1995) Western blot ve Northern blot analiz yöntemleriyle *K. lactis*'in katil aktivitesinin moleküler temellerini açıklamışlardır. Petering vd. (1991) *Escherichia coli*'deki β -glukoronidaz genini *S. cerevisiae* katil suşuna aktarmışlar ve bu işaret (marker) geni, karışık kültür fermentasyonlarında katil suşun takibinde kullanmışlardır. Bu araştırmacılar katil aktivitenin katil ve duyarlı suşların oranına bağlı olarak, fermentasyon deneylerinde etkili olarak gözlendiğini belirtmişler ancak, duyarlı suşları tamamen ortadan kaldırmayı başaramamışlardır. Radler vd. (1993) *Zygosaccharomyces bailii* suş 412'nin katil toksininin moleküler yapısını jel filtrasyon, iyon-değiştirici kromatografi ve sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemlerini kullanarak, katil aktivitenin moleküler temelini 1.9 kb.'lik dsRNA olduğunu tespit etmişlerdir. Pfeiffer ve Radler (1982), Schmitt ve Radler (1987), Schmitt ve Radler (1988, 1989), Schmitt vd. (1989), Schmitt ve Tipper (1990) ve Schmitt ve Radler (1990) yaptıkları çalışmalar ile *S. cerevisiae* suş 28'in ürettiği katil toksini saflaştırarak karakterizasyonunu ve toksin reseptörünün yapısını, toksinin etki mekanizmasını ortaya koymuşlardır. Mayalarda katil fenomenen sorumlu dsRNA virusleri ile ilgili yayınlanan birçok ayrıntılı moleküler genetik çalışmalar yapılmış ve konu ile ilgilenenlere geniş çaplı bilgiler sağlanmıştır (Thiele vd., 1982; Hanning vd., 1984; Thiele vd., 1984; Weinstein ve Leibowitz, 1986; Georgopoulos ve Leibowitz, 1987).

3. KATİL MAYA SUŞLARININ GENETİK ÖZELLİKLERİ VE dsRNA VIRÜSLERİ

S. cerevisiae'nin, nüklear DNA, mitokondrial DNA, viral DNA ve dairesel plazmid DNA olmak üzere, 4 farklı ve birbirinden bağımsız genetik elemente sahip olduğu bilinmektedir. Plazmidlerin genetik yapıları genetik mühendisliği teknikleri ile kolayca değiştirilebilmekte ve yeni oluşturulan plazmidler sferoplastlar tarafından kolayca hücre içine alınabilmektedir. (Meyers, 1995). *S. cerevisiae*'nin 2 mm plazmidi mayaların moleküler teknoloji çalışmalarının gelişiminde oldukça önemli bir yere sahiptir. Maya plazmidleri filamentli fungi plazmidlerinden oldukça farklıdır. Maya plazmidleri nükleus ve sitoplazma kaynaklı olmasına karşın, filamentli fungiden izole edilen tüm plazmidlerin mitokondriyel kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yine filamentli fungiden izole edilen plazmid-benzeri elementlerin de mitokondriyel DNA kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Griffiths, 1995).

Saccharomyces genusunda gözlenen katil aktivitenin çift sarmallı RNA plazmid (dsRNA) varlığına bağlı



Şekil 1. Boş L-A Virüsünün Üç Boyutlu Yapısı (2.6 nm çözünürlüğünde) (Wickner, 1996).

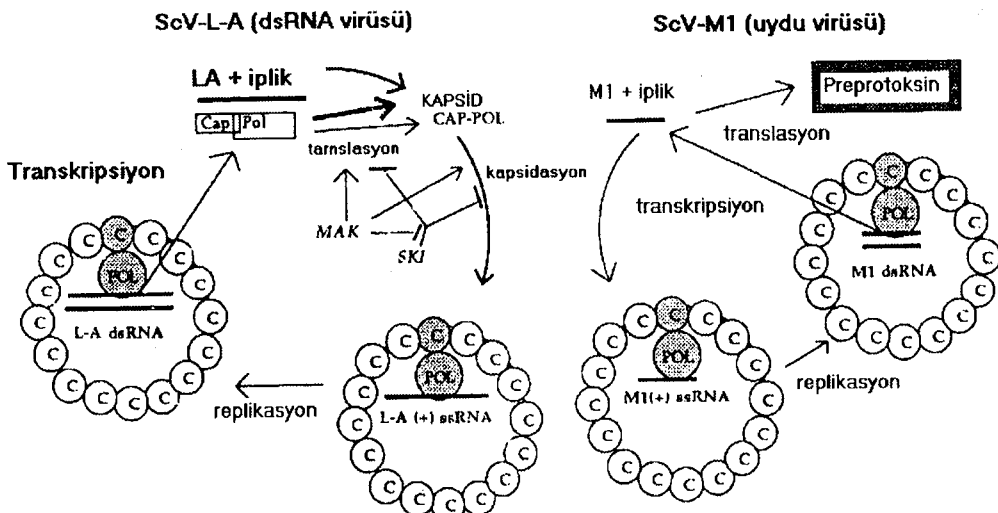
olduğu ortaya konulmuştur (Wickner, 1996). Bu plazmidler dsRNA virüsleri veya virüs benzeri partiküller olarak isimlendirilmiştir (Şekil 1).

S. cerevisiae'da L ve M olarak isimlendirilen iki adet dsRNA plazmid tanımlanmıştır. 1.5 kb büyüklüğündeki M dsRNA'nın hem toksini, hem de kendi ürettiği toksinden hücreyi koruyan bağışıklık faktörünü kodladığı bulunmuştur. 4.6 kb'lık L dsRNA'nın ise, M dsRNA'yı çevreleyen kapsid proteinlerini kodladığı tespit edilmiştir. Uydu plazmid olarak isimlendirilen M dsRNA virüsü sadece katil aktiviteye sahip suşlarda bulunurken, L dsRNA virüsü birçok maya suşunda bulunmuştur (Wickner, 1996). dsRNA virüsleri önce filamentli funguslarda tanımlandıysa da, maya dsRNA virüsleri *S. cerevisiae*'da katil fenomenin belirleyicisi olarak keşfedilmiştir. Bu virüslerin katil üyeleri içeren genlerde, katil fenotip ile ilişkili olduğu kabul edilmektedirler (Tipper vd., 1991; Thiele vd., 1984). Mayalardan izole edilen katil dsRNA türlerinin elektron mikroskobu ile heterodubleks analizi 1978 yılında Fried ve Fink (1978) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada dsRNA'ların uç bölgelerinin aynı baz dizilimine sahip olduğu ve bu bölgenin RNA replikasyonunda önemli role sahip

olabileceği öne sürülmüştür. Hibridizasyon çalışmaları sonucunda, *S. cerevisiae* DNA genomu ile katil dsRNA'lar arasında bir homoloji ortaya çıkarılamamıştır (Polonelli vd., 1991).

Sitoplazmik kalıtım gösteren K1 fenotipi için hücrede 2 adet dsRNA bulunmaktadır. Bunlardan büyük olan L-A (4.5 kb) diğeri M1 (1.8 kb) olarak adlandırılmıştır. Daha sonra bunların sitoplazmada bulunan ScV-L-A ve ScV-M1 olarak adlandırılan virüs benzeri partiküller içinde bulunduğu gösterilmiştir. Sitoplazmalarında dsRNA bulundurmayan veya sadece ScV-L-A bulunduran hücreler duyarlı-katil olmayan, sitoplazmalarında ScV-L-A ile birlikte ScV-M1 bulunduran hücreler ise katil olarak tanımlanmıştır. K1 ve K2 katil suşlarda L-A dsRNA, M1 veya M2 dsRNA'lar ile daima birlikte bulunmaktadır. Doğal *S. cerevisiae* izolatlarının birçoğunun L dsRNA taşıırken, M dsRNA taşımadıkları, K2 ve K28 katil fenotip belirleyicilerinin de benzer şekilde M2 ve M28 dsRNA'lar olduğu bildirilmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991). K1 katil sistemi *S. cerevisiae*'de ayrıntılı olarak çalışılmasına rağmen, katil suşlar tarafından üretilen toksin, toksinin etki mekanizması ve toksine karşı bağışıklık hala tam olarak anlaşılammıştır. Aslında birkaç farklı M dsRNA bulunduğu (M1, M2, M3, M28 vb.), ve bunların her birinin farklı toksin-bağışıklık özgülüğünü kodladığı bilinmektedir. Bu toksinlerin üretimi, olgunlaşmaları, salgılanmaları ve etki mekanizmaları ayrıntılı bir şekilde çalışılmakta ve bu fenotip L-A virüs sistemlerinin genetik analizinde kullanılmaktadır (Wickner, 1996).

L-A virionlarının 39 nm çapında, her biri tek bir 4.6 kb'lık dsRNA molekülü içeren ikosaedral partiküller olduğu ortaya konmuştur. Virüsün 76 kDa'lık Gag (cap: kapsid) olarak adlandırılan tek bir büyük kıllı proteinine ve 180 kDa'lık Gag-Pol füzyon protein (cap-pol: kapsid polimeraz) olarak adlandırılan başka bir proteine de sahip olduğu bilinmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. L-A ve M1 dsRNA Virüslerinin Replikasyonu (Tipper ve Schmitt, 1991).

Maya genomunda L ve M dsRNA' lar ile karşılıklı etkileşen birçok kromozomal gen bulunduğu bildirilmiştir. Bunlardan *mak* olarak isimlendirilen genlerin dsRNA' nın korunması ve otoreplikasyonunda görev yaptığı, *kex* olarak isimlendirilen genlerin toksinin öldürücü etkisinin ifadesinde rol aldığı ve *rex* olarak isimlendirilen genlerin de, toksine direnç için gerekli olduğu tespit edilmiştir (Polonelli vd., 1991; Tipper ve Schmitt, 1991). Pozitif ve negatif RNA ipliklerinin sentezi, viral replikasyon döngüsünün farklı aşamalarında gerçekleşmektedir. Tek bir dsRNA genomu taşıyan olgun viral partiküller, dsRNA genomunu konservatif reaksiyonla transkribe etmektedir. Üretilen pozitif iplik transkriptleri viral partikülden dışarı verilmektedir. Bu pozitif iplikler, yeni viral proteinlerin sentezi için mRNA olarak görev yapmaktadırlar. L-A pozitif ipliğin translasyonu ile kapsid ve aynı ipliğin bir çerçeve kayması sonucu translasyonu ile de, cap-pol füzyon protein (C-POL) üretilmektedir. Cap-pol hem L-A hem de M dsRNA' nın pozitif ipliklerindeki bağlanma bölgelerini tanıyarak, kapsidasyonu başlatmaktadır. Oluşumu tamamlanan partikül içinde (virüs benzeri partikül) cap-pol, negatif ipliği sentezlemekte ve viral replikasyon döngüsünü tamamlayarak, yeniden transkriptaz olarak görev yapmaya hazır hale gelmektedir (Tipper ve Schmitt, 1991). Uydu M dsRNA' ların replikasyon döngüsü de L-A dsRNA döngüsüne benzemekle birlikte aradaki tek fark bütün pozitif ipliklerin partikülden dışarı çıkmamasıdır. M ve L dsRNA' lar farklı partiküller içerisine kapside edilmektedirler. Bir ya da iki adet M1 dsRNA molekülü taşıyan partiküller bulunmaktadır. M1, L-A' nın yarısından da küçük bir partiküldür. Partikül başına 2 adet M1 dsRNA taşıyan partikül doludur ve yeni sentezlenen bütün pozitif iplikler partikülden dışarıya verilmektedir. Partikül başına sadece bir adet M1 dsRNA taşıyan partiküllerin %60' ından fazlası yeni pozitif ipliği partikül içinde tutmaktadır. Daha sonra bu iplik ikinci bir dsRNA molekülüne dönüştürülmektedir. Bu mekanizma "headful replication" olarak isimlendirilmektedir (Wickner, 1996).

Aslında, maya suşlarının neredeyse tümünün birkaç RNA replikonu taşıdığı bilinmektedir. Birçok *S. cerevisiae* suşunda tanımlanan L-A ve L-BC dsRNA virüslerinin her birisinin yapısal ve fonksiyonel olarak farklı virüs ailelerine üye oldukları tespit edilmiştir (Tipper ve Bostain, 1984). Bu virüslerin hücre içinde replike oldukları, hücreyi eritmedikleri ve hücre büyümesine belirgin yavaşlatıcı etkilerinin olmadığı belirlenmiştir. L-A taşıyan birçok suşun, L-A' nın uydusu olan ve M dsRNA olarak adlandırılan dsRNA' ları da taşıdıkları belirlenmiştir. Bunların toksinin üretimi ve bu toksine bağışıklıktan sorumlu oldukları tespit edilmiştir. L dsRNA' nın konakçıya hiçbir fenotipik özellik sağlamadığı, sadece M dsRNA' ların hücre içindeki varılıklarının korunması için gerekli olduğu bilinmektedir. Bili-

nen bütün fungal virüsler gibi L-A ve L-BC virüslerinin de hücre içi rota ile veya vertikal transfer ile taşındıkları, bunun da; eşleşme prosesi ve tomurcuklanma sonucu oluşan karışımla ya da doğal veya yapay hücre kaynaşmaları sırasında olduğu bildirilmiştir (Bussey vd., 1990; Polonelli vd., 1991; Tipper ve Schmitt, 1991; Fried ve Fink, 1978). Sadece *Helminthosporium victoria'* da hücre dışına yayılma tespit edilmiştir (Tipper ve Bostain, 1984). Haploid bir hücrede L dsRNA' nın 100 adet, M dsRNA' nın ise 1000 adet bulunduğu (Polonelli vd., 1991) bildirilmiştir. Hem L hem de M dsRNA' lar için kapsid polipeptitlerini L dsRNA' ların kodladığı, ancak, L ve M dsRNA' ların ayrı ayrı kapsidlerde yer aldıkları belirlenmiştir (Thiele vd., 1984).

dsRNA veya dsDNA plazmidlerine sadece bazı *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* ve *Pichia* genusu suşlarında rastlanmaktadır. Diğer mayalarda gözlenen katil aktivitenin ise, kromozomal genler tarafından kodlandığı (Young ve Yagui, 1978) düşünülmüşse de ise de; Zorg vd. (1988) *H. uvarum'* un katil fenotipinin, dsRNA plazmidine bağlı olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde, *Z. bailii* 412 suşunun katil aktivitesinin, dsRNA plazmidine bağlı olduğu Radler vd. (1993) tarafından tespit edilmiştir. *Ustilago* genusu üyelerindeki katil sistem birbiri ile oldukça ilgili olan üç farklı katil faktör ile karakterize edilmektedir. Bunlar P1, P4 ve P6 olarak isimlendirilmiştir. Bunların izometrik virüs benzeri partiküller halinde, tek tek kapsidler içinde yer alan sitoplazmik dsRNA' larla birlikte bulunduğu tespit edilmiştir. Bu virüs benzeri partiküllerin H (ağır), M (orta) ve L (hafif) tipindeki dsRNA' lardan en az bir adedini bünyesinde bulundurduğu ortaya konmuştur (Polonelli vd., 1991). *K. lactis'* te ise katil aktivitenin doğrusal DNA plazmidleri tarafından belirlendiği bildirilmiştir (Gunge vd., 1981). *K. lactis* katil sisteminde iki adet doğrusal dsDNA plazmidinin rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu plazmidler pGKI-1 (8.9 kb) ve pGKI-2 (13.4 kb) olarak adlandırılmış ve sitoplazmik kalıtım gösterdikleri, haploid hücrede 100 adet buldukları belirlenmiştir. pGKI-1 hem katil hem de bağışıklık fenotipini kodlarken, pGKI-2' nin her iki pGKI plazmidinin replikasyon ve hücrede korunmasını kontrol ettiği bulunmuştur (Polonelli vd., 1991). *Pichia* genusu üyelerinde gözlenen katil fenotip ile ilgili nükleus veya plazmid kaynaklı herhangi bir belirleyici unsur belirlenememiştir (Polonelli vd., 1991). Cong vd., (1994) tarafından *P. etchellsii*, *D. hansenii* ve *Wingae robertsiae'* e ait doğrusal DNA plazmidleri araştırılmış ancak bunların katil aktivite ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.

4. KATİL TOKSİNLERİN ÖZELLİKLERİ VE ETKİ MEKANİZMALARI

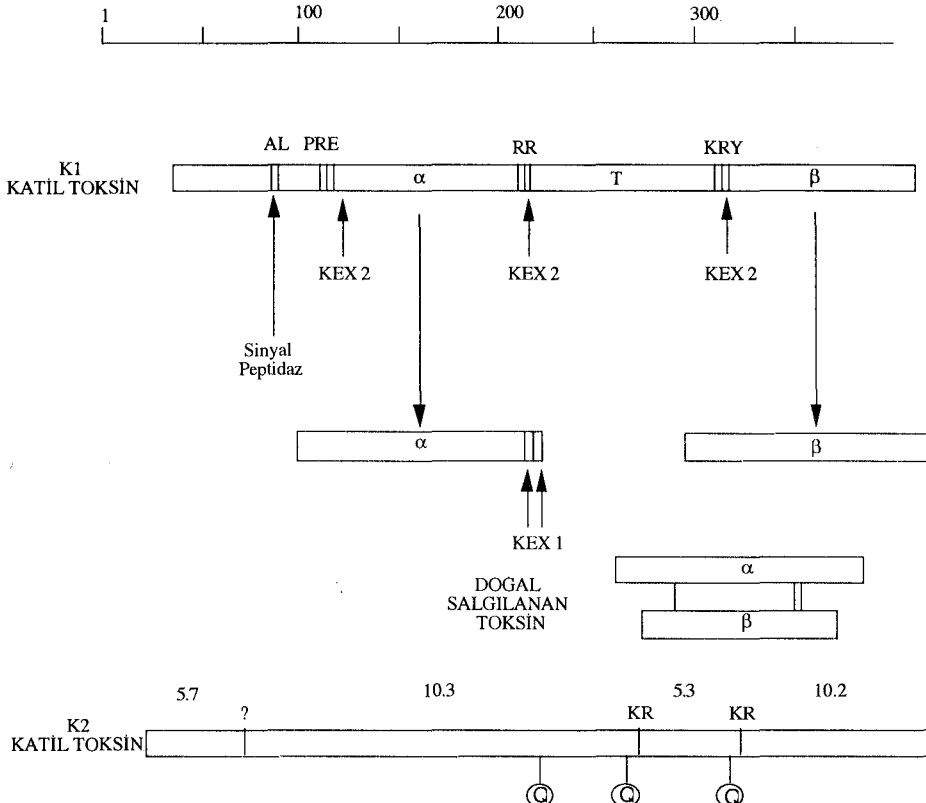
Saccharomyces genusu üyelerinde öldürme ve bağışıklık özgülüğüne göre K1, K2, K3, K28 gibi farklı

tipte toksinler bulunmaktadır. K1 sistemi laboratuvar izolatlarında, K2 ve K28 sistemleri de şarap endüstrisi izolatlarında yaygın olarak görülmektedir. K1 tip katil suşlar ile K2 tip katil suşlar arasında çapraz-bağışıklılığın olmadığı, yani K1 tiplerin K2 tipleri ya da K2 tiplerin K1 tipleri öldürdüğü tespit edilmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991). K3 sistemi ise ilk olarak *S. capensis*'in 761 numaralı suşunda belirlenmiştir (Polonelli vd., 1991). Katil suşlar tarafından üretilen toksinler optimum pH'larına, sıcaklığa bağlı kararlılıklarına ve proteazlara karşı duyarlılıklarına göre birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Hepsinin proteazlara karşı duyarlı ve pH 5.0'ın altında aktif olduğu tespit edilmiştir. Katil mayalar, toksin ve bağışıklık özgülüğüne, duyarlı suşlara karşı katil aktivitenin spektrumuna veya katil mayaların çapraz reaksiyonlarına bağlı olarak en az 10 farklı grupta (K1-K10) sınıflandırılmışlardır (Vagnoli vd., 1993). Bunlardan K1, K2 ve K3 tipi toksinlerin *Saccharomyces* genusuna ait suşlarda görüldüğü bildirilmiştir (Tipper ve Bostain, 1984).

K1 ve K2 öncül toksinleri (protoksinleri) N-glikozlanmıştır (Şekil 3). Her ikisinin de pI noktalarının 4.3-4.7 arasında değiştiği, yüksek pH ve sıcaklıklarda (23 °C'nin üzerinde) kararlı yapı göstermedikleri tespit edilmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991). Fungal katil toksinlerin çoğunda olduğu gibi, hem K1 hem de K2 toksinleri duyarlı hücrelerin plazma membranının geçir-

genliğini bozarak etki göstermektedirler (Şekil 4). Sonuçta potasyum iyonları ve ATP gibi düşük molekül ağırlıklı sitoplazmik bileşenlerin hücre dışına sızması ile hücre ölümü gerçekleşmektedir (Tipper ve Schmitt, 1991). Her iki toksin de hücre membranındaki hedefine (reseptör; R1) ulaşmak için, M1 veya M2 dsRNA tarafından kodlanan toksin öncülünün β bölgesi, maya hücre duvarının β -1,6 glukoz komponentine bağlanmaktadır. Bu basamak enerji gerektirmemektedir. Bundan sonraki enerji gerektiren ikinci basamakta toksinin α bölgesinin bir şekilde plazma membranındaki reseptöre yaklaşarak, hücre içi metabolitlerin hücre dışına akmasına neden olduğu ve bu olayın sonucunda da katil aktivitenin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Bussey vd., 1990; Polonelli vd., 1991). Hücre duvarı glukoz bileşenlerinin sentezi ile ilgili olan *kre* genlerinin, fonksiyonel toksin reseptörünü oluşturmak üzere görev yaptığı ve bu genlerdeki mutasyonlar sonucunda toksine karşı direnç sağlandığı ortaya konmuştur (Bussey vd., 1990).

KRE1, KRE5 ve KRE6 lokuslarında mutant taşıyan hücrelerde, β -1,6 glukoz bileşeninin içeriği azaldığından, K1 ve K2 toksinine karşı tam bir direnç sağlanmadığı gösterilmiştir. Toksine bağışık hücrelerin sferoplastlarının K1 toksinine karşı dirençli olmalarına karşılık, hücre duvarında mutasyona sahip olan hücrelerin sferoplastlarının, toksine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar buna bağlı olarak, membran



Şekil 3. K1 ve K2 Toksinlerinin Yapısı ve Olgunlaşması (Bussey vd., 1990).

özelliğinin bağışıklık üzerine etkisi olduğunu bildirmişlerdir. 23 °C'da K1 toksinin letal dozu ile muamele edilen gelişmekte olan maya hücrelerin karakteristik terminal morfolojisi göstermeden, oldukça hızlı bir şekilde öldüğü tespit edilmiştir. Ölümden sonra düşük molekül ağırlıklı sitoplazmik bileşenlerin plazma membranından dışarıya akmasından dolayı hücrelerin büzüldüğü gözlenmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991).

Yapılan çalışmalar sonucunda, toksine karşı bağışıklık ve toksin faaliyetinin α alt ünitenin birbirine benzer veya birbiri üzerine binmiş bölgeleri tarafından kodlandığı belirlenmiştir. Bağışıklığı sağlayan tam olgun bir protein henüz tespit edilememiş olmakla birlikte, K1 toksinine bağışıklığın, K1 pre-protoksin tarafından sağlandığı öne sürülmüştür. Toksin öncülünün veya türevlerinin bağışıklık bileşeni olarak iş gördüğü düşünülmektedir. Bu moleküllerin (i) reseptörü maskeleyerek, (ii) reseptörün toksin ile karşılıklı etkileşimini inhibe ederek, (iii) reseptörün yapısını veya yerini değiştirerek ya da (iv) reseptörü plazma membranından çıkararak iş gördükleri düşünülmektedir (Bussey vd., 1990, Tipper ve Schmitt, 1991).

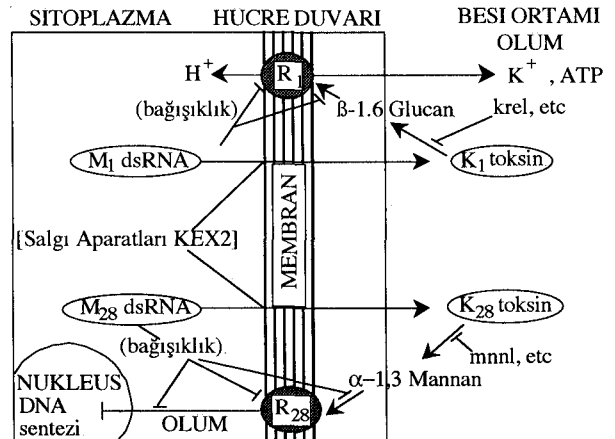
Toksinin hücre duvarındaki reseptörüne bağlanmasının onun özgülüğünü belirlediği, ancak toksinin plazma membranında etkili olması için yeterli olmadığı düşünülmektedir (Polonelli vd., 1991). Toksinin maya hücre duvarındaki özgül reseptöre bağlandığı kabul edilip, maya hücre duvarında kaç adet reseptör bulunduğu ve duyarlı maya hücrelerini öldürmek için kaç tane toksin molekülünün gerekli olduğu hesaplanmıştır. Buna göre, her maya hücrelerinde reseptör sayısının 3.000-10.000.000 arasında değiştiği bulunmuştur. Büyüme şartlarının bu sayı üzerine etkili olduğu rapor edilmiştir. Reseptörlerin hücre duvarında çok sayıda olduğu ve toksinin bağlanması için gerektiği, membranda yeralan az sayıdaki reseptörün ise öldürücü etkinin oluşması için gerekli olduğu bildirilmiştir. Yapılan kinetik çalışmalar ile de, tek bir toksin molekülünün bile hücre ölümüne neden olduğu belirlenmiştir (single hit hypothesis). Buna göre tek bir hücreyi öldürmek için gereken ortalama toksin miktarı lethal unite (L.U.) olarak tanımlanmıştır. Hücrenin fizyolojik durumunun, büyüme hızının toksinin etkili olmasında önemli olduğu ve maksimum duyarlılığın, üslü üreme fazında gözlemlendiği tespit edilmiştir (Polonelli vd., 1991).

K2 toksin aktivitesi ve K2 toksinine bağışıklığı kodlayan M2 dsRNA bölgesinin dizi analizi yapılmıştır. M2 dsRNA nükleotid dizisinin K1 toksinin nükleotid dizisinden farklı olduğu ve bu farklılığın protein seviyesinde de geçerli olduğu rapor edilmiştir. Toksinlerin fizyolojik olarak ve duvar reseptörü üzerindeki etkilerinin benzerliğine rağmen, nükleotid dizileri ve protein seviyesindeki farklılık oldukça şaşırtıcıdır. K1 toksini ile yapılan çalışmalar sonucunda, α alt ünitenin 103

amino asitten, β alt ünitenin ise 83 amino asitten oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 3). Yapılan hesaplamalara göre, olgun toksinin 20.658 moleküler ağırlığa sahip olduğu, α ve β alt birimlerinin 2 disülfid bağı ile birbirine bağlandığı ve toksin pI'sının 4.34 olduğu tespit edilmiştir (Bussey vd., 1990). K2 öncülünün K1 öncülüne benzediği, sadece alt ünitelerinin temel 1 çift bölgede farklılık sergilediği belirlenmiştir. K2 toksininin moleküler ağırlığının 43.000 olduğu ve alt ünitelerin birbirine disülfid bağı ile bağlı olmadığı belirtilmiştir (Bussey vd., 1990). Yapılan hibridizasyon deneylerinde, katil dsRNA türleri ile *S. cerevisiae* DNA genomu arasında da hiçbir homolojiye rastlanmamıştır. (Tipper ve Bostain, 1984).

K28 toksini ile diğer katil maya toksinleri arasında farklılık gözlenmiştir. Bu toksinin oldukça yüksek pH ve sıcaklıkta (23-25 °C) kararlı, pI'sının ise 4.4 olduğu, toksinin aktif formunun S-sefaroze gibi iyon değiştirici kolonlardan kararlı yapıda kolayca saflaştırılabileceği gösterilmiştir (Schmitt ve Radler, 1987). Aktivite için optimum pH'nın 5.0-5.8 olduğu bildirilmiş ancak, K28 toksinin pH 3.5'te de aktif olduğu tespit edilmiştir (Pfeiffer ve Radler, 1982). Toksin kararlılığının iyon bağlarının katlanması ile sağlandığı bildirilmiştir. Bu nedenle toksin fonksiyonunun ve kararlılığının sağlanması için ortamda Ca^{+2} iyonlarına veya sitrat tamponuna gerek olduğu ortaya konulmuştur (Schmitt ve Radler, 1987). K28 toksinin proteinin Periodate-Schiff ayracı ile boyanması proteindeki karbonhidrat varlığına işaret etmektedir. Amino asit analizleri, her bir polipeptid için 111 bölge göstermektedir. Buna göre, proteinin molekül ağırlığı yaklaşık 14 kDa olarak tespit edilmiş, ancak K28 toksinin jel mobilitesine göre, 16 kDa'lık bir büyüklüğe sahip olduğu rapor edilmiştir. K28 toksininin asit hidrolizinden elde edilen tek şeker D-mannoz olarak bildirilmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991).

K28 toksin adsorpsiyonunun mannan bileşeni ile ilgili olduğu ve DNA sentezini inhibe ederek, etkisini

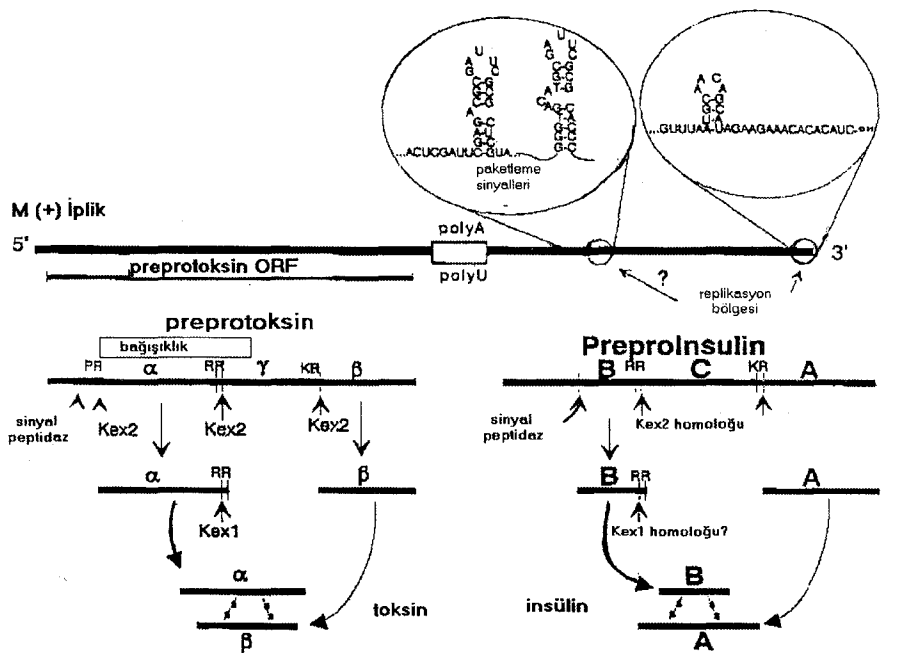


Şekil 4. K1 ve K28 Katil Toksinlerin Etki Mekanizması (Tipper ve Schmitt, 1991).

gösterdiği tespit edilmiştir. M28 dsRNA tarafından kodlanan toksin öncülü henüz tanımlanamamıştır. Toksinin plasma membranındaki reseptörüne (R28) ulaşmak için hücre duvarındaki α -1,3 mannan bileşenine bağlanarak, reseptörü ile ilişki sağladığı ve daha sonra, nüklear DNA sentezini inhibe ederek etkili olduğu rapor edilmiştir (Şekil 4). Bu olayın ya doğrudan toksinin alınması sonucu, ya da dolaylı olarak henüz açığa çıkarılmamış bir sinyal iletim yolu ile gerçekleşebileceği düşünülmektedir. M28 dsRNA tarafından belirlenen bağışıklığın, (i) toksin ile reseptör ilişkisinin inhibisyonu, (ii) reseptör modifikasyonu veya (iii) DNA sentezinin inhibisyonundan sonraki basamaklarda gerçekleşebileceği bildirilmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991). 23 °C'da K28 toksinin letal dozu ile muamele edilen gelişmekte olan hücrelerde 1-2 saat sonra çok az ölü hücre gözlenmiş, daha sonraki her 4 saatte bir büyüme eğrisinin tersi oranında hücre sayısının azaldığı ve hücrelerde ölümden sonra büzülme olmadığı tespit edilmiştir. Hücrelerin, hücre döngüsünün S fazındaki tipik morfolojilerini (anne hücrede tek bir nükleus ve her hücrede anne hücrenin büyüklüğüne yakın büyüklükte tomurcuk) korudukları bildirilmiştir (Tipper ve Schmitt, 1991).

Toksik gen ürünleri ile ilgili çalışmalarda, *S. cerevisiae* model mikroorganizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun nedeni *S. cerevisiae*'nin genetik çalışmalarda kullanılan klasik bir mikroorganizma olması, katil fenotipin çok kolay belirlenmesi ve katil virüslerin konakçı içinde korunmasıdır (Bussey vd., 1990). Maya L-A virüs sistemleri; RNA transkripsiyonu ve replikasyonu, RNA paketlenmesi, virus yapısı, ribozomal çerçeve kayması, protein N-asetillenmesi, m-RNA' da baz kesil-

mesi, m-RNA poly (A) translasyonu, proteolitik proses ve diğer virüs-konakçı ve virüs-virüs ilişkilerinin aydınlatılmasında önem taşımaktadır. Fajlarla yapılan ilk çalışmalarda, daha çok konakçıya ait prosese ışık tutulurken, mayalardan elde edilen sonuçlar, yüksek ökaryotlarda geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Katil toksinlerin olgunlaşma mekanizmaları, salgılanmaları, duyarlı hücrelere bağlanmaları ve gösterdikleri aktiviteler, hayvanlardaki nöropeptid ve hormonların üretim ve aktivitelerine oldukça yakın benzerlikler göstermektedir (Şekil 5) (Polonelli vd., 1991). Epidemiyolojik çalışmalarda, katil toksinler standart faj tiplemesine ek olarak mayalar için özgül işaretler olarak geniş çapta kullanılmaktadır. Bu testlerde üretim ve duyarlılık temel alınmaktadır. Türler arası ve tür içinde güvenilir sonuçların elde edilmesi için bu tarz biyotiplemenin, faj ve serotipleme ile birlikte çeşitli kimyasallara karşı duyarlılık testleriyle de desteklenmesi gerekmektedir. Katil toksinlere karşı duyarlılık kullanılarak yapılan epidemiyolojik tipleme çalışmaları, *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Actinomyces*, *Nocardia*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Escherichia coli*, *Neisseria* türlerinde yapılmıştır. *S. cerevisiae*'da iyi karakterize edilmiş katil fenotip, moleküler ve hücre biyolojisi açısından konakçı-virüs ilişkileri, protein salgılanması, hücre yüzeyi yapısının gibi günümüzde hala tam olarak anlaşılmamış olan konularda önemli bilgiler sağlamaktadır. Yeni moleküler ve genetik metodların kullanılması ile katil sistemlerin, endüstriyel fermentasyonlarda kontaminasyon riskini azaltabilecek yeni suşların oluşturulmasında kullanılacağı bildirilmiştir (Bussey vd., 1990). Yapılan genetik analizler, katil M dsRNA' ların ifade edil-

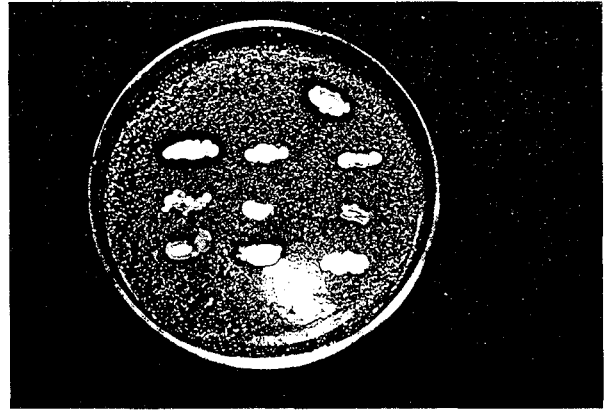


Şekil 5. M1 Pozitif İpliğin Kodlanma, Paketlenme ve Replikasyon Bölgeleri (Wickner, 1996).

mesi ve korunmasında rol alan plazmid-plazmid ve nükleus-sitoplazma ilişkilerinin karmaşıklığını ortaya koymuştur (Tipper ve Bostain, 1984). Mayalardaki protein salgılama mekanizması için uygun bir model teşkil eden pre-protoksinin olgunlaşması, sitoplazmik membran fonksiyonları ve membranı kat eden iyonik por oluşumu için temel bir model olarak karşımıza çıkan toksin ve bağışıklık belirleyicileri, mayalarda gen ifade edilmesi ve bunların moleküler biyolojilerinin anlaşılmasında oldukça önem taşıyan M dsRNA'nın korunması ile ilgili olan *mak* ve *ski* genleri ve bu genlerin fonksiyonlarının analizleri, katil sistemleri ökaryotik mikroorganizmalar için primer bir model olarak ortaya koymaktadır (Tipper ve Bostain, 1984).

5. KATİL AKTİVİTENİN BELİRLENMESİ İLE İLGİLİ YÖNTEMLER

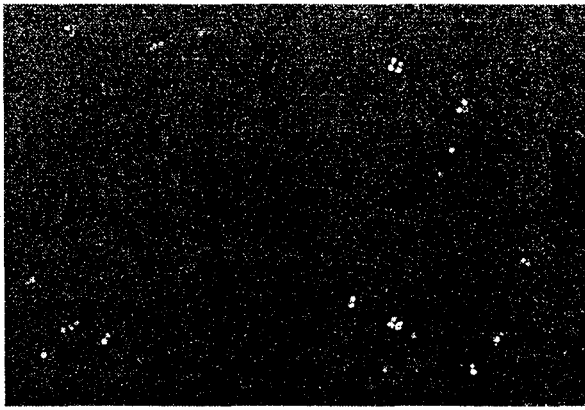
Mayalarda katil aktivite ile ilgilenen araştırmacılar, maya suşlarının katil aktivite yönünden test edilmesinde, Methylene Blue içeren, tamponlanmış, zengin agarlı besi ortamları kullanmışlardır. Maya plak ölçümü (Yeast plate assay) olarak adlandırılan bu yöntem ilk kez 1986 yılında Russel (1986) tarafından tanımlanmıştır. Russel (1986) çalışmasında maya suşlarını yeast ekstrakt-pepton-glukoz (YEPD) besi ortamında geliştirmiş, pepton-yeast ekstrakt-glukoz-agar (PYG) temel besi ortamını da petri kutularında taban olarak kullanmıştır. Araştırmacı Methylene Blue içeren PYG besi ortamında duyarlı suşun yoğunluğunu 10^4 hücre/ml olacak şekilde ayarladıktan sonra, PYG taban üzerine yaymıştır. Bu plaklar üzerine test edilecek suşlardan 0.01 ml damlatmış ve petrileri $21\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da 3 gün süre ile inkübe etmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda, meydana gelen inhibisyon zonlarını incelemiştir. Russel (1986) katil toksin tarafından öldürülen duyarlı maya hücrelerinin üzerlerinde besi ortamında bulunan Methylene Blue boyasının biriktiğini ve bunun şeffaf inhibisyon zonu etrafında mavi hücrelerden oluşan ve çıplak gözle kolaylıkla farkedilen bir halka oluşturduğunu bildirmiştir. Russel (1986) bu yöntemi herhangi bir maya suşunun katil toksin üretilip üretilmediğini test etmek için kolay bir ölçüm yöntemi olarak tanımlamıştır. Daha sonraki araştırmacılar bu yöntemi değiştirerek çalışmalarında kullanmışlardır. Bu değişikliklerde farklı besi ortamları kullanılmış (Starmar vd., 1987), duyarlı suşun konsantrasyonu değiştirilmiş (Heard ve Fleet, 1987; Pasqual vd., 1990), duyarlı suş ile inoküle edilmiş besi ortamı üzerine şüpheli suş yoğun bir şekilde steril kürdan ile çizgi şeklinde inoküle edilmiş (Lehmann vd., 1987), test için hücresiz kültür filtratları ($0.2\ \mu\text{m}$ 'lik filtreden geçirilmiş) kullanılmış (Llorente vd., 1997), inkübasyon sıcaklığı ve süresi değiştirilmiş (Rosini, 1983; Kitano vd., 1984), pH'sı 4.2-4.8 arasında değişen ve Methylene Blue içeren test ortamları kullanılmıştır (Shimizu vd.,



Şekil 6. Katil İzolatların Duyarlı Suşa Karşı Oluşturdukları İnhibisyon Zonları (Karakas, 2000).

1985). Ayrıca inhibisyon zonlarının ölçülmesine dayanan agar çukur tekniği de başarı ile uygulanan başka bir yöntem olarak görülmektedir (Radler vd., 1985). Bu testlerin tümünde en az iki günlük bir inkübasyon periyodundan sonra oluşan ve çıplak gözle kolaylıkla saptanabilen inhibisyon zonları dikkate alınmıştır (Şekil 6).

Araştırmacılar canlı ve ölü maya hücrelerini birbirinden ayırmak ve katil toksin aktivitesi ile ilgili çalışmalarında daha kısa sürede ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için, floresan boyaları da kullanmışlardır. Acridine orange ile floresanslarına bakarak ölü ve canlı maya hücrelerini birbirinden ayırt etmeye yönelik ilk çalışma 1940 yılında gerçekleştirilmiştir. Acridine orange uygulamadan sonra, canlı maya hücrelerinin yeşilden sarı-yeşile doğru bir floresan, ölü maya hücrelerinin ise, turuncu-kırmızı fluoresan ışımaya başladığını tespit edilmiştir (Clark, 1981). Acridine orange protozoa, bakteriler ve fungi için önemli bir fluorokrom olarak kullanılmaktadır. Acridine orange ile elde edilen sonuçlar Janus green B ve Methylene Blue gibi vital boyalarla elde edilen sonuçlara da uygunluk göstermekle birlikte, yorumlarda ve sonuçlarda çeşitli farklılıklar bulunmuştur (Clark, 1981). *Paracoccidioides brasiliensis*'in maya formundaki canlı hücreleri Fluorescein diasetat, Erythrosin B, Janus green ve Lactophenol Cotton Blue ile boyandıktan sonra sayılmış ve bu sonuçlar katı besi ortamında elde edilen koloni oluşturan birim (kob) sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar arasında önemli farklılıklar belirlenememiştir (Sano vd., 1993). Araştırma sonuçları, katil toksinler tarafından öldürülen hücrelerin sitoplazma membranlarının, büyümenin gecikme fazından sonra, bazı boyaları da içeren çok sayıda maddeye karşı geçirgen hale geldiğini ortaya koymuştur (Evans, 1996). Evans'a (1996) göre Vondrejs ve Palkova düşük konsantrasyonlarda yüksek derecede resolüsyona izin verdikleri için, katil aktivitenin test edilmesinde floresan boyaları kullanılmışlardır. Bu araştırmacılar kendi geliştirdikleri Rhodamine B ölçüm yöntemi ile, sitoplazmik membran geçirgenlik tezine dayanarak,



Şekil 7. Katil Toksinden Etkinerek Ölen Duyarlı Maya Hücrelerinin Floresan Boya İle Boyandıktan Sonraki Görüntüsü (Karakaş, 2000).

S. cerevisiae T158C suşunun katil toksin aktivitesini birkaç saat içinde ölçmüşlerdir (Evans, 1996). Karakaş (2000) Fluorescein boyası kullanarak ve yöntemde değişiklikler yaparak ekşi hamurdan izole edilen maya suşlarının katil toksinlerinden etkilenecek ölen duyarlı hücreleri canlı hücrelerden ayırt edilebilmiştir (Şekil 7).

Son yıllarda floresan mikroskoplarda sağlanan başarılı gelişmeler sayesinde konu ile ilgili çalışmalarda da birçok kolaylık sağlanmıştır. Maya hücreleri üzerinde floresan maddelerle yapılan çalışmalarda, birçok maya türü için önemli olan otofloresansın kontrol edilmesinin öncelikli olarak dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Maya hücrelerinde sitoplazmanın zayıf mavi, granüllerin ise sarı floresan yaydığı bilinmektedir. Otofloresansın uygun filtreler kullanılarak veya mayaların kültür şartlarının ayarlanması ile bertaraf edilebileceği bildirilmiştir (Evans, 1996). Özellikle maya sitolojisi ile ilgili çalışmalarda Berberin sulfate, Auropospin, Coriphospin, Thioflarin S ve Natural red gibi parlak floresan veren florokromların kullanıldığı bilinmektedir. Birçok çalışmada hücresel seviyede çeşitli makromoleküllerin yerleşimini belirlemede fluorokrom-işaretlenmiş antikoların kullanıldığı dikkat çekmektedir. İndirekt immunofloresans yöntemi işaretlemede daha yüksek duyarlılık sağladığı için bu konuda en uygun yöntem olarak bildirilmiştir. İndirekt immunofloresans yönteminde konjigant hazırlamak için Fluorescein isothiocyanate ve Tetramethylrhodamine isothiocyanate iyi etiketler olarak geniş çapta kullanılmaktadır. Katil aktiviteye sahip mayalarda gerek floresan mikroskopi, gerekse indirekt immunofloresans teknikleri kullanılarak toksinin etki mekanizması, katil aktivitenin moleküler temeli, toksin reseptörü, toksinin ince yapısı belirlenmeye çalışılmıştır (Cailliez vd., 1993; Gunge vd., 1982; Schmitt vd., 1989; Schmitt ve Radler, 1990; Cailliez vd., 1992). Murai vd. (1997) hücre yüzey mühendisliği ile yaptıkları nişasta kullanabilen maya suşlarında, transforme hücreleri immunofloresans olarak işaretlemişler ve füzyon proteinin yerleşimini immunoelektronmikroskopiyle belirlemeye çalışmışlardır.

6. KATİL MAYALARIN ÖNEMİ

Katil mayalar bira fermentasyonunda hem kesikli hem de sürekli kültürlerde kontaminant olarak rapor edilmiştir. Bira fermentasyon ortamının katil maya ile enfeksiyonu, fermentasyon için kullanılan mayanın ölümlü ile sonuçlanmakta ve elde edilen ürün istenilenden oldukça farklı olmaktadır. Yapılan çalışmalarda şarap yapımında kullanılan suşların birçoğunun katil mayalara karşı duyarlı olduğu ve katil maya kontaminasyonun fermentasyon ortamında % 0.1'den daha az olduğunda 24 saat içinde şarap mayasının tümüyle yok olmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Jacobs ve Van Vuuren, 1991).

Ekmek mayası endüstrisinde steril olmayan tip açık fermentasyonlar kullanıldığı için yabani mayaların kültür ortamını kontamine etmesi kaçınılmazdır. Ayrıca sistem daima şeker limitasyonunda çalıştığı için, yabani maya için avantajlı bir durum sağlanmaktadır. Arzu edilmeyen maya suşlarının ortamı kontamine etmesi verimi düşürmekte ve ürün kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu sonucun fermentasyon endüstrisinde çok önemli bir probleme neden olduğu bildirilmiştir (Lehmann vd., 1987, Portugal vd., 1994). Katil maya suşları ürettikleri katil toksinler ile hassas maya suşlarını öldürmektedir. Katil aktiviteye sahip maya suşlarının starter suş olarak kullanımı yabani mayaların kontaminasyonunu önleme açısından önem taşımaktadır. Katil plazmid taşıyan maya suşlarının kültür ortamına girmesi, katil toksine hassas olan starter suşa zarar vererek fermentasyon ve sonrasında istenmeyen sonuçlar doğurmaktadır. Böyle bir olayda katil suşlar doğal maya popülasyonlarındaki rekabet avantajları sayesinde katil olmayan mayalar ile etkili bir yarışa girebilmekte, anti-kontaminant olarak görev yapabilmektedirler (Bussey vd., 1990). İlk defa 1963 yılında Bevan ve Mackower tarafından bira kontaminantlarından izole edilen katil maya suşları, salgıladıkları toksinle duyarlı suşları öldürürken, kendilerinin bu toksine dirençli olması, küçük bir kontaminantın endüstriyel çapta bir fermentasyonu gasp edebileceğini göstermiştir (Tipper ve Schmitt, 1991). Günümüzde seleksiyon veya genetik manipülasyonlar kullanılarak, aynı türün pek çok alt türü seçilmiş starter suşlar olarak görev yapmaktadır. Moleküler biyoloji teknikleri ile katil aktiviteye sahip maya suşları geliştirilebilmektedir. *S. cerevisiae* K3, *H. mrakii* CCY 38-7-1 ve *H. saturanus* var. *subsufficiens* CCY-38-4-2'nin bu konuda ümit verici olduğu Michalcakova vd. (Michalcakova vd., 1993) tarafından bildirilmiştir. Gerek şarapçılıkta gerekse ekmek mayası üretiminde katil aktiviteye sahip ve/veya yabancı organizmaların ürettiği katil toksinlere karşı bağışıklık kazanmış, kendi ürettiği toksin ile geniş bir yelpazedeki diğer maya, bakteri ve funguslara karşı etkili bir maya suşunun starter kültür olarak kullanımı yukarıda değinilen problemlerin çözümü için ümit vaat etmektedir. Ayrıca

bu yolla fermentasyon endüstrisinde maaliyetin düşürülebileceği, starter kültürün bozulması ya da kaybedilmesi riskinin ortadan kaldırılabileceği ve daha da önemlisi patentin korunmasının sağlanabileceği düşünülmektedir.

Mayalarda katil suşların araştırılması ile ilgili yurt dışında birçok çalışma yapılmasına rağmen, henüz ülkemizde konu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Mevcut olan çalışma sayısının azlığı göz önüne alınarak; bu derlemede katil maya suşlarının özellikleri, katil aktiviteden sorumlu olan dsRNA virüslerinin yapısı ve katil aktivitenin moleküler temelleri açıklanmaya çalışılmıştır. Bu bağlamda, gelecek yıllarda konu ile ilgili yapılacak yeni çalışmalara katkıda bulunmak hedeflenmiştir.

KAYNAKÇA

- Akman, A. V. ve Yazıcıoğlu, T. (1962). *Fermentasyon Teknolojisi 1. Kitap*. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 51, Ders Kitabı: 22, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Barbone, F. P. ve Leibowitz, M. J. (1991). Coupling of Killer Virus Transcription with Translation in Yeast Cell-free Extracts. *Journal of General Virology*, 72, 1755-1760.
- Barbone, F. P., Williams, T. L. ve Leibowitz, M. J. (1992). Yeast Killer Virus Transcription Initiation In Vitro. *Virology*, 187, 333-337.
- Barnett, J. A., Payne, R. W. ve Yarrow, D. (1990). *Yeasts: Characteristics and Identification*, 2nd edition., Cambridge University Press, New York, USA.
- Berry, D. R. (1982). *The Biology of Yeast*. Edward Arnold (publishers) Ltd., London.
- Bussey, H., Boone, C., Zhu, H., Vernet, T., Whiteway, M. ve Thomas, D. Y. (1990). Genetic and Molecular Approaches to Synthesis and Action of The Yeast Killer Toxin. *Experientia*, 46, 193-200.
- Cailliez, J., Cantelli, C., Conti, S., Gerloni, M., Magliani, W., Morace, G. ve Polonelli, L. (1993). *Pichia anomala* Killer Toxin Secretion in The Presence of Tunicamycin. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 31, 337-347.
- Cailliez, J., Morace, M. G., Conti, S., Cantelli, C. ve Polonelli, L. (1992). Ultrastructural Immunodetection of A *Pichia anomala* Killer Toxin: A Preliminary Study. *Biology of the Cell*, 75, 19-23.
- Canbaş, A. (1995). *Ekmek Mayacılığı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, Yayın no: 22, Ankara.
- Cansado, J., Lango, E., Calo, P., Sieiro, C., Velazquez, J. B. ve Villa, T. G. (1991). Role of Killer Character in Spontaneous Fermentations From NW Spain: Ecology, Distribution and Significance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 34, 643-647.
- Clark, G. (1981). *Staining Procedures*, 4th edition, Williams and Wilkins, U.S.A.
- Cong, Y-S., Yarrow, D., Li, Y. ve Fukuhara, H. (1994). Linear DNA Plasmids From *Pichia etchellsii*, *Debaryomyces hansenii* and *Wingae robertsiae*. *Microbiology*, 140, 1327-1335.
- Dağışan, L. (1994). *Maya Teknolojisinde Rekombinant DNA Yöntemleri-Uygulamalı Eğitim Kursu Notları*, 12-16 Eylül, İstanbul Üniversitesi, BİYOGEM, ss.56-65.
- Evans, I. H. (1996). *Yeast Protocols Methods in Cell and Molecular Biology*. Methods in Molecular Biology. Vol. 53, Humana Press Inc., New Jersey.
- Fried, H. M. ve Fink, G. R. (1978). Electronmicroscopic Heterodublex Analysis of "Killer" Double-Stranded RNA Species From Yeast. *Proceeding of National Academy of Science USA*, 75(9), 4224-4228.
- Georgopoulos, D. E. ve Leibowitz, M. J. (1987). Nucleotide Phosphotransferase, Nucleotide Kinase and Inorganic Pyrophosphatase Activities of Killer Virions of Yeast. *Yeast*, 3, 117-129.
- Gniewosz, M., Bugajewska, A., Raczynska-Cabaj, A., Duszkievich-Reinhard, W. ve Primik, M. (2000). Introducing The Killer Factor Into Industrial Strains of *S. cerevisiae* As A Marker. *Food Biotechnology*, Ed. S. Bieleck, J. Trampler nd J. Polak, ss.73-79, 2000 Elsevier Science, UK.
- Griffiths, A. J. F. (1995). Naturel Plasmids of Filamentous Fungi. *Microbiological Reviews*, 59, 673-685.
- Gunge, N., Murata, K. ve Sakaguchi, K. (1982). Transformation of *Saccharomyces cerevisiae* With Linear DNA Killer Plasmid From *Kluyveromyces lactis*. *Journal of Bacteriology*, 151, 462-464.
- Gunge, N., Tamaru, A., Ozawa, F. ve Sakaguchi, K. (1981). Isolation and Characterization of Linear Deoxyribonucleic Acid Plasmids From *Kluyveromyces lactis* and The Plasmid-Associated Killer Character. *Journal of Bacteriology*, 145, 382-390.
- Hammond, J. R. M. (1995). Genetically-Modified Breeding Yeasts For The 21st Century. Progress to Date. *Yeast*, 11, 1613-1627.
- Hanning, E. M., Thiele, D. J. ve Leibowitz, M. J. (1984). *Saccharomyces cerevisiae* Killer Virus Transcripts Contain Template-Coded Polyadeny-

- late Tracts., *Molecular and Cellular Biology*, 4, 101-109.
- Heard, G. M. ve Fleet, G. H. (1987). Occurrence and Growth of Killer Yeasts During Wine Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(9), 2171-2174.
- Hidalgo, P. ve Flores, M. (1994.). Occurrence of The Killer Character in Yeasts Associated With Spanish Wine Production. *Food Microbiology*, 11, 161-167.
- Jacobs, C. J. ve Van Vuuren, H. J. J. (1991). Effects of Different Killer Yeasts on Wine Fermentations. *American Journal of Enology and Vitis*, 42(4), 295-300.
- Kagan, B. L. (1983.). Mode of Action of Yeast Killer Toxins: Channel Formation in Lipid Bilayer Membranes. *Nature*, 302(21), 709-711.
- Karakaş, N. (2000). Eskişehir ve Çevresinden Toplanan Ekşi Hamur Örneklerinde Katil Mayaların Varlığının Araştırılması ve Katil Aktiviteye Etki Eden Faktörlerin Belirlenmesi, (Doktora Tezi), Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Karakaş, N. ve Kıvanç, M. (1998). Ekmek Mayası Suşlarının İyileştirilmesi İle İlgili Son Gelişmeler. *Gıda*, 3, 187-193.
- Kim, J., Alizadeh, P., Harding, T., Hefner-Gravink, A. ve Klionsky, D. J. (1996). Disruption of The Yeast ATH1 Gene Confers Better Survival After Dehydration, Freezing and Ethanol Shock: Potential Commercial Applications. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1563-1569.
- Kitano, K., Sato, M., Shimazaki, T. ve Hara, S. (1984). Occurrence of Wild killer Yeasts in Japanese Wineries and Their Characteristics. *Journal of Fermentation Technology*, 62(1), 1-6.
- Lancashire, W. E., Carter, A. T., Howard, J. J. ve Wilde, R. J. (1989). Superattenuating Brewing Yeast. *EBC Congress*, ss.491-498.
- Lehmann, P. F., Lemon, M. B. ve Ferencak, W. J. (1987). Antifungal Compounds ("Killer Factors") Produced By *Kluyveromyces* Species and Their Detection an Improved Medium Containing Glycerol. *Mycologia*, 79(5), 790-794.
- Leibowitz, M. J. (1982). Role of Protein Synthesis in The Replication of The Killer Viruses of Yeast. *Current Genetics*, 5, 161-163.
- Llorente, P., Marquina, D., Santos, A., Peinado, J. M. ve Spencer-Martins I. (1997). Effect of Salt on The Killer Phenotype of Yeasts From Olive Brines. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 1165-1167.
- Meyers, R. A. (1995). *Molecular Biology and Biotechnology*. A Comprehensive Desk Reference, VCH.
- Michalcakova, S., Sulo, S. P. ve Slavikova, E. (1993). Killer Yeasts of *Kluyveromyces* and *Hansenula* Genera With Potential Application in Fermentation Therapy. *Acta Biotechnologica*, 13(4), 341-350.
- Middelbeek, E. J., Van De Laar, H. H. A., Hermans, J. H. M., Stumm, C. ve Vogels, G. D. (1980). Physiological Conditions Affecting The Sensitivity of *Saccharomyces cerevisiae* to a *Pichia kluyveri* Killer Toxin and Energy Requirement For Toxin Action. *Antonie van Leeuwenhoek*, 46, 483-497.
- Murai, T., Ueda, M., Yamamura, M., Atomi, H., Shibasaki, Y., Kamasawa, N., Osumi, M., Amachi, T. ve Tanaka, A. (1997). Construction of a Starch-Utilizing Yeast by Cell Surface Engineering. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 1362-1366.
- Özçelik, F. ve Dönmez, S. (1993). Killer Yeast and The Determination of Killer Characters of some Yeasts. *Turkish Journal of Biology*, 17, 1-4.
- Özçelik, F., Türkmen, U. ve Ateş, S. (1996). Farklı Bölgelerden İzole Edilen Şarap Mayalarının Killer Özelliklerinin Belirlenmesi. *Turkish Journal of Biology*, 20, 241-249.
- Pamir, M. H. (1984). *Tokat-Amasya Çevresi Şaraphanelerinden İzole Edilen Şarap Mayası Suşlarının Teknolojik Özellikleri*. Fermentasyon Teknolojisi Kürsüsü Çalışmalarından, ss.1-20.
- Pasqual, S., Carrau, J. L., Serafini, L. A. ve Dillion, A. J. P. (1990). A simple Method to Detect Killer Yeasts in Industrial Systems. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 70(3), 180-181.
- Petering, J. E., Symons, M. R., Langridge, P. ve Henschke, P. A. (1991). Determination of Killer Yeast Activity in Fermenting Grape Juice by Using a Marked *Saccharomyces* Wine Yeast Strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 52, 3232-3236.
- Pfeiffer, P. ve Radler, F. (1982). Purification and Characterization of Extracellular and Intracellular Killer Toxin of *Saccharomyces cerevisiae* Strain 28. *Journal of General Microbiology*, 128, 2699-2706.
- Pfeiffer, P., Radler, F., Caspritz, C. ve Hanel, G. H. (1988). Effect of a Killer Toxin of Yeast on Eucaryotic System., *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 1068-1069.
- Polinelli, P., Conti, S., Campani, L., Morace, G. ve Fanti, F. (1989). Yeast Killer Toxins and Dimorp-

- hism. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 1423-1425.
- Polonelli, L., Conti, S., Gerloni, M., Magliani, W., Chezzi, C. ve Morace, G. (1991). Interfaces of The Yeast Killer Phenomenon. *Critical Reviews in Microbiology*, 18(1), 47-87.
- Portugal, F. R., Delia-Dupuy, M. L., Schneider, G. ve Strehaiano, P. (1994). Yeast Killer Activity: A Quantitative Study. *Biotechnology Techniques*, 8(11), 797-804.
- Radler, F., Herzberger, S., Schönig, I. ve Schwarz, P. (1993). Investigation of a Killer Strain of *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of General Microbiology*, 139, 495-500.
- Radler, F., Pfeiffer, P. ve Dennert, M. (1985). Killer Toxin in New Isolates of The Yeasts *Hanseniaspora uvarum* and *Pichia kluyveri*. *FEMS Microbiology Letters*, 29, 269-272.
- Radler, F. ve Schmitt, M. (1987). Killer Toxins of Yeasts: Inhibitors of Fermentation and Their Adsorption. *Journal of Food Protection*, 50(3), 234-238.
- Radler, F., Schmitt, M. J. ve Meyer, B. (1990). Killer Toxin of *Hanseniaspora uvarum*. *Archives of Microbiology*, 154, 175-178.
- Reed, G. ve Nagodawithana T. W. (1991). *Yeast Technology*, 2nd edition, An AVI Book, U.S.A.
- Rosini, G. (1983). The Occurrence of Killer Characters in Yeasts. *Canadian Journal of Microbiology*, 29, 1462-1464.
- Russel, I. (1986). Killer Yeast Identification. *ASBC Journal*, 44(3), 123-125.
- Sano, A., Kurita, N., Kunie, I., Coelho, R., Takeo, K., Nishimura, K. ve Miyaji, M. (1993). A Comparative Study of Four Different Staining Methodes for Estimation of Live Yeast Form Cells of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Mycopathologia*, 124, 157-161.
- Schaffrath, R. ve Meacock, P. A. (1995). *Kluyveromyces lactis* Killer Plasmid pGKL2: Molecular Analysis of an Essential Gene, ORF5. *Yeast*, 11, 615-628.
- Schmitt, M. J. ve Radler, F. (1987). Mannoprotein of The Yeast Cell Wall as Primary Receptor For The Killer Toxin of *Saccharomyces cerevisiae* Strain 28. *Journal of General Microbiology*, 133, 3347-3354.
- Schmitt, M. J. ve Radler, F. (1990). Blockage of Cell Wall Receptor for Yeast Killer Toxin KT28 With Antimannoprotein Antibodies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, 1615-1618.
- Schmitt, M. J. ve Tipper, D. J. (1990). K28 A Unique Double-Stranded RNA Killer Virus of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 10, 4807-4815.
- Schmitt, M., Brendel, M., Schwarz, R. ve Radler, F. (1989). Inhibition of DNA Synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* by Yeast Killer Toxin KT28. *Journal of General Microbiology*, 135, 1529-1535.
- Schmitt, M. ve Radler, F. (1988). Molecular Structure of The Cell Wall Receptor For Killer Toxin KT28 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*, 170, 2192-2196.
- Schmitt, M. ve Radler, F. (1989). Purification of Yeast Killer Toxin KT28 by Receptor-mediated Affinity Chromatography. *Journal of Chromatography*, 469, 448-452.
- Seki, T., Chol, E. ve Ryu, D. (1985). Construction of Killer Wine Yeast Strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 49, 1211-1215.
- Shimizu, K., Adachi, T., Kitano, K., Shimazaki, T., Tot-suka, A., Hara, S. ve Dittrich, H. H. (1985). Killer Properties of Wine Yeasts and Characterization of Killer Wine Yeast. *Journal of Fermentation Technology*, 63(5), 421-429.
- Sone, H., Fujii, T., Kondo, K., Shimizu, F., Tanaka, J. ve Inoue, T. (1988). Nucleotid Sequence and Expression of The Enterobacter aerogenes Acetolactate Decarboxylase Gene in Brewer's Yeast. *Applied and Environmental Microbiology*, 88, 38-42.
- Stark, M. J. R. ve Boyd, A. (1986). The Killer Toxin of *Kluyveromyces lactis*: Characterization of The Toxin Subunits and Identification of The Genes Which Encode Them. *EMBO Journal*, 5(8), 1995-2002.
- Stark, M. J. R., Boyd, A., Mileham, A. J. ve Romanos, M. A. (1990). The Plasmid-Encoded Killer System of *Kluyveromyces lactis*: A Review. *Yeast*, 6, 1-29.
- Starmer, W. T., Ganter, P. F., Aberdeen, V., Lachance, M-A. ve Phaff, H. J. (1987). The Ecological Role of Killer Yeasts in Natural Communities of Yeasts. *Canadian Journal of Microbiology*, 33, 738-796.
- Suzuki, C., Yamada, K., Okada, N. ve Nikkani, S. (1989). Isolation and Characterization of Halotolerant Killer Yeasts From Fermented Foods. *Agricultural Biology and Chemistry*, 53(10), 2593-2597.
- Thiele, D. J., Hannig, E. M. ve Leibowitz, M. J. (1984). Genome Structure and Expression of a Defective

- Interfering Mutant of The Killer Virus of Yeast. *Virology*, 137, 20-31.
- Thiele, D. J., Hannig, E. M. ve Leibowitz, M. J. (1984). Multiple L Double- Stranded RNA Species of *Saccharomyces cerevisiae*: Evidence For Separate Encapsidation. *Molecular and Cellular Biology*, 4, 92-100.
- Thiele, D. J., Wang, R. W. ve Leibowitz, M. J. (1982). Separation and Sequence of The 3' Termini of M Double-Stranded RNA From Killler Yeast. *Nucleic Acid Research*, 10(5), 1661-1678.
- Tipper, D. J. ve Bostian, K. A. (1984). Double-Stranded Ribonucleic Acid Killer Systems in Yeasts. *Microbiological Reviews*, 48, 125-156.
- Tipper, D. J. ve Schmitt, M. J. (1991). Yeast dsRNA Viruses: Replication And Killer Phenotypes. *Molecular Microbiology*, 5(10), 2331-2338.
- Tommasino, M. (1991). Killer System of *Kluyveromyces lactis*: The Open Reading Frame 10 of The pGKL2 Plasmid Encodes A Putative DNA Binding Protein. *Yeast*, 7, 245-252.
- Tredoux, H. G., Tracey, R. P. ve Tromp, A. (1986). Killer Factor in Wine Yeasts and Its Effect on Fermentation. *South African Journal of Enology and Vitis*, 7(2), 105-112.
- Vagnoli, P., Musmanno, R. A., Cresti, S., Di Maggio, T. ve Corata, G. (1993). Occurrence of Killer Yeasts in Spontaneous Wine Fermentations From the Tuscany Region of Italy. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(12), 4037-4043.
- Weinstein, L. A. ve Leibowitz, M. J. (1986). 5S RNA and tRNA-like Molecules Are Associated With Killer Virus dsRNA of Yeast. *Journal of General Virology*, 67, 191-195.
- Welsh, J. D. ve Leibowitz, M. J. (1980). Transcription of Killer Virion Double-Stranded RNA In Vitro. *Nucleic Acid Research*, 8(11), 2365-2375.
- Weselowski-Louvel, M., Tanguy-Rougeal, C. ve Fukuhara, H. (1988). A Nuclear Gene Required For The Expression of The Linear DNA-Associated Killer System in The Yeast. *Yeast*, 4, 71-81.
- Wickner, R. B. (1996). Double-Stranded RNA Viruses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Reviews*, 60, 250-265.
- Young, T. W. ve Yagiu, M. (1978). A Comparison of The Killer Character in Different Yeasts and its Classification. *Antonie van Leeuwenhoek*, 44, 59-77.
- Yuan, J. Q. ve Bellgardt, K. H. (1994). Investigation on The Optimal Control Storage Stability of Compressed Baker's Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 32, 261-272.
- Zhu, H. ve Bussey, H. (1989). The K1 Toxin of *Saccharomyces cerevisiae* Kills Spheroplast of Many Yeast Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 2105-2107.
- Zorg, J., Kilian, S. ve Radler, F. (1988). Killer Toxin Producing Strains of The Yeasts *Hansiniaspora uvarum* and *Pichia kluyveri*. *Archives Microbiology*, 149, 261-267.

EK 1. Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarında Bulunan maya Suşları, Suş Özellikleri ve Sağlandığı Kurumlar.

Maya Suşları	Maya Suşunun Özelliği	Maya Suşunun Sağlandığı Kurum
MAYA I	Ticari olarak üretimde kullanılan ekmek mayası suşu	Pak-Gıda Üretim ve Paz.A.Ş. Pak-Biomer (Ar-Ge) İzmit-KOCAELİ
MAYA II	Ticari olarak üretimde kullanılan ekmek mayası suşu	Pak-Gıda Üretim ve Paz. A.Ş. Pak-Biomer (Ar-Ge) İzmit-KOCAELİ
<i>Debaryomyces hanseneii</i> TK-type V	Katil suş	Kumamoto Institute of Technology JAPONYA
<i>Hansenula anomalan</i> NFRI-1702	Katil suş	Kumamoto Institute of Technology JAPONYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K1	K1 tip katil maya suşu	Industrial Technology Centre of Okayama Prefecture JAPONYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K2	K2 tip katil maya suşu	Industrial Technology Centre of Okayama Prefecture JAPONYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K7	K7 tip katil maya suşu	Universitat Des Saarlandes ALMANYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1385	K2 tip katil maya suşu	Universitat Des Saarlandes ALMANYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 28	K28 tip katil maya suşu	Universitat Des Saarlandes ALMANYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S6	Duyarlı, katil olmayan maya suşu	Universitat Des Saarlandes ALMANYA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K1 tip katil maya suşu NCYC 232	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği ANKARA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC 738	K2 tip katil maya suşu	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği ANKARA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC 1006	Duyarlı maya suşu	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği ANKARA
<i>Candida boidinii</i> IGC 3430	Duyarlı maya suşu	Gulbenkian Institute of Science PORTEKİZ
<i>Saccharomyces exiguus</i> ICG 4612	Duyarlı maya suşu	Gulbenkian Institute of Science PORTEKİZ
<i>Klyveromyces lactis</i> IGC 4358	Duyarlı maya suşu	Gulbenkian Institute of Science PORTEKİZ
<i>Pichia anomala</i> CYC 1027	Katil maya suşu	Gulbenkian Institute of Science PORTEKİZ
<i>Pichia membranaefaciens</i> CYC 1106	Katil maya suşu	Gulbenkian Institute of Science PORTEKİZ

Ek 2. *Saccharomyces Cerevisiae* Katil Suşları İçin Terimler (Tipper ve Bostain, 1984).

Fenotip	Tanım
Katil	Duyarlı maya hücrelerini öldüren polipeptid toksini salgılayan suş
Bağışık	Plazmid tarafından homolog katil toksine karşı dirençli suş
Dirençli	Büyüme şartlarına veya nükleer genotipe bağlı olarak çeşitli katil toksinlere karşı dayanıklı suş
K1, K2 veya K3	1, 2 veya 3 katil fenotipine sahip suş
R⁻	Bilinen katil toksinlere karşı bağışıklık yok
R₁⁺, R₂⁺, R₃⁺	K1, K2 veya K3 toksine karşı bağışık
R₁^w	K1 toksine karşı zayıf bağışık
K₁⁺	K1 toksin üretimi; R ⁻ , R ₂ ⁺ , R ₃ ⁺ suşları öldürme özelliği
K₂⁺	K2 toksin üretimi; R ⁻ , R ₂ ⁺ , R ₃ ⁺ suşları öldürme özelliği
K₃⁺	K3 toksin üretimi; R ⁻ , R ₂ ⁺ , R ₃ ⁺ suşları öldürme özelliği
K₁⁺⁺	Süper katil; daha aktif veya kararlı K1 toksin üretimi
(K₁⁺ R₁⁺) (K₂⁺ R₂⁺)	Normal K1 ve K2 katil suş fenotipleri
(K⁻ R₁⁺)	Doğal fenotip
(K₁⁺ R₁^w)	Suicidal fenotip
Uydu	Replikasyon defektli plazmid
VLP	Virüs benzeri partikül
ScV-L1A	Virüs benzeri partikül içinde L1A-ds RNA taşıyan <i>S. cerevisiae</i> virüsü

Ek 3. *Saccharomyces Cerevisiae* Katil Suşlarında Bulunan dsRNA'lar (Tipper ve Bostain, 1984).

Fenotip	Tanım
M1	1.9 kb. dsRNA; K ₁ ⁺ R ₁ ⁺ fenotipinin belirleyicisi
M2	1.7 kb. dsRNA; K ₂ ⁺ R ₂ ⁺ fenotipinin belirleyicisi
M3	1.5 kb. dsRNA; K ₃ ⁺ R ₃ ⁺ fenotipinin belirleyicisi
S3	İnternal delesyon ile M1'den türemiş 0.73 kb.'lik dsRNA
LA	M1 veya M2 dsRNA'nın korunması için gerekli 4.7 kb.'lik dsRNA
L1A	Doğal olarak izole edilmiş K1 katil suşlarda bulunan 4.7 kb.'lik LA sınıfı dsRNA
L2A	Doğal olarak izole edilmiş K2 katil suşlarda bulunan 4.7 kb.'lik LA sınıfı dsRNA
LB, LC, LBC	Daha çok K1 ve K2 katil suşlarda bulunan 4.7 kb.'lik dsRNA'lar

Ek 4. Katil Mayalar İle İlgili Web Sayfası Adresleri

1. http://www.biology.ucsd.edu/~msaier/trans/port/1_C_6.html
2. http://www.brewworld.com/the_grist/trouble_shooter/killer_yeast.html
3. <http://scop.berkeley.edu/data/scop.1.002.010.000.html>
4. <http://www.bmm.icnet.uk>
5. <http://link.springer.de/link/service/journals/00438/bibs/6250003/62500286.html>
6. <http://genome-www.stanford.edu/Saccharomyces/yeast96/f2005.html>
7. <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/1892/SHAWV.HTM>
8. <http://www.jsst.or.jp/jsbba/bbb6103e.html>
9. http://persweb.direct.ca/chaugen/kombucha_faq_part01i.html
10. <http://www.uovs.ac.za/nat/mkboc/publist.html>
11. http://cliol.cshl.org/books/mcboty_saccharomyces.html
12. <http://www.mips.biochem.mpg.de/proj/yeast/catalogues/phenotype/>
13. <http://www.proteome.com/databases/YPD/reports/KEX2.html>

14. <http://www.sun.ac.za/Research/NavV-Faktlbw98.htm>
15. <http://www.nal.usda.gov/bic/Biblios/qb9310.html>
16. <http://www.northernbrewer.com/page36.htm>
17. http://dbb.urmc.rochester.edu/labs/Sherman_f/yeast/5.html
18. <http://www.ensam.inra.fr/cgi-bin/ace/chedb/Achedb?name=yeast-kex01>
19. <http://www.scisoc.org/asbc/PUBS/MET-HODS/contents.html>
20. <http://www.landfield.com/faqs/crafts/winemaking-faq/>
21. <http://www.fatma.cnr.it/pub313.html>
22. <http://www.jbc.org/cgi/content/abstract/256/20/10420>
23. <http://scieng.tay.ac.uk/research.htm>
24. <http://www.molbio.wisc.edu/kung/ystref.html>
25. <http://www.nysaes.cornell.edu/fst/faculty/acre/fs430/lectures/thk09yeast.html>
26. <http://lifesci.rutgers.edu/~molbiosci/Professors/leibowitz.html>
27. <http://lifesci.rutgers.edu/~molbiosci/Professors/leibowitz.html>
28. <http://www.udw.ac.za/UDW/homepages/biochem.html>
29. <http://www.udw.ac.za/UDW/homepages/biochem.html>
30. <http://www.waite.adelaide.edu.au/AWRI/Public.htm>
31. http://www.cshlpress.co.uk/mcb_sacc.htm
32. <http://www.strath.ac.uk/Departments/BioSci/symp1.htm>
33. <http://www.fea.unicamp.br/lab/bioquimica/hpprofessor.html>
34. <http://celebrator.com/9612/Ostrom-TwoRiversCider.html>
35. <http://www.news.harvard.edu/gazette/1997/10.30/GeneticSecretso.html>
36. <http://www.asmus.org/pcsrc/40icaac/24719>
37. <http://www.biologie.uni-halle.de/Genetics/yeast/schaffrath/publist.html>
38. <http://www.fao.org/docrep/x0560E/x0560e08.htm>
39. http://www.med.uni-muenchen.de/biochemie/feldmann/yeast_genome/text.htm
40. <http://www.kav.cas.cz/pdsb/OR8/SKOLITEL.html>
41. <http://www.mblab.gla.ac.uk/~julian/dict2.cgi?3468>
42. http://www.im.ac.cn/message_board_1997.html
43. <http://www.mcgill.ca/Biology/labs/bussey/database/krel.html>
44. <http://www.cell.com/content/vol99/issue>
45. <http://www.albany.edu/chemistry/sarma/abstracts.html>
46. <http://www.dundee.ac.uk/~mjrstark/references.htm>
47. <http://www.verwaltung.uni-halle.de/dez5/fo-bi98/FB607/F60701v.htm>
48. <http://imb.usal.es/castellano/publicaciones/todas.htm>
49. <http://www.lib.cas.cz/knav/asep/data/MBU95.HTM>
50. <http://web.reed.edu/academic/departments/biology/professors/prussell/>
51. <http://www.epa.gov/oppt/biotech/proposed/cerev.txt>
52. <http://www.beersunlimited.co.uk/gervin.html>
53. <http://www.univ-inpt.fr/~lgc/bio/biopa3.html>
54. <http://www3.ebi.ac.uk/tops/cgi-bin/>
55. <http://www.biosci.utexas.edu/mgm/people/faculty/profiles/johnson.htm>
56. <http://www.karlin.mff.cuni.cz/knihovna/publik94/publ3.htm>
57. <http://www.karlin.mff.cuni.cz/knihovna/publik94/publ3.htm>
58. <http://swift.embl-heidelberg.de/timbar/references.html>
59. <http://www.le.ac.uk/ge/staff/mea.html>
60. <http://jura.ebi.ac.uk:8765/holm/qz-sql?cd1=1ciy>
61. <http://www.pharm.uwa.edu.au/aussie/staff/boris.html>
62. <http://www.rz.uni-frankfurt.de/FB/fb16/mikro/ham00vo.html>
63. http://genome.genetique.uvsq.fr/yeast/n_contig.html
64. http://www.ucmb.ulb.ac.be/~jvanheld/statistics_dea/data/seq_lengths/yeast/yeast_orf_description.txt
65. http://www.ncaur.usda.gov/bar/research_progress_reports.htm
66. <http://gredos.cnb.uam.es/tamames/problema.html>
67. <http://www.maths.bath.ac.uk/~nfb/conf98plenaryabs.html>
68. <http://www.wisc.edu/genetics/CATG/culbertson/abstracts.html>

69. http://www.epd.unil.ch/EMBNET_course/kkxx.find.html

70. <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme/EC34/3421a.html>

71. <http://www.po.metu.edu.tr/buhafta/bh489.html>

72. <http://www.biomed.cas.cz/mbu/fofia/contents/1996.html>

73. http://neris.mii.lt/botanika/bot_ins2.htm

74. <http://www.biotech.bham.ac.uk/WDWPrint/HTML/Biosci.html>

75. <http://www.mco.edu/depts/micro/faculty/lehmann.html>

76. <http://bpb.pharm.or.jp/abst/200008/ab23080998.html>

77. http://www.itp.org.uk/Bio99/abertay_01.htm

78. <http://alpha1.mpk.med.uni-muenchen.de/bak/microb2000/prog/14K.htm>

79. <http://res2.agr.ca/ecorc/program2/mycology/ana-net/anamet28.htm>

80. <http://baggage.stanford.edu/group/C.neoformans/wwwtraces/Blastx//502002C07.x1.cut.blastx>

81. <http://www.us.iucr.org/iucr-top/journals/acta/tocs/actad/1997/actad5301.html>

82. <http://www.fns.uniba.sk/~kbi/kovlab/dmproj.htm>



Nuray Karakaş Uçan, 1969 Eskişehir doğumludur. 1986 yılında Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladığı yüksek öğrenimini 1990 yılında tamamlamıştır. Aynı yıl Milli Eğitim Bakanlığı'nın yurt dışında Master eğitimi yaptırmak için açtığı sınavı kazanarak İngiltere'ye giderek, University of East Anglia'da bitki patojenleri üzerine yüksek lisansı yapmıştır. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Bilim Dalı'nda "Katil mayalar 'killer yeasts'" üzerine yaptığı doktora tezini Nisan 2000'de tamamlamıştır. Daha sonra Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na bağlı Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü'nde çalışmaya başlamıştır. Halen bu enstitünün Balık Hastalıkları Şubesinde Araştırmacı Mikrobiyolog olarak görev yapmaktadır.



Merih Kıvanç, 1954 yılında Akşehir'de doğdu. 1977 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü'nden lisans, 1983 yılında aynı fakültenin Gıda Mühendisliği Bölümü'nden Doktora derecesini aldı. 1990 yılında Anadolu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Doçent, 1995 yılında Profesör oldu. Halen Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır.