

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DNA KONFORMASYONEL DEĞİŞİKLİKLERİN RODENTLERDE YAŞAM
UZUNLUĞU VE KANSER DİRENCİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GAMZENUR SÖNMEZ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. TUBA YAĞCI GURBANOV

BİLECİK, 2025

10743017

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DNA KONFORMASYONEL DEĞİŞİKLİKLERİN RODENTLERDE YAŞAM
UZUNLUĞU VE KANSER DİRENCİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GAMZENUR SÖNMEZ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. TUBA YAĞCI GURBANOV

BİLECİK, 2025
10743017

BEYAN

“DNA Konformasyonel Değişikliklerin Rodentlerde Yaşam Uzunluğu ve Kanser Direnci Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” adlı yüksek lisans tezinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.			
DESTEK ALINMIŞTIR		DESTEK ALINMAMIŞTIR	X
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum;			
Desteğin Türü		Proje Numarası	
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)			
2- TÜBİTAK			
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:		/.....	

Gamzenur SÖNMEZ

.....

Tarih

.....

İmza

.....

ÖN SÖZ

Tez çalışmam boyunca danışmanlığımı yürüten ve tez konumun belirlenmesinden çalışmanın sonuçlandırılmasına kadar değerli görüş ve önerilerini sunan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Tuba YAĞCI GURBANOV'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Rafig GURBANOV'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim de dâhil olmak üzere hayatımın her anında beni yalnız bırakmayan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen çok değerli annem Ayşe SÖNMEZ, çok kıymetli babam Celal SÖNMEZ ve abim Serdar SÖNMEZ'e sonsuz teşekkür ederim.

Gamzenur SÖNMEZ

2025

ÖZET

DNA KONFORMASYONEL DEĞİŞİKLİKLERİN RODENTLERDE YAŞAM

UZUNLUĞU VE KANSER DİRENCİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Günümüzde güncel araştırmalar, DNA genetik kodunun ötesine geçerek kanser, kalıtsal hastalıklar, yaşlanma süreci ve gen ekspresyonunu önemli ölçüde etkileyen yapısal varyasyonlara odaklanmaktadır. DNA'nın B formundan A veya Z formuna geçişi gibi konformasyonel değişiklikler, molekülün esnekliği, stabilitesi ve hasara karşı direnci üzerinde belirleyici rol oynar. Şeker halkası büzülmeleri ve DNA metilasyonu gibi moleküler faktörler bu yapısal dönüşümlerde etkili olmaktadır.

Bu çalışma, iki farklı kemirgen türünde DNA konformasyonel değişiklikleri ile yaşam süresi ve kanser direnci arasındaki olası ilişkileri inceleyen ilk çalışmadır. Uzun ömürlü ve doğal kanser direnci yüksek *Nannospalax xanthodon* ile nispeten daha kısa ömürlü ve kanser duyarlılığı daha fazla olan *Rattus rattus*'a ait karaciğer DNA örnekleri, kızılötesi spektroskopisi ve temel bileşen analizi (PCA) ile değerlendirilmiştir. Analizler, *N. xanthodon*'da DNA'nın A formundan B ve Z formlarına geçişlerin daha yaygın olduğunu, her iki türde de baskın formun B formu olduğunu göstermiştir. N-tipi (C3-endo) şeker büzülmeleri *N. xanthodon*'da belirgin şekilde fazla iken, B tipi DNA'ya özgü S-tipi büzülme bu türde daha düşük düzeylerde saptanmıştır. Ayrıca, nükleobaz metilasyonuna bağlı yapısal modifikasyonlardaki türler arası varyasyonlar nicel olarak ortaya konmuştur.

Elde edilen bulgular, *N. xanthodon*'un uzun ömürlülüğü ve kanser direnci ile sahip olduğu DNA yapısal özellikleri arasında anlamlı bir ilişki olabileceğini desteklemekte; farklı DNA konformasyonları ile omurga ve baz-şeker bileşenlerinin, yaşlanma ve kanser gelişimini baskılama süreçlerinde önemli roller oynayabileceğine dair yeni ipuçları sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Nannospalax xanthodon*, *Rattus rattus*, Yaşlanma, Kanser Direnci, DNA yapısı, FTIR spektroskopisi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DNA CONFORMATIONAL CHANGES ON LIFESPAN AND CANCER RESISTANCE IN RODENTS

Contemporary research increasingly moves beyond the genetic code of DNA to focus on structural variations that significantly influence cancer, hereditary diseases, aging, and gene expression. Conformational changes, such as the transition of DNA from the B form to the A or Z forms, play a critical role in determining the molecule's flexibility, stability, and resistance to damage. Molecular factors such as sugar puckering and DNA methylation contribute to these structural transformations.

This study represents the first investigation into the potential relationships between DNA conformational changes, lifespan, and cancer resistance in two rodent species. Liver DNA samples from the long-lived and naturally cancer-resistant *Nannospalax xanthodon* and the comparatively shorter-lived and cancer-susceptible *Rattus rattus* were analyzed using infrared spectroscopy and principal component analysis (PCA). The results revealed that *N. xanthodon* exhibited more frequent transitions from the A form to the B and Z forms of DNA, while the B form was predominant in both species. N-type (C3-endo) sugar puckers, associated with the A and Z forms, were notably more prevalent in *N. xanthodon*, whereas S-type puckers characteristic of B-form DNA were detected at lower levels in this species. Additionally, interspecies variations in nucleobase methylation-associated structural modifications were quantitatively assessed.

The findings support the hypothesis that the unique DNA structural characteristics of *N. xanthodon* may be linked to its longevity and cancer resistance. Moreover, they provide novel insights into how different DNA conformations, along with backbone and base-sugar structural features, may play significant roles in modulating aging and suppressing cancer development.

Keywords: *Nannospalax xanthodon*, *Rattus rattus*, aging, cancer resistance, DNA structure, FTIR spectroscopy.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖN SÖZ.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1 Rodentlerde Yaşam Süresi ile Yaşlanma ve Kanser	4
2.2 Körfarelerin Genel Özellikleri	5
2.3 DNA Yapısal Özellikleri Ve Uzun Yaşama Katkısı.....	6
2.3.1 DNA Formları.....	7
2.3.2 DNA Şeker Halkası Kıvrımı (DNA Sugar Pucker)	8
2.4 Kör Farelerde Uzun Ömür Mekanizmaları.....	9
2.4.1 Kansere Direnç ve Temas İnhibizasyonu	9
2.4.2 Yüksek Molekül Ağırlıklı Hyaluronik Asit (HMM-HA)	11
2.4.3 Hipoksi.....	12
2.4.4 Telomeraz Aktivitesi	13
2.5 DNA Yapı İncelemesinde FTIR Spektroskopisi	14
3. MATERYAL ve METOD.....	15
3.1 Doku Örneklemesi.....	15
3.2 Kimyasal İşlemler	15
3.3 FTIR Spektral Analizi.....	16

3.4 Temel Bileşen Analizi(Principal Component Analysis, PCA).....	16
3.5 İstatistiksel Analizler.....	17
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ	38
KAYNAKÇA	40



TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1 . <i>Nannospalax xanthodon</i> (N) ve <i>Rattus rattus</i> 'un (R) Genomik DNA'sının Spektral Bant Türleri ve Karakteristik Parametreleri.	22
--	-----------



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 4. 1** *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) türlerine ait karaciğer dokularından elde edilen DNA örneklerinin Temel Bileşen Analizi (PCA)..... **19**
- Şekil 4. 2** *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) türlerinin karaciğer dokularından izole edilen DNA örneklerine Temel Bileşenler Analizi (PCA) uygulanmıştır. Analiz kapsamında elde edilen skor ve yük grafikleri, DNA omurgasına ait yapısal özelliklere duyarlı olan PO_2^- antisimetrik gerilme bandı bölgesi ($1300-1200\text{ cm}^{-1}$) esas alınarak oluşturulmuştur..... **20**
- Şekil 4. 3** *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) türlerine ait karaciğer dokularından izole edilen DNA örneklerinin, $1800-800\text{ cm}^{-1}$ aralığını kapsayan ikinci türev infrared (IR) spektrumları **22**
- Şekil 4. 4** *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) DNA örneklerinde konformasyonel formlara ilişkin spektral indeksler. a) Farklı DNA konformasyonlarının yüzde dağılımını gösteren pasta grafik. b) A-DNA formunun göstergesi olan $A/(B + Z)$ indeksi ve ilgili ROC eğrisi. c) Z-DNA formunu temsil eden $Z/(A + B)$ indeksi ve buna ait ROC eğrisi..... **25**
- Şekil 4. 5** *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) DNA örneklerinde şeker konformasyonlarına ilişkin spektral indeksler. a) Furanoz halkasına ait spektral bantlar, b– c) C3'-endo konformasyonunu taşıyan N-tipi şekerleri ve d) C2'-endo konformasyonunu temsil eden S-tipi şekerleri gösteren spektral bantlar..... **27**
- Şekil 4. 6** *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) DNA örneklerine ait nükleobaz konformasyonlarıyla ilişkili spektral indeksler. a–d) Sitozin, e) Adenozin ve Timidin, f) Guanozin konformasyonlarını temsil eden spektral bantlar..... **29**

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

DNA: Deoksiribonükleik Asit

RNA: Ribonükleik Asit

A: Adenin Bazı

T: Timin Bazı

G: Guanin Bazı

C: Sitozin Bazı

FTIR: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

IR: Kızılötesi

PCA: Temel Bileşen Analizi(Principal Component Analysis)

dsRNA: Double-Strand RNA

dsDNA: Double-Strand DNA

Rb: Retinoblastoma Geni

CDK: Siklin Bağımlı Kinaz (Cyclin-Dependent Kinase)

G1: Gelişim 1 (Growth 1)

BMR: Kör Fare (Blind Mole Rat)

NMR: Çıplak Kör Fare (Naked Mole Rat)

HMM-HA: Yüksek Molekül Ağırlıklı Hyaluronik Asit

ECM: Ekstrasellüler Matriks

HA: Hyaluronik Asit

HAS1: Hyaluronik Asit Sentaz 1

HAS2: Hyaluronik Asit Sentaz 2

HAS3: Hyaluronik Asit Sentaz 3

CD44: Hücre Yüzey Molekülü 44

ROS: Reaktif Oksijen Türevleri

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Factor

PRC2: Polycomb Baskılayıcı Kompleksi 2

A2M: Alfa-2-Makroglobulin Geni

IL-1: İnterlökin-1

IL-6: İnterlökin-6

IL-8: İnterlökin-8

BER: Baz Çıkarım Onarımı

NHEJ: Homolog Olmayan Uç Birleşimi

NMR: Nükleer Manyetik Rezonans

CD: Dairesel Dikroizm

HCl: Hidroklorik Asit

NaCl: Sodyum Klorür

SDS: Sodyum Dodesil Sülfat

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

TBE: Tris-Borate-EDTA

EtBr: Etidyum Bromür

SVD: Tekil Değer Ayırıştırması

SEM: Ortalama Standart Hata

AUC: Eğri Altı Alan

SE: Standart Hata

N₂: Azot

nm: nanometre

Å: Ångström

°C: Santigrat

µl: Mikrolitre

mM: Milimolar

ml: Mililitre

mg: Miligram

kcal: Kilokalori



1. GİRİŞ

DNA (Deoksiribonükleik Asit), yalnızca nükleotid dizisiyle sınırlı kalmayan, üç boyutlu yapısal özellikleriyle de hücrel ve organizma düzeyinde işlevsellik sağlayan dinamik bir biyomoleküldür. Son yıllarda yapılan çalışmalar, DNA'nın diziye bağlı genetik kodunun ötesine geçen yapısal mimarisinin; genomik stabilite, hücrel fonksiyonların sürekliliği ve organizma düzeyinde uzun ömür açısından kritik bir belirleyici olduğunu ortaya koymuştur (Watson ve Crick, 1953). Klasik sağ sarmal yapıya ve Watson–Crick baz eşleşmesine sahip B-form DNA, fizyolojik ve çevresel koşullardaki değişikliklere bağlı olarak; saç tokası (hairpin), üçlü sarmal (triplex), çapraz yapı (cruciform), sol sarmal Z-DNA, G-dörtlü yapılar (G-quadruplex) ve A-motifleri gibi alternatif non-B DNA konformasyonlarına dönüşebilmektedir (Saenger, 1984a). Bu konformasyonel geçişler, DNA'nın esneklik, stabilite ve protein etkileşim kapasitesini önemli ölçüde etkileyerek, yaşlanma, kanser ve diğer yaşa bağlı hastalıklarla ilişkili biyokimyasal süreçlerde belirleyici rol oynayabilir (Rich vd., 1983; Saenger, 1984b; Mirkin, 2007; Bacolla ve Wells, 2009; Vijg ve Suh, 2013; Bhanjadeo vd., 2022; Nial ve Subudhi, 2024). Bu nedenle, DNA'nın yapısal çeşitliliği ve dinamik konformasyonel özellikleri, klasik genetik anlayışın ötesine geçerek biyolojik yaşlanma süreçlerinin moleküler temellerini anlamada yeni bir perspektif sunmaktadır.

Güncel araştırmalar, epigenetik modifikasyonlar, şeker pucker dinamikleri ve helikal polimorfizmlerin, DNA'nın üç boyutlu yapısal düzenini önemli ölçüde şekillendirdiğini ve bu yapısal değişimlerin organizmaların stres toleransı ile yaşam süresi üzerinde belirleyici rol oynayabileceğini göstermektedir (Sen ve ark., 2016; López-Otín ve ark., 2023). Özellikle DNA metilasyonu ve metil-şeker etkileşimleri, DNA'nın yapısal esnekliğini ve genel stabilitesini etkileyerek gen ifadesi, kromatin organizasyonu ve genomik bütünlük üzerinde işlevsel sonuçlar doğurmaktadır (Bird, 1986; Kumar vd., 2018). DNA'nın B-formdan A-forma geçişi sırasında, baz çiftlerinin heliks eksenine göre konumu değişmekte ve bu geçişe, şeker halkasının C2'-endo (S-tipi) konformasyonundan C3'-endo (N-tipi) konformasyonuna kayması eşlik etmektedir (Saenger, 1984b; Ghosh ve Bansal, 2003). Bu yapısal dönüşüm, A-DNA'nın B-DNA'ya kıyasla daha kompakt ve esnek bir yapıya sahip olmasına yol açmaktadır. Bu bağlamda, epigenetik düzenlemeler ve alternatif DNA konformasyonları, moleküler düzeyde yaşlanma ve kanser gibi karmaşık biyolojik süreçlerin temel belirleyicileri olarak öne çıkmakta; bu süreçlere ilişkin yeni moleküler perspektiflerin gelişmesine olanak tanımaktadır (Pérez vd., 2022; Winnefeld ve Lyko, 2023).

Epigenetik araştırmalar, özellikle yaşlanma ve onkogene兹 gibi hlen tam olarak lememiş biyolojik süreçlerin moleküler temellerine ışık tutması bakımından son yıllarda hızla gelişen ve dikkat çeken bir bilim alanı haline gelmiştir (Mangelinck ve Mann, 2021). Memeliler üzerinde yapılan çalışmalar, özellikle DNA metilasyonunun; embriyonik gelişim, kromatin organizasyonu, yaşlanma ve kanserleşme gibi çok sayıda temel biyolojik süreçte kilit roller üstlendiğini ortaya koymuştur (Liu vd., 2003). Bu bağlamda, uzun ömürlü türlerde gözlemlenen DNA metilasyon dinamiklerinin, yaşlanma sürecini yavaşlatıcı ve kanser direncini artırıcı etkiler doğurabileceği düşünülmektedir. Nitekim, yarasalar gibi bazı uzun ömürlü memeli türlerinde, belirgin yaşlanma belirtilerinin görülmemesi ve DNA metilasyon profillerinde yaşa bağlı değişimlerin sınırlı olması, bu türlerin epigenetik düzeyde farklılaştığını göstermektedir (Wilkinson vd., 2021).

Memelilerde yaşam süresi, *Mus musculus* (yaklaşık 2 yıl) gibi kısa ömürlü türlerden, bowhead balinası (*Balaena mysticetus*, yaklaşık 211 yıl) gibi son derece uzun ömürlü türlere kadar büyük çeşitlilik göstermektedir. Bu eřitlilik, yaşlanma ve yařa bağlı hastalıkların altında yatan genetik ve epigenetik düzenleyicilerin karşılaştırmalı olarak incelenmesi açısından oldukça değerli bir model sunmaktadır. Özellikle *Rodentia* takımına ait türler, yaşlanma çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakta olup, bu bağlamda önemli karşılaştırmalı örnekler oluşturmaktadır (Lorenzini vd., 2009). Örneėin, *Heterocephalus glaber* (ıplak kör fare), belirgin kanser direnci, gecikmiş yaşlanma belirtileri ve 20 yılı aşkın ömrü ile geleneksel memeli yaşlanma modellerini sorgulatan çarpıcı bir tür olarak öne çıkmaktadır (Gorbunova vd., 2014). Benzer şekilde, *Spalacinae* alt familyasına *Nannospalax* cinsi olağanüstü kanser direnci, hipoksi toleransı ve 20 yılı aşkın yaşam süreleri ile dikkat çekmektedir (Shams vd., 2005a; Manov vd., 2013; Fang vd., 2014; Gorbunova vd., 2014; Bugarski-Stanojević vd., 2024).

Özellikle Türkiye’de yayılış gösteren *Nannospalax xanthodon* ve *Nannospalax ehrenbergi*, ekstrem çevresel koşullara evrimsel adaptasyonları, uzun ömürleri ve tümör baskılayıcı mekanizmaları ile dikkat çeken türlerdir. Bu zellikleri nedeniyle, yaşlanma, stres toleransı ve onkolojik direnç mekanizmalarının moleküler temellerini araştırmak için önemli model organizmalar olarak değerlendirilmektedir (Manov vd., 2013; Solak vd., 2023). Buna karşılık, *Rattus rattus* gibi daha kısa ömürlü türler bu tür adaptasyonlardan yoksun olup, DNA yapısı ile yaşam süresi arasındaki muhtemel ilişkileri değerlendirmek açısından karşılaştırmalı analizler için uygun kontrol grupları sunmaktadır (Buffenstein, 2005; Edrey vd., 2011; Fang vd., 2014a). Bu türlerin birlikte değerlendirilmesi, karşılaştırmalı epigenetik yaklaşımlar

aracılığıyla yaşlanma biyolojisi ve onkolojik direnç mekanizmalarının aydınlatılmasına önemli katkılar sağlayabilir.

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, DNA'nın yapısı, konformasyonu ve moleküler etkileşimlerini analiz etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan, güçlü bir spektroskopik tekniktir. Bu yöntem, DNA'daki baz eşleşmesi, baz istiflenmesi ve şeker puckering gibi karakteristik titreşim modlarını inceleyerek, A-, B- ve Z-DNA gibi farklı helikal konformasyonların tanımlanmasına olanak tanır (Banyay vd., 2003; Gurbanov vd., 2019). IR spektrumunda yer alan spesifik marker bantlar, yalnızca helikal formlar arasında ayırım yapılmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda DNA'nın genel yapısal bütünlüğü hakkında da önemli bilgiler sunar (Muntean vd., 2013).

FTIR spektroskopisi aynı zamanda epigenetik modifikasyonların, özellikle de DNA metilasyonunun, moleküler düzeyde incelenmesinde de etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Metil gruplarının özellikle sitozin ve guanin üzerindeki titreşim bantlarında meydana getirdiği küçük fakat anlamlı spektral değişiklikler, metilasyonun DNA yapısı ve stabilitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesini mümkün kılmaktadır (Banyay ve Gräslund, 2002; Gurbanov vd., 2019). FTIR'nin hem lokal hem de global yapısal değişimlere duyarlılığı, onu DNA'nın konformasyonel geçişleri, çevresel stres yanıtları ve protein-DNA etkileşimleri gibi biyolojik süreçlerdeki rollerini anlamada güçlü ve hassas bir teknik haline getirmektedir (Whelan ve ark., 2011, 2014; Karthikeyan vd., 2022; Teker vd., 2024; Tokgöz vd., 2024).

N. xanthodon, memeliler arasında dikkate değer bir hipoksi toleransı, kanser direnci ve uzun yaşam süresi gibi özgün fizyolojik özellikler sergilemektedir. Bu adaptasyonlar, genomik düzeydeki yapısal ve işlevsel faktörlerle ilişkilendirilebileceği gibi, DNA'nın konformasyonel özelliklerinin de bu biyolojik avantajlarda belirleyici bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir. Özellikle DNA omurgasının esnekliği ile şeker pucker konformasyonları arasındaki (C2-endo ↔ C3-endo) geçişlerin, DNA'nın replikasyon, onarım ve transkripsiyon gibi temel moleküler süreçlerde görev alan proteinlerle etkileşimini doğrudan etkilediği bilinmektedir (Banyay ve Gräslund, 2002). Bu süreçlerin verimliliği, yaşlanma süreci boyunca genomik bütünlüğün korunmasında kritik öneme sahiptir. Nitekim genom stabilitesinin bozulması, yaşa bağlı dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir.

Bu bağlamda, A-form DNA gibi kompakt ve daha stabil konformasyonların varlığı, *N. xanthodon* türünde gözlemlenen genomik dayanıklılık ve stres direnciyle ilişkili olabilir. Söz konusu yapısal özelliklerin uzun ömür ve yaşa bağlı bozulmalara karşı dirençle olan bağlantısının ortaya konulması, yaşlanma biyolojisine yönelik yeni bakış açıları kazandırabilir.

Bu çalışmanın temel amacı, *N. xanthodon* türünün DNA yapısal özelliklerini özellikle omurga dinamikleri ve şeker pucker konformasyonlarını ayrıntılı biçimde inceleyerek, bu özelliklerin uzun yaşam süresi ve doğal kanser direnci ile olası ilişkilerini ortaya koymaktır. Bu amaçla, daha kısa ömürlü ve kansere karşı toleransı düşük *R. rattus* ile karşılaştırmalı analizler gerçekleştirilmiştir. Böylece elde edilen verilerin, yaşlanma ve kanser direncine etki eden moleküler mekanizmaların anlaşılmasına katkı sağlaması hedeflenmektedir.

Araştırmada kızılötesi (FTIR) spektroskopi ve Temel Bileşen Analizi (PCA) yöntemleri kullanılarak türler arasındaki DNA konformasyonel farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda elde edilecek bulgular, yaşlanmaya bağlı biyolojik süreçlerin daha derinlemesine anlaşılmasına olanak tanıyabilir; DNA konformasyonlarını uzun ömürlülük ve kanser direncinin potansiyel belirleyicilerinden biri olarak konumlandırarak, sağlıklı yaşlanma ve yaşlanma karşıtı terapilerin geliştirilmesine yönelik stratejik yaklaşımlara katkı sunabilir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Rodentlerde Yaşam Süresi ile Yaşlanma ve Kanser

Kemirgenler (Rodentia), memeliler arasında en geniş yayılıma sahip grup olup yaşam süreleri türler arasında büyük farklılık göstermektedir. Fare (*Mus musculus*) ve sıçan (*Rattus norvegicus*) gibi kısa ömürlü türlerde ortalama ömür 3–4 yıl iken, kör fare (*Nannospalax ehrenbergi*), kunduz (*Castor canadensis*) ve sincap (*Sciurus spp.*) gibi uzun ömürlü türlerde bu süre 20 yılı aşmakta, çıplak kör farede (*Heterocephalus glaber*) ise yaklaşık 30 yıla ulaşabilmektedir (Gorbunova vd., 2014). Bu durum kemirgenleri yaşlanma ve kanser biyolojisinin karşılaştırmalı çalışmaları için ideal bir model haline getirmektedir. Kısa ömürlü kemirgenlerde yaşlanma süreci insanlarda olduğu gibi artan hastalık insidansı ile ilişkili olup özellikle kansere yatkınlık belirgindir (Lipman vd., 2004; Burek ve Hollander, 1977). Buna karşılık, en uzun ömürlü kemirgenlerden kör fareler ve çıplak kör farelerde bugüne kadar doğal koşullarda herhangi bir malign tümör vakası rapor edilmemiştir (Buffenstein, 2008; Delaney vd., 2013; Gorbunova vd., 2012). Bu kanser direncinin ardında yalnızca hücre proliferasyonunu sınırlayan mekanizmalar değil, aynı zamanda DNA konformasyonel bütünlüğünü koruyan evrimsel adaptasyonlar yer almaktadır. İnsanlarda başlıca kanser önleyici mekanizmalardan biri, telomer kısalmasına bağlı olarak hücre bölünmesinin kalıcı şekilde durmasını sağlayan replikatif yaşlanmadır (Andziak ve Buffenstein, 2006).

Telomeraz aktivitesi farelerde yaşam boyu yüksek seviyede sürerken, insanlarda somatik dokularda baskılanmıştır. Önceleri uzun ömürlü kemirgenlerin telomeraz aktivitesini

baskılayarak replikatif yaşlanmayı aktive ettiği düşünülmüş, ancak 15 kemirgen türünde yapılan çalışmalar telomeraz aktivitesinin yaşam süresiyle değil, vücut kütlesiyle ilişkili olarak evrimleştiğini göstermiştir (Seluanov, 2007). Replikatif yaşlanma güçlü bir tümör baskılama mekanizması olmasına karşın yaşlanan hücrelerin birikmesi dokusal yaşlanmayı hızlandırmaktadır. Bu nedenle uzun ömürlü kemirgenler, bu mekanizmanın olumsuz etkilerinden muaf olup DNA stabilitesini korumak için alternatif yollar geliştirmiştir. Bu adaptasyonlar arasında G-kuadrupleks (G4) yapıların stabilizasyonu ile replikasyon stresi ve çift zincir kırıklarının önlenmesi, histon varyantları (H3.3, macroH2A) ve epigenetik düzenlemelerle kromatin bütünlüğünün korunması, hatasız DNA onarım mekanizmalarının (homolog rekombinasyon, baz eşleşme tamiri) etkin kullanımı ve yüksek moleküler ağırlıklı hiyalüronik asit aracılığıyla ekstrasellüler matriksin kanser hücre yayılımına karşı fiziksel bariyer oluşturması yer almaktadır (Buffenstein, 2008). Dolayısıyla, rodentlerde yaşam süresi, kanser insidansı ve DNA konformasyonel değişiklikler arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır; uzun ömürlü türler genom stabilitesini yalnızca telomer dinamikleriyle değil, DNA'nın üç boyutlu yapısını koruyan moleküler adaptasyonlarla da sağlamaktadır.

2.2 Körfarelerin Genel Özellikleri

Kör fareler, yaşamlarının neredeyse tamamını, iklimsel değişimlerden, yırtıcılardan ve patojenlerden korunmalarını sağlayan, düşük oksijen (hipoksik) ve yüksek karbondioksit (hiperkapnik) koşullara sahip, kendi kazdıkları yeraltı tünel sistemlerinde geçirirler (Kankılıç ve Çolak, 2009; Manov vd., 2013). Bu yaşam biçimi, hem fizyolojik adaptasyonları hem de davranışsal stratejileri açısından son derece özelleşmiş bir ekolojik nişin göstergesidir. Genellikle step, otlak ve çayırılık alanlarda yayılış gösteren bu türler, ormanlık ve bataklık alanlarda yaşamsal faaliyetlerini sürdürmekte zorlanır (Mitchell-Jones vd., 1999). Toprak yapısı, nem oranı ve iklimsel koşullar, kör farelerin popülasyon yoğunluğu ve dağılımını doğrudan etkileyen başlıca faktörlerdir. Sıcak ve kurak yaz aylarında, yüzeye yakın toprak tabakasının sertleşmesiyle birlikte kazı aktiviteleri azalır; bu dönemde kör fareler mevcut tünellerini derinleştirerek daha serin ve nemli katmanlara ulaşırlar (Nowak ve Paradiso, 1983).

Kazı mekanizmaları, diğer çoğu yeraltı memelisinden farklı olarak ağırlıklı biçimde kesici dişlerin kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Ön ve arka ekstremiteler destekleyici işlev görür; ön ayaklar toprağın parçalanmasında, arka ayaklar ise gevşetilen toprağın geriye doğru itilmesinde görev alır (Eviatar, 1961; Harrison ve Bates, 1991). Dişlerle kazma stratejisi, *Nannospalax* türlerinde güçlü masseter kasları, geniş kafatası yapısı ve sürekli uzayan kesici

dişler gibi morfolojik adaptasyonlarla desteklenmiştir. Bu özellikler, düşük enerjili ortamlarda yüksek verimli kazı davranışını mümkün kılar.

Kör fareler, beslenme ekolojisi açısından hem doğrudan bitki organlarını tüketen hem de gıda depolama davranışı sergileyen türlerdir. Diyetlerinde başlıca, soğanlı ve yumrulu bitkiler yer alır: lale (*Tulipa*), akyıldız çiçeği (*Ornithogallum*), dağ sümbülü (*Muscari*), ters lale (*Fritillaria*) gibi türlerin soğanlarını aktif olarak tüketirler (Orgev, 1947; Sözen, 2005). Ayrıca ekili alanlara girdiklerinde, patates (*Solanum tuberosum*), sarımsak (*Allium sativum*), havuç (*Daucus carota*), şeker pancarı (*Beta vulgaris*) gibi tarımsal ürünleri tüketerek ekonomik kayıplara yol açarlar. Bu durum, türün tarımsal alanlarda zararlı olarak tanımlanmasına neden olmuştur. Yeraltı yaşamına uyum sağlamış fizyolojileri, düşük oksijenli ortamlarda yüksek metabolik verimlilikle yaşamlarını sağlar. Özellikle *Nannospalax* cinsine ait bireylerde hemoglobin oksijen afinitesinin yüksek olması, hipoksik koşullara karşı direnç geliştirmelerine katkıda bulunur (Arieli vd., 1986). Ayrıca kör fareler, sosyal yapıları bakımından genellikle yalnız yaşar ve bölgesel tünel sistemlerini diğer bireylerden agresif şekilde korur. Bu tek eşeyli ve agresif davranış kalıbı, popülasyon yoğunluğunun belirli bir alanda sabit kalmasına yardımcı olur.

Sonuç olarak, kör fareler biyolojik özellikleri, morfolojik adaptasyonları ve ekolojik niş tercihleri açısından, yeraltı memelilerinin evrimsel adaptasyonlarını anlamak için önemli bir model organizma grubudur.

2.3 DNA Yapısal Özellikleri Ve Uzun Yaşama Katkısı

DNA zinciri, 22 ile 26 Ångström arası (2,2 -2,6 nanometre) genişlikte olmakla birlikte meydana geldiği her bir nükleotid birimi 3,3 Å (0.33 nm) uzunluğundadır (Mandelkern ve vd., 1981). Nükleotid adı verilen yapılardan meydana gelen DNA molekülünde nükleotitler, beş karbonlu bir şeker(deoksiriboz), bir baz ve bir veya birden fazla fosfat grubu olmak üzere üç ana gruptan oluşur (Minchin ve Lodge, 2019). Ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat grupları DNA'nın omurgasını oluşturur (Erbilgin ve Özbek, 2019). Baz grubu (adenin-A, timin-A, guanin-G, sitozin-C), şeker grubu (5 karbonlu karbonhidrat) ve fosfat grubu DNA'nın ana temelinde yer alır. Birbirine fosfat bağları (ester bağı) ile bağlanmış şeker dizilerinde bir şekere bir baz bağlıdır. Bu oluşum DNA'nın bir nükleotidini oluşturur (Merdol, 2018). Pirimidin (timin (T), sitozin (C)) ve pürin (adenin (A), guanin (G)) bazları DNA yapısı içerisinde her zaman karşılıklı komplementer olarak yer alır ve hidrojen bağları ile birbirine bağlanarak çift iplikli DNA yapısının meydana gelmesini sağlarlar (Alberts vd., 2014).

2.3.1 DNA Formları

Fiber X ışını kristalografisi ile DNA'nın iki farklı formu keşfedilmiş ve DNA'nın A formu ve B formu isimlerini almıştır (Franklin ve Gosling, 1953). Watson ve Crick B DNA'yı çalışmalarında çift sarmallı bir yapı olarak tanımladılar ve zıt yönlerde uzanan iki doğrusal fosfat şeker omurgası tarafından oluşturulan antiparalel çift sarmallı bir model önerisinde bulunmuşlardır (Watson ve Crick , 1953). DNA çift sarmalının diğer polimerlerle kıyaslandığında bükülmesi ve şekil verilmesi oldukça farklıyken molekülün karakteristik olan baz istiflenmesi ve örgülü şeklinde bir sarmal oluşturması ile bir sertlik kazanır. Çift sarmallı bir DNA molekülünü bir daire şekline getirmek tek sarmallı bir DNA parçasını daire şekline getirmekten yaklaşık 50 kat daha zordur (Bustamante vd., 2003).

Çift sarmalda bazlar arasında bulunan bağlara hidrojen bağları denirken diğer bir adı ise Watson Crick bağları olarak anılmaktadır (Chargaff vd., 1950). Double-Strand RNA (dsRNA) gibi RNA-DNA melezleri ağırlıklı olarak A formundayken, Double-Strand DNA (dsDNA) ise ağırlıklı olarak B formundadır (Egli vd., 1993). A, B ve Z DNA formlarının keşfinden sonra G-dörtlü dubleksler (G-quadruplexes), saç tokaları (hairpins), H-DNA, haç biçimli (cruciforms) ve AT açısından zengin DNA çözülme elemanları (DUE) dahil olmak üzere alternatif DNA formları keşfedildi (Poggi ve Richard , 2020).

A formunda bulunan DNA, baz çiftleri arasında daha kısa mesafeye sahip olan sağ el dubleksi olmakla birlikte RNA- DNA dubleksleri ve RNA-RNA dubleksleri için tanımlanmıştır. RNA, riboz 2'hidroksil kalıntısının sterik kısıtlamaları sebebiyle yalnızca A tipi çift sarmallar oluşturabilir (Arnott vd., 1968 ; Xiong ve Sundaralingam , 2000) .

DNA'nın A ve B formları aslında birbirine dönüşüm için indüklenebilen biyomoleküllerdir (Whelan vd., 2011). Fizyolojik koşullar göz önüne alındığında ise DNA'nın B formu daha baskındır fakat A DNA ise protein etkileşimlerinde daha indüklenebilir (Bouvier vd., 2011). DNA'nın en düşük enerji seviyesi durumu ise B-DNA'dır (Poggi ve Richard , 2020). Dehidratasyon veya yapısal manipülasyon durumları göz önüne alındığında A DNA ve B DNA dönüşümünün oluşma ihtimalleri daha çok kuvvetlenir (Lundbäck ve Härd, 1996). Guanin ve sitozin açısından zengin dizilerin adenin ve timin açısından zengin dizilere kıyasla düşük su konsantrasyonlarında B DNA'dan A DNA'ya geçiş yapma olasılığı yüksektir (Terrazas vd., 2019). Şeker konformasyonu, A ve B DNA formlarının birbirinden ayrılmasında kolaylık sağlar. B DNA, deoksiribozun 2.karbonunun(C-2) düzlem üzerinde bir konformasyon göstermesiyle ayrılırken A DNA'da bu durumda 3.karbonun(C-3) düzlem üzerinde yerleşim göstermesiyle belirlenir (Saenger , 1984). B DNA'da bu karbonların konformasyonel duruşları

yaklaşık olarak $\chi \approx 260^\circ$ 'lık bir dönüşüm sağlarken, A DNA'da ise bu durum yaklaşık olarak $\chi \approx 200^\circ$ 'dir (Schneider vd., 1997).

Organik bazların eğimleri ise A DNA'da 15° iken B DNA'da bu durum 0° yakındır. Bu durum A DNA heliksinde bir eğilmeye neden olur. Bu eğilme karşılığında B DNA'da ise düz bir görüntü oluşumu mevcuttur. Bu yapısal farklılıklar ise çevresel enerjilerden kaynaklanan durumların sonuçlarını göstermektedir (Zgarbová vd., 2018). Elektrostatik itme gücü A DNA'da B DNA'dan daha fazladır. Bu iyonik gücün daha fazla olması DNA molekülündeki fosfat yapılarının daha yakın hareket etmelerine sebep olurken DNA'nın stabilize olmasını sağlar (Jayaram vd., 1998).

Z DNA, A ve B DNA'dan farklı olarak daha dar ve daha uzun bir sarmal sergiler (Krall vd., 2023). Z-formu bilinen tek sol eli formudur (Watson ve Crick, 1953). Tur başına A DNA 11, B DNA 10 ve Z DNA ise 12 baz içerir (Placido vd., 2007). Z DNA formunun en belirgin özelliği ise yapı üzerindeki fosfatların omurga boyunca zigzak bir yol izlemesidir (Wang vd., 1979). Ökaryotik canlılarda Z DNA dizilerinin sıklığı ve korunması sebebiyle dikkatleri üzerine çekmiştir (Zhao vd., 2010). Süper sarmal tepkisi olarak oluşma ve çeşitli proteinlerle etkileşime girme yeteneği, genomik işlevleri düzenleme ve sürdürmedeki çok yönlü rolünü vurgular (Ravichandran vd., 2019). Z DNA fizyolojik tuz konsantrasyonlarında B DNA'dan daha az kararlıdır fakat protein bağlanmaları ile stabilize edilebilmesi ise mümkündür (Rich ve Zang, 2003). B ve Z DNA arasında dönüşüm sonrası oluşan bağlantı noktası, çift sarmallı bir DNA segmenti her Z DNA'ya dönüştüğünde oluşması gereken bir birleşme noktasıdır. Bu birleşim noktası Z DNA'nın enerjisini düşürerek doğada stabil halde kalmasını sağlar (Ha vd., 2005). Z DNA oluşumu dönüşümlü CG(sitozin- guanin) tekrarları açısından zengin diziler tarafından tercih edilir (Rich vd., 1984). Z DNA oluşumu, çift sarmal kırıklarını teşvik ederek genomik dengesizliğe neden olur (McKinney vd., 2020). Bu kırıkların doğru şekilde onarılmaması halinde ise ciddi genetik rahatsızlıklara sebep olabilen DNA hasar biçimleri oluşabilir (Wang vd., 2006).

2.3.2 DNA Şeker Halkası Kıvrımı (DNA Sugar Pucker)

Deoksiriboz şeker halkası düzlemsel bir yapıdan sapma gösterir; bu nedenle halkadaki bazı atomlar, referans düzleminin üstünde veya altında konumlanabilir. Bu yapısal sapma, literatürde "şeker kıvrımı" (sugar pucker) olarak tanımlanır ve DNA'nın çeşitli konformasyonel biçimlerinin oluşmasında önemli rol oynar (Shing ve Carter, 2011). Nükleik asit yapısının kökenine dair çalışmalarda, şekerin kimyasının baz eşleşme kurallarını ($G:C > A:T$) etkilediği gösterilmiştir (Eschenmoser, 2011). Halka içindeki torsiyon açıları birbirleriyle korelasyon

hâlinedir; bu sayede bağ uzunlukları ve bağ açıları fizyolojik koşullarda korunur. Bu konformasyonel durum, tek bir psödo-rotasyon açısı (Ψ) ile tanımlanabilir. Psödo-rotasyon açısı, şeker halkasının kıvrım tipini ve yönünü belirler (Saenger, 1984). Şeker halkasında bir atom referans düzleminin üstünde, yani bazla aynı tarafta konumlanmışsa bu konformasyon "endo" formu olarak adlandırılır. Örneğin, C2'-endo konformasyonunda C2' karbonu yukarıya, nükleotid bazı yönüne doğru saptır. Buna karşılık, atomun düzlemin altında yer alması hâlinde ise yapı "exo" formu olarak tanımlanır (Shing ve Carter, 2011). Erken lif kırınımı görüntüleri DNA'nın iki farklı görüntüsünü ortaya koymuştur. A formunda C-3 atomu düzlemin dışına çıkar ve şeker konformasyonu C-3 endo şeklini alırken, B formunda ise C-2 atomu düzlemin dışına çıkarak C-2 endo şeklini alır (Egli, 2019). Wang ve arkadaşlarının 1979 yılındaki yürüttükleri çalışmada ise DNA'nın Z formu keşfedildi. Z-DNA formunda yer alan şeker birimleri, klasik B-DNA'daki konformasyondan önemli ölçüde sapma göstermektedir. Bu yapıda yer alan nükleotidlerin yarısı C2'-endo konformasyonunda değildir; özellikle guanin nükleotidleri, C3'-endo pucker konformasyonunu benimserken, nükleobazları da alışılmışın dışında syn yöneliminde bulunur. Buna karşılık, sitozin nükleotidleri geleneksel C2'-endo şeker konformasyonu ve anti baz yönelimine sahiptir. Bu yapısal düzenleme, DNA omurgasında belirgin bir zikzak (zigzag) geometri oluşturur. Z-DNA, bu sıra dışı yapısıyla DNA'nın sadece alternatif konformasyonlarını değil, aynı zamanda yapısal kararlılık, hidrasyon düzeni ve stereo-elektronik etkileşimler açısından da kapsamlı bir inceleme alanı sunmuştur (Gessner vd., 1994; Egli ve Gessner, 1995).

A-DNA'daki omurga konformasyonunda kaynaklanan bozulmalar öncelikle şeker halkasının 5' tarafında meydana gelirken (α , γ), B-DNA'daki şeker halkasının 3' tarafında daha yaygındır (ϵ , δ) (Wahl ve Sundaralingham, 1999). A-DNA formunda, deoksiriboz halkasındaki konformasyonel bükülmeler büyük ölçüde C3'-endo püranoz halkası konformasyonu etrafında yoğunlaşmakta ve belirgin bir kümelenme göstermektedir. Buna karşılık, B-DNA formunda bükülme konformasyonları ağırlıklı olarak C2'-endo bölgesinde daha dağınık bir dağılım sergiler. Bu farklılık, A-DNA'daki şeker halkası konformasyonlarının B-DNA'ya kıyasla daha sınırlı bir esnekliğe sahip olduğu şeklinde yorumlanmaktadır (Arnott, 1999).

2.4 Kör Farelerde Uzun Ömür Mekanizmaları

2.4.1 Kansere Direnç ve Temas İnhibizasyonu

Kanser insan yaşamından yaşa bağlı önemli bir hastalık olmakla beraber ölümlerin yaklaşık olarak %23'ünden sorumludur (NCHS, 2009). Azpurua (2013), kanser araştırmalarının temel amaçlarından birinin yaşla birlikte veya onkojenik saldırılar sonucu

ortaya çıkan genetik ve moleküler değişimleri ve bu değişimler sonucu hangi savunma mekanizmalarında ne tür değişimler olduğunu belirtmiştir. Memelilerde replikatif yaşlanma, apoptoz ve hücre kontrol noktaları gibi kanser karşıtı koruyucu mekanizmaların P53 ve Retinoblastoma proteinini kodlayan gen (Rb) gibi genler tarafından düzenlenen bir kontrol ağı tarafından düzenlendiği bilinmektedir (Seluanov vd., 2009). Uzun ömürlü ve kansere dirençli hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların, kanser tedavisinde ve türler arasında kanser adına önemli gelişmeler sağlanacağı düşünülmektedir (Seluanov vd., 2018). İnsan hücreleri kör farelerin tümör baskılama mekanizmaları birbirinden oldukça farklı olmakla birlikte en belirgin fark ise somatik dokulardaki telomeraz aktivitesinin farklılığıdır (Gorbunova ve Seluanov, 2009). Diğer farklılıklar göz önüne alındığında ise insan hücreleri kanser karşıtı mekanizma olarak replikatif yaşlanmayı kullanırken (Campisi, 2011) kör farelerde ise bu savunma mekanizması yerini telomeraz ekspresyonu alır (Prowse ve Greider, 1995).

Normal sağlıklı hücreler, temas inhibizasyonu olarak bilinen ve hücrelerin yeterli bölünme sonrası birbirlerine temas ettiklerinde daha fazla bölünmesini durduran bir mekanizma ile denetlenerek kontrollü büyüme gösterirken, bu aynı mekanizma kanser hücrelerinde bozulmuş ve hücreler kontrolsüz bir biçimde çoğalmaya devam eder (Abercrombie, 1979). Temas inhibizasyonu süreci hücre zarında bulunan özel proteinlerin verdiği sinyalle başlatılır. P27 proteinin yüksek seviyelere ulaştıktan sonra siklin/CDK kompleksine bağlanması sonucu bu kompleksi inhibe eder ve hücre döngüsü G1 fazında durur. Kanser hücrelerinde ise kontrol mekanizması devre dışı kalmakla beraber kanser hücrelerinin katmanlı bir yığılma göstererek giderek çoğalmalarına sebep olur (Levenberg vd., 1999; Polyak vd., 1994; Kato vd., 1997).

Seluanov ve arkadaşları (2009), çalışmalarının sonucu olarak, normal sağlıklı hücrelerde erken temas inhibizasyonu mevcut olduğu için p27 seviyelerinin artmasının indüklenmediğini fakat erken temas inhibizasyonu etkinliğini kaybeden yığın halinde duran ve hücrelerin p27 seviyelerinin artarak biriktiğini belirtmiştir.

Ancak kör farelere gelindiğinde ise bu durumda önemli bir farklılık olmakla beraber çıplak kör fareler (naked mole rat) erken temas inhibizasyonu mekanizmasına sahipken kör fareler (blind mole rat) ise bu mekanizmadan yoksundur (Seluanov vd., 2018). Kör farelere ait hücrelerin tümör hücresi proliferasyonunu yavaşlatan bir bileşik salgıladığı bildirilmiştir (Manov vd., 2013). Bileşik içeriği net olarak belirlenemese dahi bu maddenin 'yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit (HMM-HA)' olabileceği düşünülmektedir (Seluanov vd., 2018).

2.4.2 Yüksek Molekül Ağırlıklı Hyaluronik Asit (HMM-HA)

Hyaluronik asit (HA), ekstrasellüler makriksin(ECM) önemli bir bileşeni olmakla beraber D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinden oluşan bir doğrusal polisakkarittir. Hücre zarında polimerizasyon yoluyla sentezlenen HA, 6 megaDalton'un (MDa) üzerinde büyüklüklere ulaşabilir (Ng ve Schwartz , 1989). HA sentezi, üç farklı transmembran glikoziltransferaz izoenzimi olan HAS1, HAS2 ve HAS3 tarafından gerçekleştirilir. HAS2 daha uzun polimerler üretirken, HAS1 ve HAS3 daha kısa zincirli HA polimerleri sentezler (Weissmann vd., 1954; Itano vd., 1999). Moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılan HA türlerinin biyolojik etkileri farklılık gösterir: düşük molekül ağırlıklı HA (LMM-HA) inflamasyon (Campo vd., 2010; Dahl vd., 1985; Ducale vd.,2005), anjiyogenez (West vd., 1985) , hücre göçü (Enegd vd., 2002) ve hiperaljezi (Ferrari vd., 2018) ile ilişkilendirilirken; yüksek molekül ağırlıklı HA (HMM-HA) anti-inflamatuvar (Austin vd., 2012) , antiproliferatif (Tian vd., 2013), anti-hiperaljezik (Ferrari vd., 2018) ve stres direnci (Pauloin vd., 2009) gibi etkiler göstermektedir. Özellikle çıplak kör farelerde (NMR) bulunan yüksek molekül ağırlıklı HA'nın insan HA'sına kıyasla oksidatif strese karşı daha yüksek koruma sağladığı bildirilmiştir (Takasugi vd., 2020). Çıplak Kör Fareler'de bulunan yüksek molekül ağırlıklı HA'nın hayvanları yaşa bağlı hastalıklara ve kansere karşı önemli ölçüde koruduğu gösterilmiştir (Taguchi vd., 2020). Bu bilgilerle beraber yaşam koşulları da gözönüne alındığında toprak altı tünellerde yaşayan kör farelerin bu tünellerde kolayca hareket edebilmesi ve deliklerden geçerken zorlanmamaları için derilerinin oldukça elastik olması gerekmektedir varsayımı öne sürülmüştür (Zhao vd., 2021).

Bu durumla beraber erken temas inhibisyonuna yol açan sinyalin, çıplak kör fareler tarafından salgılanan yüksek molekül ağırlıklı HA olduğu gösterilmiştir (Tian vd., 2013). Sinyal yolu CD44 reseptörünü gerektirir ve Cdkn2a-Cdkn2b lokusunun ekspresyonunun aktivasyonuna yol açar. Bu lokus önemli bir lokus olmaklar beraber tümör baskılayıcı genleri içeren bir lokustur (Sharpless, 2005; Tian vd., 2013).

Çıplak kör farelerde hyaluronan sentaz 2 (Has2) geni daha fazla hyaluronik asit üretimine katkıda bulunması ve hyaluronik asit parçalayan hyaluronidaz enzimlerinin aktivitelerinin hücre düzeyinde daha düşük olması sebebiyle hücrelerde yüksek oranda hyaluronik asit bulunması dengelenir (Tian vd., 2013). Tian ve arkadaşlarının (2013) çalışmalarına göre, bu dengenin bozulması hyaluronidaz enzimlerinin aktivasyonunun arttırılması ve yüksek protein ağırlıklı hyaluronik asitin hücre düzeyinin azalması ile hücrede Tp53 ve Rb1 inaktivasyonunu gerçekleştirir. Bunun sonucunda hücre kansere açık hale gelir.

Kör farelerde (BMR) ise, erken temas inhibizasyonu bulunmadığı için çıplak kör fareler ile bu tür arasında hyaluronan aracılı tümör baskılama mekanizmaları birbirinden ayrılır. Hücrelerde kanser direncine karşı yavaş bir şekilde artış sağladığı düşünülen molekül yine yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit'tir. Fakat netlik kazanmamıştır. Kör farelerde çıplak farelerden farklı olarak modifiye olan ekstrasellüler matriks proteini heparanaz enzimidir (Nasser vd., 2009). Heparanaz enzimi ekstrasellüler matrikste hücre yüzeyinde bulunan heparan sülfatı parçalayan endoglikozidazdır . Bu parçalanma sonucu damarlaşma faaliyetleri daha kolay bir hal alırken tümör yatkınlığı artar. Kör farelerde bu enzimin negatif bir varyantı mevcuttur. Bu negatif varyant sayesinde hücre bütünlüğü bozulması engellenir yani hücre parçalanmaz ve aynı zamanda yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit varlığının yüksek olmasıyla birlikte de hücre ve doku bütünlüğü sağlanırken oksidatif strese karşı koruma sağlanır.

2.4.3Hipoksi

Hipoksi dokularda yeterince oksijen bulunmamasıyla ortaya çıkan bir tablodur (Yıldız vd., 2019). Hücresel oksijen eksikliğini ifade eden hipoksi, temel biyolojik işlevlerin bozulmasına sebep olmakla beraber enerji üretiminin de aksamasına sebep olur; bu durum serebrovasküler ve kardiyovasküler bozukluklar, solunum yolu bozuklukları ve malignitelerle ilişkilendirilmiştir (Manov vd., 2013). Canlılarda oksijen yokluğundan etkilenen ilk yapılardan biri mitokondridir. Çünkü mitokondri hücrelerdeki oksijen tüketici temel yapıdır (Fuhrmann ve Brüne , 2017). Mitokondrilerde ATP(Adenozin Trifosfat) üretimi sırasında olan elektron taşıma zinciri akışında reaktif oksijen türevleri meydana gelebilir. Hipoksik ortamlarda ise bu reaktif oksijen türevlerinin ortamdan uzaklaştırılması için yeniden düzenlemenin gerekmesi ile birlikte indirgeyici karboksilasyonun uyarılması ile birlikte ROS üretimi artar (Hamanaka ve Chandel , 2009). Bu nedenlerden kaynaklı biriken ROS üretimini azaltmak amaçlı çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir.

Hipoksi ve hiperkapniye karşı vücutlarında gelişmiş özel mekanizmalar sebebiyle ise yeryüzünde yaşayan memeli türleri ekstrem koşullara adapte olabildikleri için yoğun araştırma kaynakları olmuştur (Zhao vd., 2023). *Nannospalax* toplam akciğer kapasiteleri, alveolar yüzey alanları ve kılcıl damar hacimleri beyaz ratlardan daha yüksektir, bu sebepten ötürü akciğer difüzyon kapasiteleri %43 daha yüksektir (Widmer vd., 1997). Ayrıca yüksek mitokondri,miyoglobin, nöroglobin ve sitogloblin yoğunluklarına sahiptirler (Avivi vd., 2010).

Nannospalax genomunda giderek büyüyen ve genişleyen gen listesi, canlının hipoksik stres altında hayatta kalmayı destekleyen işlevsel ve yapısal adaptasyonlarını yansıtmaktadır

(Ravid vd., 2007; Schülke vd., 2012; Shams vd., 2005; Avivi vd., 2010). *Nannospalax*'ta diğer yeraltı canlılarına nazaran sürekli ve yüksek oranda ifade edilen VEGF(Vascular Endothelial Growth Factor) buna en iyi örneklerden biridir. VEGF, yeni damar oluşumda rol oynayan bir protein olmakla beraber *Nannospalax*'ta yüksek ekspresyon gösterir (Avivi vd., 2005). Bu durum sonucunda ise düşük oksijen seviyelerinde dahi ortamdaki dokuları besleyebilmek amacıyla canlının damarlanmayı arttırmasına yardımcı olur. Diğer bir yandan tümör hücreleriyle aynı mutasyona sahip olan *Nannospalax* hücrelerinde bulunan p53 geni tarafından üretilen p53 proteinlerinin DNA bağlanma bölgelerinde farklı aminoasit dizileri yer alır (Avivi vd., 2007). İnsanlarda bu gen dizisinde 174. pozisyondaki arjinin aminoasiti yerine *Nannospalax*'ta lizin aminoasiti yerini almıştır (Ashur- Fabian vd., 2004). Fakat bu farklı dizilim kanser hücrelerindeki gibi hücrede işlevsel bozukluğa sebep olmaz ve apoptoza göndermez. Tam tersi olarak apoptozu baskılayarak hücre döngüsünü durdurur fakat DNA onarım mekanizmasını devreye sokar (Avivi vd., 2007). Bu sayede hipoksi gibi zor koşullarda kör farelerin hücre kaybının minimuma inmesi için bir adaptasyon olduğu düşünülebilir.

2.4.4 Telomeraz Aktivitesi

Telomerler, ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan nükleoprotein yapılarıdır (Adwan Shekhidem vd., 2019). Omurgalı canlılarda genellikle korunan TTAGGG dizisinden oluşan bu tekrarlayan DNA dizileri kromozomların uç kısımlarında yer alırken 'Shelterin' olarak isimlendirilen altı proteinlik özel bir kompleks tarafından bağlanır. Bu kompleks ile birlikte yapılar kromozom uçlarının çift sarmallı DNA kırığı olarak algılanmasını engeller. Bu sayede DNA uç birleşmesi, homolog rekombinasyon veya kararsız kromozom yapıları gibi kromozom onarım süreçlerinin oluşmasının önüne geçer. Bu sayede genom dengesizlikleri ve hücre yaşlanmanın önüne geçilmiş olur (O'sullivan ve Karlseder, 2010). Telomer uzunlukları farklı canlı türleri arasında değişkenlik göstermekle beraber insanlardaki telomer uzunlukları 0,5-15 kilobaz çifti büyüklüğündeyken bu miktar kemirgenlerde 10-72 kilobaz arasında değişkenlik göstermektedir (Oeseburg vd., 2010).

DNA replikasyonu sırasında somatik hücrelerde, DNA polimerazın yapısal sınırları sebebiyle doğrusal halde bulunan kromozomların uç kısımları tamamen kopyalanamaz. Bu duruma literatürde 'son replikasyon problemi' adı verilirken hücre bölünmeleri ile birlikte telomer adı verilen kromozomların uç kısımları her bölünme ile birlikte giderek kısalma gösterir (Lingner vd., 1995). Bu kısalma bölünme kapasitesini sınırlarken hücre yaşlanmasının da temel sebeplerinden biri olur. Bu durumlar göz önünde bulunduğunda bazı hücreler telomeraz enzimi

veya daha az yaygın olan telomer uzatma yolları sebebiyle bu kısaltmaların önüne geçebilir (Cesare ve Reddel , 2010).

Çoğu somatik hücre ve kök hücreler, kromozomlardaki kısaltmaların önüne geçmek için telomeraz aktivitesi göstermez. Bu kısalma kaynaklı zamanla hücreler hayati genlerini kaybetmeye başlar ve bunu takip eden süreç sonrasında ‘replikatif yaşlanma’ adı verilen hücre ölümünü takip eden süreç meydana gelir (Victorelli ve Passos , 2017).

Çıplak Kör Fare (NMR) ve Kör Fareler (BMR)’nde ortalama olarak insanlardan daha uzun telomerlere sahip oldukları (Adwan Shekhidem vd., 2019), bununla beraber ölüm sürecinde olan hücrelerde ise kromozomal kısalma gözlemlenmediği bilinmektedir (Gorbunova vd., 2012). Fakat yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde ise *Spalax* (*Nannospalax*) telomeraz yapılarının yaş ile birlikte böbrek, kalp ve akciğer dokularında azaldığını fakat kas dokularında ise daha yüksek bir oranda görüldüğü gözlemlenmiştir (Adwan Shekhidem vd., 2019). *Spalax* fibroblastları ve rat hücreleri kıyaslandığında ise *Spalax* fibroblastlarında daha yüksek oranda telomer uzunluğu tespit edilmiştir. Fakat bu duruma nazaran telomeraz aktiviteleri kıyaslandığında ise ratlarda daha yüksek telomeraz aktivitesine rastlanmıştır. Bu durumda telomer uzamasından çok telomer bütünlüğünün korunması kör fareler için uzun yaşam mekanizmalarından birini açıklamaktadır. Buradan yola çıkarak *Nannospalax* telomerleri koruyarak uzun yaşam için bir strateji geliştirmiş olabilir (Gutman vd., 2014).

2.5 DNA Yapı İncelemesinde FTIR Spektroskopisi

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, DNA örneklerinin biyokimyasal ve yapısal bilgilerini araştırmak için yardımcı olur (Loprete ve Hartman, 1995). FTIR spektroskopisi hücrelerde, çekirdeklerde, izole edilmiş nükleik asitlerde DNA konformasyonunu araştırmak için de yüksek avantaj sağlar (Whelan vd., 2011). DNA konformasyonuna müdahalede bulunabilecek boya kullanımına gerek kalmaması ve başlıca DNA konformasyonlarını gösteren belirgin bir dizi bant olması gibi önemli avantajları sayesinde FTIR yöntemi kolaylıklıdır. En önemli avantajı ise numuneyi yeniden sulandırarak DNA’nın denatüre olup olmadığını veya konformasyonel bir değişim olup olmadığı hakkında bilgi verebilmesidir (Wood, 2016). DNA’nın bileşimi veya konformasyonu değiştiğinde kızılötesi spektroskopinin tepe frekans ve yoğunluğu bununla beraber değişim gösterir (Loprete ve Hartman, 1995).

DNA, hücreler veya çekirdek FTIR spektroskopisinin elmas(diamond) veya çinko-selenit(ZnSe) penceresine yerleştirilir. Basınç, materyal üzerinde tutucu bir görev görür.

Numunenin yanına su veya izotonik tuzlu su konulur ve spektrumlar kaydedilirken zamanla numuneye bu sıvının sızmasına izin verilir. Alternatif olarak ise ıslak bir DNA örneği FTIR kristaline yerleştirilerek kurudukça okuma yapması sağlanabilir (Wood, 2016).

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Doku Örneklemesi

Bu çalışmada *Nannospalax xanthodon* ve *Rattus rattus* türlerini temsil eden altı bireye ait üç sağlıklı yetişkin erkek *N. xanthodon* (ortalama vücut ağırlığı: 240 g) ve üç yetişkin erkek *R. rattus* (ortalama vücut ağırlığı: 130 g) bireylerinden -80 derecede arşivlenmiş karaciğer dokusu örneklerinden genomik DNA izole edilmiştir.

3.2 Kimyasal İşlemler

DNA ekstraksiyon tamponu, Tris-HCl (10 mM, pH 8), NaCl (0,3 M), SDS (%1), EDTA (10 mM) ve üre (4 M) bileşenlerinden oluşturulmuştur. DNA izolasyon işlemi sırasında proteinlerin uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak amacıyla, her bir doku örneğine 10 µl Proteinase K (10 mg/ml) ilave edilmiştir. Örnekler, 55 °C sıcaklıkta, 160 rpm’de çalkalayıcı inkübatörde iki saat süreyle inkübe edilmiştir. Homojenizasyon sonrası, büyük partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla sırasıyla 10.000 g’de 2 dakika, 15 dakika ve 10 dakika olacak şekilde üç ardışık santrifüjleme işlemi uygulanmıştır. RNA kontaminasyonunu gidermek için her örneğe 5 µl RNase A eklenmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, eşit hacimlerde asidik fenol (pH 5,27) ve kloroform:izoamil alkol (24:1) karışımı eklenmiştir. DNA’nın çöktürülmesi için eşit hacimde izopropanol ilave edilip karışım nazikçe pipetlenmiştir. Elde edilen karışım, %75 etanol ile eşit hacimde yıkanmıştır. Son olarak, DNA pelletini çözmek için 10 mM Tris-HCl ve 1 mM EDTA içeren bir çözelti hazırlanmış ve her numuneye bu çözeltiden 50 µl eklenmiştir.

Elektroforez analizleri için kullanılan 10× TBE tamponu, 54 g Tris baz, 20 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0) ve 27,5 g borik asit kullanılarak hazırlanmış, ardından toplam hacim 500 ml’ye damıtılmış su ile tamamlanmıştır. Çalışmalarda kullanılmak üzere 1× TBE tamponu, 90 ml damıtılmış su ile 10 ml 10× TBE tamponunun karıştırılmasıyla elde edilmiştir. %0,8’lik agaroz jel hazırlamak amacıyla, 0,8 g agaroz, 100 ml 1× TBE tamponu içerisinde çözündürülmüş, karışım mikrodalgada ısıtılarak tamamen eritilmiş ve soğuma aşamasında 1 µl 10 mg/ml etidyum bromür (EtBr) stok çözeltisi eklenmiştir. Elektroforez için, 5 µl DNA örneği 1 µl

yükleme boyası ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. DNA konsantrasyonları ve saflıkları, Nanodrop spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür.

3.3 FTIR Spektral Analizi

Bu çalışmada, her örnek için 1000 ng DNA, MIRacle (PIKE) model ATR ünitesinde bulunan Zn/Se kristaline yerleştirilmiş ve inert azot (N₂) gazı kullanılarak 3 dakika süreyle kurutulmuştur. Spektral veriler, Frontier FTIR Spektrometresi (Perkin Elmer) kullanılarak, 4000–650 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında, 4 cm⁻¹ spektral çözünürlük ve 32 tarama ortalaması ile elde edilmiştir. Her biri üç teknik tekrar içeren üç biyolojik tekrar üzerinden toplam spektrumlar toplanmıştır. Spektrumların edinimi Spectrum One (Perkin Elmer) yazılımı ile sağlanırken, spektral verilerin analizi OPUS 5.5 (Bruker) yazılımı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir (Ardahanlı vd., 2022; Teker vd., 2023; Baba vd., 2024).

Sayısal spektral analizlerde, teknik tekrarlar sonucu elde edilen ortalama ham spektrumlar, OPUS 5.5 (Bruker) yazılımı aracılığıyla 1800–650 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında bulunan parmak izi bölgesinde ikinci türevlerine 9 noktalı düzeltme uygulanarak vektör normalizasyonu ile işlenmiştir. İşlenen ortalama spektrumlarda, DNA'ya özgü spektral bantların dalga sayıları ve mutlak yoğunlukları tepe seçme (peak-picking) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde analizler, %0 duyarlılık seviyesi, tepe minimumları dikkate alınarak ve sadece 1800–650 cm⁻¹ spektral aralığında gerçekleştirilmiştir (Gurbanov vd.,2018; Gurbanov vd., 2021).

3.4 Temel Bileşen Analizi(Principal Component Analysis, PCA)

Nannospalax xanthodon ve *Rattus rattus* türlerinden elde edilen DNA örneklerinin FTIR spektral profilleri arasındaki farklılıkları ortaya koymak ve bu farklılıklarla ilişkili yapısal varyasyonları belirlemek amacıyla Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA) uygulanmıştır. 4000–650 cm⁻¹ aralığında elde edilen ham spektral veriler, analizlerde enstrümantasyona bağlı sapmaları en aza indirmek için üç aşamalı bir ön işleme sürecinden geçirilmiştir. İlk aşamada, ofset düzeltme yöntemiyle temel (baseline) düzeltilmesi yapılmıştır. İkinci aşamada, spektral çözünürlüğü artırmak amacıyla 9 noktalı düzleştirme penceresine sahip Savitzky-Golay ikinci türev dönüşümü uygulanmıştır. Üçüncü ve son aşamada ise, genlik varyasyonlarını standartlaştırmak amacıyla birim vektör normalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ön işleme tabi tutulan spektrumlar, ortalama merkezli hale getirilmiş ve altı örnekten oluşan kalibrasyon seti üzerinde altı segmentli tam çapraz doğrulama yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir.

PCA işlemi, bir matris faktörleme algoritması olan Tekil Değer Ayrıştırması (Singular Value Decomposition, SVD) yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve analiz, iki farklı spektral alt bölgeye bağımsız olarak uygulanmıştır: gerçek parmak izi bölgesi (1485–650 cm⁻¹) ve antisimetrik PO₂⁻ gerilme bandını içeren bölge (1300–1200 cm⁻¹). Modelin yorumlanabilirliğini ve anlamlılığını artırmak amacıyla analiz dört temel bileşen (principal component) ile sınırlandırılmıştır. Analiz sonuçları, örnek gruplarının ayrımını gösteren puan (scores) grafikleri ile gruplar arası farklılığa katkı sağlayan spektral değişkenleri tanımlayan yükleme (loadings) grafikleri aracılığıyla görselleştirilmiştir. Bu yaklaşım, türlere özgü DNA yapısal özelliklerinin ayırt edilmesini kolaylaştırmış ve aynı zamanda enstrümantal platformlar arasında analitik tutarlılığı güvence altına almıştır (Yağcı ve Gurbanov,2019; Gurbanov vd., 2019; Kumar vd., 2020).

3.5 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler ve grafiksel sunumlar GraphPad Prism 8.01 (GraphPad, ABD) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin analizinde eşleştirilmemiş t-testi uygulanmış ve anlamlılık seviyeleri şu şekilde belirtilmiştir: $P > 0.05$ (), $P \leq 0.01$ (), $P \leq 0.001$ (), $P \leq 0.0001$ (****). Sonuçlar, ortalama $\pm$ ortalama standart hata (SEM) şeklinde çubuk grafiklerle ifade edilmiştir.

DNA konformasyonları arasındaki ilişkilerin incelenmesi amacıyla, her bir tür için A-, B- veya Z-formundaki DNA konformasyonlarının göreceli yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\%_{\text{Konformasyon}} = (I_{\text{Konformasyon}} / I_{\text{Toplam}}) \times \%100$$

Burada, $I_{\text{Konformasyon}}$, ilgili DNA konformasyonuna ait entegre spektral bantların yoğunluğunu(A, B veya Z'ye ait bant yoğunlukları); I_{Toplam} ise $I_{\text{Total}} = I_A + I_B + I_Z$ olarak A, B ve Z formuna ait tüm bantların toplam entegre yoğunluğunu ifade etmektedir.

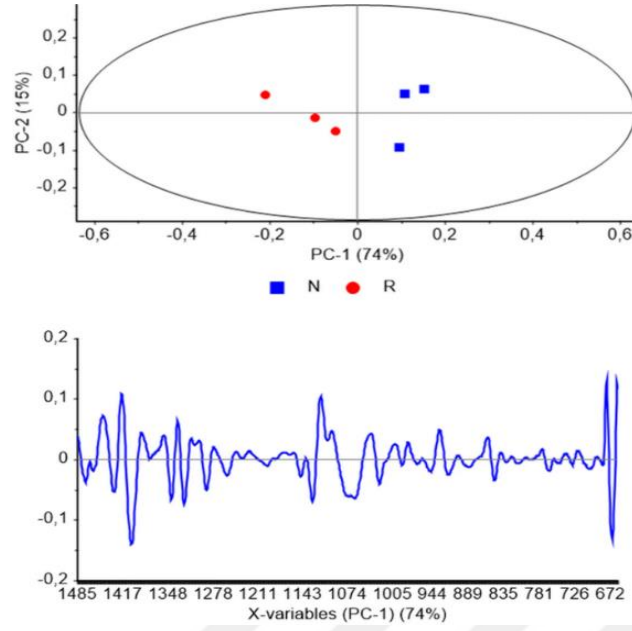
İki tür arasındaki spektral bant parametrelerinin ayırt edici gücünü değerlendirmek amacıyla ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi GraphPad Prism 8.01 programı ile gerçekleştirilmiştir. Analiz kapsamında, iki türün spektral parametrelerini etkili şekilde ayırt etmek için uygun bir eşik değeri belirlenmiştir. Elde edilen ROC eğrisi, farklı eşik değerlerinde duyarlılık (gerçek pozitif oranı) ile özgüllük (gerçek negatif oranı) arasındaki dengeyi göstererek karar verme sürecine rehberlik etmiştir. Duyarlılık, doğru pozitiflerin oranını, özgüllük ise doğru negatiflerin oranını belirtmektedir. Spektral parametrelerin tanısal

doğruluğu, %95 güven aralığında eğri altındaki alan (AUC) ve standart hata (SE) hesaplanarak değerlendirilmiştir. AUC değerinin 0,5'in üzerinde olması, parametrelerin ayırt ediciliğini göstermekte olup, daha yüksek AUC değerleri türler arasındaki ayırmda daha yüksek performansı işaret etmektedir. Analizde yalnızca 0,5'in üzerindeki AUC değerleri anlamlı kabul edilmiştir (Tokgöz vd., 2024).

4. BULGULAR

Bu çalışmada, *Nannospalax xanthodon* ve *Rattus rattus* türlerine ait karaciğer dokularından izole edilen DNA örneklerinin yapısal farklılıkları değerlendirilmiştir. Analiz süreci, öncelikli olarak veri setinin temel özelliklerini anlamaya yönelik keşifsel veri analizi (Exploratory Data Analysis, EDA) ile başlatılmıştır. Keşifsel analiz, veri madenciliği sürecinde hipotez geliştirme ve veri yapısının kapsamlı şekilde incelenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu aşamada, veri setindeki genel örüntülerin belirlenmesi, potansiyel aykırı değerlerin tespiti ve değişkenler arası ilişkilerin ortaya konması amaçlanmıştır.

DNA'nın yapısal özelliklerine ilişkin nitel değişimleri ortaya koymak amacıyla, yaygın olarak kullanılan keşifsel bir istatistiksel teknik olan Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis, PCA) uygulanmıştır. Analiz, DNA'ya özgü karakteristik bantları içeren ve yapısal parmak izi niteliği taşıyan 1485–650 cm^{-1} dalga boyu aralığını kapsayan IR (kızılötesi) spektral verileri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, her iki türe ait DNA yapılarında gözlemlenen başlıca farklılıklar, çok boyutlu veri uzayında indirgenerek niteliksel olarak yorumlanabilir hale getirilmiştir (Şekil 1).

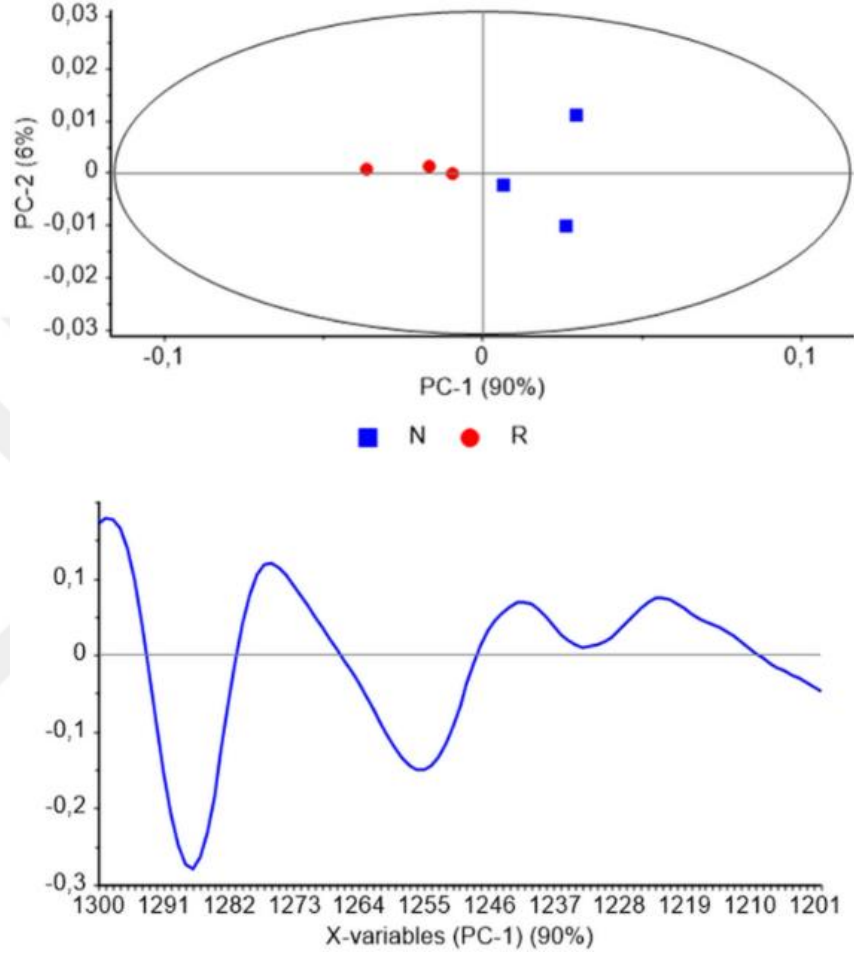


Şekil 4. *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) türlerine ait karaciğer dokularından elde edilen DNA örneklerinin Temel Bileşen Analizi (PCA)

Başlıca Bileşenler Analizi (PCA) skor grafiği, *Nannospalax xanthodon* ve *Rattus rattus* türlerine ait DNA örneklerinin PC-1 eksenini boyunca açık ve tam bir ayrım sergilediğini ortaya koymuştur; bu eksen, toplam varyansın %74'ünü açıklamaktadır (Şekil 1, üst panel). Temel bileşenler (principal components, PC'ler), özellikle PC-1 ve PC-2, biyolojik veri kümelerinde baskın varyasyon kaynaklarını temsil etmekte olup, gözlemlenen moleküler farklılıklara katkı sağlayan temel değişkenleri özetlemektedir (Severcan ve ark., 2024). PC-1 boyunca gözlenen belirgin ayrışma, her iki türün DNA yapısı arasında anlamlı düzeyde yapısal farklılıkların bulunduğu işaret etmektedir. Bu ayrışmayı destekleyen yük grafiği (Şekil 1, alt panel), söz konusu farklılıklardan sorumlu spesifik spektral belirteçleri tanımlamıştır. Bu belirteçler; DNA omurgasının konformasyonları, şeker halkasının bükülme modları ve nükleobaz kompozisyonundaki varyasyonlar gibi DNA'nın yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü etkileyen temel moleküler parametrelerle ilişkilidir.

Daha ileri düzeyde gerçekleştirilen analizlerde, DNA omurgasındaki yapısal değişimlere karşı özellikle duyarlı olan PO₂ antisimetrik gerilme bandı bölgesi (1300–1200 cm⁻¹) üzerine odaklanılmıştır. Bu spektral bölgeye uygulanan PCA, DNA omurgasının yapısal özelliklerine bağlı belirgin farklılıkları ortaya çıkarmıştır (Şekil 2). Skor grafiği, örneklerin PC-1 eksenini boyunca yaklaşık %90 oranında ayrıldığını göstermiştir (Şekil 2, üst panel); bu durum, tespit edilen varyasyonların büyük ölçüde omurga yapısındaki değişimlerden kaynaklandığını ortaya koymaktadır. İlgili yük grafiği (Şekil 2, alt panel), bu farklılıkları yansıtan başlıca spektral belirteçleri belirlemiştir. Bu belirteçler arasında, sitozine ait C5=C6 halka titreşimleri

ile DNA'nın A- ve B-formları arasındaki konformasyonel farklılıklar öne çıkmaktadır. Elde edilen bulgular, *N. xanthodon* ve *R. rattus* türlerine ait DNA örnekleri arasındaki farklılıkların yalnızca nükleotid dizisiyle sınırlı kalmayıp, aynı zamanda DNA omurgasının dinamik özellikleri ve ikincil yapısal düzenlemeleri düzeyinde de önemli farklılıklar içerdiğini göstermektedir.



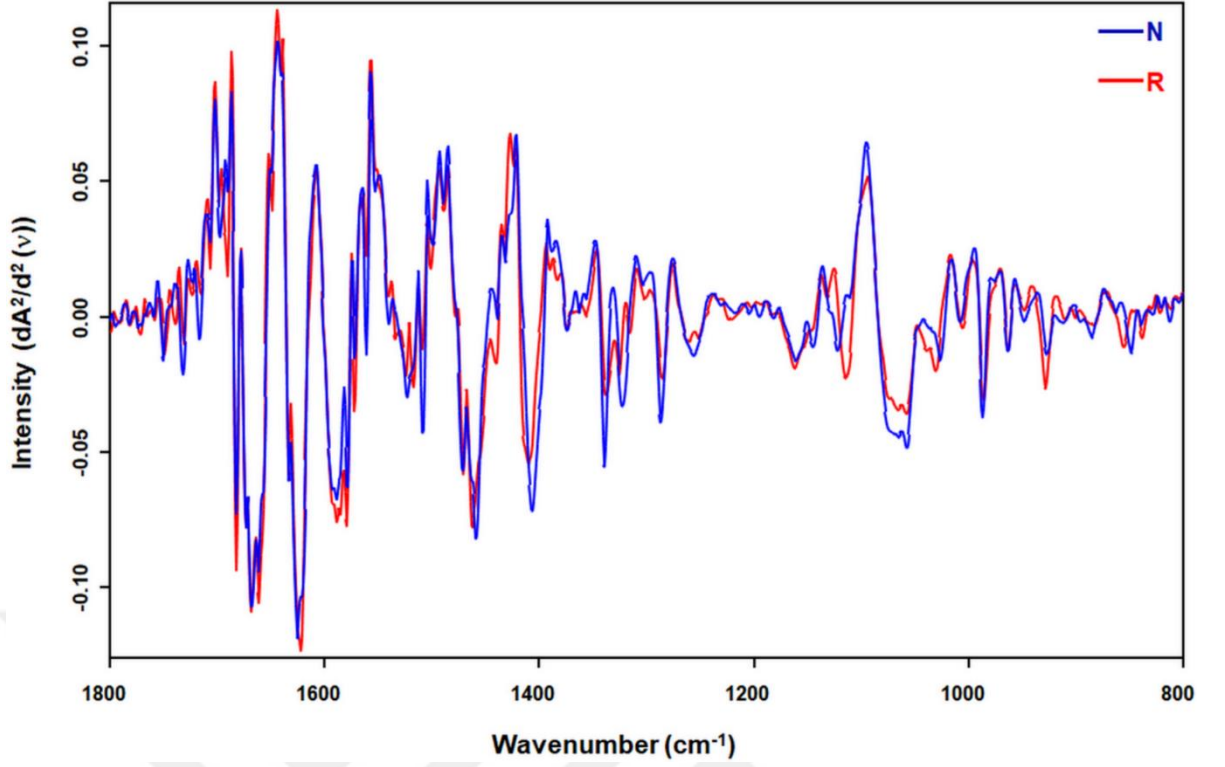
Şekil 4. 2 *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) türlerinin karaciğer dokularından izole edilen DNA örneklerine Temel Bileşenler Analizi (PCA) uygulanmıştır. Analiz kapsamında elde edilen skor ve yük grafikleri, DNA omurgasına ait yapısal özelliklere duyarlı olan PO_2^- antisimetrik gerilme bandı bölgesi ($1300\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$) esas alınarak oluşturulmuştur.

Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, Temel Bileşenler Analizi (PCA)'nın, karmaşık spektral veri setlerinde biyolojik olarak anlamlı ancak ince yapısal farklılıkları ayırt etmede etkili bir istatistiksel araç olduğunu açıkça göstermektedir. Gözlemlenen örnek ayrışması ve tanımlanan ayırt edici spektral belirteçler, *Nannospalax xanthodon* ve *Rattus rattus* türlerine ait DNA yapıları arasında belirgin yapısal farklılıkların varlığını güçlü biçimde

desteklemektedir. Bu durum, söz konusu türlerin moleküler biyolojileri ve evrimsel ayrışma süreçleri hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır.

PCA uygulamasını takiben, değişkenler üzerinde gerçekleştirilen keşifsel analiz süreci, veri setinde yer alan temel desenlerin ve değişkenler arası ilişkilerin kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına olanak tanımıştır. Bu ön değerlendirme aşamasının ardından, nicel tepe-seçme (peak-picking) analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz yöntemi, DNA'nın yapısal özellikleriyle ilişkilendirilebilecek belirli spektral bantların ve bunlara ait indekslerin yoğunluk değerlerini nicel olarak belirlemeyi amaçlamaktadır. Böylelikle, analiz hem hedef odaklı hem de metodolojik olarak sağlam temellere dayandırılmıştır.

DNA'ya ait ikinci türev parmak izi spektrumları, $1800\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ aralığını kapsayan karakteristik vibrasyonel bölgeyi içermekte olup, Şekil 3'te sunulmuştur. Bu spektral aralık, DNA molekülünün yapısal özelliklerini yansıtan temel titreşim modlarını içermesi açısından oldukça kritiktir. Uygulanan ikinci türev spektral işleme, spektrumlar içerisindeki düşük yoğunluklu ancak yapısal açıdan anlamlı özelliklerin daha net şekilde ortaya çıkarılmasını sağlamış; böylece ilgili bantların daha hassas tanımlanması ve nicel analizinin gerçekleştirilmesine olanak tanımıştır.



Şekil 4. 3 *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) türlerine ait karaciğer dokularından izole edilen DNA örneklerinin, 1800–800 cm^{-1} aralığını kapsayan ikinci türev infrared (IR) spektrumları

Hesaplanan spektral bantlar ile bunlara ilişkin atamalar ve yorumlamalar, Tablo 1’de detaylı bir şekilde sunulmuştur. Söz konusu tablo, gözlemlenen bantların sistematik bir sınıflandırmasını sağlayarak, bunların biyokimyasal anlamlarının daha kapsamlı ve net bir biçimde kavranmasına olanak tanımaktadır. Şekil 3’teki görsel temsil ile Tablo 1’deki açıklayıcı veriler birlikte değerlendirildiğinde, DNA’nın spektral karakteristikleri aracılığıyla ortaya konan yapısal özelliklerin yorumlanmasına dair kapsamlı ve bütüncül bir analiz çerçevesi oluşturulmaktadır. Elde edilen bu bulgular, DNA’nın moleküler bileşimi hakkındaki bilgi birikimini derinleştirmenin ötesinde, molekülün fonksiyonel dinamiklerine yönelik ileride yapılacak çalışmalara da sağlam bir temel teşkil etmektedir.

Tablo 4.1 . *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus*’un (R) Genomik DNA’sının Spektral Bant Türleri ve Karakteristik Parametreleri.

Pozisyon (cm^{-1})	DNA Türü	Açıklama
1248–1241	A-DNA	Antisimetrik PO^-_2 germe

963	A-DNA	Omurganın C–C gerilmesi
1222	B-DNA	Antisimetrik PO ₂ germe
987	B-DNA	Şeker-fosfat omurgası C–C germe
1121	Z-DNA	Z-form DNA
928–927	Z-DNA	Şeker/şeker-fosfat titreşimleri
1065	Furanoz halkası	Omurganın CO gerilmesi, Z-DNA'da geliştirildi
1058		
1411–1406	N tipi şeker	C3-endo şeker büzülmesi, şeker/şeker-fosfat titreşimleri
886–885		
839–838	S tipi şeker	C2-endo şeker büzülmesi, furanoz-fosfodiester zincir titreşimleri
1524	Sitozin	Sitozin bazının içindeki düzlem içi halka titreşimleri
1517		
1508		
1286–1285	Sitozin	C5 = C6 halka germe titreşimi
1339–1337	Adenozin, timidin	Anti-konformasyonda, N-tipi şeker, C3-endo şeker büzülmesi
1325–1322	Guanozin	Eşzamanlı konformasyonda, N tipi şeker, C3-endo şeker büzülmesi

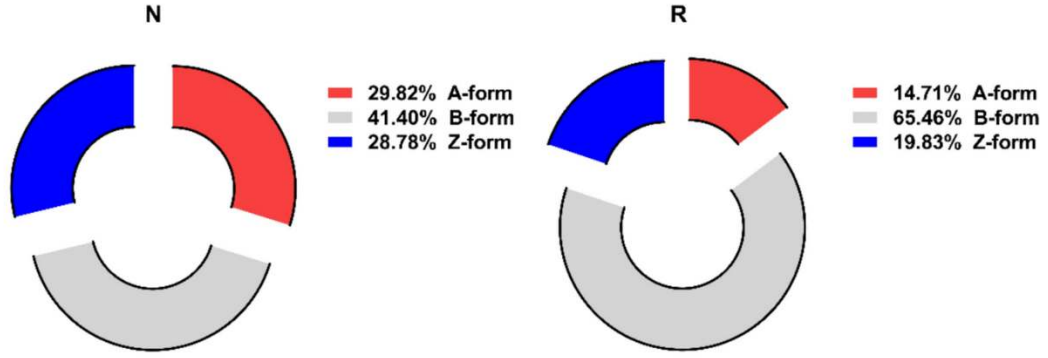
Spektral bantlar literatüre göre atanmıştır.(Tajmir-Riahi ve Theophanides, 1985; Banyay vd.,2003; Whelan vd., 2011,2014; Muntean vd., 2013; Zhang vd.,2016; Talari vd., 2017; Gurbanov vd.,2018) .

N. xanthodon ve *R. rattus* örneklerinin DNA konformasyon dağılımlarının karşılaştırmalı analizi, A-, B- ve Z-formlarının yaygınlığı açısından belirgin türler arası farklılıkları ortaya koymaktadır (Şekil 4a). *N. xanthodon* örneklerinde A-form konformasyonu, toplam DNA yapısal profilinin %29,82'sini oluştururken, *R. rattus*'ta bu oran anlamlı şekilde azalarak %14,71'e düşmektedir; bu durum yaklaşık iki katlık anlamlı bir farkı göstermektedir. Her iki türde baskın konformasyon olan B-formun oranları arasında da dikkate değer bir farklılık gözlenmiştir. Özellikle *N. xanthodon*'da B-form oranı %41,40 iken, *R. rattus*'ta bu oran %65,46 ile belirgin biçimde yüksektir. Bu bulgu, *R. rattus*'un B-form konformasyonuna yönelik tür spesifik bir tercihi olduğunu ve *N. xanthodon*'a kıyasla 1,6 kat daha fazla B-form DNA içerdiğini göstermektedir. Ayrıca, Z-form konformasyonları *N. xanthodon*'da %28,78'lik bir paya sahipken, *R. rattus*'ta bu oran %19,83 ile daha düşüktür; bu da *N. xanthodon*'da

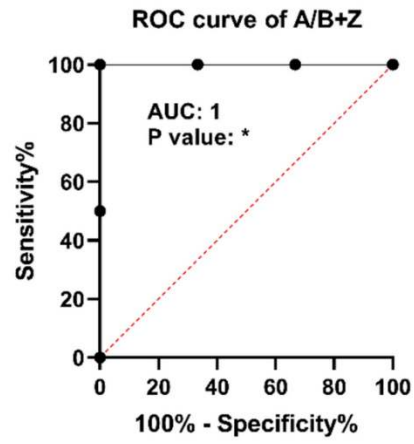
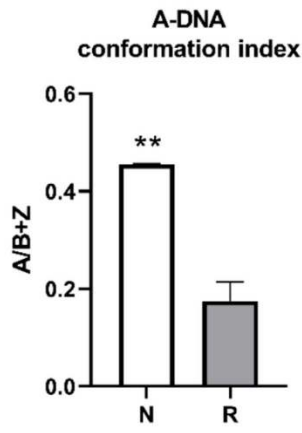
kanonik olmayan DNA yapıların görece olarak daha fazla bulunduğuna işaret etmektedir. Genel olarak, elde edilen veriler iki tür arasında yapısal bir farklılığın varlığını ortaya koymakta; bu farklılık, *N. xanthodon*'da B-form DNA oranının anlamlı biçimde azalması ve buna karşılık A- ile Z-form konformasyonlarının artmasıyla karakterize edilen konformasyonel bir farklılaşmayı yansıtmaktadır. Özellikle *R. rattus*'ta baskın olan B-form DNA varlığı, DNA topolojisine özgü tür spesifik adaptasyonların varlığına işaret etmektedir. Bu konformasyonel tercihlerin altında yatan mekanizmaların ve evrimsel süreçlerin daha kapsamlı araştırılması gerekmektedir.

A- ve Z-form DNA konformasyonlarına ilişkin indeksler, toplam A, toplam B ve toplam Z-form konformasyonları ile ilişkilendirilen spektral bant yoğunluklarının entegrasyonu yoluyla hesaplanmış olup, detaylar Tablo 1'de sunulmuştur. Önemli bir diğer bulgu ise, $A/(B + Z)$ konformasyon indeksinin *N. xanthodon* örneklerinde, *R. rattus* örneklerine kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olmasıdır (Şekil 4b). Bu indeksin ROC eğrisi analizi, iki tür arasında mükemmel bir ayırım sergilemiş; 0,05'in altında p-değeri ile istatistiksel anlamlılığa sahip 1,0 AUC değerine ulaşmıştır. Benzer şekilde, $Z/(A + B)$ konformasyon indeksi de *N. xanthodon* örneklerinde *R. rattus*'a kıyasla belirgin bir artış göstermiştir. Bu indekse ait ROC eğrisi de kusursuz ayırım performansı sergilemiş ve aynı derecede anlamlı 1,0 AUC değeri elde edilmiştir (Şekil 4c). Bu bulgular, söz konusu indekslerin, iki türün DNA konformasyon profilleri temelinde güvenilir ve güçlü bir şekilde ayırım yapabildiğini ortaya koymaktadır.

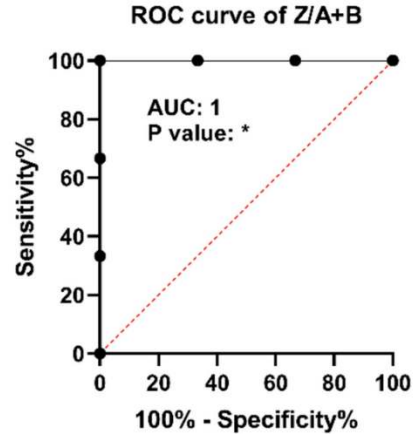
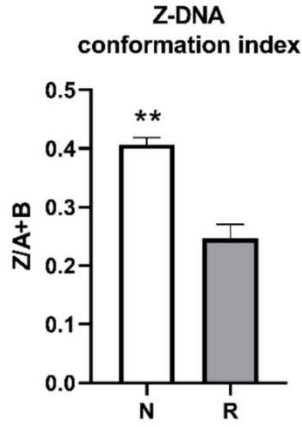
a



b



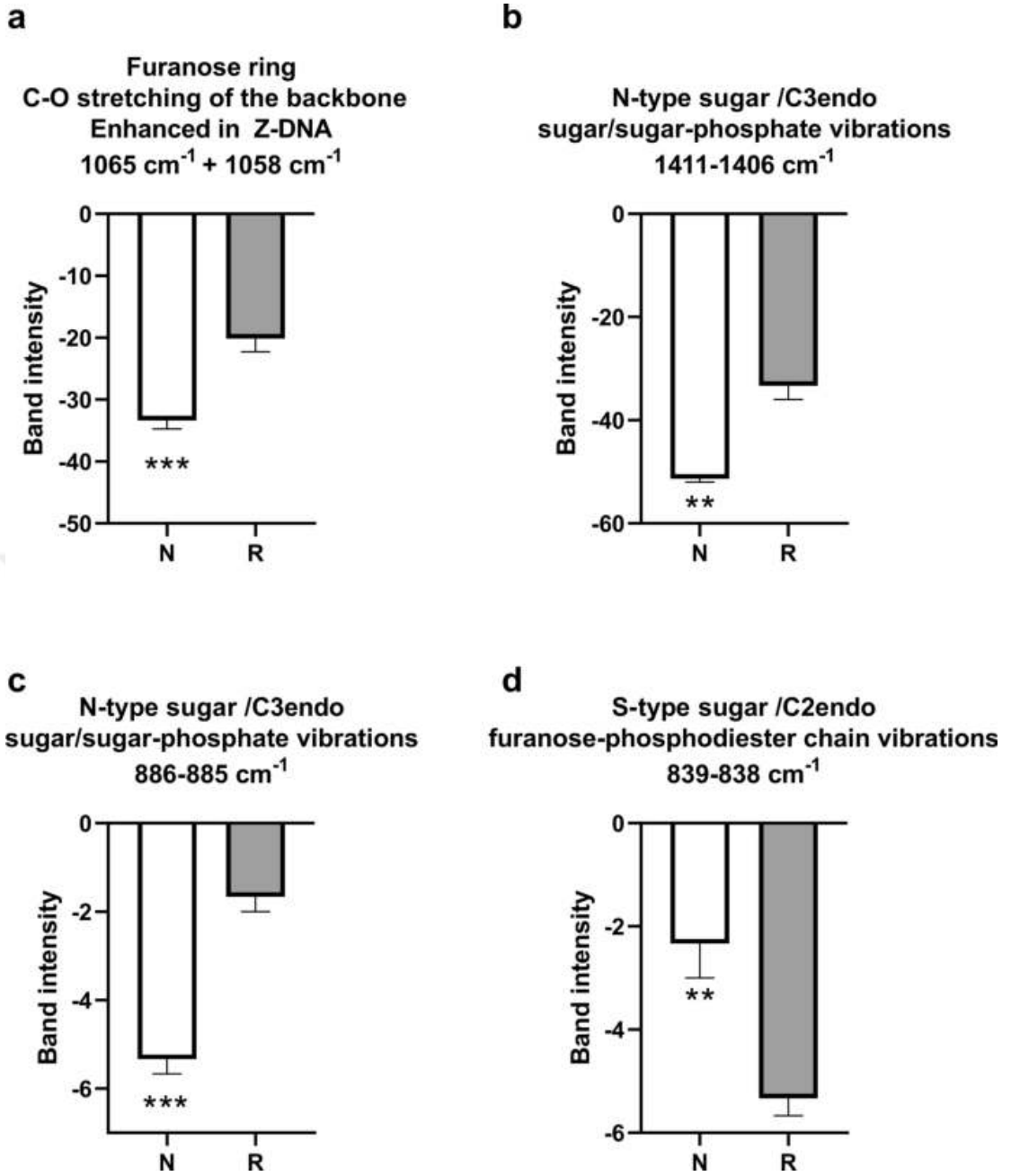
c



Şekil 4. 4 *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) DNA örneklerinde konformasyonel formlara ilişkin spektral indeksler. a) Farklı DNA konformasyonlarının yüzde dağılımını gösteren pasta grafik. b) A-DNA formunun göstergesi olan A/(B+Z) indeksi ve ilgili ROC eğrisi. c) Z-DNA formunu temsil eden Z/(A+B) indeksi ve buna ait ROC eğrisi.

Şekil 5'te sunulan *N. xanthodon* ve *R. rattus* DNA örneklerinin titreşimsel spektroskopik profillerinin karşılaştırmalı analizi, şeker-fosfat bileşenlerine ait titreşim modlarıyla ilişkilendirilen belirgin moleküler imzaların varlığını ortaya koymaktadır. 1065 cm^{-1} ve 1058 cm^{-1} dalga sayılarında gözlemlenen spektral bantlar, DNA omurgasındaki furanoz halkasının C–O gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir ve literatürde Z-form DNA konformasyonunun ayırt edici göstergeleri olarak tanımlanmaktadır (Şekil 5a). Bant yoğunluklarının nicel analizi, *N. xanthodon* örneklerinde *R. rattus* ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p < 0,001$, ***) göstermiştir. Bu belirgin spektral yoğunluk farkı, *N. xanthodon* DNA'sında furanoz halkasının C–O titreşim aktivitesinde artış olduğunu ve dolayısıyla *R. rattus* örneklerine kıyasla Z-form yapısal konformasyonuna yönelik daha yüksek bir eğilimin mevcut olduğunu düşündürmektedir.



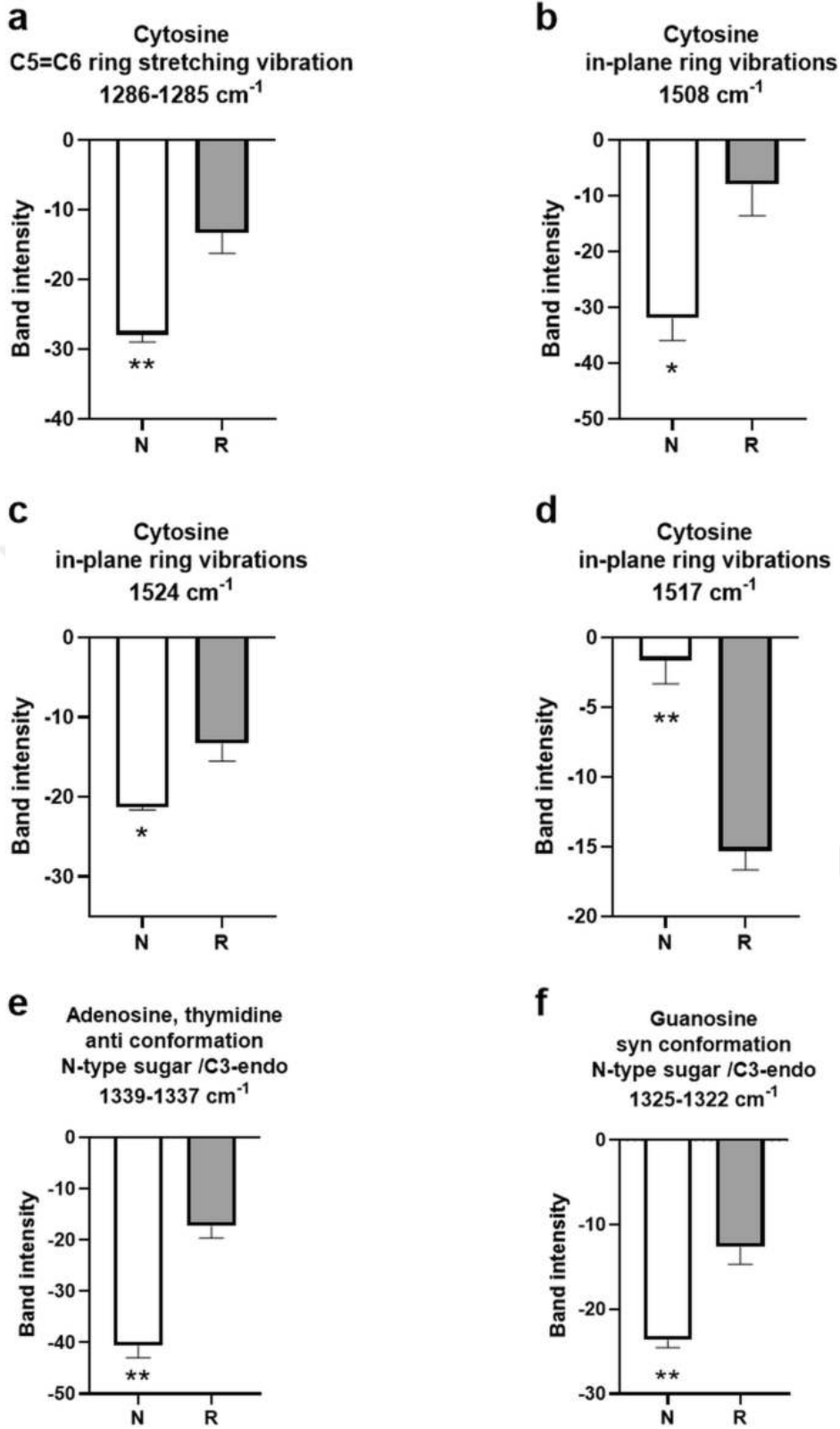


Şekil 4. 5 *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) DNA örneklerinde şeker konformasyonlarına ilişkin spektral indeksler. a) Furanoz halkasına ait spektral bantlar, b–c) C3'-endo konformasyonunu taşıyan N-tipi şekerleri ve d) C2'-endo konformasyonunu temsil eden S-tipi şekerleri gösteren spektral bantlar

N. xanthodon ve *R. rattus* DNA örneklerinde gözlemlenen şeker puckering konformasyonlarındaki belirgin farklılıklar, Şekil 5b–d'de detaylı olarak gösterilmiştir. 1411–1406 cm⁻¹ ve 886–885 cm⁻¹ dalga sayıları arasındaki karakteristik spektral bantlar, Watson ve Crick tarafından tanımlanan klasik B-formu dışındaki kanonik olmayan DNA helikslerine özgü olan N-tipi şeker halkalarının C3'-endo puckering modlarına karşılık gelmektedir. Yapılan nicel analizler, bu N-tipi şeker titreşimlerine ait bant yoğunluklarının *N. xanthodon* örneklerinde *R.*

rattus'a kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, *N. xanthodon* DNA'sında N-tipi şeker konformasyonlarının artmış rijiditesi veya bu konformasyonların daha yüksek oranda bulunması ile ilişkilendirilebilir. Öte yandan, S-tipi şekerin C2-endo puckering modunu temsil eden ve 839–838 cm^{-1} bölgesinde tespit edilen bantta, *R. rattus* örneklerinde *N. xanthodon*'a kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek yoğunluklar saptanmıştır.

Azotlu pürin ve pirimidin bazlarının titreşim modlarına ilişkin spektroskopik analizler (Şekil 6), *N. xanthodon* ve *R. rattus* DNA'ları arasında yapısal dinamikler açısından kayda değer türler arası farklılıkları ortaya koymaktadır. Özellikle, 1286–1285 cm^{-1} bölgesinde yer alan ve sitozin halkalarının C5 = C6 gerilme titreşimlerine karşılık gelen spektral bantların yoğunlukları, *N. xanthodon* DNA'sında istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır. Benzer şekilde, 1508 cm^{-1} ve 1524 cm^{-1} dalga sayılarında tespit edilen ve sitozin halkasının düzlem içi titreşim modlarını temsil eden bantlar da *N. xanthodon* örneklerinde belirgin şekilde yükselmiştir (Şekil 6a–c). Buna karşın, 1517 cm^{-1} bölgesinde, yine sitozin düzlem içi halkası titreşimlerine ait spektral bant yoğunlukları *R. rattus* DNA'sında anlamlı düzeyde artış göstermiştir (Şekil 6d). Ayrıca, adenosin ve timidin kalıntılarındaki anti-konformasyonları belirten 1339–1337 cm^{-1} ile guanozinin sin-konformasyon geometrilerine karşılık gelen 1325–1322 cm^{-1} bantlarında, *N. xanthodon* örneklerinin *R. rattus*'a kıyasla anlamlı biçimde daha yüksek yoğunluk sergilediği tespit edilmiştir (Şekil 6e–f). Bu titreşim modları, N-tipi şeker bileşenlerinin C3-endo puckering hareketiyle mekanistik bir bağlantı içinde olup, kanonik olmayan helikal konformasyonlarla ilişkilendirilen yapısal özellikler olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 4. 6 *Nannospalax xanthodon* (N) ve *Rattus rattus* (R) DNA örneklerine ait nükleobaz konformasyonlarıyla ilişkili spektral indeksler. a–d) Sitozin, e) Adenozin ve Timidin, f) Guanozin konformasyonlarını temsil eden spektral bantlar.

5. TARTIŞMA

DNA polimorfizminin keşfi, DNA'nın yapısal çeşitliliğine yönelik araştırmaların artmasına neden olmuş ve DNA konformasyonları bilimsel ilginin merkezine yerleşmiştir. Kanonik form olan B-DNA'nın yanı sıra, saç tokası yapıları (hairpin), üçlü sarmallar (triplex), çarmıh benzeri yapılar (cruciform), sol sarmallı Z-DNA, G-kuadrupleksler ve A-motifleri gibi çeşitli alternatif yapılar tanımlanmıştır (Whelan vd., 2014).

Fizyolojik koşullarda baskın olarak bulunan B-DNA, sağ elli (right-handed) ve antiparalel dizilimde çift sarmallı bir yapıya sahiptir. Bu yapı, her 360 derecelik sarmal dönüşte 10 nükleotid çifti içerir ve bazı bazlar sarmal eksenine dik konumlanmıştır (Baker ve Bowers, 2007).

Alternatif DNA konformasyonları arasında Z-DNA, özellikle alışılmadık yapısı ve olası biyolojik işlevleri nedeniyle dikkat çekmektedir (Pohl ve Jovin, 1972; Bhanjadeo vd., 2022). Z-DNA, ardışık pürin-pirimidin dizilerinin bulunduğu bölgelerde stabilize olan sol elli bir çift sarmaldır. Bu yapıda, guanin bazları sin-konformasyonunda bulunur; bu durum, B-DNA'daki bazların tipik anti-konformasyonundan belirgin şekilde farklıdır (Subramani vd., 2019). Z-DNA, sin ve anti konformasyonlarının dönüşümlü olarak yer aldığı bir baz düzenine sahiptir (Nial vd., 2024a). Ayrıca, şeker-fosfat omurgasının zikzak şeklindeki yapısı nedeniyle baz çiftleri arasındaki mesafe B-DNA'ya kıyasla daha fazladır (De Rosa vd., 2010).

Z-DNA, transkripsiyonel düzenleme ve çift sarmal DNA kırıklarının onarımı gibi temel hücresel süreçlerde rol oynamakta ve bu yolla çeşitli insan hastalıklarını etkileyebilmektedir (Nial vd., 2024b).

İn vitro çalışmalarda, sitozin metilasyonunun DNA yapısında değişikliklere yol açtığı, serbest enerjiyi azaltarak B-DNA'dan Z-DNA'ya geçişi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Plass ve Soloway, 2002). Bununla birlikte, metilasyonun B- ve Z-DNA arasındaki konformasyonel geçişleri nasıl moleküler düzeyde etkilediğine dair mekanizmalar halen tam anlamıyla aydınlatılamamıştır; zira DNA metilasyonu ile yapısal değişiklikler arasında birçok korelasyon mevcut olmakla birlikte bu dinamiklerin moleküler temelleri belirsizliğini korumaktadır (Temiz vd., 2012). Metil-şeker etkileşimleri, DNA omurgasındaki konformasyonel değişikliklerin önemli bir belirleyicisidir ve bu etkileşimler DNA'nın yapısını ve esnekliğini düzenleyerek intrinsik helikal eğilmeyi tetiklemektedir (Dršata ve Lankaš, 2013). Ayrıca, metil-şeker etkileşimlerinin DNA'nın torsiyonel ve eğilme sertliği ile yapısal esnekliğini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. DNA metilasyonunun genel DNA mimarisine etkisi bilinmekle birlikte,

omurga konformasyonu üzerindeki spesifik etkileri halen tam olarak çözülememiştir (Liebl ve Zacharias, 2019). DNA'nın topolojik çeşitliliği, şeker ve omurga konformasyonlarındaki, glikozidik bağ oryantasyonundaki, sterik engellerdeki ve baz eşleşme esnekliğindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Z-DNA yapısı, GC bakımından zengin, alternatif dizilimlere sahip DNA bölgelerinde tercih edilmekte olup (Nayak ve ark., 2016; Bhanjadeo ve Subudhi, 2019), A- ve B-DNA'dan farklı olarak purin kalıntıları (G) sin konformasyonunda ve C3'-endo şeker pucker'ı ile, pirimidin kalıntıları (C) ise anti konformasyon ve C2'-endo pucker yapısı ile karakterizedir (Banyay ve ark., 2003).

Genomlarda bulunan non-B DNA-formasyonuna yatkın diziler, DNA replikasyonu ve transkripsiyon süreçlerine müdahale ederek genomik kararsızlığa katkıda bulunmaktadır (Bacolla ve Wells, 2004; Bhanjadeo ve ark., 2017). Önceki çalışmalar, alternatif DNA konformasyonlarının multipl miyelom, lösemi ve lenfoma gibi malignitelerde kanserle ilişkili genlerin ekspresyonunun düzensizleşmesine neden olduğunu raporlamıştır (Bacolla ve Wells, 2009; Wells, 2013; Bhanjadeo ve ark., 2019). Kanser evrensel bir biyobelirteci olan anormal DNA metilasyonu, gen ekspresyonunun bozulmasına yol açarak kanser gelişimi ve progresyonunda kritik bir rol üstlenmektedir (Mahmoud ve Ali, 2019). Özellikle hematolojik malignitelerde yapılan sitogenetik analizler, hastaların önemli bir kısmında rastgele olmayan kromozomal kırılma ve translokasyonların gözlemlendiğini ortaya koymuştur (Lieber ve ark., 2006). Konformasyonel değişiklikler esnasında meydana gelen DNA kırıkları, kromozomal translokasyonlar, gen duplikasyonları, inversiyonlar ve delesyonlar gibi genomik yeniden düzenlenmelerle sonuçlanabilmekte olup, bunlar kanser hücrelerine özgü moleküler özelliklerdir (Nambiar ve ark., 2008). Anormal DNA metilasyonunun kesin kökeni ve tetikleyici mekanizmaları henüz tam olarak belirlenememiştir; ancak bu olayın yaşa bağlı bir süreç olduğu yönünde hipotezler mevcuttur (Issa, 2014).

Kör fareler, uzun ömürleri, yaşa bağlı fenotipik bozuklukların olmaması ve spontan tümör oluşumuna karşı gösterdikleri direnç nedeniyle yaşlanma ve kanser araştırmalarında benzersiz model organizmalar olarak kabul edilmektedir (Lagunas-Rangel, 2018). *Spalacidae* familyasına ait ve *Nannospalax* ile *Spalax* olmak üzere iki cinsi içeren bu türler, yüzeyde yaşayan kemirgenlerde toksik stres ve hücre hasara yol açan hipoksik ve hiperkapnik koşulların hakim olduğu yeraltı habitatlarında yaşamlarını sürdürmektedir (Manov ve ark., 2020; Bugarski-Stanojević ve ark., 2024).

Türkiye'de sistematik ve filogenetik çalışmaların yanısıra *Nannospalax* cinsine ait türlerde kanser direnci ve yaşlanma mekanizmalarına yönelik çalışmalar sınırlı sayıda kalmıştır.

Önemle belirtmek gerekir ki, literatürde kimi araştırmalar *Nannospalax* için *Spalax* adlandırmasını tercih etmektedir. Bu nedenle terimsel tutarlılığı sağlamak için bu çalışma genelinde *Nannospalax* ve *Spalax* ayrı cinsler olarak ele alınmış, önceki kullanımlar parantez içinde özgün şekliyle korunmuştur. *Nannospalax* (*Spalax*) laboratuvar ortamında yaklaşık %3 oksijen konsantrasyonunda 14 saate kadar hayatta kalabilirken, sıçanlarda bu süre yalnızca 2–3 saat civarındadır. Ayrıca, kör farelerin yaşam süresi 20 yılı aşarken, sıçanların ortalama yaşam süresi 4–5 yıl olarak bildirilmektedir (Malik ve ark., 2016). *N. ehrenbergi* ile *Rattus norvegicus* türleri arasındaki karşılaştırmalı ekspresyon analizleri, hemoglobin, miyogloblin, nöroglobin, sitogloblin, eritropoetin reseptörleri, vasküler endotelial büyüme faktörü ve hipoksi-indüklenabilir faktör 1 α gibi hipoksiye yanıt veren genlerin ekspresyonunda belirgin farklılıklar ortaya koymuştur (Shams ve ark., 2004; Avivi ve ark., 2005c). *N. xanthodon* üzerinde yapılan çalışmalar ise, Janus kinaz-sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü (JAK-STAT) sinyali yolları ile sitokin aracılı sinyali yollarının hücresel yaşlanma süreçlerindeki rolünü incelemiş ve bu inflamatuvar faktörlerin türün yaşlanma ve kanser direncine önemli katkıları sağladığı öne sürülmüştür (İnci ve ark., 2022). Buna ek olarak, *N. xanthodon*'un bağırsak mikrobiyotasına yönelik 16S rRNA metabarkodlama analizleri, performans ve uzun ömürlülükle ilişkilendirilen bakteri ailelerinin yüksek bolluğunu ortaya koymuştur (Solak ve ark., 2023). Benzer biçimde, uzun ömürle bağlantılı Muribaculaceae bakteri ailesi, *N. leucodon* dışkı örneklerinde en baskın bakteri taksonu olarak belirlenmiştir (Sibai ve ark., 2020).

Bu çalışma, yeraltında yaşayan *N. xanthodon* ile yüzeyde yaşayan *R. rattus* türleri arasındaki DNA konformasyonel farklılıklarını ortaya koymayı amaçlamaktadır. İnfrared (IR) spektroskopisi kullanılarak, zorlu yeraltı koşullarının oluşturduğu seçici baskılar altında evrimleşmiş *N. xanthodon* DNA'sındaki yapısal adaptasyonların nicel analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular, *N. xanthodon* DNA'sında *R. rattus* ile karşılaştırıldığında A- ve Z-DNA konformasyonlarının daha yüksek oranda bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca, şeker-fosfat omurgasının titreşim analizleri, *N. xanthodon* DNA'sında N tipi (C3'-endo) şeker pucker'ının daha baskın olduğunu, buna karşın S tipi (C2'-endo) pucker yapısının ise azaldığını ortaya koymuştur; *R. rattus*'ta ise bu durumun tam tersi gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, *R. rattus* DNA'sında B-DNA formunun daha yaygın olduğunu ve bu farklılıkların her iki türün ekolojik nişlerine özgü evrimsel adaptasyonların yansıması olduğunu göstermektedir. Bu veriler, literatürde bilinen yapısal ilişkilerle uyumludur; zira N tipi şeker pucker (C3'-endo) A-DNA topolojisiyle, S tipi pucker (C2'-endo) ise B-form çift sarmal DNA yapısıyla ilişkilidir (Egli, 2018). Öte yandan, yapısal, biyokimyasal ve hesaplamalı

çalışmalar Z-DNA'nın hem C3'-endo hem de C2'-endo şeker pucker'larını barındırdığını göstermektedir (Slickers, 1999; Egli, 2018). Bu konformasyonlar, Z-DNA'nın sol yönlü sarmal yapısının stabilizasyonunda kritik rol oynamaktadır. Bahsedilen yapısal esneklik, Z-DNA'nın "flipon" olarak işlev görmesine olanak tanımakta ve böylece kromatin yeniden şekillenmesi ile transkripsiyonun yeniden başlatılmasını dinamik biçimde düzenlemektedir (Beknazarov ve ark., 2024; Sahayasheela ve ark., 2025).

Yeraltı yaşamının getirdiği çevresel stres faktörleri, *N. xanthodon*'un evrimsel süreçlerinde belirleyici bir rol oynamıştır. Bu faktörler; karanlık ortam, enerji kısıtlılığı, düşük biyolojik üretkenlik, besin eksikliği, toprak ve kaya yapısı, hipoksi, hiperkapni ve yüksek patojen yükü olarak tanımlanmaktadır (Nevo ve ark., 1994). *N. ehrenbergi* hipoksik koşullara uyum sağlamak amacıyla çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir. Bunlar arasında, tümör baskılayıcı gen P53'te oluşan mutasyonlar dikkat çekmektedir; söz konusu mutasyonlar, apoptoz genleri yerine DNA onarım genlerinin transkripsiyonunu destekleyerek hücrel yaşama katkı sağlar. P53'ün transkripsiyonel regülasyonu, hücre içi stres yanıt mekanizmasının temel bileşenlerinden olup, DNA hasarı ve hipoksi gibi çevresel stres durumlarında hücre büyümesini durdurma veya apoptoza yönlendirme görevini üstlenir (Ashur-Fabian ve ark., 2004). Son yıllarda yapılan çalışmalar, DNA onarım yollarının düzenlenmesindeki bozuklukların hipoksi kaynaklı genetik kararsızlığın başlıca nedenlerinden biri olduğunu göstermiştir (Shams ve ark., 2013). Normal fizyolojik koşullarda, P53 DNA hasarını algılayarak hücre proliferasyonunu durdurmakta ve DNA onarımını tetiklemektedir. Ancak hipoksik ortamda P53 mutasyonları, apoptoz yerine DNA onarım genlerinin aktivasyonunu artırarak hücre ölümünü engellemektedir. *N. ehrenbergi*'de gözlenen uzun ömür ve düşük kanser insidansı, bu adaptasyonun etkinliğini desteklemektedir (Nasser ve ark., 2005). Ayrıca, *N. carmeli* fibroblastlarının genotoksik strese karşı *Rattus* fibroblastlarına kıyasla daha başarılı bir DNA onarım mekanizmasına sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar, kör farelerin karsinogenez direnci ile uyumlu olarak değerlendirilmektedir (Domankevich ve ark., 2016, 2018). Ökaryotik hücrelerde DNA konformasyonunun tanımlanması, hücrelerin çevresel strese karşı işlevselliğini sürdürebilme mekanizmalarını anlamak açısından büyük önem taşımaktadır (Whelan ve ark., 2011). Dolayısıyla, *N. xanthodon* DNA'sında belirlenen baskın konformasyonel formlar, bu türle ilgili önceki yapısal araştırmalarla paralellik göstermektedir.

Bu çalışma, azotlu pürin ve pirimidin bazlarının titreşim modlarının incelenmesi yoluyla, türlere özgü farklılıkları ortaya koymaktadır. Bu farklılıklar, baz istiflenme etkileşimleri, hidrojen bağı dinamikleri, helikal burulma gerilimi ve konformasyonel

tercihlerdeki varyasyonları yansıtarak, nükleobaz titreşim durumları ile makromoleküler konformasyon arasındaki karmaşık etkileşimin altını çizmektedir. Elde edilen verilerde öne çıkan önemli bir bulgu, iki tür arasında sitozinle ilişkili titreşim bantlarında belirgin farklılıkların gözlenmesidir. *N. xanthodon*'da, 1286–1285 cm^{-1} (C5 = C6 gerilme titreşimleri) ile 1508 cm^{-1} ve 1524 cm^{-1} (sitozin halkasının düzlem içi modları) bantlarında istatistiksel olarak anlamlı artışlar saptanmıştır. Buna karşılık, *R. rattus*'ta 1517 cm^{-1} bandında yoğunluk artışı ve 1524 cm^{-1} bandında azalma gözlenmiştir. Bu karşılıklı bant yoğunluk değişimi, yani 1524 cm^{-1} bandının azalması ve spektral kaymanın 1517 cm^{-1} bandına doğru gerçekleşmesi, sitozin kalıntılarındaki türler arasında özgü titreşim enerjisinin farklılaşarak yeniden dağıldığını göstermektedir (Banyay ve Gräslund, 2002). Gözlemlenen spektral kaymalar, baz dizilimindeki elektronik ortam veya yapısal gerilim değişikliklerinin yanı sıra baz istiflenme etkileşimleri, hidrojen bağı örüntüleri veya helikal burulma gerilimindeki farklılıklara da işaret etmektedir. Bu titreşimsel farklılıklar, DNA ikincil yapılarının stabilizasyonunda değişikliklere veya epigenetik modifikasyon örüntülerindeki varyasyonlara bağlı olabilir; bu da nükleobaz titreşim davranışları ile türler arası makromoleküler konformasyonlar arasında potansiyel bir ilişkiyi ortaya koymaktadır.

Ek olarak, adenosin, timidin ve guanozin titreşim modlarının detaylı analizi, türler arasında ilave farklılıkları açığa çıkarmaktadır. 1339–1337 cm^{-1} (adenosin ve timidin anti-konformasyonları) ile 1325–1322 cm^{-1} (guanozin syn-konformasyonu) bantlarında *N. xanthodon*'da *R. rattus*'a kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek yoğunluklar tespit edilmiştir. *N. xanthodon*'daki bu bant yoğunluğu artışı, anti/syn glikozidik torsiyon açıları ile N tipi şeker pucker geometrilerinin tercihli stabilizasyonunu yansıtarak, A- ve/veya Z-DNA form topolojilerinin artan popülasyonlarına işaret edebilir. Türler arasındaki bu konformasyonel eğilim farklılıkları, baz istiflenme etkileşimindeki varyasyonlardan kaynaklanabilir; bu da torsiyonel gerilimde değişikliklere veya kromatin kompaksiyon dinamiklerindeki türler arasında özgü farklılıklara neden olabilir. Spektroskopik bulgular, *N. xanthodon*'da Z-DNA formunun tercih edildiğini destekler niteliktedir. Buna karşılık, *R. rattus*'ta gözlenen düşük sinyal yoğunlukları, genellikle transkripsiyonel olarak aktif kromatin yapılarına ve tipik genom organizasyonlarına karşılık gelen B-DNA konformasyonlarının daha yaygın olduğunu göstermektedir.

Önceki çalışmalar, nükleozitlerin konformasyonel enerjetik profillerinin baz türüne bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur. Özellikle deoksisitidin, diğer nükleozitlere kıyasla belirgin biçimde özgün konformasyonel özellikler sergilemektedir. Bu nükleozitin içsel enerjetik yapısı, DNA'nın A-formunu B-formuna göre yaklaşık 2,3 kcal/mol

daha fazla tercih ettiğini ortaya koymakta; ayrıca deoksitimidine kıyasla Z-DNA konformasyonlarını benimseme eğilimi de daha yüksektir. Bu durum, sitozin bazının nükleozit düzeyindeki yapısal özelliklerinin, GC açısından zengin dizilerin hem A-form hem de Z-form DNA topolojilerine olan yatkınlığını artırarak, AT-zengin dizilere kıyasla konformasyonel farklılıklar yaratmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir. Çalışmada ayrıca, farklı şeker pucker konformasyonları (örneğin C2'-endo ve C3'-endo) arasındaki enerji bariyerlerinin baz türüne göre değişkenlik gösterdiği, B-DNA bağlamında pirimidinlerin genellikle pürinlere oranla daha düşük enerjetik bariyerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, DNA'nın konformasyonel çeşitliliğinde yalnızca nükleotid diziliminin değil, aynı zamanda baz bileşiminin de temel bir belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır (Foloppe & MacKerell, 1999).

Temiz ve arkadaşlarının (2012) moleküler dinamik simülasyonlarına dayanan çalışması, sitozin metilasyonunun B- ve Z-DNA'nın içsel yapısal dinamikleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Bulgular, özellikle Gp5mC ardışık dizilerinde metilasyonun, B-DNA'daki BII konformasyonunu BI konformasyonuna göre önemli ölçüde destabilize ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, metilasyonun B- ve Z-DNA formları arasındaki serbest enerji farkını azalttığı; dolayısıyla, metillenmiş dizilerde B'den Z'ye geçişin daha düşük enerjik bariyerle gerçekleşebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum, metilasyonun DNA'nın yapısal dönüşümleri üzerindeki potansiyel etkisine işaret etmektedir.

Yakın tarihli geniş kapsamlı bir çalışmada, memeliler arasında türler ve dokular üstü geçerliliğe sahip evrensel epigenetik saatler geliştirilmiştir. Bu saatler, 185 farklı türden elde edilen toplam 11.754 örneğe ait DNA metilasyon profilleri kullanılarak oluşturulmuş ve hem kronolojik hem de göreceli yaş tahmininde yüksek doğruluk oranları ($r > 0.96$) sergilemiştir. Bulgular, özellikle gelişim, kanser ve yaşam süresi ile ilişkili genlerin yakınındaki Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) bağlanma bölgelerinde korunmuş sitozin metilasyon değişikliklerinin yaşlanma süreciyle bağlantılı olduğunu göstermektedir. Saatlerin biyolojik geçerliliği; insanlarda gözlemlenen ölüm riski, fare modellerindeki somatotropik aks mutasyonları ve kalori kısıtlamasının yaşlanma üzerindeki etkileriyle güçlü korelasyonlar göstermesiyle desteklenmiştir. Ayrıca, bu epigenetik saatler; yeniden programlama aracılığıyla epigenetik yaştan geri döndürülmesi olanaklarını da ortaya koyarak, yaşlanmanın gelişimsel ve evrimsel olarak korunmuş mekanizmalarla yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Lu et al., 2023).

Benzer bir şekilde, Lemaître ve arkadaşlarının (2022) yürüttüğü bir çalışmada, DNA metilasyonuna dayalı epigenetik saatlerin, yabancı alageyik (*Capreolus capreolus*) bireylerinde

kronolojik yaş tahmininde oldukça etkili olduğu ortaya konmuştur. Özellikle genç bireylerin dâhil edilmesiyle tahmin doğruluğunun arttığı ve büyüme evrelerinde epigenetik değişim hızının belirgin biçimde arttığı gözlenmiştir; bu desen, insanlardaki bulgularla tutarlılık göstermektedir (Horvath, 2013). Cinsiyete özgü analizler, yaşlı dışı bireylerin erkeklere kıyasla daha yavaş bir biyolojik yaşlanma süreci sergilediğini göstermiş; bu farkın, nöronal gelişimle ilişkili POU3F3 gibi gen bölgelerinde gözlenen farklı metilasyon örüntüleri ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, çevresel etkenler ve yaşam öyküsü özelliklerinin de epigenetik yaşlanma süreci üzerinde belirleyici olduğu saptanmıştır. Örneğin, genç bireylerde yüksek vücut kütlesinin epigenetik yaşlanma hızında artışla ilişkili olduğu belirlenmiş olup; bu durum, büyüme ile uzun ömür arasında evrimsel bir ödünleşim (trade-off) mekanizmasına işaret etmektedir (Metcalf & Monaghan, 2003; Lemaître et al., 2022).

Son yıllarda yaşlanma biyolojisinin anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiş olup, bu sürecin karmaşıklığını daha iyi yansıtabilmek amacıyla üç yeni belirleyici unsur önerilmiştir: makrootofojinin bozulması, kronik inflamasyon ve disbiyoz. Özellikle makrootofojinin bozulması, organel yenilenmesini sekteye uğratarak yaşla birlikte görülen hücresel gerilemede merkezi bir rol oynamaktadır. İnsan ve kemirgen modellerinde yapılan çalışmalar, yaş ilerledikçe otofajiyle ilişkili genlerin ekspresyonunda belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir (López-Otín ve ark., 2023). Kronik inflamasyon ve bağırsak mikrobiyotasındaki dengenin bozulması (disbiyoz) da yaşlanmayı etkileyen diğer temel süreçler arasında yer almakta; mikrobiyal kompozisyondaki değişikliklerin pek çok yaşa bağlı hastalıkla ilişkilendirildiği gösterilmiştir. Bu üç belirleyici unsur arasındaki karşılıklı etkileşim, yaşlanmaya yönelik tedavi stratejilerinde bütüncül ve çok hedefli yaklaşımların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Yeraltında yaşayan ve yaklaşık 20 yıl gibi dikkat çekici bir yaşam süresine sahip olan kör farelerde yaşlanma belirtilerine dair sınırlı fizyolojik değişiklikler göstermekte ve şimdiye dek spontan tümör oluşumuna ilişkin herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Sürekli hipoksi, hiperkapni ve yüksek patojen yükü gibi çevresel stres faktörleriyle karşı karşıya olan bu tür, düşük metabolik hız, gelişmiş DNA onarım kapasitesi, özgün p53 mutasyonları ve A2M gibi tümör baskılayıcı genlerin artmış ekspresyonu gibi bir dizi adaptif mekanizma geliştirmiştir (Lagunas-Rangel, 2018). Bu özellikler, *Nannospalax*'ın hücresel hasara ve tümör oluşumuna karşı yüksek düzeyde direnç kazanmasını sağlamakta olup, insanlarda kanserin önlenmesi ve tedavisi açısından da potansiyel stratejiler sunmaktadır.

Nannospalax (Spalax) fibroblastları, sıçan hücrelerinde olduğu gibi pasaj sayısına bağlı olarak anlamlı telomer kısalması göstermektedir; ancak ortalama telomer uzunluğu daha yüksektir ve telomeraz aktivitesi daha düşüktür (Azpurua ve Seluanov, 2013). İleri pasajlarda gözlemlenen senesans durumunda bile, *Spalax* hücreleri özellikle telomer bölgelerinde olmak üzere daha az DNA hasarı sergilemektedir. Telomer bütünlüğünü koruyan shelterin kompleksine ait genlerin ekspresyonu her iki türde de azalsa da, TIN2 ve TPP1 gibi proteinlerin ekspresyonundaki düşüş *Spalax*'ta daha belirgindir. Bu durum, türün telomer uzunluğundan ziyade telomer bütünlüğünü sürdürebilen özgün genom koruma stratejileri geliştirdiğini ve bu mekanizmaların uzun ömürlülük ve yaşlanmaya karşı dirençte önemli rol oynadığını göstermektedir (Adwan Shekhidem ve ark., 2023).

Manov ve arkadaşlarının (2020) yaptığı çalışma, *Nannospalax*'ın (*Spalax*) klasik hücresel yaşlanma göstergeleri sergilemesine karşın, insan ve fare fibroblastlarından farklı olarak senesansa bağlı sekretuar fenotip (SASP) üretmediğini ortaya koymuştur. Bu hücrelerde p21 ve p53 artışı gibi proliferatif duraklama göstergeleri gözlenmesine rağmen, IL6, IL8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmadığı belirlenmiştir. Bu durum, etkin DNA onarım mekanizmaları sayesinde kalıcı DNA hasarının önlenmesine ve inflamatuvar yanıtın bastırılmasına bağlanmıştır. Ayrıca, SASP'nin başlıca düzenleyici yollarından biri olan IL1 sinyal yolunun *Nannospalax*'ta bozulmuş olduğu ve bunun inflamasyonun baskılanmasına katkı sağladığı gösterilmiştir. Bu veriler, *Nannospalax*'ın senesans ve inflamasyon süreçlerini birbirinden bağımsızlaştıran evrimsel adaptasyonlara sahip olduğunu göstermektedir (Manov ve ark., 2020).

Benzer biçimde, *N. xanthodon* ve *H. glaber* gibi uzun ömürlü ve kansere dirençli türlerde de genetik, moleküler ve çevresel etkenlerin birlikte rol oynadığı gözlemlenmiştir. Özellikle baz çıkarım onarımı (BER) ve homolog olmayan uç birleşimi (NHEJ) gibi DNA tamir yollarının etkinliği ile yaşam süresi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu türlerde metabolik hız genellikle daha düşük olup, oksidatif stres azaltılmış; ayrıca lipid metabolizmasında sfingomiyelinler ve bazı triasilgliserol türlerinin düzeyleri artarken, çoklu doymamış yağ asitleri azalmıştır. Hücre döngüsü ve apoptozla ilişkili genlerde, özellikle TP53 yolaklarında, hipoksi altında apoptoz yerine hücre döngüsünü durdurmaya yönelik ekspresyon profilleri gözlenmiştir. Bu genetik ve metabolik özellikler, etkin genom koruma sistemleriyle birlikte hücresel hasarın azaltılmasına ve yaşlanma sürecinin yavaşlatılmasına katkı sağlamaktadır (Ma ve Gladyshev, 2017).

Nannospalax'ın hem spontan hem de kimyasal indüksiyonla oluşturulan kansere karşı yüksek düzeyde dirençli olduğu deneysel verilerle desteklenmiştir. Potent kanserojenlere maruz bırakıldığında, fare ve sıçanların aksine minimum düzeyde tümör gelişimi gözlemlenmiş; ayrıca normal *Nannospalax* fibroblastlarının çeşitli insan kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı ve apoptozu indüklediği tespit edilmiştir. Bu antikanser etkiler doğrudan hücre teması veya salgılanan çözünabilir faktörler aracılığıyla gerçekleşmekte olup, yer altı yaşamına adapte olmuş *H. glaber* gibi türlerde de gözlemlenirken, yüzeyde yaşayan fare, sıçan ve *Acomys* gibi türlerde gözlenmemiştir (Manov ve ark., 2013). *Nannospalax*'ın bu olağanüstü kanser direncinin, hipoksik ortamlara adaptasyonu sonucunda gelişen özgün antioksidan savunma sistemleri ve tümör baskılayıcı mekanizmalarla ilişkili olabileceği öne sürülmektedir.

Malik ve arkadaşlarının (2016) gerçekleştirdiği türler arası transkriptom analizi, *Nannospalax*'ın hipoksi toleransı, kanser direnci ve uzun ömrüyle ilişkili moleküler adaptasyonlarını ortaya koymuştur. *Rattus norvegicus* ile karşılaştırıldığında, *Nannospalax*'ın homolog rekombinasyon, baz çıkarım onarımı ve Fanconi anemi yolları gibi DNA hasar onarımıyla ilişkili genleri daha yüksek düzeyde eksprese ettiği; buna karşılık, oksidatif fosforilasyon ve mitokondriyal metabolizma ile ilişkili genleri daha düşük düzeyde ifade ettiği belirlenmiştir. Bu transkripsiyonel profil, *Nannospalax*'ın oksidatif strese kaçınmak için aerobik solunuma olan bağımlılığını azaltarak, hipoksi-reoksijenasyon döngülerinden kaynaklanan DNA hasarına karşı korunmasını sağlamaktadır (Malik ve ark., 2016).

Sonuç olarak, uzun ömürlü kemirgen türlerinin birbirlerinden bağımsız şekilde evrimleştirdiği tümör baskılayıcı stratejiler dikkat çekicidir. Büyük vücutlu türlerde telomerase aktivitesi baskılanırken, küçük ama uzun ömürlü türlerde telomere bağımlı olmayan alternatif tümör baskılama mekanizmaları gelişmiştir. Bu mekanizmalar, yavaş hücre çoğalması ve artmış kanser direnciyle ilişkilidir (Gorbunova ve ark., 2014).

6. SONUÇ

Bu çalışma, *Nannospalax xanthodon* türünde gözlemlenen olağanüstü yaşam süresi ve doğal kanser direnci ile DNA yapısal polimorfizmi arasındaki ilişkili biyolojik süreçleri aydınlatmaya yönelik özgün bulgular sunmaktadır. Karşılaştırmalı genomik analizler, uzun ömürlü ve kansere karşı yüksek dirençli *N. xanthodon* ile kısa ömürlü ve kansere karşı toleransı düşük *R. rattus* arasında DNA konformasyon profilleri bakımından anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, DNA topolojisinde gözlenen yapısal varyasyonların, hem yaşam süresi hem de kansere karşı moleküler düzeyde sağlanan koruyucu mekanizmalar üzerinde düzenleyici bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Araştırmanın en dikkat çekici bulgularından biri, *N. xanthodon* genomunda A-DNA (%29,82) ve Z-DNA (%28,78) gibi kanonik olmayan konformasyonların yüksek oranda bulunmasıdır. Buna karşılık, *R. rattus*'ta bu oranlar sırasıyla %14,71 (A-form) ve %19,83 (Z-form) düzeyindedir. Her iki türde de B-DNA formu baskın olsa da, alternatif konformasyonların *N. xanthodon*'da belirgin şekilde artmış olması, bu türün kanser direnci ve uzun ömürlülüğünü açıklayabilecek yapısal bir temel sunmaktadır. Yapısal çeşitliliğe eşlik eden bir diğer önemli unsur ise, şeker halkasının konformasyonel değişimini ifade eden pucker dinamikleridir. *N. xanthodon*, A- ve Z-DNA topolojileri ile uyumlu olan N-tip (C3-endo) puckering seviyesini artırırken, B-DNA'ya özgü S-tip (C2-endo) konformasyonunun ise azaldığı gözlemlenmiştir. Bu değişim, DNA sarmalının stabilitesini, transkripsiyonel esnekliğini ve DNA hasarına karşı direnç kapasitesini etkileyebilecek potansiyele sahiptir. Spektroskopik analizler, türler arasında belirgin farklar gösteren nükleobaz titreşim modlarını da ortaya koymuştur. Özellikle *N. xanthodon*'da sitozin halkasına ait titreşimlerin artış göstermesi ve baz yığılması (base-stacking) etkileşimlerinde bozulmaların meydana gelmesi, DNA'nın üç boyutlu yapısındaki ince değişimlerin moleküler düzeyde izlenebildiğini göstermektedir.

Z-DNA'nın *N. xanthodon* genomunda bu denli yüksek oranda bulunması, bu konformasyonun bilinen biyolojik rollerinden dolayı özellikle dikkat çekicidir. Z-DNA'nın transkripsiyonel düzenleme, gen ekspresyonu kontrolü, çift iplikli DNA onarımı ve kanser baskılayıcı genlerin regülasyonunda rol aldığı bilinmektedir. Dolayısıyla, helikal çeşitlilik, şeker pucker dinamikleri ve nükleobaz titreşimleri ile tanımlanan bu yapısal polimorfizm, DNA topolojisinin yalnızca uzun ömürlülüğün değil, aynı zamanda doğal kanser direncinin de potansiyel belirleyicilerinden biri olabileceğini düşündürmektedir. Her ne kadar elde edilen bulgular, DNA konformasyonel esnekliği ile yaşam süresi ve kanser direnci arasında güçlü bir ilişki olasılığını desteklese de, nedensellik henüz kesin olarak ortaya konmamıştır. Gelecekte yapılacak çalışmalar, bu yapısal özelliklerin epigenetik düzenleyiciler, proteostatik mekanizmalar, bağışıklık sisteminin adaptif yanıtları ve metabolik ağlarla etkileşimini ayrıntılı biçimde incelemelidir. Böylece, DNA konformasyonlarının yaşlanma süreci ve kansere karşı doğal savunma mekanizmaları üzerindeki olası sinerjik etkileri daha net ortaya konabilecektir.

Sonuç olarak, bu çalışma titreşim spektroskopisinin DNA'nın moleküler yapı dinamiklerini analiz etmede güçlü bir araç olduğunu ve DNA konformasyonlarının biyolojik işlevlerle, özellikle yaşlanma ve kanser direnci ile bağlantılarının derinlemesine incelenebileceğini göstermektedir.

KAYNAKÇA

Abercrombie, M. (1979). Contact inhibition and malignancy. *Nature*, 281(5729), 259-262.

Adwan Shekhidem, H., Sharvit, L., Leman, E., Manov, I., Roichman, A., Holtze, S., M Huffman, D., Y Cohen, H., Bernd Hildebrandt, T., Shams, I., & Atzmon, G. (2019). Telomeres and Longevity: A Cause or an Effect?. *International journal of molecular sciences*, 20(13), 3233.

Adwan Shekhidem, H., Sharvit, L., Huffman, D. M., Manov, I., Atzmon, G., & Shams, I. (2023). Damage-Free Shortening of Telomeres Is a Potential Strategy Supporting Blind Mole-Rat Longevity. *Genes*, 14(4), 845. <https://doi.org/10.3390/genes14040845>

Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Roberts K., (2014). Essential Cell Biology. 4th ed. *Garland Science*:726.

Andziak, B. & Buffenstein, R. (2006). Disparate patterns of age-related changes in lipid peroxidation in long-lived naked mole-rats and shorter-lived mice. *Aging Cell* 5, 525–532 .

Ashur-Fabian, O., Avivi, A., Trakhtenbrot, L., Adamsky, K., Cohen, M., Kajakaro, G., ... & Rechavi, G. (2004). Evolution of p53 in hypoxia-stressed Spalax mimics human tumor mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(33), 12236-12241.

Ardahanlı, İ., Özkan, H. İ., Özel, F., Gurbanov, R., Teker, H. T., & Ceylani, T. (2022). Infrared spectrochemical findings on intermittent fasting-associated gross molecular modifications in rat myocardium. *Biophysical Chemistry*, 289, 106873.

Arnott, S., Fuller, W., Hodgson, A., & Prutton, I. (1968). Molecular conformations and structure transitions of RNA complementary helices and their possible biological significance. *Nature*, 220(5167), 561-564.

Arnott, S. (1999). Polynucleotide secondary structures: an historical perspective. *Oxford Handbook of Nucleic Acid Structure*, 1-38.

Austin, JW, Gilchrist, C. ve Fehlings, MG (2012). Yüksek molekül ağırlıklı hyaluronan, lipopolisakkarit aracılı mikrogial aktivasyonu azaltır. *Nörokimya dergisi* , 122 (2), 344-355.

Avivi, A., Shams, I., Joel, A., Lache, O., Levy, A. P., & Nevo, E. (2005). Increased blood vessel density provides the mole rat physiological tolerance to its hypoxic subterranean habitat. *The FASEB journal*, 19(10), 1314-1316.

- Avivi, A., Ashur-Fabian, O., Joel, A., Trakhtenbrot, L., Adamsky, K., Goldstein, I., ... & Nevo, E.** (2007). P53 in blind subterranean mole rats—loss-of-function versus gain-of-function activities on newly cloned *Spalax* target genes. *Oncogene*, 26(17), 2507-2512.
- Avivi, A., Gerlach, F., Joel, A., Reuss, S., Burmester, T., Nevo, E., & Hankeln, T.** (2010). Neuroglobin, cytoglobin, and myoglobin contribute to hypoxia adaptation of the subterranean mole rat *Spalax*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(50), 21570-21575.
- Azpurua, J., & Seluanov, A.** (2013). Long-lived cancer-resistant rodents as new model species for cancer research. *Frontiers in Genetics*, 3, 319.
- Baba, B., Ceylani, T., Gurbanov, R., Acikgoz, E., Keskin, S., Allahverdi, H., ... & Teker, H. T.** (2024). Promoting longevity in aged liver through NLRP3 inflammasome inhibition using tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) and SCD probiotics. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 125, 105517.
- Bacolla, A., & Wells, R. D.** (2004). Non-B DNA conformations, genomic rearrangements, and human disease. *The Journal of biological chemistry*, 279(46), 47411–47414.
- Bacolla, A., & Wells, R. D.** (2009). Non-B DNA conformations as determinants of mutagenesis and human disease. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*, 48(4), 273-285.
- Baker, E. S., & Bowers, M. T.** (2007). B-DNA helix stability in a solvent-free environment. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 18(7), 1188-1195.
- Banyay, M., & Gräslund, A.** (2002). Structural effects of cytosine methylation on DNA sugar pucker studied by FTIR. *Journal of Molecular Biology*, 324(4), 667-676.
- Banyay, M., Sarkar, M., & Gräslund, A.** (2003). A library of IR bands of nucleic acids in solution. *Biophysical chemistry*, 104(2), 477-488.
- Bhanjadeo, M. M., Nayak, A. K., & Subudhi, U.** (2017). Cerium chloride stimulated controlled conversion of B-to-Z DNA in self-assembled nanostructures. *Biochemical and biophysical research communications*, 482(4), 916–921.
- Bhanjadeo, M. M., & Subudhi, U.** (2019). Praseodymium promotes B-Z transition in self-assembled DNA nanostructures. *RSC advances*, 9(8), 4616–4620.
- Bhanjadeo, M. M., Nial, P. S., Sathyaseelan, C., Singh, A. K., Dutta, J., Rathinavelan, T., & Subudhi, U.** (2022). Biophysical interaction between lanthanum chloride and (CG) *n* or (GC) *n*.

n repeats: A reversible B-to-Z DNA transition. *International Journal of Biological Macromolecules*, 216, 698-709.

Beknazarov, N., Konovalov, D., Herbert, A., & Poptsova, M. (2024). Z-DNA formation in promoters conserved between human and mouse are associated with increased transcription reinitiation rates. *Scientific reports*, 14(1), 17786.

Bird, A. P. (1986). CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*, 321(6067), 209-213.

Buffenstein, R. (2005). The naked mole-rat: a new long-living model for human aging research. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 60(11), 1369-1377.

Buffenstein, R. (2008). Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species. *J. Comp. Physiol. B* 178, 439–445.

Bugarski-Stanojević, V., Đokić, M., Stamenković, G., Barišić Klisarić, N., Stojković, O., Jojić, V., & Savić, I. (2024). A cryptic subterranean mammal species, the lesser blind mole rat (*Nannospalax leucodon syrmienensis*)—retreated but not extinct. *Animals*, 14(5), 774.

Burek, J. D. & Hollander, C. F. (1977). Incidence patterns of spontaneous tumors in BN/Bi rats. *J. Natl Cancer Inst.* 58, 99–105 .

Burek Loprete, D.M.; Hartman, K.A. (1995). Structures of poly(dG-dC) and poly(dA-dT) stabilized by anions. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 13, 57–67.

Chargaff Burek, J. D. & Hollander, C. F. (1977). Incidence patterns of spontaneous tumors in BN/Bi rats. *J. Natl Cancer Inst.* 58, 99–105 .

C. J Burgin, J. P. Colella, P. L. Kahn and N. S. Upham,(2018). “How many species of mammals are there?” *Journal of Mammalogy*, vol. 99, Num. 1, pp. 1-14.

Campo, G. M., Avenoso, A., Campo, S., D'Ascola, A., Nastasi, G., & Calatroni, A. (2010). Molecular size hyaluronan differently modulates toll-like receptor-4 in LPS-induced inflammation in mouse chondrocytes. *Biochimie*, 92(2), 204-215.

Campisi, J. (2001). Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends in cell biology*, 11(11), S27-S31.

Cesare, A. J., & Reddel, R. R. (2010). Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nature reviews genetics*, 11(5), 319-330.

Corbet, G. B. (1978). The mammals of the Palaearctic region: a taxonomic review. *British Museum (Natural History)*, 341.

Dahl, L. B., Dahl, I. M., Engström-Laurent, A., & Granath, K. (1985). Concentration and molecular weight of sodium hyaluronate in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and other arthropathies. *Annals of the rheumatic diseases*, 44(12), 817-822.

Delaney, M. A., Nagy, L., Kinsel, M. J. & Treuting, P. M. (2013). Spontaneous histologic lesions of the adult naked mole rat (*Heterocephalus glaber*): a retrospective survey of lesions in a zoo population. *Vet. Pathol.* 50, 607–621.

Delaney Bustamante, C., Bryant, Z. & Smith, S. (2003). Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics. *Nature* 421, 423–427.

De Rosa, M., de Sanctis, D., Rosario, A. L., Archer, M., Rich, A., Athanasiadis, A., & Carrondo, M. A. (2010). Crystal structure of a junction between two Z-DNA helices. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(20), 9088-9092.

Domankevich, V., Opatowsky, Y., Malik, A., Korol, A. B., Frenkel, Z., Manov, I., Avivi, A., & Shams, I. (2016). Adaptive patterns in the p53 protein sequence of the hypoxia- and cancer-tolerant blind mole rat *Spalax*. *BMC evolutionary biology*, 16, 177.

Domankevich, V., Eddini, H., Odeh, A., & Shams, I. (2018). Resistance to DNA damage and enhanced DNA repair capacity in the hypoxia-tolerant blind mole rat *Spalax carmeli*. *The Journal of experimental biology*, 221(Pt 8), jeb174540.

Dršata, T. and Lankaš, F. (2013). Theoretical models of DNA flexibility. *WIREs Comput Mol Sci*, 3: 355-363.

Ducale, A. E., Ward, S. I., Dechert, T., & Yager, D. R. (2005). Regulation of hyaluronan synthase-2 expression in human intestinal mesenchymal cells: mechanisms of interleukin-1 β -mediated induction. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 289(3), G462-G470.

Edrey, Y. H., Hanes, M., Pinto, M., Mele, J., & Buffenstein, R. (2011). Successful aging and sustained good health in the naked mole rat: a long-lived mammalian model for biogerontology and biomedical research. *ILAR journal*, 52(1), 41-53.

Egli, M., Usman, N., & Rich, A. (1993). Conformational influence of the ribose 2'-hydroxyl group: crystal structures of DNA-RNA chimeric duplexes. *Biochemistry*, 32(13), 3221-3237.

Egli M and Gessner RV. (1995). Stereoelectronic effects of deoxyribose O4' on DNA conformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 180.

- Egli, M.**, (2018) Sugar pucker and nucleic acid structure. In: The excitement of discovery: selected papers of Alexander rich. World Scientific, pp 309–315.
- Egli, M.** (2019). Sugar pucker and nucleic acid structure. In *The excitement of discovery: Selected papers of alexander rich: A tribute to alexander rich* (pp. 309-315).
- Erbilgin, Y., & Özbek, U.** (2019). Genetikte Temel Kavramlar. *DNA*, 4, 5.
- Eschenmoser, A.** (2011). Etiology of potentially primordial biomolecular structures: From vitamin B12 to the nucleic acids and an inquiry into the chemistry of life's origin: A retrospective. *Angew. Chem. Int. Ed.* 50: 12412.
- Eviatar, N. E. V. O.** (1961). Observations on Israeli populations of the mole rat *Spalax e. ehrenbergi* Nehring 1898.
- Enegd, B., King, J. A., Stylli, S., Paradiso, L., Kaye, A. H., & Novak, U.** (2002). Overexpression of hyaluronan synthase-2 reduces the tumorigenic potential of glioma cells lacking hyaluronidase activity. *Neurosurgery*, 50(6), 1311-1318.
- Fang, X., Seim, I., Huang, Z., Gerashchenko, M. V., Xiong, Z., Turanov, A. A., ... & Gladyshev, V. N.** (2014). Adaptations to a subterranean environment and longevity revealed by the analysis of mole rat genomes. *Cell reports*, 8(5), 1354-1364.
- Fang, X., Nevo, E., Han, L., Levanon, E. Y., Zhao, J., Avivi, A., ... & Wang, J.** (2014a). Genome-wide adaptive complexes to underground stresses in blind mole rats *Spalax*. *Nature communications*, 5(1), 3966.
- Ferrari, L. F., Khomula, E. V., Araldi, D., & Levine, J. D.** (2018). CD44 signaling mediates high molecular weight hyaluronan-induced antihyperalgesia. *Journal of Neuroscience*, 38(2), 308-321.
- Foloppe, N., & MacKerell, A. D., Jr** (1999). Intrinsic conformational properties of deoxyribonucleosides: implicated role for cytosine in the equilibrium among the A, B, and Z forms of DNA. *Biophysical journal*, 76(6), 3206–3218.
- Franklin, R. E., & Gosling, R. G.** (1953). Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*, 171(4356), 740-741.
- Fuhrmann, D. C., & Brüne, B.** (2017). Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia. *Redox biology*, 12, 208-215.

- Gessner RV, Quigley GJ and Egli M.** (1994). Comparative studies of high resolution Z-DNA crystal structures. Part 1: Common hydration patterns of alternating dC-dG. *J. Mol. Biol.* 236: 1154
- Ghosh, A., & Bansal, M.** (2003). A glossary of DNA structures from A to Z. *Biological Crystallography*, 59(4), 620-626.
- Gorbunova, V., & Seluanov, A.** (2009). Coevolution of telomerase activity and body mass in mammals: from mice to beavers. *Mechanisms of ageing and development*, 130(1-2), 3-9.
- Gorbunova, V., Hine, C., Tian, X., Ablaeva, J., Gudkov, A. V., Nevo, E., & Seluanov, A.** (2012). Cancer resistance in the blind mole rat is mediated by concerted necrotic cell death mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(47), 19392-19396.
- Gorbunova, V., Seluanov, A., Zhang, Z., Gladyshev, V. N., & Vijg, J.** (2014). Comparative genetics of longevity and cancer: insights from long-lived rodents. *Nature Reviews Genetics*, 15(8), 531-540.
- Gromov, I. M., & Baranova, G. I.** (1981). Catalogue of Mammals of the USSR. Pliocene Recent. *MoscowLeningrad: Nauka*.
- Gurbanov, R., S. Ozek, N., Tunçer, S., Severcan, F., & Gozen, A. G.** (2018). Aspects of silver tolerance in bacteria: infrared spectral changes and epigenetic clues. *Journal of Biophotonics*, 11(5), e201700252.
- Gurbanov, R., Tunçer, S., Mingu, S., Severcan, F., & Gozen, A. G.** (2019). Methylation, sugar puckering and Z-form status of DNA from a heavy metal-acclimated freshwater *Gordonia* sp. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 198, 111580.
- Gurbanov, R., Karadağ, H., Karaçam, S., & Samgane, G.** (2021). Tapioca starch modulates cellular events in oral probiotic *Streptococcus salivarius* strains. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 13(1), 195-207.
- Gutman, D., Sharvit, L., & Atzmon, G.** (2014). Possible Mechanisms for Telomere Length Maintenance in Extremely Old People. *Hered. Genet*, 3, 1-2.
- Hamanaka, R. B., & Chandel, N. S.** (2009). Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. *Current opinion in cell biology*, 21(6), 894-899.
- Harrison, D.L. and Bates, P.J.J.** (1991) The Mammals of Arabia. Harrison Zoological Museum, Kent, 354 p

Hill, J. E. (1991). *A world list of mammalian species*. British Museum (Natural History), London.

Horvath S. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome biology*, 14(10), R115.

Ilić, M., Bugarski-Stanojević, V., Jovanović, B., Stamenković, G., Zorić, K., Paunović, M., & Crnobrnja-Isailović, J. (2024). Phylogeographic Substructuring in the Southernmost Refugium of the European Common Frog *Rana temporaria*. *Animals : an open access journal from MDPI*, 14(10), 1430.

Inci, N., Akyildiz, E. O., Bulbul, A. A., Turanli, E. T., Akgun, E., Baykal, A. T., Colak, F., & Bozaykut, P. (2022). Transcriptomics and Proteomics Analyses Reveal JAK Signaling and Inflammatory Phenotypes during Cellular Senescence in Blind Mole Rats: The Reflections of Superior Biology. *Biology*, 11(9), 1253.

Itano, N., Sawai, T., Yoshida, M., Lenas, P., Yamada, Y., Imagawa, M., ... & Kimata, K. (1999). Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *Journal of Biological Chemistry*, 274(35), 25085-25092.

Issa J. P. (2014). Aging and epigenetic drift: a vicious cycle. *The Journal of clinical investigation*, 124(1), 24–29.

Jayaram, B.; Sprous, D.; Young, M. A.; Beveridge, D. L. (1998). Free Energy Analysis of the Conformational Preferences of A and B Forms of DNA in Solution. *J. Am. Chem. Soc.*, 120 (41), 10629–10633.

Kankılıç, T., Çolak, E., & Kankılıç, T. (2009). Macro-Anatomical and Karyological Features of Two Blind Mole Rat Subspecies (Rodentia: Spalacidae) from Turkey. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 38(2), 145-153.

Karthikeyan, S., Gurbanov, R., & Unal, D. (2022). Pb intoxicated biomolecular changes in *Cladonia convoluta* studied using 2DCOS infrared spectroscopy coupled with chemometric analysis. *Vibrational Spectroscopy*, 119, 103341.

Kato, A., Takahashi, H., Takahashi, Y., & Matsushime, H. (1997). Inactivation of the cyclin D-dependent kinase in the rat fibroblast cell line, 3Y1, induced by contact inhibition. *Journal of Biological Chemistry*, 272(12), 8065-8070.

- Kryštufek, B., Ivanitskaya, E., Arslan, A., Arslan, E., & BUŽAN, E. V.** (2012). Evolutionary history of mole rats (genus *Nannospalax*) inferred from mitochondrial cytochrome b sequence. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105(2), 446–455.
- Kumar, S., Chinnusamy, V., & Mohapatra, T.** (2018). Epigenetics of modified DNA bases: 5-methylcytosine and beyond. *Frontiers in genetics*, 9, 640.
- Kumar, M. M., Kumari, S. B., Kavitha, E., Velmurugan, B., & Karthikeyan, S.** (2020). Spectral profile index changes as biomarker of toxicity in *Catla catla* (Hamilton, 1822) edible fish studied using FTIR and principle component analysis. *SN Applied Sciences*, 2(7), 1233.
- Lagunas-Rangel F. A.** (2018). Cancer-free aging: Insights from *Spalax ehrenbergi* superspecies. *Ageing research reviews*, 47, 18–23.
- Lemaître, J. F., Rey, B., Gaillard, J. M., Régis, C., Gilot-Fromont, E., Débias, F., Duhayer, J., Pardonnet, S., Pellerin, M., Haghani, A., Zoller, J. A., Li, C. Z., & Horvath, S.** (2022). DNA methylation as a tool to explore ageing in wild roe deer populations. *Molecular ecology resources*, 22(3), 1002–1015.
- Levenberg, S., Yarden, A., Kam, Z., & Geiger, B.** (1999). p27 is involved in N-cadherin-mediated contact inhibition of cell growth and S-phase entry. *Oncogene*, 18(4), 869–876.
- Liebl, K., & Zacharias, M.** (2019). How methyl-sugar interactions determine DNA structure and flexibility. *Nucleic acids research*, 47(3), 1132–1140.
- Lieber, M. R., Yu, K., & Raghavan, S. C.** (2006). Roles of nonhomologous DNA end joining, V(D)J recombination, and class switch recombination in chromosomal translocations. *DNA repair*, 5(9-10), 1234–1245.
- Lingner, J., Cooper, J. P., & Cech, T. R.** (1995). Telomerase and DNA end replication: no longer a lagging strand problem?. *Science*, 269(5230), 1533–1534.
- Lipman, R., Galecki, A., Burke, D. T. & Miller, R. A.** (2004). Genetic loci that influence cause of death in a heterogeneous mouse stock. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 59, 977–983.
- Liu, L., Wylie, R. C., Andrews, L. G., & Tollefsbol, T. O.** (2003). Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. *Mechanisms of ageing and development*, 124(10-12), 989–998.
- Lorenzini, A., Johnson, F. B., Oliver, A., Tresini, M., Smith, J. S., Hdeib, M., ... & Stamato, T. D.** (2009). Significant correlation of species longevity with DNA double strand break

recognition but not with telomere length. *Mechanisms of ageing and development*, 130(11-12), 784-792.

López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 186(2), 243-278.

Lu, Y. R., Tian, X., & Sinclair, D. A. (2023). The Information Theory of Aging. *Nature aging*, 3(12), 1486–1499.

Lundbäck, T.; Härd, T.(1996). Sequence-specific DNA-binding dominated by dehydration. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 93, 4754– 4759.

Ma, S., & Gladyshev, V. N. (2017). Molecular signatures of longevity: Insights from cross-species comparative studies. *Seminars in cell & developmental biology*, 70, 190–203.

Mahmoud, A. M., & Ali, M. M. (2019). Methyl Donor Micronutrients that Modify DNA Methylation and Cancer Outcome. *Nutrients*, 11(3), 608.

Malik, A., Domankevich, V., Lijuan, H., Xiaodong, F., Korol, A., Avivi, A., & Shams, I. (2016). Genome maintenance and bioenergetics of the long-lived hypoxia-tolerant and cancer-resistant blind mole rat, *Spalax*: a cross-species analysis of brain transcriptome. *Scientific reports*, 6(1), 38624.

Mandelkern, M., Elias, J. G., Eden, D. ve Crothers, D. M., (1981) , The Dimensions of DNA in Solution, *Journal of Molecular Biology*, 152 (1), 153-161.

Mangelinck, A., & Mann, C. (2021). DNA methylation and histone variants in aging and cancer. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 364, 1-110.

Manov, I., Hirsh, M., Iancu, T. C., Malik, A., Sotnichenko, N., Band, M., ... & Shams, I. (2013). Pronounced cancer resistance in a subterranean rodent, the blind mole-rat, *Spalax*: in vivo and in vitro evidence. *BMC biology*, 11, 1-18.

Manov, I., Odeh, A., & Shams, I. (2020). Aging without inflammaging: lesson from *Spalax*. *Aging*, 12(16), 15875–15877.

McKinney JA, Wang G, Mukherjee A, Christensen L, Subramanian SHS, Zhao J, Vasquez KM. (2020) Distinct DNA repair pathways cause genomic instability at alternative DNA structures. *Nat Commun.* ;11(1):236.

Metcalfe, N. B., & Monaghan, P. (2003). Growth versus lifespan: perspectives from evolutionary ecology. *Experimental gerontology*, 38(9), 935–940.

Minchin, S., & Lodge, J. (2019). Understanding biochemistry: structure and function of nucleic acids. *Essays in biochemistry*, 63(4), 433-456.

- Mirkin, S. M.** (2007). Expandable DNA repeats and human disease. *Nature*, 447(7147), 932-940.
- Mitchell-Jones, A. J., Mitchell, J., Amori, G., Bogdanowicz, W., Spitzenberger, F., Krystufek, B., ... & Stubbe, C. M.** (1999). *The atlas of European mammals* (Vol. 3). London: Academic Press.
- Muntean, C. M., Stefan, R., Bindea, M., & Cozma, V.** (2013). Fourier transform infrared spectroscopy of DNA from *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Ixodes ricinus* ticks. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 110, 185-192.
- Nambiar, M., Kari, V., & Raghavan, S. C.** (2008). Chromosomal translocations in cancer. *Biochimica et biophysica acta*, 1786(2), 139–152.
- Nasser, N. J., Nevo, E., Shafat, I., Ilan, N., Vlodavsky, I., & Avivi, A.** (2005). Adaptive evolution of heparanase in hypoxia-tolerant *Spalax*: gene cloning and identification of a unique splice variant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(42), 15161–15166.
- Nasser, N. J., Avivi, A., Shafat, I., Edovitsky, E., Zcharia, E., Ilan, N., ... & Nevo, E.** (2009). Alternatively spliced *Spalax* heparanase inhibits extracellular matrix degradation, tumor growth, and metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(7), 2253-2258.
- National Center for Health Statistics (US).** (2010). *Health, United States, 2009: In Brief* (No. 2010). US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, NCHS.
- Nayak, A., Skantzakis, E., Chatziathanasiou, S., Carpeggiani, P. A., Sansone, G., Gray, D., Tzallas, P., Charalambidis, D., Hertz, E., & Faucher, O.** (2016). Polarization shaping of high-order harmonics in laser-aligned molecules. *Scientific reports*, 6, 39295.
- Nevo, E. M., Korol, A. B., Ronin, Y. I., & Kirzhner, V.** (1994). Cyclical behavior of genotype frequencies in a two-locus population under fluctuating haploid selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(24), 11432–11436.
- Ng, K. F., & Schwartz, N. B.** (1989). Solubilization and partial purification of hyaluronate synthetase from oligodendroglioma cells. *Journal of Biological Chemistry*, 264(20), 11776-11783.

- Nial, P. S., & Subudhi, U.** (2024). Zeta potential of Z-DNA: A new signature to study BZ transition in linear and branched DNA. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266, 131238.
- Nowak, R.M. and Paradiso, J.L.** (1983) Walker's Mammals of the World, 4th Edition. Vol. II, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 937-949.
- Oeseburg, H., De Boer, R. A., Van Gilst, W. H., & Van Der Harst, P.** (2010). Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 459(2), 259-268.
- Ognev, S. I.,** (1947). Mammals of the U.S.S.R. and Adjacent Countries. Vol. V. *Moskova: Rodents*. 1–662.
- O'sullivan, R. J., & Karlseder, J.** (2010). Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nature reviews Molecular cell biology*, 11(3), 171-181.
- Ravid, O., Shams, I., Ben Califa, N., Nevo, E., Avivi, A., & Neumann, D.** (2007). An extracellular region of the erythropoietin receptor of the subterranean blind mole rat Spalax enhances receptor maturation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(36), 14360-14365.
- Rich A, Nordheim A, Wang AH.** (1984). The chemistry and biology of left handed ZDNA. *Annu Rev Biochem.* 53:791–846.
- Rich A, Zhang S:** (2003) Timeline: Z-DNA: the long road to biological function. *Nat Rev Genet*, 4:566-572.
- Pauloin, T., Dutot, M., Joly, F., Warnet, J. M., & Rat, P.** (2009). High molecular weight hyaluronan decreases UVB-induced apoptosis and inflammation in human epithelial corneal cells. *Molecular vision*, 15, 577.
- Pérez, R. F., Tejedor, J. R., Fernández, A. F., & Fraga, M. F.** (2022). Aging and cancer epigenetics: Where do the paths fork?. *Aging Cell*, 21(10), e13709.
- Peter Slickers** (1999) <https://jenalib.leibniz-fli.de/Piet/help/backbone.html#>. In: IMB Jena, Germany.
- Placido, D.; Brown, B.A.; Lowenhaupt, K.; Rich, A.; Athanasiadis, A.** (2007) . A Left-Handed RNA Double Helix Bound by the Z α Domain of the RNA-Editing Enzyme ADAR1. *Structure*, 15, 395–404.

- Plass, C., & Soloway, P. D.** (2002). DNA methylation, imprinting and cancer. *European journal of human genetics : EJHG*, 10(1), 6–16. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200768>
- Poggi L, Richard GF.** (2020). Alternative DNA Structures *In Vivo*: Molecular Evidence and Remaining Questions. *Microbiol Mol Biol Rev* Dec 23;85(1).
- Pohl, F. M., & Jovin, T. M.** (1972). Salt-induced co-operative conformational change of a synthetic DNA: equilibrium and kinetic studies with poly (dG-dC). *Journal of molecular biology*, 67(3), 375-396.
- Polyak, K., Kato, J. Y., Solomon, M. J., Sherr, C. J., Massague, J., Roberts, J. M., & Koff, A.** (1994). p27Kip1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest. *Genes & development*, 8(1), 9-22.
- Prowse, K. R., & Greider, C. W.** (1995). Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(11), 4818-4822.
- Saenger, W.** (1984a). Dna structure. In Principles of nucleic acid structure (pp. 253-282). New York, NY: Springer New York.
- Saenger, W.** (1984b). Left-handed, complementary double helices—a heresy? The Z-DNA family. In Principles of nucleic acid structure (pp. 283-297). New York, NY: Springer New York.
- Saenger, W.** (1984). Principles of Nucleic Acid Structure; *SpringerVerlag: New York Inc.*
- Sen, P., Shah, P. P., Nativio, R., & Berger, S. L.** (2016). Epigenetic mechanisms of longevity and aging. *Cell*, 166(4), 822-839.
- Sahayasheela, V. J., Ooga, M., Kumagai, T., & Sugiyama, H.** (2025). Z-DNA at the crossroads: untangling its role in genome dynamics. *Trends in biochemical sciences*, 50(3), 267–279.
- Schülke, S., Dreidax, D., Malik, A., Burmester, T., Nevo, E., Band, M., ... & Hankeln, T.** (2012). Living with stress: regulation of antioxidant defense genes in the subterranean, hypoxia-tolerant mole rat, Spalax. *Gene*, 500(2), 199-206.
- Schneider, B.; Neidle, S.; Berman, H. M.** (1997). Conformations of the Sugar-Phosphate Backbone in Helical DNA Crystal Structures. *Biopolymers*, 42 (1), 113–124.

- Seluanov, A., Chen, Z., Hine, C., Sasahara, T. H., Ribeiro, A. A., Catania, K. C., ... & Gorbunova, V.** (2007). Telomerase activity coevolves with body mass not lifespan. *Aging cell*, 6(1), 45-52.
- Seluanov, A., Hine, C., Azpurua, J., Feigenson, M., Bozzella, M., Mao, Z., ... & Gorbunova, V.** (2009). Hypersensitivity to contact inhibition provides a clue to cancer resistance of naked mole-rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(46), 19352-19357.
- Seluanov, A., Gladyshev, V. N., Vijg, J., & Gorbunova, V.** (2018). Mechanisms of cancer resistance in long-lived mammals. *Nature Reviews Cancer*, 18(7), 433-441.
- Shams, I., Avivi, A., & Nevo, E.** (2004). Hypoxic stress tolerance of the blind subterranean mole rat: expression of erythropoietin and hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(26), 9698–9703.
- Shams, I., Nevo, E., & Avivi, A.** (2005). Ontogenetic expression of erythropoietin and hypoxia-inducible factor-1 alpha genes in subterranean blind mole rats. *The FASEB journal*, 19(2), 1-14.
- Shams, I., Avivi, A., & Nevo, E.** (2005a). Oxygen and carbon dioxide fluctuations in burrows of subterranean blind mole rats indicate tolerance to hypoxic–hypercapnic stresses. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 142(3), 376-382.
- Shams, I., Nevo, E., & Avivi, A.** (2005c). Erythropoietin receptor spliced forms differentially expressed in blind subterranean mole rats. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 19(12), 1749–1751.
- Shams, I., Malik, A., Manov, I., Joel, A., Band, M., & Avivi, A.** (2013). Transcription pattern of p53-targeted DNA repair genes in the hypoxia-tolerant subterranean mole rat *Spalax*. *Journal of molecular biology*, 425(7), 1111–1118.
- Sharpless, N. E.** (2005). INK4a/ARF: a multifunctional tumor suppressor locus. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 576(1-2), 22-38.
- Shing, P., & Carter, M.** (2011). DNA Structure: Alphabet Soup for the Cellular Soul. *InTech*.
- Sibai, M., Altuntaş, E., Yıldırım, B., Öztürk, G., Yıldırım, S., & Demircan, T.** (2020). Microbiome and Longevity: High Abundance of Longevity-Linked Muribaculaceae in the Gut

of the Long-Living Rodent *Spalax leucodon*. *Omics : a journal of integrative biology*, 24(10), 592–601.

Solak, H. M., Sezgin, E., Cizkova, D., Kreisinger, J., Çolak, F., Çetintaş, O., & Yanchukov, A. (2023). The microbiota of long-living and cancer-free blind mole rat *Nannospalax xanthodon* from the edge of its distribution in Northern Anatolia. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 32(2), 105-118.

Sözen, M., (2005). A biological investigation on Turkish *Spalax* *Guldenstaedt*, 1770 (Mammalia: Rodentia). *G. U. Fen Bilimleri Dergisi*. 18, 167–181.

Subramani, V. K., Ravichandran, S., Bansal, V., & Kim, K. K. (2019). Chemical-induced formation of BZ-junction with base extrusion. *Biochemical and biophysical research communications*, 508(4), 1215-1220.

Taguchi, T., Kotelsky, A., Takasugi, M., Chang, M., Ke, Z., Betancourt, M., ... & Gorbunova, V. (2020). Naked mole-rats are extremely resistant to post-traumatic osteoarthritis. *Aging Cell*, 19(11), e13255.

Takasugi, M., Firsanov, D., Tomblin, G., Ning, H., Ablueva, J., Seluanov, A., & Gorbunova, V. (2020). Naked mole-rat very-high-molecular-mass hyaluronan exhibits superior cytoprotective properties. *Nature communications*, 11(1), 2376.

Talari, A. C. S., Martinez, M. A. G., Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. U. (2017). Advances in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 52(5), 456-506.

Tajmir-Riahi, H. A., & Theophanides, T. (1985). An FT-IR study of DNA and RNA conformational transitions at low temperatures. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 3(3), 537–542. <https://doi.org/10.1080/07391102.1985.10508441>

Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Mansuroglu, S., Baba, B., ... & Gurbanov, R. (2023). Age-related differences in response to plasma exchange in male rat liver tissues: insights from histopathological and machine-learning assisted spectrochemical analyses. *Biogerontology*, 24(4), 563-580.

Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Baba, B., Acikgoz, E., & Gurbanov, R. (2024). Reduced liver damage and fibrosis with combined SCD Probiotics and intermittent fasting in aged rat. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 28(1), e18014.

- Temiz, N. A., Donohue, D. E., Bacolla, A., Luke, B. T., & Collins, J. R.** (2012). The role of methylation in the intrinsic dynamics of B- and Z-DNA. *PloS one*, 7(4), e35558. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035558>
- Terrazas, M.; Genna, V.; Portella, G.; Villegas, N.; Sánchez, D.; Arnan, C.; Pulido-Quetglas, C.; Johnson, R.; Guigó, R.; Brun-Heath, I.; Aviñó, A.; Eritja, R.; Orozco, M.** (2019). The Origins and the Biological Consequences of the Pur/Pyr DNA·RNA Asymmetry. *Chem.*, 5 (6), 1619–1631.
- Tian, X., Azpurua, J., Hine, C., Vaidya, A., Myakishev-Rempel, M., Abulaeva, J., ... & Seluanov, A.** (2013). High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat. *Nature*, 499(7458), 346-349.
- Tokgoz, G., Kirboga, K. K., Ozel, F., Yucepur, S., Ardahanli, I., & Gurbanov, R.** (2024). Spectrochemical and explainable artificial intelligence approaches for molecular level identification of the status of critically ill patients with COVID-19. *Talanta*, 279, 126652.
- Topachevskii, V. A.** (1976). Fauna of the USSR: mammals. Mole rats, Spalacidae.
- Toyran, K., & Şengül, E.** (2022). Bitlis İlindeki Nannospalax xanthodon (Nordmann, 1840) Türünün Biyoeckolojisi (Mammalia: Rodentia). *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(1), 131-139.
- Victorelli, S., & Passos, J. F.** (2017). Telomeres and cell senescence-size matters not. *EBioMedicine*, 21, 14-20.
- Vijg, J., & Suh, Y.** (2013). Genome instability and aging. *Annual review of physiology*, 75(1), 645-668.
- Wang, A.H.J.; Quigley, G.J.; Kolpak, F.J.; Crawford, J.L.; Van Boom, J.H.; Van Der Marel, G.; Rich, A.** (1979). Molecular Structure of a Left-Handed Double Helical DNA Fragment at Atomic Resolution. *Nature*, 282, 680–686.
- Wahl, M. C., & Sundaralingam, M.** (1999). A-DNA duplexes in the crystal. *Oxford Handbook of Nucleic Acid Structures*. Oxford University Press, New York, 117-144.
- Watson, J. D., & Crick, F. H.** (1953). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737-738.
- Wells, R.D.** (2013) DNA structure and instabilities related to human genomic disorders: With appreciation and admiration of Prof. Adam Jaworski. *Postepy Mikrobiologii* 52:128

Weissmann, B., Meyer, K., Sampson, P., & Linker, A. (1954). Isolation of oligosaccharides enzymatically produced from hyaluronic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 208(1), 417-429.

West, D. C., Hampson, I. N., Arnold, F., & Kumar, S. (1985). Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science*, 228(4705), 1324-1326.

Whelan, D. R., Bambery, K. R., Heraud, P., Tobin, M. J., Diem, M., McNaughton, D., & Wood, B. R. (2011). Monitoring the reversible B to A-like transition of DNA in eukaryotic cells using Fourier transform infrared spectroscopy. *Nucleic acids research*, 39(13), 5439-5448.

Whelan, D. R.; Bambery, K. R.; Heraud, P.; Tobin, M. J.; Diem, M.; McNaughton, D.; Wood, B. R.(2011). Monitoring the Reversible B to Alike Transition of DNA in Eukaryotic Cells Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Nucleic Acids Res.*, 39 (13), 5439–5448.

Whelan, D. R., Hiscox, T. J., Rood, J. I., Bambery, K. R., McNaughton, D., & Wood, B. R. (2014). Detection of an en masse and reversible B-to A-DNA conformational transition in prokaryotes in response to desiccation. *Journal of the Royal Society Interface*, 11(97), 20140454.

Widmer, H. R., Hoppeler, H., Nevo, E., Taylor, C. R., & Weibel, E. R. (1997). Working underground: respiratory adaptations in the blind mole rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(5), 2062-2067.

Wilson, D. E., & Reeder, D. M. (Eds.). (2005). *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference* (Vol. 1). JHU press.

Wilkinson, G. S., Adams, D. M., Haghani, A., Lu, A. T., Zoller, J., Breeze, C. E., ... & Horvath, S. (2021). DNA methylation predicts age and provides insight into exceptional longevity of bats. *Nature communications*, 12(1), 1615.

Winnefeld, M., & Lyko, F. (2023). Targeting epigenetic age to prevent cancer. *Nature Reviews Bioengineering*, 1(7), 460-461.

Wood, B. R. (2016). The importance of hydration and DNA conformation in interpreting infrared spectra of cells and tissues. *Chemical Society Reviews*, 45(7), 1980-1998.

Xiong Brahmachari, S., & Marko, J. F. (2018). DNA mechanics and topology. *Biomechanics in Oncology*, 11-39.

Yağcı, T., & Gurbanov, R. R. (2019). The impact of the different habitats on skull variation in the fossorial subterranean rodents (Rodentia: Spalacidae) from Middle Anatolia. *Ecological Research*, 34(6), 802-812.

YILDIZ, B., KAMILOĞLU, N. N., MERHAN, O., MECİT, T., & COŞKUN, Y. (2019). The Effects of Severe Hypoxia on Nitric Oxide Parameters in Hypoxia-tolerant Rodent: *Nannospalax nehringi*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(2).

YİĞİT, N., ÇOLAK, E., Sözen, M., & Özkurt, Ş. (1998). The Taxonomy and Karyology of *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) and *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758)(Rodentia: Muridae) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 22(3), 203-212.

Yiğit, N., Çolak, E., & Karataş, A. (2006). *Rodents of Türkiye: Türkiye Kemiricileri*. Meteksan Company.

Zhang, F., Huang, Q., Yan, J., & Chen, Z. (2016). Histone Acetylation Induced Transformation of B-DNA to Z-DNA in Cells Probed through FT-IR Spectroscopy. *Analytical chemistry*, 88(8), 4179–4182.

Zhang, S. D., Lin, G. H., Han, J. R., Lin, Y. W., Wang, F. Q., Lu, D. C., ... & Zhao, J. X. (2022). Digestive tract morphology and gut microbiota jointly determine an efficient digestive strategy in subterranean rodents: plateau zokor. *Animals*, 12(16), 2155.

Zhao J, Bacolla A, Wang G, Vasquez KM. (2010). NonB DNA structureinduced genetic instability and evolution. *Cell Mol Life Sci.*;67(1):43–62.

Zhao, Y., Seluanov, A., & Gorbunova, V. (2021). Revelations about aging and disease from unconventional vertebrate model organisms. *Annual review of genetics*, 55(1), 135-159.

Zhao, Y., Zheng, Z., Zhang, Z., Xu, Y., Hillpot, E., Lin, Y. S., ... & Gorbunova, V. (2023). Evolution of high-molecular-mass hyaluronic acid is associated with subterranean lifestyle. *Nature Communications*, 14(1), 8054.