



Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi

Dergiye Geliş Tarihi: 05.08.2015

Yayına Kabul Tarihi: 10.09.2015

Baş Editör: Bilge Hilal ÇADIRCI

Alan Editörü: Kubilay YILDIRIM

### Siyanotoksinler ve Biyosentezlerinden Sorumlu Genlerin Düzenlenmesi

**Tünay KARAN<sup>a</sup>** (tunay.karan@gop.edu.tr)  
**Mesut KOYUNCU<sup>a</sup>** (mesut.koyuncu@gop.edu.tr)  
**İskender PARMAKSIZ<sup>b,1</sup>** (iskender.parmaksiz@gop.edu.tr)  
**Köksal PABUÇCU<sup>a</sup>** (koksal.pabuccu@gop.edu.tr)  
**Zekeriya ALTUNER<sup>a</sup>** (zekeriya.altuner@gop.edu.tr)

<sup>a</sup>Biyoloji Böl., Fen-Edebiyat Fak., Gaziosmanpaşa Üniversitesi, 60250 Tokat

<sup>b</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl., Fen Edebiyat Fak., Gaziosmanpaşa Üniversitesi, 60250 Tokat

**Özet** – Siyanotoksinler, siyanobakteriler tarafından doğal olarak üretilen çeşitli toksin gruplarıdır. Bu maddeler, etkileri açısından hepa-, derma-, ve nörotoksinler olarak sınıflandırılırlar. Siyanotoksinlerin biyosentez geçiş yolları ile ilgili araştırmalar henüz başlangıç aşamasında olup, biyokimyasal etki mekanizmaları da tam olarak bilinmemektedir. Bu derlemede, siyanotoksinlerin yapısal özellikleri, etki mekanizmaları, farmasötik ve sağlık açısından önemleri konusunda kısa bilgiler verilerek, biyosentez mekanizmalarından sorumlu genlerin regülasyonu ele alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler** –  
Siyanobakteriler,  
siyanotoksinler,  
biyosentez, gen  
regülasyonu

Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research (2015) 54-69

### Regulating The Genes Responsible Cyanotoxins and Their Biosynthesis

**Abstract** – Cyanotoxins are a group of various toxins that are produced naturally by cyanobacteria. These substances are grouped as hepa-, derma- and neuro- toxins according to their effects. The research into the biosynthesis pathways of cyanotoxins is at the beginning stage and their biochemical effect mechanisms are not fully explored. In this review, structural aspects of cyanotoxins, their effect mechanisms, their importance in terms of pharmaceuticals and health are given and the regulation of genes responsible for their biosynthesis is discussed.

**Keywords** –  
Cyanobacteria,  
cyanotoxins, biosynthesis,  
gene regulation

Received: 05.08.2015

Accepted: 10.09.2015

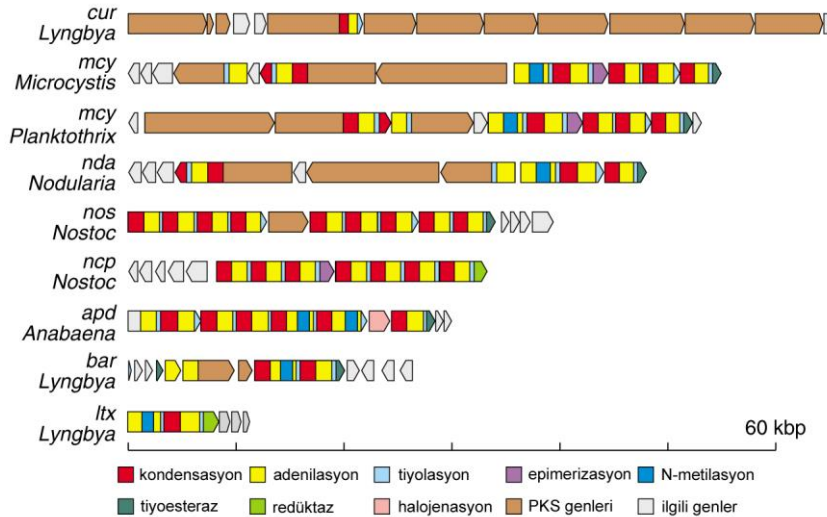
<sup>1</sup>Sorumlu Yazar

## 1. Giriş

Prokaryotik organizmalardan olan mavi yeşil algler, peptid ve depsipeptidlerden oluşan birçok önemli sekonder metabolit üretirler. Üretilen bu metabolitlerin antikanser, antibakteriyel, antifungal ve proteazları inhibe etme etkileri vardır. Bu ve benzeri biyo aktivitelerinden dolayı sekonder metabolitler, son yıllarda farmasötikte ve birçok biyokimyasal araştırmalarda mikronütrient olarak kullanılmaktadırlar [1, 2].

Prokaryotik sekonder metabolitlerden olan siyanotoksinler, siyanobakteriler tarafından doğal olarak üretilen toksin gruplarıdır ve genellikle hücrelerin içinde bulunurlar. Siyanobakteriyel toksinler ribozom dışı peptid sentetaz (NRPS) olarak bilinen bir enzim ailesi tarafından veya poliketid sentaz (PKS) mekanizması tarafından sentezlenirler. NRPS, peptidlerin formasyonunu prokaryotlarda ve basit yapıları ökaryotlarda da bulunan tio-templat mekanizması olarak adlandırılan bir mekanizmayla katalizlerler. NRPS her bir toksin sentezinde aktivasyon, tiolasyon, modifikasyon ve kondensasyon aşamalarından sorumlu bölgeleri bulunan modüllerden oluşmuş bir yapıdır (Şekil 1) [3, 4]. Yaklaşık bin amino asit içeren her modül, belirli bir amino asit eklenmesi için özelleşmiştir. Sentezlenen peptiddeki yapı taşlarının dizilişi modüllerin sırasını belirleyicidir. Bu şekilde modüller, peptid sentezinde kalıp işlevi görür. Bir modül, adenilasyon, peptidil taşıyıcı bölge ve kondensasyon bölgesi olmak üzere en az üç domain içerir. Ayrıca oluşacak ürüne göre epimerizasyon, N-metilasyon gibi bölgeler bulundurulabilir [5].

Hücre içerisinde tutulan siyanotoksinler hücre bütünlüğü bozulmadığı sürece kolay kolay ortama salınmazlar. Ancak stres altındayken ya da hücre çözülüp dağıldığında serbest kalırlar [6]. Siyanotoksinlerin biyosentezi ile ilgili araştırmalar henüz başlangıç aşamasındadır ve biyokimyasal geçiş yolları da tamamen bilinmemektedir [7]. Siyanotoksinler canlıda korunma, neslini sürdürme ve ekosistemdeki ilişkilerinin düzenlenmesinde önemli rol alırken onların nasıl üretildiklerini anlamak için toksin üretiminden sorumlu gen yapılarının araştırılması gerekmektedir.



Şekil 1. Bazı siyanobakteriyel NRPS ve NRPS/PKS gen kümeleri [4]

Çizelge 1’de gösterildiği gibi siyanotoksinler hedef aldıkları organlara göre hepatotoksinler, nörotoksinler, dermatotoksinler olarak; kimyasal yapılarına göre ise siklik peptidler, alkaloidler ve lipopolisakkaritler (LPS) şeklinde gruplara ayrılırlar [8].

**Tablo 1.** Siyanotoksinler, hedef aldıkları organlar ve bu siyanotoksinleri üreten siyanobakteri türleri [6].

<b>Toksin Grubu</b>	<b>Memelilerde Birincil Hedef Organ</b>	<b>Siyanobakteri Genusları</b>
<b><u>Siklik peptidler</u></b>		
Mikrosistin	Karaciğer	<i>Microcystis, Anabaena, Oscillatoria, Nostoc, Hapalosiphon, Anabaenopsis</i>
Nodularin	Karaciğer	<i>Nodularia</i>
<b><u>Alkaloidler</u></b>		
Anatoksin-a	Sinir sinapsı	<i>Anabaena, Oscillatoria, Aphanizomenon</i>
Anatoksin-a(S)	Sinir sinaps	<i>Anabaena</i>
Cylindrospermopsin	Karaciğer	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia</i>
Lingbiyatoksin-a	Deri, gastrointestinal sistem	<i>Lyngbya</i>
Saksitoksin	Nöron aksonu	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya</i>
<b><u>Lipopolisakkaridler</u></b>	Temas eden doku için potansiyel irritant	Tüm siyanobakteri türleri

## 2. Hepatotoksinler

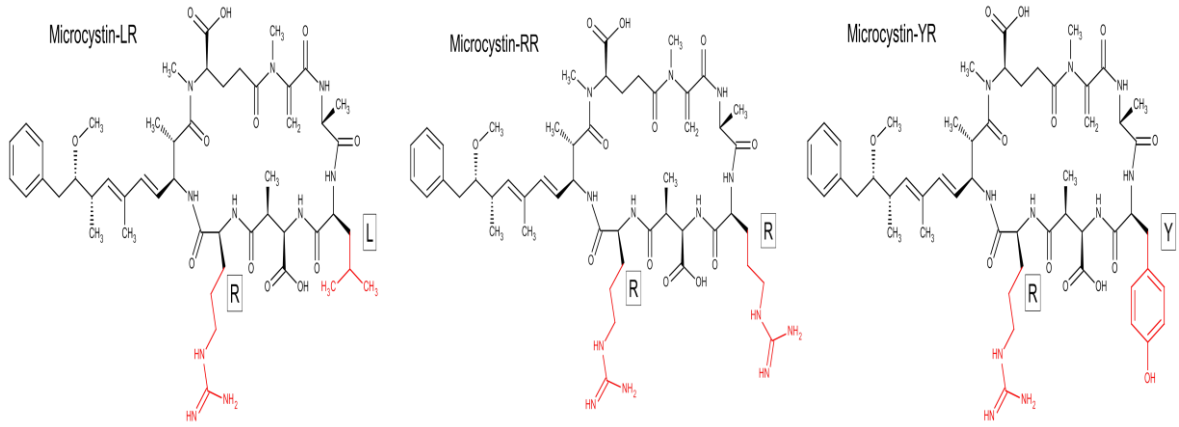
Hepatotoksinler *Microcystis* spp., *Anabaena* spp., *Oscillatoria* spp., *Nodularia* spp., *Nostoc* spp., *Cylindrospermopsis* spp. ve *Umezakia* spp. tarafından mikrosistin, nodularin, cylindrospermopsin gibi toksinleri üretirler. Siyanobakteri hepatotoksinlerinin tümör gelişimini teşvik ettiği ve karaciğer kanserinin oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir [9]. Çoğu hepatik siyanotoksin siklik peptid yapısındadır [10].

### 2.1 Mikrosistin

Mikrosistinler, siklik peptid yapısında siyanobakteriyel hepatotoksinlerin en geniş ve yapısal açıdan en çeşitli grubunu kapsamaktadır. Şimdiye kadar yaklaşık 90 izoformu tanımlanmıştır. DAla<sup>1</sup>-X<sup>2</sup>-D-MeAsp<sup>3</sup>-Y<sup>4</sup>-Adda-Arg<sup>5</sup>-D-Glu<sup>6</sup>-Mdha<sup>7</sup>-siklik heptapeptid olarak genel mikrosistin yapısı tanımlanmıştır. Burada D-MeAsp, bir D-eritro-β-metil aspartik asit, Adda bir (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-metoksi-2-6-8-trimetil 10-fenildeka-4,6-dienoik asit ve Mdha ise N-metil dehidro alanindir [11, 4]. X, Y ise değişebilen amino

asitlerdir ve toksinlerin adlandırılmasında kullanılmaktadır. Varyantları arasında en yaygın olanları MC-LR, MC-RR ve MC-YR'dir. X,Y değişken amino asitler; lösin (L), arginin (R) ve tirozindir (Y) (Şekil 2) [11]. Mikrosistin-LR doğada en çok karşılaşılan ve üzerinde en çok çalışılan mikrosistin varyantıdır. Mikrosistin-LR, diğer mikrosistin varyantları arasında en toksik olanıdır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarla mikrosistin-LR'nin organik anyon taşıyıcısı proteinler tarafından karaciğere taşınıp, serin/treonin fosfatlar 1 ve 2 A'yı engelleyerek toksisite özellikleri ortaya konulmuştur [12].

Mikrosistin ilk kez *Microcystis aeruginosa*'dan izole edilmiştir. *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Anabaenopsis* ve *Hapalosiphon* cinslerine ait birçok tür tarafından da üretildiği tespit edilmiştir [13].



Şekil 2. Mikrosistin varyantlarının kimyasal yapısı [11]

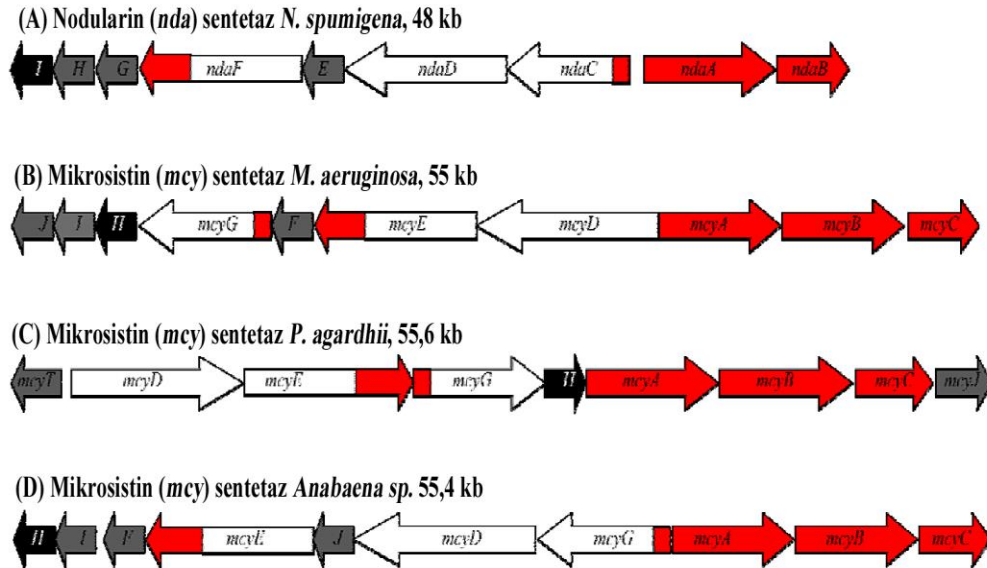
### 2.1.1 Mikrosistin Gen İfadesinin Düzenlenmesi

Mikrosistinler hücre içinde ya serbest olarak ya da membrana bağlı olarak bulunurlar. Mikrosistin sentetaz, peptid sentetaz, poliketid sentetaz gibi enzimler tarafından ikincil metabolitler olarak üretilirler ve *Microcystis* spp.'de bulunan *Mcy-b* geni tarafından düzenlenirler [3]. Bu biyosentetik enzimleri kodlayan gen kümesi sıralanmıştır ve pek çok siyanobakteriyel türlerde (*Microcystis*, *Anabaena* ve *Planktothrix*) kısmen de olsa karakterize edilmiştir ORF'lerin düzenlenişi *Microcystis*, *Anabaena* ve *Planktothrix* türlerinde farklı bulunmuştur [14].

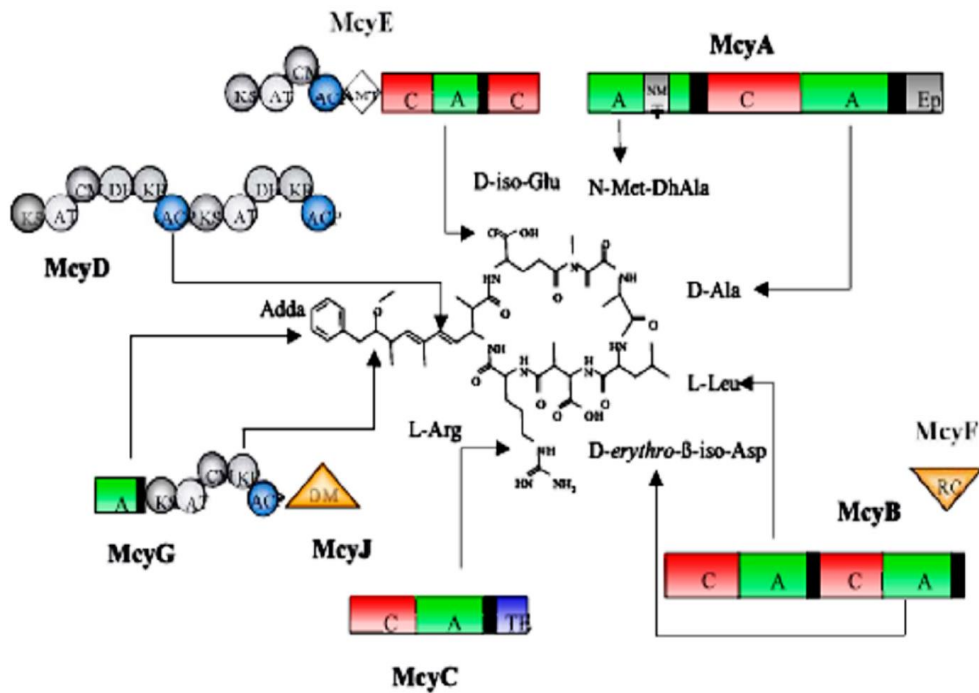
Mikrosistin sentezi ile ilgili tüm NRPS genleri (*mcy* gen kümesi) *Microcystis aeruginosa* PCC7806'dan dizilenmiştir. *M. aeruginosa* PCC7806 suşunda mikrosistin gen kümesi (*mcy*) 55 kb uzunluğundadır ve 750 baz çiftlik bir promotor bölge tarafından iki ayrı operona 10 gen (*mcyA-C* ve *mcyD-J*) içererek ayrılır [14]. Büyük operon PKS modülü (*mcyD*), iki hibrid PKS/NRPS modüllerini (*mcyG* ve *mcyE*) ve bunlara ek olarak tailoring enzimleri (*mcyJ,F,I*) ile ayrıca ABC taşıyıcısının (*mcyH*) bir bileşenini kodlar. Daha küçük olan operon ise üç NRPS modülünden (*mcyA-C*) oluşmaktadır. Bunlara ek olarak, *Planktothrix agardhii*'de promotor bölgesinin yukarısında tioesteraz domeinini kodlayan *mcy T* geni vardır (Şekil 3) [15,16].

Adda-D-Glu öncüsü *mcy G*, *J*, *D* ve *E* genlerinin oluşturduğu enzimlerin aktivitesiyle sentezlenir. *McyG*, tipik PKS uzama modülü ile açıl-CoA ligazlara benzerliği sıra dışı bir NRPS adenilasyon domeinini bir araya getiren hibrit bir enzimdir. *McyG* ilk taşıyıcı

domenin 4'-fosfopanteteinine transferinin ardından fenil asetatın aktivasyonu aracılığıyla mikrosistin sentezini başlatır. ADDA zinciri bu moleküllerin biyolojik aktivitesi için vazgeçilmezdir. ADDA zincirindeki değişimler hepatotoksinlerin toksisitesini azaltabilir (Şekil 4) [17].



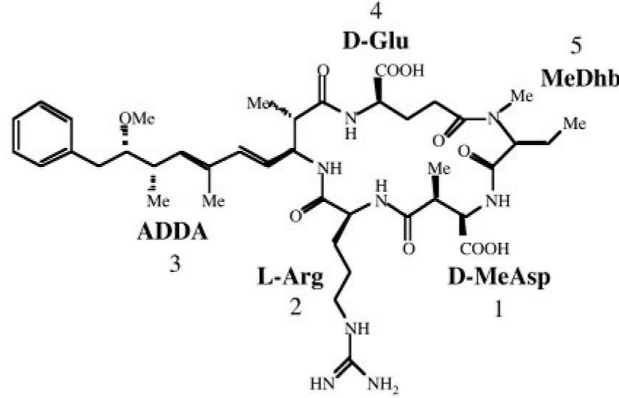
Şekil 3. Mikrosistin ve nodularin gen kümeleri [16]



Şekil 4. Mikrosistin sentetaz bileşenlerinin rolü ve fonksiyonel analizleri [17]

## 2.2 Nodularin

Nodularin acı sularda hakim bir siyanobakteri olan *Nodularia spumigena*'dan izole edilmiştir [18]. Nodularin, mikrosistine benzer amino asitler içerir, fakat mikrosistinde 7 amino asit varken, nodularinde 5 amino asit bulunmaktadır. Bugüne kadar, nodularinin yedi izoformu tanımlanmıştır [19]. Nodularin, 3-amino-9-metoksi-2,6,8-trimetil-10-fenil-4,6-dekadienik asit (ADDA), D-glutamik asit (D-Glu), N-metildehidrobütirin (MeDhb), D-eritro- $\beta$ -metilaspark asit (D-MeAsp) ve L-argininden (L-Arg) oluşan bir siklik pentapeptittir (Şekil 5) [20].



Şekil 5. Siyanobakteriyel nodularinin yapısı [20]

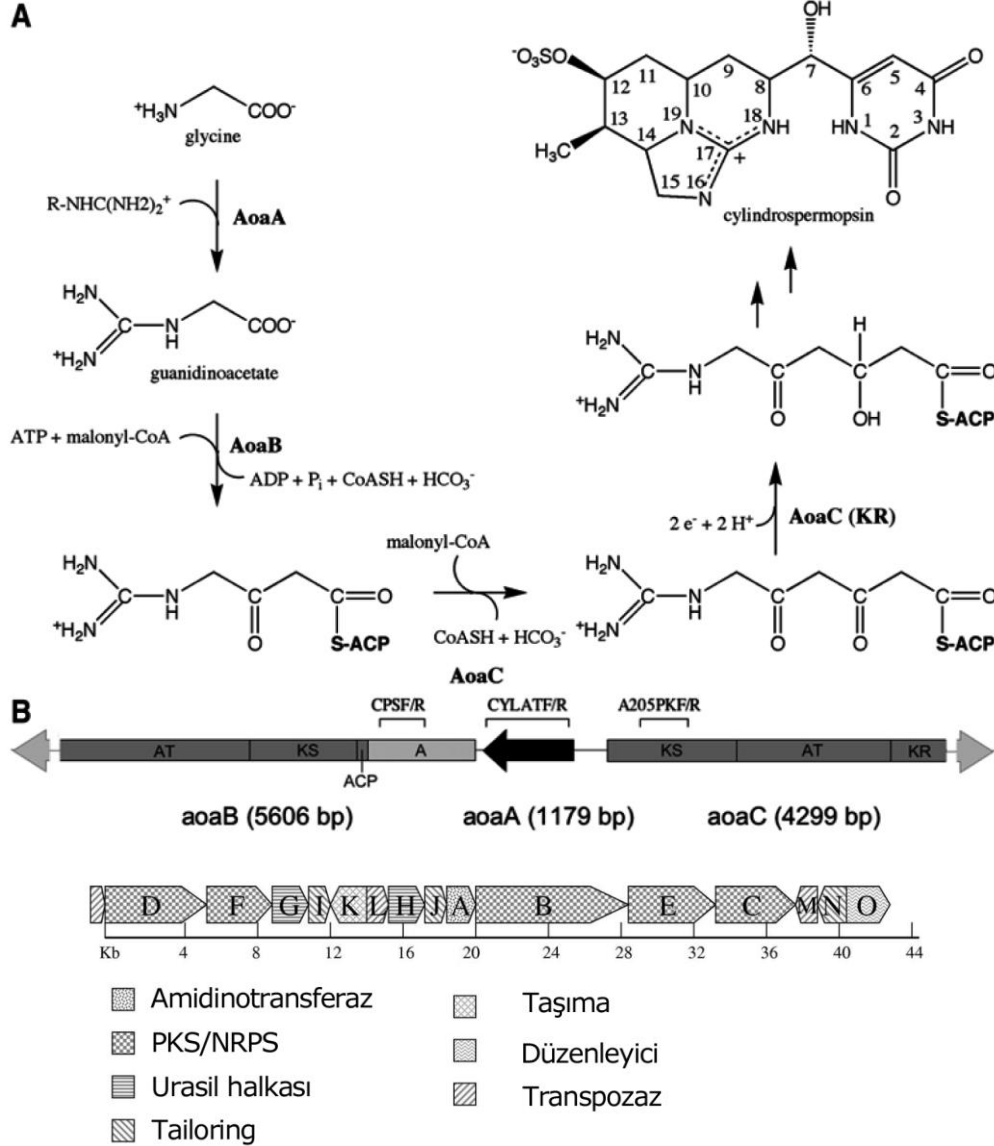
### 2.2.1 Nodularin Gen İfadesinin Düzenlenmesi

NOD (nodularin) sentezi ve düzenlemesine ilişkin olarak, NOD daima NRPS ve PKS enzimleri tarafından sentezlenmektedir. *Nodularia spumigena* NS10 suşunun 48 kb'lık genom bölgesi dokuz ORF (*ndaA-I*) ile çift yönlü bir düzenleyici promotor bölgesinden transkribe edilmiştir. *ndaAB*, ORF1, ORF2 ve *ndaC* iki polisistronik mRNA'dan transkribe edilir. ORF1, ORF2 ve ORF3 sırasıyla *nda* kümesi ile ilgili olan *ndaAB* genlerinin aşağısında mevcuttur. NOD sentezi ile ilgili olarak ORF2'nin ışık, ORF3'ün de sıcaklık stresi altında *nda* kümesinin transkripsiyonel düzenlenmesinde rol aldığı ortaya konulmuştur.

*nda*'ların çoğu *mcy* kümesi içerisinde homologtur ve biyosentezi mikrosistin biyosentezine benzer bir şekilde gerçekleşir. *nda* kümesi delesyon yoluyla *mcyA-A2* ve *mcyB-C2* alanları arasındaki bölgeden türetildiği bilinmektedir (Şekil 6) [21,16]. Gen kümesindeki *ndaA-ndaI* NRPS modüllerini, PKS modüllerini ve tailoring enzimlerini kodlamaktadır. *Nda* kümesi nodularinin taşınması ve modifikasyonunda rol oynayan bazı muhtemel mono fonksiyonel kuyruk enzimlerini de kodlamaktadır. *ndaE* bir O-metiltransferazını, *ndaG* muhtemel L-Asp/L-Glu rasemözünü ve *ndaI* ise bir ABC taşıyıcısını kodlamaktadır [16].



Guanidinoasetatın cylindropermopsin biyosentezi için başlatıcı bir birim olduğunu ve slindropermopsinin karbon iskeletini ortaya çıkaran guanidinoasetat üzerindeki beş tam asetat biriminin ardışık olarak eklenmesi ile oluşturulduğu belirtilmiştir. *aoaA*, *aoaB* ve *aoaC* genleri *Aphanizomenon ovalisporum*'da tespit edilmiştir. Bu genler sırasıyla amidinotransferaz, hibrid NRPS/PKS ve PKS'ı kodlayan genlerdir. Fakat ne bu genler tarafından üretilen ürünlerin biyokimyasal yapıları tam olarak tanımlanmıştır ne de ürünlerin cylindropermopsin biyosentezine dahil oldukları kanıtlanabilmiştir [28]. *C. raciborskii* AWT205'te *cyr* gen kümesi 43 kb'dır ve toksinin biyosentezi ve regülasyonu için gerekli olan genleri içeren 15 açık okuma çerçevesinden oluşmaktadır. Bir amidinotransferaz; glisine bir guanidino grubu transferi yoluyla guanidinoasetat oluşturarak *cyrA* tarafından kodlandığı bilinir. *CyrB* tarafından oluşturulan karışık bir NRPS-PKS'nin guanidinoasetatı aktif hale getireceği düşünülmektedir, bu da KS (keto sentaz) alanına peptidil taşıyıcı proteinin (PCP) taşınmasından sonra gerçekleşmektedir. *CyrB*'nin AT domeini malonil-CoA'yı aktif hale getirir ve onu ACP'ye bağlar. Bu işlem KS alanında malonil-CoA ile aktif guanidinoasetat arasındaki reaksiyondan sonra gerçekleşmektedir (Şekil 8) [25].



**Şekil 8.** Cylindropermopsin biyosentezi ve *A. ovalisporum* ile *C. raciborskii* suşundaki kümeleri (A, aminoaçil adenilasyon; ACP: açıl taşıyıcı protein; AT: açıl transferaz; KR: keto redüktaz; KS, b-keto sentaz) [28].

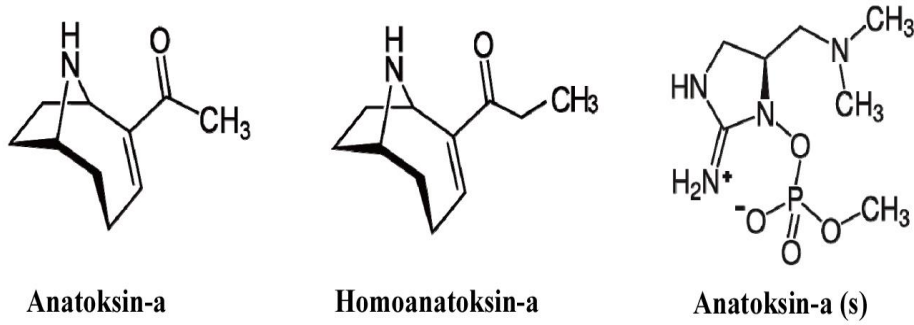


### 3. Nörotoksinler

Nörotoksinler, heterosiklik azotlu bileşikler halindedirler. Siyanobakteriyel nörotoksinlerin bilinen üç cinsi vardır; anatoksin-a, homoanatoksin ve saksitoksin. Bu toksinleri üreten başlıca genlar *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon* ve *Cylindrospermopsis*'tir [29]. Nörotoksinlerin nikotinik asetilkolin reseptörlerine karşı yüksek afiniteleri vardır. Reseptörlere bağlandıkları zaman post sinaptik reseptör iyon kanallarında konformasyonel değişikliklere neden olurlar ve bu durumda nöromuskular depolarizasyonun blokajına sebep olurlar [30].

#### 3.1 Anatoksinler

Anatoksinler *Anabaena*, *Oscillatoria* ve *Aphanizomenon* gibi birçok siyanobakteri tarafından üretilen nörotoksik alkaloidlerdir [31, 32]. Bu zamana kadar üç yaygın anatoksin, siyanobakterilerde tanımlanmıştır. Bunlar; anatoksin-a (*ATX-a*), homoanatoksin-a (*hATX-a*) ve anatoksin-a(s)'dir (*ATX-a(s)*). *ATX-a* (165 Da) ve *hATX-a* ikincil aminler olmalarına rağmen, *hATX-a* *ATX-a*'dan metilasyonu ve keton yapısı ile ayrılır. *ATX-a(s)* ise (252 Da) siklik bir *N*-hidroksiguanidini fosfat ester yapısında olduğu için farklıdır (Şekil 9) [33]. Bu nörotoksinlerin hepsi asetil kolinesteraz aktivitesini inhibe ederek, kas ve solunum fonksiyonları bozukluğuna yol açarak ölüme sebep olurlar [29].

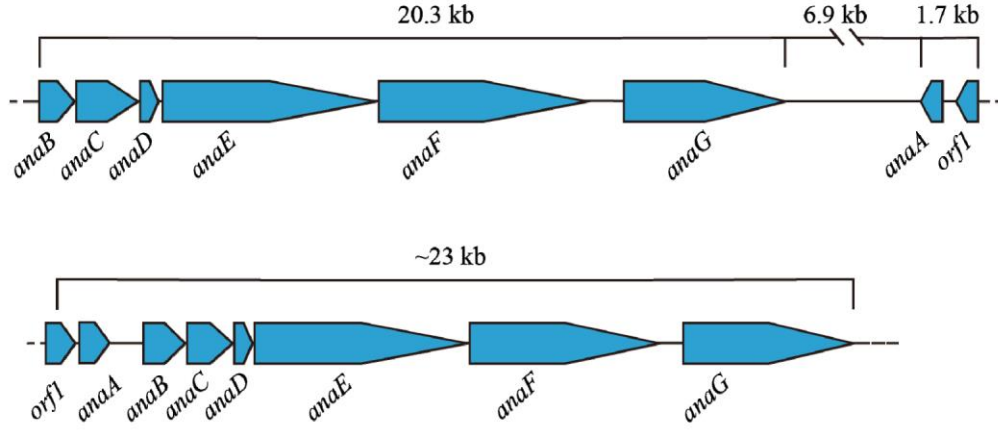


Şekil 9. Anatoksin çeşitleri [21]

#### 3.1.1 Anatoksin Gen İfadesinin Düzenlenmesi

*ATX-a* ve türevleri NRPS ile prolin eklenmesiyle sentezlenirken takip eden zincir uzaması ve siklizasyon PKS tarafından gerçekleşir. Anatoksin (*ana*) gen kümesi son zamanlarda *Oscillatoria* PCC6506 ve *Anabaena* sp. 37 suşu için tanımlanmıştır.

*Oscillatoria* ile *Anabaena* anatoksin genleri arasında sekans korunumu yüksek bir seviyede olduğu ortaya çıkartılmış olmasına rağmen, organizasyonları önemli ölçüde farklıdır. *Anabaena* sp. 37 de ana küme herhangi bir RNA polimeraz bağlama yeri olmadan karakteristik dizi motifleri ile dört ya da beş operon içermektedir. Ayrıca *ana* biyosentetik genleri iki kümesi (29 kb uzunlukta) ters yönde transkripsiyon yapar ve büyük bir (6 kb) intergenik bölge boşluğu ile birbirinden ayrılır. Moleküler yöntemler anatoksinlerin tespit edilmesi için geliştirilmektedir (Şekil 10) [21, 34]. Bu zamana kadar *ana* kümesinin düzenlenmesine ilişkin çalışmalar halen emekleme evresindedir.

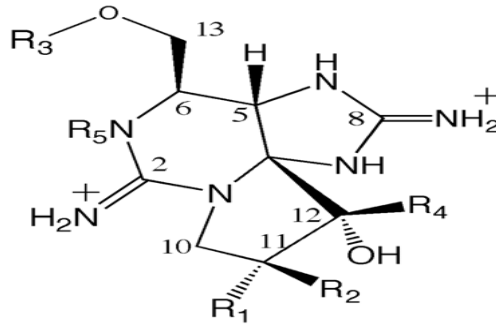


Şekil 10. *Anabaena* sp. 37 ve *Oscillatoria* PCC6506 suşlarında kodlama yapan *ana* gen kümeleri [21]

### 3.2 Saksitoksin

Saksitoksin, parolitik kabuklu deniz zehiri (PSP) olarak da bilinen *STX*, *Aphanizomenon* sp., *Anabaena* sp., *Lyngbya* sp., *Planktothrix* sp. ve *Cylindrospermopsis* sp. gibi siyanobakteriler tarafında üretilen nörotoksik alkaloiddir. Saksitoksinlerin sinir hücrelerinde voltaj kapılı  $\text{Na}^+$  kanallarına bağlanarak sinirsel iletimini engelleyerek memelilerde solunum durması sonucu gerçekleşen ölüme ve kas felcine neden olduğu rapor edilmiştir [35].

*STX* trisiklik bir bileşik olup, bir tetrahidropiridin grubu ve iki guanidin alt biriminden oluşmaktadır. Yaklaşık 57 çeşit analogu varsayılan bu alkaloid sınıfı aynı trisiklik omurgayı paylaşsalar da yan grup kısımları açısından farklılık gösterdikleri bilinmektedir (Şekil 11) [21].



Şekil 11. Saksitoksinin genel yapısı [21]

#### 3.2.1 Saksitoksin Gen İfadesinin Düzenlenmesi

Bugüne kadar Saksitoksin regülasyonu ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır. Biyoinformatik karakterizasyonuna göre, saksitoksin sentezi çok fonksiyonlu poliketit biyosentez enzimi olan *SxtA* tarafından başlatılmaktadır. Saksitoksin gen kümesi siyanobakteriye ait bazı genuslarda bildirilmiştir [36, 37]. Bu gen kümesinin büyüklükleri *Raphidiopsis brookii* D9'da 25.7 kb ve *Lyngbya wollei*'de 36 kb'dır. Biyosentez enzimleri kodlayan 33 gen saksitoksinin biyosentezinde, taşınmasında ve düzenlenmesinde görevlidir. Küme içindeki gen yerleri suşların her birinde farklıdır ve genlerinin varlığı ya da yokluğu aynı zamanda her bir suş tarafından ifade edilen belirli bir toksin profilini belirlemektedir. *C. raciborskii*



## 4. Dermatoksinler

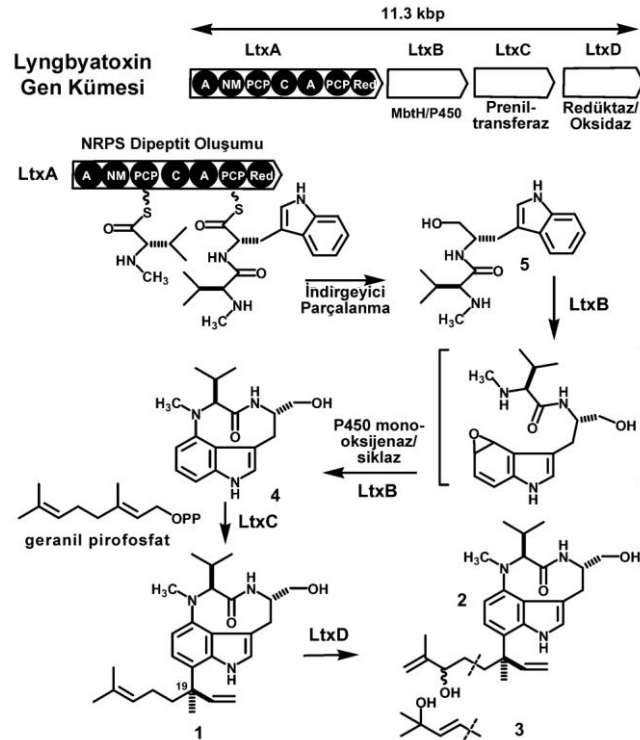
Siyanobakteriyel dermatoksinler deri irritasyonlarına, allerjik reaksiyonlara ve gastroenterite neden olurlar. *Lyngbya*, *Oscillatoria* ve *Schizothrix* gibi bentik deniz siyanobakteri cinsleri tarafından üretilirler [41].

### 4.1 Lyngbyatoksin

Lyngbyatoksinler, *Lyngbya majuscula* tarafından üretilen güçlü bir cilt tahriş edici etkiye sahip dermatoksinlerdir. Bu toksinler aktivitelerini protein kinaz C'nin (PKC) güçlü aktivasyonu ile ortaya koyarlar [39, 42].

#### 4.1.1 Lyngbyatoksin Gen İfadesinin Düzenlenmesi

Lyngbyatoksinler (*ltx*) gen kümesi 11.3 kb'lık bölgedir ve dört açık okuma çerçevesinden oluşmaktadır. Bunların her birisi de aynı yönde kopyalanmıştır. İlk ORF olan *ltxA*, İki modül NRPS proteinini kodlar. İlk modül bir peptidil taşıyıcı protein (PCP), bir N-metilasyon (NM) domeini ve L-Val için özel bir A domeini içermektedir. İkinci modül ise, bir kondensasyon (C)- domeini, L-Trp'ye özel olan bir A domeini, bir PCP ve 5'i üretmek için NRPS'den N-Me-L-Val-L-Trp'nin NADPH'ye bağlı indirgeyici salınımında sorumlu olan bir Red domein içermektedir. İkinci ORF *ltxB*, NRPS'nin birçoğunun bulunduğu MbtH'ye benzer yaklaşık 80 adet amino asitin küçük N terminal domeinini içeren sitokrom P450 monooksijenazını kodlar. *ltxB* genellikle 5 indol halkasının oksidasyonunda yer almaktadır ve ayrıca 4.'ncü forma sonraki siklizasyonlarda dahil edilebilmektedir. Üçüncü ORF *ltxC*, diğer bilinen enzimlere çok az bir benzerliği olan proteini kodlamaktadır. Dördüncü ORF olan *ltxD* ise oksidaz/reduktaz tip proteinlerin farklı familyası ile ilişkili bir proteini kodlar. *ltxD* lyngbyatoksin A'nın yan metabolitleri olan lyngbyatoksin B ve C'ye dönüşme işlemine de dahil olur (Şekil 14) [43].



Şekil 14. Lyngbyatoksin gen kümesi ve lyngbyatoksin A, B, C'nin biyosentezi [39]

## 5. Sonuç

Yeryüzünde hemen her yerde bulunan siyanobakteriler metabolizmalarından ötürü biyolojik, ekolojik ve ekonomik bakımdan önemli bakterilerdir. [29, 44]. Siyanotoksinlerin insan sağlığı ve ekoloji üzerinde olumsuz etkileri olsa da son yıllarda siyanobakterilerden elde edilen bu moleküllerin antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyal, antiinflamatuvar etkileriyle birlikte hipokolestrolemik, enzim inhibisyonu ve diğer bazı farmakolojik etkileri de ortaya konulmuştur [2, 45, 46].

Siyanotoksinler stres altındayken ya da hücre çözülüp dağıldığında faaliyete geçerler ve ribozom dışı peptid sentetaz olarak bilinen bir enzim ailesi tarafından veya poliketid sentaz mekanizması tarafından sentezlenirler [5, 47]. Bu çalışmada siyanotoksinlerin biyosentez mekanizmalarından sorumlu genlerin regülasyonu hakkında bilgi verilmiştir. Fakat siyanotoksinlerin biyosentez geçiş yolları ile ilgili araştırmalar henüz başlangıç aşamasındadır ve biyokimyasal geçiş yolları da tamamen bilinmemektedir. Gelecekte toksin biyosentezi ve gen transkripsiyonu ile ilgili yapılacak olan çalışmalar bu bilgi boşluklarını doldurmaya yardımcı olacaktır.

## Kaynaklar

- [1] R. Akcaalan, F.M. Young, J.S. Metcalf, L.F. Morrison, M. Albay, G.A. Codd, Mikrosistin analysis in single filaments of *Planktothrix* spp. in laboratory cultures and environmental blooms, *Water Research* 40, 1583-1590, 2006.
- [2] V. Gupta, R. Prasanna, Cyanobacterial bioactive molecules Biosynthesis and genetic regulation. *Microbial Research*, p. 15, 2012.
- [3] E. Dittmann, B.A. Neilan, T. Börner, Molecular biology of peptide and polyketide-biosynthesis in cyanobacteria, *Appl Microbiol Biotechnol*, 57, 467-473, 2001.
- [4] M. Welker, and H. von Döhren, Cyanobacterial peptides – nature's own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 30: 530–563, 2006.
- [5] E. Huber, N.L. Acan, Ribozom dışı yolla sentezlenen biyoaktif peptidler, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 35: 43-48, 2004
- [6] I. Chorus and J. Bartram, Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management, edited by I. Chorus and J. Bartram. Published on behalf of WHO by: F and FN Spon, London, 1999
- [7] M. Billam, Development and Validation of Mikrosistin Biomarkers for Exposure Studies, PhD Thesis, Graduate Faculty of Texas Tech University, 234p. 2006.
- [8] G.A. Codd, Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control, *Ecological Engineering*, 16: 51-60, 2000.
- [9] T. Hunter, Protein kinases and protein phosphatases: The Ying and Yang of protein phosphorylation and signalling. *Cell*, (80), 225-236, 1995.
- [10] K. Sivonen, G. Jones, Cyanobacterial Toxins. In Chorus, I. and Bartram, J. (eds), Toxic Cyanobacteria in Water. First Edition. World Health Organization, E. & F.N. Spon, London and New York, pp. 41-110, 1999.
- [11] N. Gupta, S.C. Pant, R. Vijayaraghavan, P.V. Lakshmana Rao. 2003. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin mikrosistin variants (LR, RR, YR) in mice *Toxicology* 188, 285\_ 296.
- [12] S. Yoshizawa, R. Matsushima, M.F. Watanabe, K.I. Harada, A. Ichihara, E. Dittmann, B.A. Neilan, M. Erhard, H. Von Döhren, T. Börner, Insertional mutagenesis of a

- peptide synthetase gene that is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Mol Microbiol.* 26:779-87, 1997.
- [13] M. Albay, A. Matthiensen, G.A. Codd, Occurrence of toxic Blue-Green Algae in Kucukcekmece Lagoon, Istanbul, Turkey, *Environmental Toxicology*, 20, 277-284 v
- [14] D. Tillett, E. Dittmann, M. Erhard, H. Von Dohren, T. Borner, B.A. Neilan, Structural organization of mikrosistin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system, *Chem. Biol.*, 7, 753–764 2000.
- [15] M.C. Moffitt, B.A. Neilan, Characterization of the nodularin synthetase gene cluster and proposed theory of the evolution of cyanobacterial hepatotoxins, *Appl Environ Microbiol*, 70, 6353–6362, 2004.
- [16] L. Pearson, T. Mihali M. Moffitt, R. Kellmann and Brett Neilan, On the Chemistry, Toxicology and Genetics of the Cyanobacterial Toxins, Mikrosistin, Nodularin, Saksitoksin and Cylindrospermopsin. *Mar. Drugs*, 8: 1650-1680 2010.
- [17] J. Huisman, H.C.P. Matthijs, P.M. Visser *Harmful cyanobacteria*, Springer, Netherlands, 978-1-4020-3009-3, 2005.
- [18] K.L. Rinehart, K. Harada, M. Namikoshi, C. Chen, C.A. Harvis, M.H.G. Munro, Blunt, J.W., Mulligan, P.E., Beasley, V.R., Dahlem, A.M., W.W. Carmichael, Nodularin, mikrosistin, and the configuration of Adda. *J. Amer. Chem. Soc.*, (110), 8557- 8558, 1988. [19] R.E. Honkanen, M. Dukelow, J. Zwiller, R.E. Moore, B.S. Khatra and A.L. Boynton, Cyanobacterial nodularin is a potent inhibitor of type 1 and type 2A protein phosphatases. *Mol Pharmacol* 40: 577–583, 1991.
- [20] C. Michelle, A. Moffitt and Brett, Characterization of the Nodularin Synthetase Gene Cluster and Proposed Theory of the Evolution of Cyanobacterial Hepatotoxins. Neilan applied and environmental microbiology, nov. 70: 6353–6362, 2004.
- [21] T. Boopathi and Jang-Seu Ki Impact of Environmental Factors on the Regulation of Cyanotoxin Production. *Toxins* 6: 1951-1978, 2014.
- [22] I. Ohtani, R.E. Moore, M.T.C. Runnegar, Cylindrospermopsin: A potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 7941–7942, 1992.
- [23] R. Li, W.W. Carmichael, S. Brittain, G.K. Eaglesham, G.R. Shaw, Y. Liu, M.M. Watanabe, First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (Cyanobacteria). *J. Phycol.* 37, 1121–1126, 2001.
- [24] M.T. Runnegar, C. Xie, B.B. Snider, G.A. Wallace, S.M. Weinreb and J. Kuhlenkamp, *In vitro* hepatotoxicity of the cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin and related synthetic analogues. *Toxicol Sci* 67: 81–87 2002.
- [25] T.K. Mihali, R. Kellmann, J. Muenchhoff, K.D. Barrow and B.A. Neilan Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis. *Appl Environ Microbiol* 74: 716–722, 2008.
- [26] A. Stuken and K.S. Jakobsen, The cylindrospermopsin gene cluster of *Aphanizomenon* sp. strain 10E6: organisation and recombination. *Microbiology* 156: 2438–2451, 2010.
- [27] R. Mazmouz, F. Chapuis-Hugon, S. Mann, V. Pichon, A. Mejean and O. Ploux, Biosynthesis of cylindrospermopsin and 7-epicylindrospermopsin in *Oscillatoria* sp. strain PCC 6506: identification of the *cyr* gene cluster and toxin analysis. *Appl Environ Microbiol* 76: 4943– 4949, 2010.
- [28] R. Kellmann, Toby Mills, A. Brett Neilan Functional Modeling and Phylogenetic Distribution of Putative Cylindrospermopsin Biosynthesis Enzymes *J Mol Evol.* 62:267–280, 2006.
- [29] W.W. Carmichael, The toxins of cyanobacteria, *Sci Amer.* 270(1): 78-86.

- [30] R. Araoz, H. Nghiem, R. Rippka, N. Palibroda, N.T. Marsac, M. Herdman, 2005. Neurotoxins in axenic oscillatorian cyanobacteria: coexistence of anatoxin-a and homoanatoxin-a determined by ligand-binding assay and GC/MS, *Microbiology*, 151, 1263-1273, 1994.
- [31] A. Méjean, S. Mann, T.Maldiney, G.Vassiliadis, O. Lequin and O. Ploux, Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloids anatoxin-a and homoanatoxin- a in the cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506 occurs on a modular polyketide synthase initiated by L-proline. *J Am Chem Soc* 131: 7512–7513, 2009.
- [32] S. Wonnacott, T. Gallagher, *Mar. Drugs* 4, 228 2006.
- [33] M.E. Van Apeldoorn, H.P. Van Egmond, G.J. Speijers, G.J. Bakker, Toxins of cyanobacteria. *Mol. Nutr. Food. Res.*, 51, 7–60 2007.
- [34] A. Rantala-Ylinen, S. Kana, H. Wang, , L. Rouhiainen, M. Wahlsten, E. Rizzi, *et al.* Anatoxin-a synthetase gene cluster of the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain 37 and molecular methods to detect potential producers. *Appl Environ Microbiol* 77: 7271–7278, 2011.
- [35] Z. Su, M. Sheets, H. Ishida, F. Li, and W.H. Barry, Saksitoksin blocks L-type ICa. *J. Pharmacol Exp Ther* 308: 324–329 2004.
- [36] R. Kellmann, T.K. Mihali, Y.J. Jeon, R. Pickford, F. Pomati, and B.A. Neilan, Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saksitoksin gene cluster in cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol* 74: 4044–4053, 2008.
- [37] T.K. Mihali, R. Kellmann and B.A. Neilan, Characterisation of the paralytic shellfish toxin biosynthesis gene clusters in *Anabaena circinalis* AWQC131C and *Aphanizomenon* sp. NH-5. *BMC Biochem* 10: 8, 2009.
- [38] A.M. Plominsky, K. Soto-Liebe and M.Vasquez, Optimization of 2D-PAGE protocols for proteomic analysis of two nonaxenic toxin-producing freshwater cyanobacteria: *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Raphidiopsis* sp. *Lett Appl Microbiol* 49: 332–337, 2009.
- [39] D.J. Edwards, B.L. Marquez, L.M. Nogle, K. McPhail, D.E. Goeger, M.A. Roberts, W.H. Gerwick, Structure and biosynthesis of the jamaicamides, new mixed polyketide-peptide neurotoxins from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *Chem. Biol.*, 11, 817–833, 2004.
- [40] E. Valério, S. Chaves, and R. Tenreiro, Diversity and Impact of Prokaryotic Toxins on Aquatic Environments: A Review *Toxins* 2, 2359-2410; 10.3390/toxins2102359, 2010.
- [41] J.S. Mynderse, R.E. Moore, M. Kashiwagi and T.R. Norton, Antileukemia activity in the Oscillatoriaceae, isolation of debromoaplysiatoxin from *Lyngbya*. *Science*, 196:538-540, Ecophysiology of Marine Cyanobacterial Blooms, Watkinson, A., University of Queensland, 52 p. 1977.
- [42] K. Irie, M. Hirota, N. Hagiwara, K. Koshimizu, H. Hayashi, S. Murao, H. Tokuda, Y. Ito, *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1441-1446, 1984
- [43] J. Daniel, Edwards and William, H. Gerwick Lyngbyatoxin Biosynthesis: Sequence of Biosynthetic Gene Cluster and Identification of a Novel Aromatic Prenyltransferase J. *Am. Chem. Soc.* 9 VOL. 126, NO. 37, 2004 11433, 2004.
- [44] J.S Metcalf and G.A. Codd, Cyanobacterial Toksins In The Water Environment, FR/R0009, U.K., 5p. 2004.
- [45] A. Brett , Neilan, Leanne A. Pearson, Julia Muenchhoff, Michelle C. Moffitt and Elke Dittmann Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria *Environmental Microbiology* 15(5), 1239–1253, 2013.
- [46] Annick Me´ jean, Ste´phane Mann, Thomas Maldiney, Gae´ lle Vassiliadis, Olivier Lequin, and Olivier Ploux Evidence that Biosynthesis of the Neurotoxic Alkaloids Anatoxin-a and Homoanatoxin-a in the Cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506

Occurs on a Modular Polyketide Synthase Initiated by L-Proline *J. Am. Chem. Soc.* 9  
Vol. 131, No. 22 2009.

[47] B.A Whitton, M.Potts, 2000. *The Ecology of Cyanobacteria-Their Diversity in Time and Space*, Kluwer Academic Publisher, USA, 0-306-46855-7.