



İskorpit Balığı Kas Dokusundan Glutatyon S-Transferaz Enziminin Kısmi Safılaştırılması

Partial Purification of Glutathione S-Transferase Enzyme from Muscle Tissue of Scorpionfish

Kübra IŞIK¹, Ercan SOYDAN²

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Samsun
· kubraisik684@gmail.com · ORCID > 0000-0002-7743-817X

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Samsun
· esoydan@omu.edu.tr · ORCID > 0000-0002-9691-4434

Makale Bilgisi/Article Information

Makale Türü/Article Types: Araştırma Makalesi/Research Article

Geliş Tarihi/Received: 24 Nisan/April 2023

Kabul Tarihi/Accepted: 08 Haziran/June 2023

Yıl/Year: 2023 | **Cilt-Volume:** 38 | **Sayı-Issue:** 2 | **Sayfa/Pages:** 431-440

Atrf/Cite as: Işık, K., Soydan, E. "İskorpit Balığı Kas Dokusundan Glutatyon S-Transferaz Enziminin Kısmi Safılaştırılması"
Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 38(2), Haziran 2023: 431-440.

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ercan SOYDAN

İSKORPİT BALIĞI KAS DOKUSUNDAN GLUTATYON S-TRANSFERAZ ENZİMİNİN KİSMİ SAFLAŞTIRILMASI

ÖZ

Canlı organizmalarda enzimlerin görevleri yaşamsal fonksiyonları sağlıklı ve sürdürülebilir hale getirmektir. Vücudumuz için bu direnci sağlayan enzimlerin en önemlilerinden biri olan glutatyon S-transferaz enzimi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır ve ksenobiyotik maddelerin detoksifikasyonundaki fonksiyonu iyi bilinen bir enzimdir. Bu nedenle bu enzim oksidatif stres sonucu oluşan endojen bileşiklerin ve antitümör ilaçlar, çevresel karsinojenler gibi ksenobiyotiklerin faz II aşamasıyla transformasyonunu sağlayarak ksenobiyotikleri çözünür hale getirmektedir. Bu çalışmada iskorpit balığı kas dokusundan glutatyon S-transferaz enzimi literatürde ilk kez kısmi olarak saflaştırılmış ve kinetik karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışma prosedürü işlemi sırasıyla homojenat hazırlama, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz olarak üç aşamada yapılmıştır. Amonyum sülfat çöktürme aralığı %40-60 olarak bulunmuştur. Optimum karakterizasyon çalışmaları yapılarak optimum iyonik şiddeti 150 mM Tris-HCl tamponunda, optimum pH: 6.0 ve optimum substrat miktarı ise 2.5 mM CDNB olarak tespit edilmiştir. Akuatik canlılardan antioksidant enzimlerin karakterizasyonu çalışmaları oldukça yaygın olmasına rağmen çalışmamızın sonuçlarının bu alanda araştırmalar yapan bilim insanları için faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Enzim Saflaştırılması, Glutatyon S-Transferaz, İskorpit Balığı, Karakterizasyon Çalışması.



PARTIAL PURIFICATION OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ENZYME FROM MUSCLE TISSUE OF SCORPIONFISH

ABSTRACT

Enzymes serve to make vital functions healthy and sustainable in living organisms. GST enzyme, which is one of the most important enzymes that provide such a resistance in human body, provides the detoxification of xenobiotics and is a well-known enzyme in the detoxification of xenobiotic substances. Therefore, GSTs convert endogenous substances produced by oxidative stress and xenobiotics such as antitumour drugs and environmental carcinogenics, into dissoluble form via phase II transformation. In this study, glutathione S-transferase enzyme from muscle tissue of scorpion fish was partially purified for the first time in the literature and optimum characterization studies were performed. The working

procedure was carried out in three steps as homogenate preparation, ammonium sulfate precipitation and dialysis, respectively. Ammonium sulfate precipitation interval was found in the range of 40-60%. Optimum ionic strength was determined in 150 mM Tris-HCl buffer, optimum pH value was found to be 6.0 and optimum substrate concentration was determined as 2.5 mM CDNB. Despite studies involved in characterization of antioxidant enzymes from aquatic organisms are quite common, results of this study are considered to be beneficial for scientists studying on this research area.

Keywords: Enzyme Purification, Glutathione S-Transferase, Characterization Study, Scorpion Fish.



1.GİRİŞ

Scorpaenidae familyasından olan iskorpit balığı (*Scorpaena porcus*) 219 türden oluşmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda son 10 yılda bunların sadece 17 türü tanınmış ve tespit edilmiştir (Mahe ve ark., 2014). Doğu Atlantik’de, Britanya Adaları’ndan Fas’a ve ülkemiz sınırları içerisinde ise en çok Ege Denizi, Karadeniz ve Akdeniz’de dağılım göstermektedir (Fischer ve ark., 1986; Erbay, 2013). Bir dip türü balık olan İskorpit balığının (*Scorpaena porcus*) 800 m derinliğe kadar yaşadığı gözlenmektedir (Pallaoro ve Jardas, 1991). Etçil bir tür olan iskorpit balıkları kabuklular ve omurgasızlar olmak üzere küçük balıklarla beslenmektedir (Hureau ve Litvinankov, 1986; Başçınar ve Sağlam, 2009; Roşca ve Arteni, 2010).

Normal hücrel metabolizmanın ürünlerinden olan serbest radikaller, dış kabuğunda veya dış yörüngelerde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren bir atom veya molekül olarak tanımlanır. Serbest radikal elektronlarının tek olması onu kararsız yapmasının yanı sıra kısa ömürlü ve reaktif olmasına neden olmaktadır (Mukherji ve Singh, 1986). Hem reaktif oksijen türleri (ROS) hem de reaktif nitrojen türleri (RNS) serbest radikalleri ve diğer radikal olmayan reaktif türlerini oluşturmaktadır (Valko ve ark., 2007). ROS ve RNS arasındaki denge canlı sistemi için hem yararlı hem de toksik bileşikler olarak ikili bir rol oynamaktadır. Orta ve düşük seviyelerdeki ROS / RNS arasındaki denge yararlı etkiler göstermektedir. Bu yararlı etkiler bağışıklık fonksiyonunu, bir dizi hücrel sinyal yolu ve redoks düzenlemesi gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları düzenlemektedir (Valko ve ark., 2007; Nordberg ve Arner, 2001). Yüksek konsantrasyonlarda ise ROS ve RNS oksidatif stres oluşturarak biyomoleküllerde hasara neden olmaktadır. Bunun sonucunda da oksidatif stres oluşumunun nedeni aşırı ROS/RNS üretimi olmakla beraber enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların eksikliği sonucunda görülmektedir (Pham ve ark., 2008). Oksidatif stres proteinlerin, lipidlerin, DNA ve nükleik asitlerin fonk-

siyonlarını hasara uğratması sonucunda vücudumuzda kanser, diabetes mellitus, nörodejeneratif, kardiyovasküler vb. hastalıkların oluşumuna yol açmaktadır.

Doğal veya dışarıdan ek takviyeler yoluyla sağlanan antioksidanlar üreterek oksidatif strese karşı savunma mekanizmasına sahip olmaktadır (Pham ve ark., 2008). Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda oksidatif stresin oluşturduğu oksidatif süreci engelleyen veya oluşmasını geciktiren, ancak kendileri oksitlenen maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmalar sonucunda serbest radikalleri nötralize edebilmesi için çeşitli endojen ve eksojen antioksidanların kullanıldığı rapor edilmiştir. Bunun sonucunda ise antioksidanların redoks dengesini koruduğu ve vücudu serbest radikallerden koruduğu görülmüştür (Pham ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007).

Glutasyon (GSH), glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptittir. Glutasyonun önemi, bitkilerde, memelilerde, mantarlarda ve bazı prokaryotik organizmalarda açıkça anlaşılmaktadır (Anderson, 1988). GSH, detoksifikasyona ek olarak, glioksalaz sistemi, ribonükleotitlerin indirgenmesi, tiyol:disülfit reaksiyonlarının düzenlenmesi dahil olmak üzere diğer hücrel reaksiyonlarda da rol oynamaktadır (Mullineaux, 1997). GSH, antioksidan savunma, ksenobiyotiklerin veya metabolitlerin detoksifikasyonu, hücre döngüsünün ilerlemesi ve apoptozun düzenlenmesi, sisteinin depolanması, redoks potansiyelinin sürdürülmesi, bağışıklık fonksiyonunun modülasyonu ve fibrojenez dahil olmak üzere birçok hayati fonksiyonda rol oynamaktadır (Ballatori ve ark., 2009; Forman ve ark., 2009; Meister ve Anderson, 1983; Pallardó ve ark., 2009; Lu, 2009). Glutasyon, dokularda indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) olmak üzere iki farklı formda bulunarak bir denge sağlamaktadır. Hücrel döngü anahtarı olarak görev yapan GSH/GSSG hücrenin oksidatif durumu hakkında fikir vermektedir. GSH/GSSG oranının çok düşük olması oksidatif stresin o oranda ilerlemiş olduğu sonucuna işaret eder (Schafer ve Buettner, 2001). Kısaca glutasyon bir antioksidan molekül olarak hücre, doku ve organ sistemlerinin yapısal ve fonksiyonel formlarının korunmasında önemli bir etkiye sahiptir. Aşırı oksidatif stres sonucu veya düşük antioksidan potansiyeliyle, antioksidan hasar gözlenmektedir. Bu nedenle glutasyon seviyesi düşer ve serbest radikal hasarları sonucunda patolojik hastalıklar görülür. GSH; yaşlanma, kanser, ateroskleroz ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın temelinde yer alması açısından önem taşımaktadır (Aksoy, 2002).

Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi detoksifikasyon metabolizmasının son ürünü olan merkapturik asit oluşumu reaksiyonunun ilk basamağını katalizleyen bir enzimdir. Bu nedenle katalizlenen bu reaksiyon sonucunda canlı vücudunun iç ve dış dengesini korumada önemli bir enzim haline gelmiştir (Baş ve ark., 2006). Hücre sitozolünde bol miktarda bulunan GST enzimlerinin karaciğer hücrelerinin mikrozomal kısmında da bulunduğu belirtilmiştir. GST enziminin mikrozomal membranına sıkı bir şekilde bağlı olmasının yanı sıra bazı özelliklerinin sitozolik

formlardan farklı olduğu görülmüştür (Boyer ve Kenney, 1985; Morgenstern ve ark., 1988). GSH'ın endojen ve ksenobiyotik kökenli elektrofillerle konjugasyonunu katalize etmede görev alan GST enzimi detoksifikasyon sistemleri arasında önemli bir görevi bulunmaktadır (Hayes ve Pulford, 1995; Moden ve Mannervik, 2014). Bunun sonucunda ksenobiyotik ve endojen kökenli birçok bileşiğin genotoksik ve kanserojen etkilerine karşı savunma mekanizması sağlamaktadır (Mannervik ve ark., 2005).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Sigma-Aldrich'ten ve Merck'ten temin edilmiştir.

2.2. Glutasyon S-transferaz (EC 2.5.1.18, GST) Enzim Aktivitesi

Glutasyon- S-transferaz (GST) enzimi glutasyon molekülü ile bir aromatik elektrofilin konjugasyonunu katalize etmektedir. 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) en çok kullanılan aromatik elektrofildir. Dinitrobenzen 5-glutasyon (DNB-SG) substratının kullanılmasıyla GST enziminin katalizlediği reaksiyon ürünü 340 nm'de absorpsiyon gösterir ve bu dalga boyundaki absorpsiyon artışından faydalanılarak aktivite ölçümü yapılmaktadır. Ortamda GSH yokluğunda CDNB glutasyon- S-transferazı inaktive etmektedir. Bundan dolayı reaksiyonun GSH ile başlatılması gerekir. Enzim aktivitesi ölçümleri spektrofotometrik olarak 340 nm'de 3 dk süreyle gerçekleştirilmiştir. Ölçüm için toplam hacim 1 ml olacak şekilde küvet içeriği hazırlanmıştır (Habig ve ark., 1974).

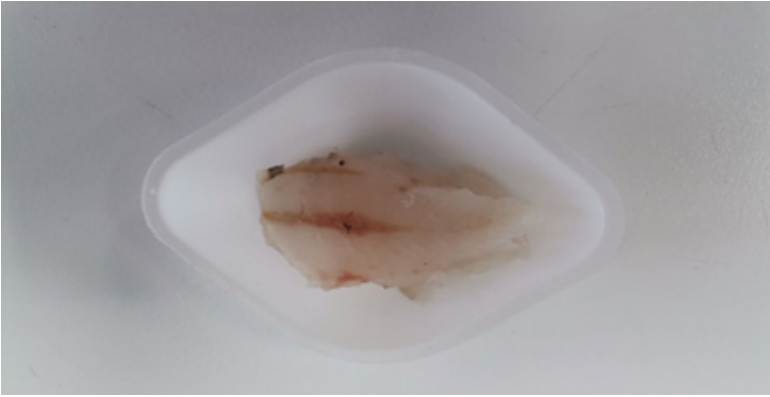
2.3. Homojenatın Hazırlanması

Temin edilen iskorpit balığından kas dokusu steril koşullarda alındı (Şekil 1ve 2). Alınan kas dokusundan 6.789 gram tartılarak sıvı azot içerisinde fiziksel parçalamaya tabi tutuldu. Ezilen kas dokusu 50 ml falkon tüp içerisine alınarak üzerine 1 mM EDTA + 0,15 M KCl içeren 0,1 M KH_2PO_4 (pH: 7,6) tamponu eklenerek 40 ml'ye tamamlandı. Daha sonra $+4^\circ\text{C}$ 'de 15000 rcf'de 1 saat boyunca santrifüj işlemi yapıldı. Yapılan santrifüj işleminin ardından süzgeç kağıdından süpernatant ve çökelek kısmı birbirinden ayrıldı. Süpernatant kısmından 340 nm'de absorpsiyon artışına göre enzim aktivitesi ölçüldü (Habig ve ark., 1974).



Şekil 1. İskorpit balığı (*Scorpaena porcus*)

Figure 1. Scorpion fish (*Scorpaena porcus*)



Şekil 2. İskorpit balığı kas dokusu

Figure 2. Scorpion fish muscle tissue

2.4. Amonyum Sülfat Çöktürmesi ve Diyaliz

Protein saflaştırılması işleminde ilgilenilen proteinin konsantrasyonunun artırılması için kullanılan yöntemlerden biri o proteinin ilgilenilmeyen proteinlerden ayrıştırılmasıdır. Proteinlerin çözünürlüğü, o proteinin içerdiği hidrofilik ve hidrofobik kısımların dağılımı ile ilişkilidir. Bu özellikler sayesinde amacımıza uygun olarak çöktürme işlemi yapılır. Bu çöktürme işlemlerinin en çok tercih edileni yüksek tuz derişikleri ile çöktürmedir. İskorpit balığı kas dokusundan hazırlanan homojenat için amonyum sülfat işlemi boyunca farklı %0-20, %20-40, %40-60, %60-80 aralıklarında çöktürme işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem için katı $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ parça parça eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla buz içerisinde homojenata aktarıldı. Yapılan çöktürme sonucunda %40-60 aralığında doyunluğa ulaşarak

enzimin en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Çökelti TRIS-HCl (150 mM; pH: 6.0) tamponu içinde çözüldü. Belirlenen aralıktan sonra protein çözeltisinin tuzlardan arındırılması için diyaliz işlemi yapıldı. Daha sonra 15 mM TRIS-HCl (pH: 6.0) tamponu içinde 3 saat boyunca diyaliz işlemine tabi tutuldu.

2.5. İskorpit Balığı Kas Dokusundan GST Enziminin Karakterizasyon Çalışması

2.5.1. GST Enziminin Optimum İyonik Şiddetinin Belirlenmesi

İskorpit balığı kas dokusundan GST enziminin aktivite gösterebilmesi için en uygun optimum iyonik şiddetin belirlenmesi amaçlanarak TRIS-HCl tamponlarının 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 mM konsantrasyonlarda hazırlandı ve aktivite ölçümleri yapıldı. Yapılan ölçümler sonucunda optimum iyonik şiddet 150 mM TRIS-HCl tamponunda belirlendi.

2.5.2. GST Enziminin Optimum pH Değerinin Belirlenmesi

TRIS-HCl tamponunun optimizasyonu sonucunda en yüksek aktivite gösteren konsantrasyonda pH optimizasyonu yapıldı. 150 mM TRIS-HCl tamponundan 6, 6.5, 7, 7.5 pH değerleri optimizasyon için hazırlandı ve aktivite ölçümlerine bakıldı. Yapılan ölçümler sonucunda optimum pH'ı 150 mM TRIS-HCl tamponunda pH: 6.0 olarak belirlendi.

2.5.3. GST Enziminin Optimum Substrat Miktarının Belirlenmesi

İskorpit balığı kas dokusundan belirlenen optimum tampona 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µl CDNB eklenerek aktivite tayini yapıldı. Yapılan ölçümler sonucunda kas dokusunun GST enziminin optimum substratı 150 mM TRIS-HCl (pH: 6.0) tamponu kullanılarak 2.5 mM olarak belirlendi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yaşamı oluşturan çok çeşitli biyokimyasal tepkimelerin neredeyse tümü, enzimler olarak bilinen bir dizi dikkate değer biyolojik katalizör aracılığıyla gerçekleşir. Bu yüzden enzimler enerji açısından uygun yolları katalize ederek metabolizmadaki tüm olayları sağlarlar (Gözükara, 1997).

Serbest radikal ve oksidanların üretiminin artması, hücre zarlarını, proteinleri, lipitleri, lipoproteinleri ve DNA gibi moleküllerin yapılarına zarar vererek oksidatif stresi meydana getirirler (Dröge, 2002; Willcox ve ark., 2004; Pacher ve ark., 2007; Genestra, 2007; Halliwell, 2007; Young ve Woodside, 2001). Hücrelerde oluşan faz-

la serbest radikaller yeterince yok edilemediğinde ortaya oksidatif stres çıkabilir. Özellikle proteinler ROS/RNS tarafından hasar görerak yapısal değışikliklere yol açar. Bunun sonucunda enzim üzerinde aktivite kaybına yol açtığı görülmüştür. Oksidatif hasar sonucunda vücut, DNA onarım enzimlerini veya antioksidanları kullanarak bu saldırılara karşı çeşitli savunma mekanizması geliştirmiştir (Willcox ve ark., 2004; Pacher ve ark., 2007; Genestra, 2007; Halliwell, 2007). Oksidatif strese karşı bu mekanizma uygun şekilde düzenlenmediği takdirde, çeşitli kronik ve dejeneratif hastalıkların yanı sıra yaşlanma sürecini ve bazı akut patolojilerini tetikleyebilmektedir (Pham ve ark., 2008).

Ülkemizde artmakta olan çevre kirliliği özellikle denizlerde ve akarsularda biriken kirlilikler deniz canlılarının hayatını tehlikeye atmaktadır. İnsanlar için besin kaynağı olan bu deniz canlıları üzerinde toksik etkiler bırakarak besinsel takviye yoluyla insanlara geçmektedir. Enzimlerin görevleri arasında en önemlisi vücudumuzdaki yaşamsal fonksiyonların sağlıklı ve sürdürülebilir hale getirilmesidir. Vücudumuzdaki bu direnci sağlayacak antioksidan enzimlerden en önemlilerden biri GST enzimidir. GST enzimi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır.

GST enzimi dimerik yapıda olan bir enzimdir. İndirgenmiş glutatyon (GSH) ile beraber ksenobiyotiklerin konjugasyonunu sağlamada beraber rol oynamaktadır. GSH yapısında bulunan tiyol grubu antioksidan görevini sağlamaktadır. Bu nedenle GST'ler oksidatif stres sonucu oluşan endojen bileşiklerin ve antitümör ilaçlar, çevresel karsinojenler gibi ksenobiyotiklerin faz II aşamasıyla transformasyonunu sağlayarak ksenobiyotikleri çözünür hale getirerek safra ve idrar vasıtasıyla vücuttan atılımını gerçekleştirir. Glutatyon S-transferaz enziminin canlı organizmalarda önemli bir yeri vardır (Boylard ve Chasseaud, 1969).

Bu çalışmada iskorpit balığı (*Scorpaena porcus*) kas dokusundan glutatyon S-transferaz (GST) enziminin kısmi saflaştırılması sağlanarak optimum karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Çalışma sırasında izlenen yol homojenat hazırlama, amonyum sülfat çöktürme, diyaliz ve optimum karakterizasyon çalışmalarıyla sağlanmıştır.

Yapılan çalışmada ilk olarak homojenat hazırlama işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen kas dokusu homojenatlarına %0-100 aralıklarında amonyum sülfat çöktürme işlemi yapıldı. Çöktürme işleminin sonucunda GST enziminin %40-60 aralığında çöktüğü belirlendi. Bu işlemde birçok safsızlıklar yok edilerek proteinler daha derişik hale getirildi. Yapılan çalışmalarla kıyasladığımızda Güven (2021) eşkina balığından GST enzimi için amonyum sülfat aralığı %70-80, Yılmaz (2022) tavuk karaciğerinden GST enzimi için amonyum sülfat aralığı %40-100, Yüksel (2022) koyun dalak dokusundan GST enzimi için amonyum sülfat aralığını %20-80, Ahmed (2017) Japon bildircin kalbinden GST enzimi için amonyum sülfat

aralığı %60-70, Taysı (2018) Japon bildircin ciğerinden GST enzimi için amonyum sülfat aralığı %20-80 aralıklarında bulunduğunu bildirmiştir.

Yapılan karakterizasyon çalışmalarında ise GST enziminin optimum iyonik şiddeti 150 mM tris (TRIS-HCl) tamponunda, optimum pH: 6.0 ve optimum substrat konsantrasyonu ise 2.5 mM CDNB olarak bulunmuştur. Literatürdeki diğer çalışmalarla kıyaslandığında Güven (2021) Eşkına balığında GST enziminin optimum iyonik şiddeti 20 mM tris tamponu, optimum pH: 7.0 ve optimum substrat miktarı 3.125 mM CDNB, Kızıltunç (2023) Brokoli'den GST enzimi için optimum iyonik şiddeti 1.25 M KH_2PO_4 tamponu, optimum pH: 7.5, Sayın (2022) kaz karaciğerinden GST enzimi için optimum iyonik şiddeti 100 mM KH_2PO_4 , optimum pH: 7.0, Yılmaz (2022) tavuk karaciğerinden GST enziminin optimum iyonik şiddeti 150 mM tris tamponu, optimum pH: 8.5, Duran (2019) Siraz balığı karaciğer dokusundan GST enzimi için optimum iyonik şiddeti 100 mM KH_2PO_4 optimum pH: 7.5 olarak bulmuşlardır.

4.SONUÇ

Bu çalışmada iskorbite balığı kas dokusundan GST enziminin kısmi saflaştırılması sağlanmış ve kinetik karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Birçok farklı eksojen ve endojen bileşiğin detoksifikasyonunu sağlamada göre alan GST multifonksiyonel enzimlerden biridir. Uzaklaştırılması istenen toksik maddelerin detoksifikasyon işlemi sırasında bu toksik maddeler enzimatik reaksiyon sonucu suda çözünür hale getirilerek safra ve idrar vasıtasıyla vücutta atılımı sağlanmaktadır. Çevresel kirleticiler özellikle ağır metaller sucul canlıların bünyesinde birikmekte ve besin yoluyla insan vücuduna geçmektedir. Bunun sonucunda canlı bünyesinde oksidatif stres açığa çıkararak hücresel fonksiyonlara zarar vermektedir. Antioksidan enzimlerden en önemlilerinden biri olan GST enzimi oksidatif hasara karşı savunma mekanizması oluşturarak detoksifikasyon işleminde en bilinen enzim haline gelmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada iskorbite balığı kas dokusundan GST enzimi, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işlemi ile kısmi olarak saflaştırılmıştır. Karakterizasyon çalışmasıyla optimum iyonik şiddet, optimum pH ve optimum substrat miktarları belirlenerek optimizasyonu sağlanmıştır.

Bu çalışma içerdiği yüksek protein miktarından dolayı önemli olan iskorbite balığı kas dokusu GST enzimi üzerinden yapılan ilk çalışmadır. Yapılan çalışmada sonuçların glutasyon S-transferazın kas dokusundaki işlevinin aydınlatılmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz. Çalışmamızın bundan sonra yapılacak GST enzimi ve iskorbite balığı kas dokusu ile ilgili çalışmalara örnek olabileceği düşüncesindeyiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik

Bu çalışma etik kurul onayı gerektirmez.

Yazar Katkı Oranları

Çalışmanın Tasarlanması (Design of Study): KI(30), ES(70)

Veri Toplanması (Data Acquisition): KI(30), ES(70)

Veri Analizi (Data Analysis): KI(30), ES(70)

Makalenin Yazımı (Writing Up): KI(30), ES(70)

Makalenin Gönderimi ve Revizyonu (Submission and Revision): KI(30), ES(70)

KAYNAKÇA

- Ahmed, B.M., 2017. Purification And Characterization Glutathione S-Transferase Enzyme From Japanese Quail (*Coturnix, Coturnix Japonica*) Heart. Master Thesis. Bingöl University Institute of Science, Bingöl.
- Aksoy Y., 2002. The role of glutathione in antioxidant mechanism. *Turk J Med Sci*, 2(4):442-448.
- Anderson, M.E., 1998. Glutasyon: biyosentez ve modülasyona genel bir bakış, Kimyasal-biyolojik etkileşimler, 111: 1-14.
- Ballatori, N., Krance, S. M., Notenboom, S., Shi, S., Tieu, K., Hammond, C. L., 2009. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases.
- Baş, M., Ersun, A. Ş., Kıvanç, G., 2006. The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. *Food control*, 17:4, 317-322.
- Başçınar, N.S., Sağlam, H., 2009. Feeding habits of black scorpionfish *Scorpaena porcus*, in the South-Eastern Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9, 10-99.
- Boyer, T. D., Kenney, W. C., 1985. "Preparation, characterization and properties of glutathione S-transferases, *Biochemical pharmacology and toxicology*, 1, 297-363.
- Boylard, E., Chasseaud, L. F., 1969. "The role of glutathione and glutathione S transferases in mercapturic acid biosynthesis", *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, Volume 32, 173-219.
- Dröge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*.
- Duran, G., 2019. *Siraz (Capoeta Umbra)*'In Karaciğer Dokusundan Glutasyon STransferaz Enziminin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Bazı Kimyasalların Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağrı.
- Erbay, M., 2013. Doğu Karadeniz'deki İskorpit (*Scorpaena porcus*, Linnaeus, 1758) Balığının Popülasyon Yapısı ve Üreme Biyolojisi Üzerine Araştırma. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Rize, 78s.
- Fischer, W., Bauchot, M. L., Schneider, M., 1986. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (Révision 1). Médi terrané et mer Noi re. Zone de pêche 37, vol. 2, FAO, Rome, 1529 p.
- Forman, H. J., Zhang, H., Rinna, A., 2009. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular aspects of medicine*, 30(1-2), 1-12.
- Genestra, M., 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular signalling*, 19(9), 1807-1819.
- Gözükara, M.E., 1997. *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 1225.
- Güven, N., 2020. *Eşkına balığından Glutasyon S-transferaz enziminin karakterizasyonu ve metal inhibisyonunun incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S- transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 246, 7130-7139.

- Halliwell, B., Gutteridge, J., 2007. Free radicals in biology and medicine. v. 4. New York: Oxford, 689.
- Hayes, J. D., Pulford, D. J., 1995. "The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the Isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part II., Critical reviews in biochemistry and molecular biology, 30(6), 521-600.
- Hureau, J.-C., Litvinenko, N.I., 1986. Scorpaenidae. In Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean. Vol. III. UNESCO, Paris pp. 1211-1229.
- Kızıltunç, H.E., 2023. Brokoli'den (*Brassica Oleracea L. var. Italica*) Glutatyon S-Transferazın Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Bazı Herbisit Türlerinin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Lu, S. C., 2009. Regulation of glutathione synthesis. Molecular aspects of medicine, 30(1-2), 42-59
- Mahé, K., Goascoz, N., Dufour, J. L., Iglesias, S. P., & Tetard, A., 2014. Black scorpionfish *Scorpaena porcus* (Scorpaenidae): a first record in the eastern English Channel. Marine Biodiversity Records, 7, e6. <https://doi.org/10.1017/S1755267214000037>
- Mannervik, B., Board, P. G., Hayes, J. D., Listowsky, I., & Pearson, W. R. (2005). Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. *Methods in enzymology*, 401, 1-8.
- Meister, A., & Anderson, M. E., 1983. Glutathione. Annual review of biochemistry, 52(1), 711-760.
- Meister, A., 1983. Selective modification of glutathione metabolism. Science, 220(4596), 472-477.
- Moden, O., & Mannervik, B. (2014). Glutathione transferases in the bioactivation of azathioprine. In Advances in cancer research (Vol. 122, pp. 199-244). Academic Press.
- Morgenstern, R., Lundqvist, G., Hancock, V., DePierre, J. W., 1988. "Studies on the activity and activation of rat liver microsomal glutathione transferase, in particular with a substrate analogue series", Journal of Biological Chemistry, 263(14), 6671- 6675.
- Mukherji SM, Singh SP, 1986. Organik kimyada reaksiyon mekanizması. Madras: Macmillan IndiaPress.
- Mullineaux, P.M., 1997. Glutathione reductase: regulation and role in oxidative stress, Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defence, 667-713.
- Nordberg J, Arner Ej., 2001. Reaktif oksijen türleri, antioksidanlar ve memeli Tioredoksin sistemi. Serbest Radikal Biol Med, 31(11):1287-312.
- Pacher, P., Beckman, J. S., Liaudet, L., 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiological reviews, 87(1), 315-424.
- Pallaoro, A., Jardas, I., 1991. Food and feeding habits of black scorpionfish (*Scorpaena porcus L. 1758*) (Pisces, Scorpaenidae) along the Adriatic coast. Acta Adriatica, 32(2), 885-898.
- Pallardó, F. V., Markovic, J., García, J. L., Viña, J., 2009. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. Molecular aspects of medicine, 30(1-2), 77-85.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. International journal of biomedical science: IJBS, 4(2), 89.
- Roşca I., Arteni, O.M., 2010. Feeding ecology of black scorpionfish (*Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758) from the Romanian Black Sea (Agigea - Eforie Nord area). ABAH Bioflux, 2(1): 39-46
- Sayın, Y., 2022. Glutatyon S -Transferaz Enziminin Kaz (*Anser Anser Domesticus*) Karaciğerinden Saflaştırılması, Karakterizasyonu, Bazı Kimyasalların ve Metallerin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ağrı
- Schafer, F. Q., Buettner, G. R., 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. Free radical biology and medicine, 30(11), 1191-1212.
- Taysı, M.Ş., 2018. Glutatyon S-Transferaz (Gst) Enziminin Japon Bildircin (*Coturnix Coturnix Japonica*) Karaciğerinden Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Willcox, J. K., Ash, S. L., Catignani, G. L., 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. Critical reviews in food science and nutrition, 44(4), 275-295.
- Yılmaz, H., 2022. Glutatyon S-Transferaz Enziminin Tavuk Karaciğerinden Saflaştırılması Karakterizasyonu ve Bazı Pestisitlerin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl
- Young, I., Woodside, J., 2001. Antioxidants in health and disease. Journal of clinical pathology, 54(3), 176-186.
- Yüksel, F., 2022. Glutatyon S-Transferaz Enziminin Koyun Dalak Dokusundan Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl.