

13. Ulusal Moleküler Biyoloji Ve Biyoteknoloji Kongresi

Bildiri Kitabı



E-ISBN: 978-625-94333-5-6



13. ULUSAL MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

01-03 Kasım 2024

**Program and Proceedings Book
Program ve Bildiriler Kitabı**



13. ULUSAL MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

Proceedings Book - Bildiler Kitabı

01-03 Kasım 2024

Editor: Dr. Mithat Direk

Selçuk Üniversitesi

E- ISBN: 978-625-94333-5-6

13. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, ulusal nitelikli bir bilimsel toplantı olup ilgili mevzuatlarda belirtilen akademik atanma ve yükseltmeler ile akademik teşvik şartlarını taşımaktadır. Kongre ile ilgili tüm bilimsel süreçler titizlikle uygulanmış sunulan bildiriler en az iki hakemin olumlu görüşü alındıktan sonra kabul edilmiş ve yayınlanmıştır.

Bu kitapta yer alan tüm yazıların dil, bilim, etik ve hukuk açısından bilimsel sorumluluğu yazarlarına aittir.

©2024 Tüm hakları saklıdır. Bu yayının hiçbir bölümü, yayıncının önceden yazılı izni olmadan elektronik, mekanik, fotokopi, kayıt ya da herhangi bir yöntemle çoğaltılamaz, bir bilgi sisteminde saklanamaz veya iletilemez. Yayının herhangi bir kısmını çoğaltmak için önceden yayıncıdan yazılı izin alınmalıdır.

Tasarım

Ant Akademi

www.antakademi.com.tr



İÇİNDEKİLER

PROGRAMME BOOK - PROGRAM KİTABI 1

KONGRE PROGRAMI - BOOK OF ABSTRACTS..... 3

BİLDİRİ ÖZETLERİ KİTABI..... 7

Sözlü Sunumlar

Yeni Nesil Dizileme Kullanılarak NLRC4 Gen Varyantlarının Dağılımının Değerlendirilmesi 9
Yüksel Gezgini, Berkay Kırmaz, Derin Kumcuoğlu, Afig Berdeli

**Telomeraz ile ilişkili bazı genlerdeki yüksek riskli zararlı SNP'lerin
biyoinformatik yöntemlerle belirlenmesi 11**
Gamze Karataban, Orçun Avşar

**QF-PCR Sonuçları ile Prenatal Trizomi Riskinin Tahmin Edilmesinde Demografik,
Klinik ve Genetik Verilerin Rolüne Makine Öğrenmesi Tabanlı Bir Yaklaşım 13**
Kübra Türegün, Alper Yılmaz

**Alzheimer hastalığında kreatin kinaz BB enzimine ait rolün moleküler kenetlenme
yöntemi kullanılarak *in silico* yöntemle belirlenmesi 15**
Muhsin Konuk, Pınar Tevetoğlu

**Saç kıran tedavisi için bitki kaynaklı yeni aday etken moleküllerin in-silico metotlar ile
belirlenmesi..... 17**
Burcu Parlak

***Galleria mellonella* L.'nın hemolenfinde mebendazolun oksidatif etkisi 18**
Şakin Ece, Ender Büyükgözel, Harika Topal Önal

**BCR-ABL Analizlerinde RNA Konsantrasyonunun Standardizasyonu:
Doğruluk ve Tekrarlanabilirlik Açısından Bir Değerlendirme 20**
Seda Salman Yılmaz

**Oğul otu (*Melissa officinalis*) adventif kök süspansiyon kültürüne uygulanan tiamin,
pridoksin ve nikotinik asitin biyomas, biyoaktif bileşik ve antioksidan aktiveye etkileri 22**
İlhami Karataş

***Leiurus abdullahbayrami* türü akrep venomu bileşenlerinin fosfolipaz
A2 enzim aktivitesinin araştırılması..... 24**
İrem Atal, Hakan Çalışkan, Figen Çalışkan

Memeli hücre kültüründe salgılanabilir Bovine Viral Diyare Virüsü E2 proteini üretimi için genetik bir sistemin tasarımı ve geliştirilmesi	26
Mehmet Kara	
<i>Hedera helix</i>'in Doğal Rejenerasyon Ürünü Olarak Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması.....	28
Ebrar Küçükünlü, Feyza Alşahin, Sıdıka Yaren Işıklanmak, Erdem Emir Sevinç, Çağdaş Özdemir, Arzu Erol Afatoğlu	
Human papillomavirus (HPV) varlığı ile kliniğe başvurma nedenleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi.....	30
Nehir Türkkan, Sude Bingöl, Hanife Güler Dönmez, Mehmet Sinan Beksaç	
Rekombinat KATFO Enziminin MCF-7 Hücre Hattında <i>in vitro</i> İncelenmesi	32
Tuğçe Karabulut, Elif Kale Bakır, Asuman Deveci Özkan, Yonca Yüzügüllü Karakuş	
Retina Nöronlarındaki Hücre-Hücre Etkileşimlerinde Pea3 Proteinlerinin Rolü	34
Sedef Işık, Işıl Kurnaz	
Kahve Demleme Yöntemlerinin Kahve Toplam RNA ve miRNA İçeriğine Etkisi	36
Metehan Yaman, Nuray Ahmadli, Fatih Atilla Bağcı, Dilek Pirim	
Küçük Molekül Kaynaklı İlaç Tepkisinde Trm11 Enziminin Rolünün Araştırılması.....	38
Mirim Dilara Özdemir, Mehmet Tardu	
Retinoblastoma ve Biyoinformatik.....	40
Musa Alp Öztürk, Akın Tekcan	
Ticari olarak satılan keçiyoynuzu (<i>Ceratonia siliqua</i>) unu ve matcha (yeşil çay tozu) tozunun antioksidan aktiviteleri.....	42
Zeynep Akçay Teker	
Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) deri ve kılçıklarından elde edilen jelatin ve unların aminoasit profil değerlendirmesi	44
Ayşe Demirbaş, Zeynep Akçay Teker	
Siyez ve Dağdaş Buğday Fidelerinde Tuz ve Su baskınının Büyümeye Etkisi	46
Berna Çalıcı, Nuray Ergün, Pelin Şengül Toraman	
NK-92 (Doğal Öldürücü) Hücrelerinden İzole Edilen Ekstrasellüler Veziküllerin Prostat Kanseri Hücrelerinin Proliferasyon ve Apoptoz Üzerindeki Etkisi.....	48
Mehtap Kızılpınar , M. Reza Dastouri	
Patates (<i>Solanum tuberosum</i> L.) bitkisinde yüksek ışığa verilen cevap ile ilişkili anahtar genlerin ve yolların belirlenmesi.....	50
Tuğba Gürkök Tan, Nuray Çiçek, Pınar Portakal	

Meme kanseri tedavisinde TLR hedefli <i>in vitro</i> Fotoimmüno-Terapi uygulaması	52
Elif Nur Uzunhasanoğlu, Hülya Yanık, Pelin Balçık-Erçin, Meltem Göksel, Yusufhan Yazır	
ZNTİ-O2 Metal Kompozit Malzemesinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti ve Muhtemel Kullanım Avantajlarının Belirlenmesi.....	54
Güldane Bengi, Ece Serbest, Çağdaş Özdemir, Arzu Erol Afatoğlu, Eslem Sarihan, Edanur Tokgöz	
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> GD2 Kaynaklı Liyofilize Paraprobiyotiğinin (PRB-LpGD2) Yara İyileşme Üzerinde Anti-oksidan ve Anti-inflamatuar Aktivitesinin Analizi.....	56
Betül Yıldırım, Mine Türктаş	
Manyetik Nanopartiküllerin Alzheimer Hastalığı'nda Epigenetik Regülasyonlar Üzerine Etkileri	58
Şennur Fuşa, Mine Türктаş	
Hastane Öncesi Tanısı Atlanan Kritik Hastalarda Kan Gazı Analizinin Prognostik Önemi	60
Türkan Güney, Mehmet Dokur, Suna Koç, Mehmet Karadağ	
Propolis ve arı ekmeğinin yağ asidi profilleri: Gıda raf ömrü üzerindeki etkileri.....	62
Zeynep Demirkan, Esra Balkis, Bülent Kaya, Fatma Caf	
In-silico Modelleme Teknikleri Kullanılarak Anti-CD20 Nanobody Dizayn	64
Özlem Gülaçtı, Alper Yılmaz	
CCDC43'ün hücre içi lokalizasyonunun ve moleküler partnerlerinin incelenmesi	66
Merve Tuzlakoglu Öztürk	
Kuraklık Stresindeki Buğday Fidelerinde Putresinin Fizyolojik Etkisi.....	68
Pelin Şengül Toraman , Nuray Ergün, Berna Çalıcı	
NK-92 (Doğal Öldürücü) Hücrelerinden İzole Edilen Ekstrasellüler Veziküllerin Prostat Kanseri Hücrelerinin Proliferasyon ve Apoptoz Üzerindeki Etkisi.....	69
Mehtap Kızılpınar, M. Reza Dastouri	
PROCEEDINGS BOOK - BİLDİRİLER KİTABI.....	73
Tam Metinler	
Rekombinant KATFO Enziminin MCF-7 Hücre Hattında <i>in vitro</i> İncelenmesi	75
Tuğçe Karabulut, Elif Kale Bakır, Asuman Deveci Özkan, Yonca Yüzügüllü Karakuş	
Çörek otu (<i>Nigella sativa</i>) ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ve sitotoksitesine farklı çözücü seçiminin etkisi.....	83
Esra Balkis, Zeynep Demirkan, Bülent Kaya	

<i>Hedera helix</i>'in Doğal Rejenerasyon Ürünü Olarak Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması.....	92
Ebrar Küçükünlü, Feyza Alşahin, Sıdika Yaren Işıklanmak, Erdem Emir Sevinç, Çağdaş Özdemir, Arzu Erol Afatoğlu	
Ticari olarak satılan keçiboynuzu (<i>Ceratonia siliqua</i>) unu ve matcha (yeşil çay tozu) tozunun antioksidan aktiviteleri.....	108
Zeynep Akçay Teker	
Gökkuşaağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) deri ve kılçıklarından elde edilen jelatin ve unların aminoasit profil değerlendirmesi	115
Ayşe Demirbaş, Zeynep Akçay Teker	
Siyez ve Dağdaş Buğday Fidelerinde Tuz ve Su baskınının Büyümeye Etkisi	121
Berna Çalııcı, Nuray Ergün, Pelin Şengül Toraman	
Propolis ve arı ekmeğinin yağ asidi profilleri: Gıda raf ömrü üzerindeki etkileri	130
Zeynep Demirkan, Esra Balkis, Bülent Kaya, Fatma Caf	

PROGRAMME BOOK
PROGRAM KİTABI

KONGRE PROGRAMI

01.11.2024	
1.Oturum	Oturum Başkanı: Dr. Öğr. Üyesi Sevinç AKÇAY Çağrılı Konuşmacılar
15:20-15:40	Dr. Öğr. Üyesi Mohammad Reza Dastauri, Ankara Medipol Üniversitesi, Rejeneratif Tıp ve Klinik Araştırmalarda Kullanılma Potansiyeline Sahip Pluripotent Kök Hücrelerin Üretilmesi
15:40-16:00	Doç. Dr. Emine Güven, Düzce Üniversitesi, Alzheimer Hastalığının Tanısında Abeta/ Tau Protein Oranı Kullanılarak Makine Öğrenmesi Yardımıyla Teşhisi
16:00-16:20	Prof. Dr. Yusuf Tutar, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Kanserin Moleküler Mekanizmaları ve İlaç Hedefleri
Oturum 2	Oturum Başkanı: Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN
16:20-16:30	<i>Galleria mellonella</i> L.'nin hemolenfinde mebendazolun oksidatif etkisi Şakin Ece, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Ender Büyükgüznel, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi
16:30- 16:40	<i>Leiurus abdullahbayrami</i> türü akrep venomu bileşenlerinin fosfolipaz A2 enzim aktivitesinin araştırılması İrem Atal, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hakan Çalışkan, Figen Çalışkan, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
16:40-16:50	Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) deri ve kılçıklarından elde edilen jelatin ve unların aminoasit profil değerlendirmesi Ayşe Demirbaş, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Zeynep Akçay Teker, Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi, Ar-Ge Birimi
16:50-17:00	Melike Ezmeci, Yağmur Yolcu, Arzu Erol Afatoğlu, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Çağdaş Özdemir, University of Basilicata
17:00-17:10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> GD2 Kaynaklı Liyofilize Paraprobiyotiğinin (PRB-Lp _{GD2}) Anti-oksidan ve Anti-inflamatuar Aktivitesinin Analizi Betül Yıldırım, Gazi Üniversitesi Mine Türктаş, Gazi Üniversitesi
17:10-17:20	CCDC43 hücrel lokalizasyonu ve moleküler partnerlerinin araştırılması Merve Tuzlakoglu Öztürk, Gebze Teknik Üniversitesi

02.11.2024	
Oturum 1	Oturum Başkanı: Doç. Dr. Tuğba GÜRKÖK TAN
09:00-09:10	Propolis ve arı ekmeğinin yağ asidi profilleri: Gıda raf ömrü üzerindeki etkileri Zeynep Demirkan, Bingöl Üniversitesi Esra Balkis, Bülent Kaya, Bingöl Üniversitesi
09:10-09:20	Ticari olarak satılan keçiboynuzu (<i>Ceratonia siliqua</i>) unu ve matcha (yeşil çay tozu) tozunun antioksidan aktiviteleri Zeynep Akçay Tekler, Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi, Ar-Ge Birimi
09:20- 9:30	Çörek otu ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ve sitotoksitesine çözücü seçiminin etkisi Esra Balkis, Bingöl Üniversitesi Zeynep Demirkan, Bülent Kaya, Bingöl Üniversitesi
09:30- 09:40	Oğul otu (<i>Melissa officinalis</i>) adventif kök süspansiyon kültürüne uygulanan tiamin, pridoksin ve nikotinik asitin biyomas, biyoaktif bileşik ve antioksidan aktiveye etkileri İlhami Karataş, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi
09:40-09:50	<i>Hedera helix</i> 'in Doğal Rejenerasyon Ürünü Olarak Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması Ebrar Küçükünlü, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Feyza Alşahin, Sıdika Yare Işıklanmak, Erdem Emir Sevinç, Arzu Erol Afatoğlu, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Çağdaş Özdemir, University of Basilicata
09:50-10:00	Kuraklık Stresindeki Buğday Fidelerinde Putresinin Fizyolojik Etkisi Şengül Toraman, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Nuray Ergün, Berna Çalıcı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
10:00-10:10	Siyez ve Dağdaş Buğday Fidelerinde Tuz ve Su Baskınının Büyümeye Etkisi Berna Çalıcı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Nuray Ergün, Pelin Şengül Toraman, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
10:10-10:20	Patates (<i>Solanum tuberosum</i> L.) bitkisinde yüksek ışığa verilen cevap ile ilişkili anahtar genlerin ve yolların belirlenmesi Tuğba Gürkök Tan, Çankırı Karatekin Üniversitesi Nuray Çiçek, Pınar Portakal, Çankırı Karatekin Üniversitesi
Oturum 2	Oturum Başkanı: Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN
10:20-10:30	Rekombinant KATFO Enziminin MCF-7 Hücre Hattında <i>in vitro</i> İncelenmesi Tuğçe Karabulut, Kocaeli Üniversitesi Elif Kale Bakır, Yonca Yüzügüllü Karakuş, Kocaeli Üniversitesi Asuman Deveci Özkan, Sakarya Üniversitesi

10:30-10:40	Meme kanseri tedavisinde TLR hedefli in vitro Fotoimmünö-Terapi Uygulaması Elif Nur Uzunhasanoğlu, Kocaeli Üniversitesi Hülya Yanık, Meltem Göksel, Yusufhan Yazır, Kocaeli Üniversitesi Pelin Balçık-Erçin, Dokuz Eylül Üniversitesi
10:40-10:50	Selen Sen, Gözde Çakırsoy Çakar, Fatih Sönmez, Zuhale Güneşli Şahin, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
10:50-11:00	Memeli hücre kültüründe salgılanabilir Bovine Viral Diyare Virüsü E2 proteini üretimi için genetik bir sistemin tasarımı ve geliştirilmesi Mehmet Kara, Bursa Uludağ Üniversitesi
11:00-11:10	Retina Nöronlarındaki Hücre-Hücre Etkileşimlerinde Pea3 Proteinlerinin Rolü Sedef Işık, Gebze Teknik Üniversitesi Işıl Kurnaz, Gebze Teknik Üniversitesi
11:10-11:20	Küçük Molekül Kaynaklı İlaç Tepkisinde Trm11 Enziminin Rolünün Araştırılması Mirim Dilara Özdemir, İstanbul Üniversitesi Mehmet Tardu, İstanbul Üniversitesi
11:20-11:30	NK-92 (Doğal Öldürücü) Hücrelerinden İzole Edilen Ekstrasellüler Veziküllerin Prostat Kanseri Hücrelerinin Proliferasyon ve Apoptoz Üzerindeki Etkisi Mehtap Kızılpınar, Ankara Üniversitesi Reza Dastouri, Medipol Üniversitesi
Oturum 3	Oturum Başkanı: Doç. Dr. Dilek PİRİM
13:00-13:10	Yeni Nesil Dizileme Kullanılarak NLRC4 Gen Varyantlarının Dağılımının Değerlendirilmesi Yüksel Gezgin, Ege Üniversitesi Berkay Kırnaz, Derin Kumcuoğlu, Afif Berdeli, Ege Üniversitesi
13:10-13:20	Telomerase ile İlişkili Bazı Genlerdeki Yüksek Riskli Zararlı SNP'lerin Biyoinformatik Yöntemlerle Belirlenmesi Gamze Karataban, Hitit Üniversitesi Orçun Avşar, Hitit Üniversitesi
13:20-13:30	Alzheimer Hastalığında Kreatin Kinaz BB Enzimine Ait Rolün Moleküler Kenetlenme Yöntemi Kullanılarak <i>in silico</i> Yöntemle Belirlenmesi Pınar Tevetoğlu, Üsküdar Üniversitesi Muhsin Konuk, Üsküdar Üniversitesi
13:30- 13:40	Saç kıran tedavisi için bitki kaynaklı yeni aday etken moleküllerin in-silico metodlar ile belirlenmesi Burcu Parlak, Üsküdar Üniversitesi
13:40-13:50	Kahve Demleme Yöntemlerinin Kahve Toplam RNA ve miRNA İçeriğine Etkisi Fatih Atilla Bağcı, Bursa Uludağ Üniversitesi Metehan Yaman, Nuray Ahmadli, Dilek Pirim, Uludağ Üniversitesi

13:50-14:00	In-silico Modelleme Teknikleri Kullanılarak Anti-CD20 Nanobody Dizayn Özlem Gülaçtı, Yıldız Teknik Üniversitesi Alper Yılmaz, Yıldız Teknik Üniversitesi
Oturum 4	Oturum Başkanı: Dr. Öğr. Üyesi Ahmet CEYLAN
14:00-14:10	Manyetik Nanopartiküllerin Alzheimer Hastalığı'nda Epigenetik Regülasyonlar Üzerine Etkileri Şennur Fuş, Gazi Üniversitesi Mine Türkteş, Gazi Üniversitesi
14:10-14:20	QF-PCR Sonuçları ile Prenatal Trizomi Riskinin Tahmin Edilmesinde Demografik, Klinik ve Genetik Verilerin Rolüne Makine Öğrenmesi Tabanlı Bir Yaklaşım Kübra Türegün, Yıldız Teknik Üniversitesi Alper Yılmaz, Yıldız Teknik Üniversitesi
14:20-14:30	Human papillomavirus (HPV) varlığı ile kliniğe başvurma nedenleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi Nehir Türkkkan, Hacettepe Üniversitesi Sude Bingöl, Hanife Güler Dönmez, Hacettepe Üniversitesi Mehmet Sinan Bektaş, İstinye Üniversitesi
14:30-14:40	BCR-ABL Analizlerinde RNA Konsantrasyonunun Standardizasyonu: Doğruluk ve Tekrarlanabilirlik Açısından Bir Değerlendirme Seda Salman Yılmaz, İstanbul Üniversitesi
14:40-14:50	Hastane Öncesi Tanısı Atlanan Kritik Hastalarda Kan Gazı Analizinin Prognostik Önemi Türkan Güney, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Mehmet Dokur, Suna Koç, Biruni Üniversitesi Mehmet Karadağ, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
14:50-15:00	Retinoblastoma ve Biyoinformatik Musa Alp Öztürk, Amasya Üniversitesi Akın Tekcan, Amasya Üniversitesi
15:00-15:10	ZNTİ-O2 Metal Kompozit Malzemesinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti ve Muhtemel Kullanım Avantajlarının Belirlenmesi Güldane Bengi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Ece Serbest, Arzu Erol Afatoğlu, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Çağdaş Özdemir, University of Basilicata

BOOK OF ABSTRACTS
BİLDİRİ ÖZETLERİ KİTABI
Sözlü Sunumlar

Yeni Nesil Dizileme Kullanılarak NLRC4 Gen Varyantlarının Dağılımının Değerlendirilmesi

Yüksel Gezgin^{1,2}, Berkay Kırnaz¹, Derin Kumcuoğlu¹, Afif Berdeli^{1,2,3}

¹Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Moleküler Tıp Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Romatoloji Bölümü İzmir, Türkiye

Özet

Otoinflamatuvar hastalıklar, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin disregülasyonu ile karakterize edilen kalıtsal bozuklukların heterojen bir grubudur. İnflamazom proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyon, otoinflamatuvar hastalıkların en büyük alt grubunu temsil etmektedir. Bu çalışmada, Yeni Nesil Dizileme kullanılarak NLR ailesi CARD alanı içeren protein 4 (NLRC4) gen varyantlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ege Üniversitesi Moleküler Tıp Laboratuvarında Yeni Nesil Dizileme yöntemi kullanılarak 2017-2021 yılları arasında oto-inflamatuvar hastalık şüphesi ile gelen 3230 hastanın 76 (%2,35)'sinin da NLRC4 gen varyantı saptanmıştır.

Bu çalışmada 9 tanesi novel varyant olmak üzere toplam 24 farklı NLRC4 gen varyantı tespit edilmiştir. Tespit edilen 24 NLRC4 gen varyantlarından, 21'i yanlış anlamalı (missense) varyant, 1'i anlamsız (nonsense) varyant ve 2'si çerçeve kayması (frameshift) mutasyon'dur. Çalışmamızda en sık rastlanan DNA varyantı p.Ala160Thr (n:19) olup ACMG sınıflandırılmasına göre 8'si iyi huylu varyant (benign), 1'si muhtemel iyi huylu varyant (likely benign), 3'si muhtemel patojenik (Likely Pathogenic) varyant, 12'si Klinik Önemi Bilinmeyen Varyant (VUS; Uncertain Significance) saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada saptanmış olan NLRC4 geni DNA varyantlarının hastalık fenotipi hakkında önemli bilgi sağladığı ve NLRC4 geni DNA varyantlarının dağılımlarının belirlenmesiyle bu varyantların sebep olduğu farklı fenotiplerin ileriye yönelik tedavi sürecine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nadir Otoinflamatuvar Hastalık, NLRC4 geni, İnflamazomlar, AIFEC, NLRC4-MAS, FCAS4, NOMID

Evaluation of the Distribution of the NLRC4 Gene Variants Using Next Generation Sequencing

Abstract

Autoinflammatory diseases are a heterogeneous group of hereditary disorders characterized by dysregulation of the innate immune system. Mutations in genes encoding inflammasome proteins represent the largest subgroup of autoinflammatory diseases. In this study, it is aimed to determine NLR family CARD domain-containing protein 4 (NLRC4) gene variants using Next Generation Sequencing.

NLRC4 gene variant was detected in 76 (2.35%) of 3230 patients who were suspected of auto-inflammatory disease between 2017-2021 using the Next Generation Sequencing method in Ege University Molecular Medicine Laboratory.

A total of 24 different NLRC4 gene variants, 9 of which were novel variants, were identified in this study. Of the 24 detected NLRC4 gene DNA variants, 21 are missense variants, 1 is nonsense variants, and 2 are frameshift mutations. The most common DNA variant in our study was p.A160Thr (n:19) and 8 benign, 1 likely benign, 3 likely pathogenic, and 12 variant of uncertain significance (VUS) were determined according to ACMG classification.

In conclusions, it is thought that the NLRC4 gene DNA variants identified in this study provide important information about the disease phenotype and by determining the distribution of NLRC4 gene DNA variants, it is thought that different phenotypes caused by these variants will contribute to the future treatment process.

Keywords: Rare Autoinflammatory Disease. NLRC4 gene, Inflammasomes, AIFEC, NLRC4-MAS, FCAS4, NOMID

Telomeraz ile ilişkili bazı genlerdeki yüksek riskli zararlı SNP'lerin biyoinformatik yöntemlerle belirlenmesi

Gamze Karataban¹, Orçun Aşar¹

*¹ Hitit Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik ABD,
Çorum, Türkiye*

gamzesimsek901@gmail.com

Orcid No.:0000-0002-2340-4185

Özet

Telomer sentezinden 'telomeraz' enzimi sorumludur. Telomeraz, çoğu ökaryotta doğrusal kromozom bakımı için gereken temel ters transkriptazdır. Telomeraz iki temel bileşenden oluşur: işlevsel RNA bileşeni (hTR), telomerik DNA sentezi için bir şablon görevi görür, diğeri ters transkriptaz aktivitesine sahip bir katalitik protein olan hTERT'tir. Telomeraz ile ilişkili 3 gen seçilmiştir; TERT, DKC1, hSTAU1. SNP'leri (Tek Nükleotid Polimorfizmi) sessiz veya protein fonksiyonunu etkileyen tiplerde olabilir. Yanlış anlamlı SNP'ler insanlarda proteinlerin fonksiyonel değişikliklerine neden olan amino asit ikamelerine yol açtıkları için dikkat çekicidir. Zararlı SNP'leri almak için NCBI dbSNP veritabanı; bu veri tabanından elde edilen telomeraz ilişkili genlerdeki nsSNP'lerin fonksiyonel etkilerini tahmin etmek için SIFT, Meta-SNP, InterPro, PolyPhen-2, SNPs&GO ve PhD-SNP, Mutpred2, ConSurf, NETSURF, HOPE isimli çevrimiçi araçlar kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Telomeraz, SNP, TERT, DKC1, hSATU1

Identification of high-risk harmful SNPs in telomerase-related some genes by bioinformatics methods

Abstract

The enzyme ‘telomerase’ is responsible for telomere synthesis. Telomerase is the essential reverse transcriptase required for linear chromosome maintenance in most eukaryotes. Telomerase consists of two essential components: the functional RNA component (hTR), which serves as a template for telomeric DNA synthesis, and hTERT, a catalytic protein with reverse transcriptase activity. Three genes associated with telomerase have been selected; TERT, DKC1, hSTAU1. SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) can be silent or affect protein function. Missense SNPs are notable because they lead to amino acid substitutions that cause functional alterations of proteins in humans. The NCBI dbSNP database was used to retrieve deleterious SNPs; online tools SIFT, Meta-SNP, InterPro, PolyPhen-2, PolyPhen-2, SNPs&GO and PhD-SNP, Mutpred2, ConSurf, NETSURF, HOPE were used to predict the functional effects of nsSNPs in telomerase-related genes obtained from this database.

Key Words: Telomerase, SNP, TERT, DKC1, hSTAU1

QF-PCR Sonuçları ile Prenatal Trizomi Riskinin Tahmin Edilmesinde Demografik, Klinik ve Genetik Verilerin Rolüne Makine Öğrenmesi Tabanlı Bir Yaklaşım

Kübra Türegün^{1*}, Alper Yılmaz²

¹*Yıldız Teknik. Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, İstanbul Türkiye*

²*Yıldız Teknik. Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul Türkiye*

^{1*}*E-mail: kubraturegun.mg@gmail.com*

^{1*}*Orcid No: 0000-0001-5372-4211*

²*E-mail: alperyilmaz@gmail.com*

²*Orcid No: 0000-0002-8827-4887*

Özet

Prenatal trizomi (13, 18 ve 21) gibi kromozomal anomalilerin erken teşhisi, gebelik yönetimi ve fetal sağlık açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, ultrason bulguları, tarama testleri ve QF-PCR (Kantitatif Floresan Polimeraz Zincir Reaksiyonu) sonuçları gibi demografik, klinik ve genetik veriler, yapay zeka ve makine öğrenmesi algoritmaları ile entegre edilerek trizomi riskinin erken ve doğru tahmin edilmesi amaçlanmıştır. Veriler, 354 hastadan toplanmış ve Logistic Regression, Random Forest, Decision Tree ve K-Nearest Neighbors (KNN) algoritmaları kullanılarak analiz edilmiştir.

Modellerin performansı AUC (Eğri Altındaki Alan), F1 skoru ve doğruluk gibi metriklerle değerlendirilmiştir. Random Forest algoritması, en yüksek performansı göstererek (AUC: 0.99, F1: 0.95) trizomi riskini doğru tahmin etmede diğer algoritmaları geride bırakmıştır. Logistic Regression da iyi bir doğruluk oranı sunarken (AUC: 0.92), KNN algoritması daha düşük performans sergilemiştir (AUC: 0.51).

Sonuçlar, yapay zeka tabanlı yaklaşımların trizomi riskinin erken teşhisi ve gebelik yönetiminde önemli bir araç olduğunu göstermektedir. Random Forest algoritmasının yüksek doğruluğu, klinik karar süreçlerinde potansiyel olarak güvenilir bir araç olarak kullanılabilirliğini ve erken müdahalelere olanak sağlayabileceğini ortaya koymaktadır. Bu modellerin kullanılması, yalnızca erken müdahaleleri kolaylaştırmakla kalmayıp, aynı zamanda gereksiz müdahalelerin önüne geçerek anne ve fetus sağlığını optimize etme potansiyeli taşımaktadır. Bu modellerin geliştirilmesi, prenatal tanıda daha kesin ve güvenilir sonuçlar elde edilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Makine Öğrenmesi, Random Forest, QF-PCR, Prenatal Trizomi

Teşekkür: Araştırmanın verilerinin toplanmasına destek veren Uz. Dr. Aydeniz Aydın Gümüş'e teşekkür ederiz. Bu çalışmada makine öğrenmesi süreci, İstanbul Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Genetik Hastalıkları Değerlendirme Merkezi verileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

A Machine Learning-Based Approach to Predicting Prenatal Trisomy Risk Using QF-PCR Results and the Role of Demographic, Clinical, and Genetic Data

Abstract

The early detection of chromosomal anomalies such as trisomy (13, 18, and 21) is of great importance for pregnancy management and fetal health. In this study, demographic, clinical, and genetic data, including ultrasonography findings, screening test results, and QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) results, were integrated with artificial intelligence and machine learning algorithms to predict trisomy risk early and accurately. Data were collected from 354 patients and analyzed using Logistic Regression, Random Forest, Decision Tree, and K-Nearest Neighbors (KNN) algorithms.

The performance of the models was evaluated using metrics such as AUC (Area Under the Curve), F1 score, and accuracy. The Random Forest algorithm demonstrated the highest performance (AUC: 0.99, F1: 0.95), outperforming other algorithms in accurately predicting trisomy risk. While Logistic Regression also offered a good accuracy rate (AUC: 0.92), the KNN algorithm showed lower performance (AUC: 0.51).

The results indicate that AI-based approaches are important tools in the early diagnosis of trisomy risk and pregnancy management. The high accuracy of the Random Forest algorithm suggests it could potentially be used as a reliable tool in clinical decision-making and enable early interventions. The use of these models not only facilitates early interventions but also has the potential to prevent unnecessary procedures, thereby optimizing maternal and fetal health. The development of these models can contribute to more precise and reliable outcomes in prenatal diagnosis.

Keywords: Machine Learning, Random Forest, QF-PCR, Prenatal Trisomy

Acknowledgements: We would like to thank Specialist Dr. Aydeniz Aydın Gümüş for supporting the data collection of the research. The machine learning process in this study was conducted using data from Istanbul Başakşehir Çam and Sakura City Hospital Genetic Diseases Evaluation Center.

Alzheimer hastalığında kreatin kinaz BB enzimine ait rolün moleküler kenetlenme yöntemi kullanılarak *in silico* yöntemle belirlenmesi

Muhsin Konuk,¹ Pınar Tevetoglu²

¹ Üsküdar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Yüksek Lisans Programı
Anabilim Dalı Başkanı, İstanbul, Türkiye.

² Üsküdar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Yüksek Lisans Programı,
İstanbul, Türkiye.

E-mail: pinar.tevetoglu96@gmail.com

ORCID: 0009-0004-4901-6262

ÖZET

Alzheimer hastalığı günümüzde yaşlı bireylerde sıkça görülen nörodejeneratif bir hastalıktır. AD, demansın başlıca nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Temel yaşamsal aktivitelerini gerçekleştirmede sorun yaratan, hafıza, kişilik ve davranış dahil olmak üzere birçok beyin bölgesini etkileyerek bireylerin yaşam kalitesini düşürmekle kalmayıp sonucu ölüme gidebilen bir hastalıktır. AD hastalığı için kullanılan mevcut tedavi yöntemleri hastalığın temel sorununu ortadan kaldırmak yerine daha çok hastalığın engellenmesi ya da semptomlarının etkisinin azaltılması yönündedir. Beyin tipi kreatin kinaz (CK-BB) ve Alzheimer hastalığının arasındaki ilişkiden birçok kaynakta bahsedilmiştir. Bu tez çalışmasında beyin tipi kreatin kinazın (CK-BB) Alzheimer hastalığı üzerindeki etkisi araştırılıp bu konu ile alakalı *in silico* bir çalışma yapılmıştır. CK-BB'nin kristal yapısına protein data bank (pdb) veri tabanından ulaşılmıştır. Alzheimer hastalığına etki eden bitkilerin, 3200 etken molekülüne Dr. Duke veri tabanı üzerinden erişim sağlanmıştır. Lipinski kurallarına uyan ve kan beyin bariyerini (BBB) geçen moleküller seçilerek çalışmaya 720 molekül ile devam edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 720 molekülün önce SPARTAN yazılımı ile konformer taramaları yapılarak, aynı programda geometri optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Kantitatif yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) parametre değerleri Spartan programı üzerinden hesaplanmıştır. Moleküllerin kenetlenme çalışmaları AutodockVina yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Görüntüleme işlemleri ve etkileşim haritaları için BIOVIA Discovery Studio yazılımı kullanılmıştır. Lineer regresyon (LR) analizi ile en iyi korelasyon gösteren moleküller belirlenmiştir. Sonuç olarak seçilen aday bitki etken molekülleri ile referans gösterilen ilaçlar karşılaştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, CK-BB, Moleküler Kenetlenme, QSAR

Determination of the role of creatine kinase BB enzyme on Alzheimer's disease by using *in silico* molecular docking method.

Abstract

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease frequently seen in elderly people today. Alzheimer's disease is considered a major cause of dementia. It is a disease that causes problems with basic activities of daily living, affects many areas of the brain, including memory, personality and behavior, and not only reduces the quality of life of those affected, but can also lead to death. Current treatments for Alzheimer's disease focus on preventing the disease or reducing the impact of its symptoms, rather than addressing the underlying problem of the disease. The relationship between brain-type creatine kinase (CK-BB) and Alzheimer's disease has been mentioned in many sources. In this thesis, the effect of brain-type creatine kinase (CK-BB) on Alzheimer's disease was investigated and an *in silico* study was carried out. The crystal structure of CK-BB was obtained from the protein data bank (pdb) database. Access to 3200 active molecules of plants that affect Alzheimer's disease has been provided through the Dr Duke database. The study was continued with 720 molecules by selecting molecules that met the Lipinski rules and crossed the blood-brain barrier (BBB). Conformer scans of 720 molecules included in the study were the first performed with SPARTAN software and geometry optimization was also performed in the same program. The Quantitative structure-activity relationship (QSAR) parameter values were calculated using Spartan program. Molecular docking studies were performed using AutodockVina software. BIOVIA Discovery Studio software was used for the imaging and interaction maps. The best correlated molecules were identified by Linear regression (LR) analysis. The selected candidate Phyto-active molecules were then compared with the reference drugs.

Keywords: Alzheimer's disease, CK-BB, Molecular Docking, QSAR

Saç kıran tedavisi için bitki kaynaklı yeni aday etken moleküllerin in-siliko metotlar ile belirlenmesi

Burcu Parlak

Üsküdar Üniversitesi
bprlk90@gmail.com

Özet

Alopesi Areata, saç foliküllerini etkileyen kronik inflamatuvar bir hastalık olup genetik ve çevresel faktörlerin katkısıyla otoimmün bir patoloji olarak tanımlandı. Alopesi Areata, genellikle kafa derisi ve vücut kıllarında ani, iz bırakmayan saç dökülmesi şeklinde ortaya çıkar ve bazı vakalarda Alopesi totalis veya Alopesi universalis olarak tanımlandı. Hastalığın kesin nedeni bilinmemekle birlikte, stres, genetik yatkınlık ve otoimmünite gibi faktörlerle ilişkisi araştırılmaktadır. Ayrıca, Alopesi Areata'nın psikolojik bozukluklarla güçlü bir bağlantısı olduğu ve hastaların depresyon, kaygı ve düşük özgüven gibi psiko-sosyal problemler yaşayabildiği belirtildi.

Bu tez çalışmasında; bitki moleküllerinin YKL40 proteini ile gerçekleştirdiği kenetlenme sonucunda elde edilen verilerin, referans ilaç olan minoksidil ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada; ardıç katranı, sedir katranı, karanfil ve çam terebentin bitkilerinden elde edilen 870 molekül analiz edilerek, SwissADME programı ile test edilmiş ve sayısı 69'a indirildi. Bu moleküllerin bağlanma afiniteleri ve kimyasal parametreleri hesaplanmış, yapılan regresyon analizi sonucunda 31 molekül seçildi. Seçilen 31 molekülden 17'sinin referans ilaç olan minoksidilden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuş ve bu sonuç tez hipotezini destekledi.

Çalışmanın sonuçları, moleküllerin YKL-40 proteininin aktif bölgesine uygun şekilde bağlandığını ve seçilen alanın doğru tayin edildiğini gösterdi. Aminoasitler ile yapılan etkileşim analizlerinde, Triptofan ve Asparajin gibi aminoasitlerle sıkça bağ kurulduğu, referans ilaç minoksidilin ise Prolin284 ile zayıf bir etkileşimde olduğu ve Aspartik asit ile en iyi etkileşimde olduğu tespit edildi. Çalışılan moleküllerin tamamının lipofilisite değerlerinin pozitif olması, proteinin aktif bölge karakteristiği ile uyumlu olduğunu desteklendi. Bu veriler ışığında, belirli moleküller saç kıran tedavisi için aday olarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Alopesi Areata, YKL40, Moleküler Kenetlenme.

***Galleria mellonella* L.’nın hemolenfinde mebendazolun oksidatif etkisi**

Şakin Ece^{1*}, Ender Büyükgüzel²

^{*1}Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik,
Zonguldak, Türkiye

^{*2}Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik,
Zonguldak, Türkiye

E-mail: sakinece0@gmail.com, Orcid No: 0000-0002-3855-7723

Özet

Son yıllarda bazı antimikrobiyal etkiye sahip maddelerin zararlı böceklerin mücadelesinde alternatif kimyasallar olarak önerildiği görülmektedir. Çalışmamızda arı kovanlarında meydana getirdiği büyük tahribat nedeniyle önemli bir tarım zararlısı olan *Galleria mellonella* hemolenfinde antihelmintik madde mebendazol’un oksidatif etkisinin incelenmesi amaçlandı. *G. mellonella* larvaları 100g besinde 0.005, 0.05, 0.5, 1g mebendazol içeren besi yerlerinde 7. evreye kadar beslendi. Böceğin 7. evrelerinden hemolenf toplanarak oksidatif stres belirteçlerinden olan lipit peroksidasyonu son ürünü malondialdehit (MDA) ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarları ile sitokrom P450 aktivitesi ölçüldü. MDA miktarı kontrol grubunda $0,2320 \pm 0,0409$ nmol/mg protein protein iken son konsantrasyonda $0,2946 \pm 0,0345$ nmol/mg protein olarak tespit edildi. Sitokrom P450 aktivitesinde ise kontrol grubunda $73,524 \pm 5,7606$ U/mg protein/min protein iken en yüksek mebendazol miktarında $88,794 \pm 12,368$ U/mg protein/min protein olarak ölçüldü ve sayısal değer olarak artışın gözlenmesine karşın bu yükselmenin istatistiki olarak anlamlı olmadığı bulundu. Kontrol grubunda $147,095 \pm 20,7461$ nmol/mg protein olarak tespit edilen PCO miktarı en yüksek konsantrasyonda $203,659 \pm 10,21$ nmol/mg protein’e yükselmiş olup, istatistiki olarak da önemli bir artış gözlemlendi. Mebendazolün diğer konsantrasyonlarında da PCO miktarında anlamlı yükselmenin olduğu gözlemlendi. Elde edilen sonuçlardan mebendazolun *G. mellonella*’nın hemolenf dokusunda proteinler üzerine oksidatif bir etki gösterdiği ancak detoksifikasyondan sorumlu enzim üzerinde anlamlı bir değişiklik yapmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelime: *Galleria mellonella*; mebendazol; sitokrom P450; oksidatif stres; hemolenf

Oxidative effect of mebendazole on *Galleria mellonella* L. hemolymph

Abstract

In recent years, it has been observed that some antimicrobial substances have been suggested as alternative chemicals in the control of pest insects. In our study, we aimed to investigate the oxidative effect of the anthelmintic substance mebendazole on the hemolymph of *Galleria mellonella*, which is an important agricultural pest due to the great destruction it causes in beehives. *G. mellonella* larvae were fed in diet containing 0.005, 0.05, 0.5, 1 g mebendazole in 100 g of diet until the 7th stage. Hemolymph was collected from the 7th stages of the insect and the amounts of malondialdehyde (MDA), the end product of lipid peroxidation, protein carbonyl (PCO), the product of protein oxidation, and cytochrome P450 activity were measured, which are indicators of oxidative stress. The amount of MDA was determined as 0.2320 ± 0.0409 nmol/mg protein in the control group and 0.2946 ± 0.0345 nmol/mg protein at the final concentration. Cytochrome P450 activity was measured as 73.524 ± 5.7606 U/mg protein/min protein in the control group and 88.794 ± 12.368 U/mg protein/min protein at the highest mebendazole amount and although an increase was observed in numerical value, this increase was not found to be statistically significant. The amount of PCO which was determined as 147.095 ± 20.7461 nmol/mg protein in the control group increased to 203.659 ± 10.21 nmol/mg protein at the highest concentration and a statistically significant increase was also observed. A significant increase in the amount of PCO was also observed at other concentrations of mebendazole. From the results obtained, it was determined that mebendazole had an oxidative effect on proteins in the hemolymph tissue of *G. mellonella*, but did not cause a significant change on the enzyme responsible for detoxification.

Key Words: *Galleria mellonella*; mebendazole; cytochrome P450; oxidative stress; hemolymph

BCR-ABL Analizlerinde RNA Konsantrasyonunun Standardizasyonu: Doğruluk ve Tekrarlanabilirlik Açısından Bir Değerlendirme

Seda Salman Yılmaz¹

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
seda.salmanyilmaz@iuc.edu.tr*

Özet

Kronik Myeloid Lösemi (KML) gibi hematolojik malignitelerin tedavisinde BCR-ABL kopya sayısının kantitatif belirlenmesi tanı ve tedavi yanıtını değerlendirmedeki en önemli kriterlerden biridir. Bu testte standardizasyon; testlerin daha tutarlı, kıyaslanabilir ve güvenilir olmasını sağlarken, yanlış pozitif veya negatif sonuçların azalmasına katkı sağlamaktadır.

Bu çalışmada, BCR-ABL füzyon transkript ölçümlerinin standardizasyonu için örnekler arası RNA konsantrasyon değişkenliğinin, testin doğruluğu, hassasiyeti ve tekrarlanabilirliği açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, farklı BCR-ABL füzyon transkript düzeylerine sahip 20 örnekte eş zamanlı kantitatif PCR yöntemi (Real-Time PCR: RT-PCR) ile başlangıç RNA miktarının sonuçlara etkisi araştırılmıştır. RNA miktarına bakılmaksızın 5 µL örnek ve 1000 ng RNA kullanılarak tek reaksiyonlu RT-PCR'ları (cDNA sentezi + amplifikasyon) gerçekleştirilmiştir. BCR-ABL miktarlarını belirlemek için standart eğri oluşturulmuş ve BCR-ABL için 6 farklı standart (10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10^1) ve ABL için 4 farklı standart (10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3) kullanılarak mutlak kantitatif analiz yapılmıştır. BCR-ABL uluslararası skala standartlarına göre, en az 10.000 ABL kopya sayısına ulaşılması gerekliliğinden, 10.000 ABL kopya sayısı altında kalan veya hiç çalışmayan örnekler değerlendirilmeye alınmamıştır.

Aynı RT-PCR koşullarında iki farklı RNA miktarı karşılaştırıldığında, 1000 ng RNA ile başlanan RT-PCR sonuçlarında örneklerin %98'inde BCR-ABL kantitasyonu sağlanmıştır. 5 µL RNA ile yapılan RT-PCR çalışmasında değerlendirilemeyen örneklerin çoğunlukla ABL kopya değerlerinin düşük olduğu ya da reaksiyonun hiç çalışmadığı görülmüştür. Bu örnekler, 1000 ng RNA miktarı ile tekrarlandığında %80'inde sonuç alınmıştır.

BCR-ABL füzyon transkript ölçümlerinin RT-PCR yönteminde standart RNA miktarı ile başlanması değişkenliği azaltırken, yüksek RNA konsantrasyonunun cDNA sentezini ve RT-PCR reaksiyonunu inhibe ederek olumsuz yönde etkilemiştir. RNA konsantrasyonunun standardizasyonunu sonuçların doğruluk ve tekrarlanabilirliğini artırırken, potansiyel inhibitör etkilerini minimize etmek açısından önemli olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: BCR-ABL, RNA konsantrasyonu, Real-Time PCR, standardizasyon

Standardization of RNA Concentration in BCR-ABL Analyses: An Evaluation of Accuracy and Repeatability

Abstract

The quantitative determination of BCR-ABL copy numbers is one of the most critical criteria for diagnosing and assessing treatment response in hematological malignancies such as Chronic Myeloid Leukemia (CML). In this test, standardization contributes to making the tests more consistent, comparable, and reliable while reducing the occurrence of false positive or negative results.

This study aims to evaluate the variability of RNA concentrations between samples for the standardization of BCR-ABL fusion transcript measurements concerning the accuracy, sensitivity, and repeatability of the tests.

In our study, the effect of initial RNA quantity on results was investigated using a simultaneous quantitative PCR method (Real-Time PCR: RT-PCR) in 20 samples with varying BCR-ABL fusion transcript levels. Single-reaction RT-PCRs (cDNA synthesis + amplification) were performed using 5 µL of sample and 1000 ng of RNA, regardless of the RNA quantity. A standard curve was generated to determine BCR-ABL quantities, utilizing 6 different standards for BCR-ABL (10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10^1) and 4 different standards for ABL (10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3) for absolute quantitative analysis. According to the international scale standards for BCR-ABL, a minimum of 10,000 ABL copies must be reached; therefore, samples with fewer than 10,000 ABL copies or those that did not yield results were excluded from evaluation.

When comparing two different RNA amounts under the same RT-PCR conditions, 98% of the samples yielded BCR-ABL quantitation when starting with 1000 ng of RNA. In RT-PCR experiments using 5 µL of RNA, it was observed that the majority of unassessable samples had low ABL copy values or did not work at all. When these samples were repeated with an RNA amount of 1000 ng, results were obtained in 80% of cases.

Starting with a standardized RNA amount in BCR-ABL fusion transcript measurements using the RT-PCR method reduced variability, while high RNA concentrations negatively affected cDNA synthesis and RT-PCR reactions by inhibiting them. The standardization of RNA concentration was found to be crucial for enhancing the accuracy and repeatability of results while minimizing potential inhibitory effects.

Keywords: BCR-ABL, RNA concentration, Real-Time PCR, standardization

Oğul otu (*Melissa officinalis*) adventif kök süspansiyon kültürüne uygulanan tiamin, pridoksin ve nikotinik asitin biyomas, biyoaktif bileşik ve antioksidan aktiveye etkileri

İlhami Karataş^{1*}

¹Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Almus Meslek Yüksekokulu, Ormancılık Bölümü,
Tokat, Türkiye

*E-mail: ilhami.karatas@gop.edu.tr

*Orcid No:0000-0002-7965-7878

Özet

Bitki adventif kök kültürleri tıp ve eczacılık başta olmak üzere çok çeşitli sektörlerde kullanılan biyoaktif bileşiklerinin üretimi için alternatif biyoteknolojik yöntemlerdir. Bu metotla verimli bir üretimin sağlanmasında besin ortam bileşenlerinin optimizasyonu büyük önem taşımaktadır. Adventif kök kültüründe kullanılan temel besin ortamı öğelerinden vitaminlerin biyomas, biyoaktif bileşik ve antioksidan aktiveye etkileri üzerine çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu çalışmada, oğul otu (*Melissa officinalis*) adventif kök süspansiyon kültürüne uygulanan tiamin, pridoksin ve nikotinik asitin kök ağırlığı, rosmarinik asit, fenolik bileşik, flavonoid ve antioksidan aktiviteye etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Köklerin antioksidan aktiviteleri serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH[•]), katyon radikali giderme aktivitesi (ABTS^{•+}) ve indirgeme gücü aktivitesi (FRAP) metotlarıyla analiz edilmiştir. Adventif kök indüksiyonu hipokotil eksplantarının 2 mg/L IBA, 30 g/L sukroz ve 2 g/L phytagel içeren temel MS besi ortamında (Murashige ve Skoog) kültüre alınmasıyla sağlanmıştır. Elde edilen adventif kökler aynı besin içerikli 40 mL sıvı besi ortamı içeren erlenmeyerlerde çalkayıcı üzerinde inkübe edilmiştir. Kültürün 30 gününde besin ortamına tiamin, pridoksin ve nikotinik asit (50 mg/L) ilave edilerek 37. günde hasat edilmiştir. Tiamin adventif kök ağırlığını kontrol grubuna göre yaklaşık 1.5 kat artırırken pridoksin ve nikotinik asit kontrole göre önemli oranda azaltmıştır. Uygulanan tüm vitaminler toplam fenolik bileşik içeriğini önemli ölçüde artırmıştır. En yüksek toplam fenolik içeriği pridoksin uygulanan adventif köklerde 16,13 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde en yüksek rosmarinik asit içeriği ve DPPH[•], ABTS^{•+} ve FRAP aktivitesi pridoksin uygulanan adventif köklerde belirlenmiştir. Oğul otu adventif kök kültürleri değerli metabolitlerin üretilmesi için önemli bir alternatif olduğu ve bu köklerin metabolit içeriği, biyoması ve antioksidan aktivitesi vitaminlerden önemli ölçüde etkilenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adventif kök; Antioksidan aktivite; Fenolik bileşik; *Melissa officinalis*; Vitamin

**Effects of thiamine, pyridoxine, and nicotinic acid applied to lemon balm
(*Melissa officinalis*) adventitious root suspension culture on biomass,
bioactive compounds, and antioxidant activity**

Abstract

Plant adventitious root cultures are alternative biotechnological methods for producing bioactive compounds used in a wide variety of sectors, especially medicine and pharmacy. The optimization of nutrient medium components is of great importance in ensuring efficient production using this method. Research on the effects of vitamins, which are the essential nutrient medium components used in adventitious root culture, on biomass, bioactive compounds, and antioxidant activation is quite insufficient. This study aimed to determine the effects of thiamine, pyridoxine, and nicotinic acid applied to the adventitious root suspension culture of lemon balm (*Melissa officinalis*) on root weight, rosmarinic acid, phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activities. Antioxidant activities of the roots were analyzed using free radical scavenging activity (DPPH•), cation radical scavenging activity (ABTS•+), and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods. Adventitious root induction was achieved by culturing hypocotyl explants in a basic MS medium (Murashige and Skoog) containing 2 mg/L IBA, 30 g/L sucrose, and 2 g/L phytigel. The obtained adventitious roots were incubated on a shaker in Erlenmeyers containing 40 mL of liquid medium with the same nutrient content. Thiamine, pyridoxine, and nicotinic acid (50 mg/L) were added to the nutrient medium on the 30th day of culture and harvested on the 37th day. Thiamine increased adventitious root weight approximately 1.5 times compared to the control group, while pyridoxine and nicotinic acid significantly decreased it compared to the control. All applied vitamins significantly increased the total phenolic compound content. The highest total phenolic content was determined as 16.13 mg GAE/g in adventitious roots applied with pyridoxine. Similarly, the highest rosmarinic acid content and DPPH•, ABTS•+, and FRAP activities were determined in pyridoxine-treated adventitious roots. Lemon balm adventitious root cultures are an important alternative for the production of valuable metabolites, and metabolite content, biomass, and antioxidant activity are significantly affected by vitamins.

Keywords: Adventitious root ; Antioxidant activity; *Melissa officinalis*; Phenolic compound; Vitamin

***Leiurus abdullahbayrami* türü akrep venomu bileşenlerinin fosfolipaz A2 enzim aktivitesinin araştırılması**

İrem Atal¹, Hakan Çalışkan², Figen Çalışkan³

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji, Eskişehir, Türkiye

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

¹atalirem967@gmail.com, ²hakan@ogu.edu.tr, ³fcalis@ogu.edu.tr

10009-0003-9369-8283, 20000-0001-7879-6449, 30000-0001-5241-7770

Özet

Leiurus abdullahbayrami Güneydoğu Anadolu bölgesinde yayılım gösteren ve halk sağlığı açısından önemli olan bir akrep türüdür. Akrep venomları enzim ve nörotoksik peptidler içeren biyoaktif moleküllerin kompleks karışımlarıdır. Bu çalışmada *Leiurus abdullahbayrami* ham venomunun ve bileşenlerinin fosfolipaz A2 aktiviteleri araştırılmıştır. Bu kapsamda, elektrostimülasyon yöntemi kullanılarak akreplerden ham venom elde edilmiş ve Ters Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi ile kromatografik profil belirlenerek saflaştırılmıştır. Egg yolk agaroz yöntemi kullanılarak ham venom ve bileşenlerin fosfolipaz A2 aktiviteleri araştırılmıştır. Ham venomun egg yolk agaroz ile 24 saat inkübasyon sonucundaki fosfolipaz A2 aktivitesi 1 cm'lik şeffaf zonlar olarak belirlenmiştir. Sıvı kromatografisinde 3'er dakikalık fraksiyonlar olmak üzere toplam 41 major fraksiyon elde edilmiş ve fraksiyonların fosfolipaz A2 aktiviteleri en fazla 30-33, 33-36 ve 36-39. dakikaları için belirlenmiş ve sırasıyla 1,4 cm, 2,4 cm ve 2 cm olarak zon çapları ölçülmüştür. Ayrıca 39-42, 42-45, 45-48, 48-51 ve 51-54. dakikalarda da sırasıyla 1,4 cm, 1,6 cm, 1 cm, 1,4 cm, 1,2 cm olarak zon çapları ölçülmüştür. Ardından en fazla aktivitenin gözlemlendiği 30-39. dakikalar ileri saflaştırılmaya alınarak 17 farklı alıkonma sürelerinde fraksiyonlanmıştır. Her fraksiyon 20 µl olacak şekilde yeniden fosfolipaz A2 aktivitesi için araştırılmıştır. Toplam 12 fraksiyon 0,8- 2,0 cm aralığında olmak üzere şeffaf zon gözlenmiştir. Pozitif kontrol olarak ham bal arısı venomu ve negatif kontrol olarak %0,9'luk NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma ile sıvı kromatografisi fraksiyonlama tekniklerinin kullanımıyla *Leiurus abdullahbayrami* türü akrep venomunda bulunan peptidlerin kromatografik profili belirlenmiş ve ileri saflaştırma aşamaları ile fosfolipaz A2 aktiviteli fraksiyonların eldesi ve aktivitesi gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Leiurus abdullahbayrami*; akrep; fosfolipaz A2; kromatografi

Investigation of phospholipase A2 enzyme activity of *Leiurus abdullahbayrami* species scorpion venom components

Abstract

Leiurus abdullahbayrami is a scorpion species distributed in the Southeastern Anatolia region and is important in terms of public health. Scorpion venoms are complex mixtures of bioactive molecules, including enzymes and neurotoxic peptides. In this study, the phospholipase A2 activities of the crude venom and its components of *Leiurus abdullahbayrami* were investigated. In this context, crude venom was obtained from scorpions using the electrostimulation method, and its chromatographic profile was determined and purified using Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography. The phospholipase A2 activities of the crude venom and its components were investigated using the egg yolk agarose method. After 24 hours of incubation with egg yolk agarose, the phospholipase A2 activity of the crude venom was determined as 1 cm clear zone. In the liquid chromatography, a total of 41 major fractions were obtained in 3-minute intervals, and the phospholipase A2 activities were highest in the 30-33, 33-36, and 36-39 minute fractions, with zone diameters of 1,4 cm, 2,4 cm, and 2 cm, respectively. Additionally, zone diameters were measured as 1,4 cm, 1,6 cm, 1 cm, 1,4 cm, and 1,2 cm for the 39-42, 42-45, 45-48, 48-51, and 51-54-minute fractions, respectively. Subsequently, the fractions with the highest activity, between 30-39 minutes, were further purified and fractionated at 17 different retention times. Each fraction, in 20 µl samples, was re-investigated for phospholipase A2 activity. A total of 12 fractions showed clear zones ranging from 0,8 to 2,0 cm. Crude honey bee venom was used as a positive control, and a 0.9% NaCl solution was used as a negative control. In conclusion, this study demonstrated the chromatographic profile of peptides in the venom of *Leiurus abdullahbayrami* using liquid chromatography fractionation techniques, and through further purification steps, fractions with phospholipase A2 activity were identified and their activity was shown.

Keywords: *Leiurus abdullahbayrami*, scorpion; phospholipase; chromatography

Memeli hücre kültüründe salgılanabilir Bovine Viral Diyare Virüsü E2 proteini üretimi için genetik bir sistemin tasarımı ve geliştirilmesi

Mehmet Kara^{1*}

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Bursa, Türkiye

*E-mail: mehmetkara@uludag.edu.tr

*Orcid No:0000-0002-9646-4584

Özet

Bu çalışmada, memeli hücre kültüründe salgılanabilir bir antijen üretim sistemi kurulması amaçlanmıştır. Bu amaçla, pcDNA3.1 ekspresyon vektörü temel alınarak yeni bir ekspresyon sistemi tasarlanmıştır. İlk olarak, hedef proteinin hücre dışına verimli bir şekilde salgılanabilmesi için N-terminal kısmına IgK lider dizisi NEBuilder HiFi kiti ile klonlanmıştır. Ayrıca, proteinin çözünürlüğünü arttırmak için proteinin C-terminal ucuna 14 aminoasitlik katlanmamış (unfolded) bir kısım eklenmiştir. Proteinin saflaştırılması ve tespitinin kolaylaştırılması amacıyla yine C-terminusuna HisTag epitopu eklenerek pcDNA3IgK_L.14aa.HisTag plazmidi oluşturulmuştur. Bu genetik yapının etkinliğini değerlendirmek için ilk olarak yeşil floresan protein (GFP) geni model olarak kullanılmıştır. GFP geninin bu yeni vektöre klonlanması ve transfekte edilen hücrelerde GFP ekspresyonu sonucunda sistemin işlevsel olduğunun gösterilmesi amaçlanmıştır. İlerleyen çalışmalarda sığır viral diyare virüsünün (BVDV) E2 glikoproteininin bu sisteme klonlanması hedeflenmektedir. Öncelikle bir transmembran (TM) domain içeren BVDV E2 geninin *in silico* yöntemlerle TM domaini belirlenmiş ve IgK lider dizisi ve HisTag varlığında protein katlanması incelenmiştir. Serum içermeyen besiyerinde büyüeyebilen ve yüksek miktarda rekombinant antijen üretebilen BHK21 ve HEK293FT hücrelerinde gerek adherent gerek suspansiyon hücre kültürlerinde yüksek verimlilikte ve saflıkta antijen elde edilmesi için bir deneysel dizayn geliştirilmesi hedeflenmektedir. Elde edilen sonuçlar, tasarlanan sistemin farklı proteinlerin memeli hücrelerde salgılanabilir olarak üretilmesi için potansiyel bir araç olduğunu göstermektedir. Bu sistem, BVDV gibi önemli hayvan hastalıklarına karşı yeni tanı kitleri ve aşılarda geliştirilmesinde kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: ekspresyon vektörü; salgılanabilir antijen; sığır viral diyare virüsü E2 antijeni

Design and development of a genetic system for the production of secreted Bovine Viral Diarrhea Virus E2 protein in mammalian cells

Abstract

In this study, a novel genetic system was established for the production of a secreted antigen in mammalian cell culture. The pcDNA3.1 expression vector was used as a backbone, and IgK leader sequence was inserted to the N-terminus of the target protein to facilitate its efficient secretion from the cell. Additionally, a 14-amino acid unstructured region was added to the C-terminus to enhance protein solubility, and His-tag epitope was added for protein purification. To demonstrate the efficiency of this genetic construct, green fluorescent protein (GFP) was used. We aimed to demonstrate the functionality of the system by cloning the GFP gene into this new vector and expressing GFP in transfected cells. In subsequent studies, we intend to clone the E2 protein into this system. The TM domain of the BVDV E2 gene containing a transmembrane (TM) domain was determined *in silico*, and protein folding was investigated in the presence of the IgK leader sequence and His-tag. To achieve high-yield and high-purity production of recombinant antigen in both adherent and suspension cell cultures of BHK21 and HEK293FT cells that can grow in serum-free media, an experimental design is aimed to be developed. The designed system has the potential to be used for the production of various proteins as secreted antigens in mammalian cells. This can be used in the development of diagnostic kits and vaccines against important animal diseases such as BVDV.

Keywords: expression vector; secreted antigen; bovine viral diarrhea virus E2 glycoprotein

***Hedera helix*'in Doğal Rejenerasyon Ürünü Olarak Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması**

**Ebrar Küçükünlü^{1*}, Feyza Alşahin², Sıdika Yaren Işıklanmak³, Erdem Emir
Sevinç⁴, Çağdaş Özdemir⁵, Arzu Erol Afatoğlu⁶**

^{1,2,3,4,6}. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Bölümü, Zonguldak, Türkiye

⁵. University of Basilicata, Bilim Fakültesi, Potenza, İtalya

*E-mail: ebrarkcknl@gmail.com

*Orcid No: 0009-0002-5062-4711

Özet

Bu projede etanol ve dH₂O çözeltisi ile elde edilen *Hedera helix* bitki ekstraktının, mikroorganizmalar üzerindeki kapsamlı antimikrobiyal aktivitesi gözlemlenmesi hedeflenmiştir. Literatürde antimikrobiyal aktivitesi kanıtlanmış olan *Hedera helix* ekstraktı ile MIC, agar kuyu difüzyon ve disk difüzyon testleri uygulandı. Önceden belirlenmiş yerlerden alınan örnekler EMB ve SDA'ya ekimi yapıldı. İzole edilen örneklerden seçilen mikroorganizmalar kullanılarak bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite düzeyleri belirlendi. Deneyler sonucunda *Hedera helix* ekstraktının, kullanılan mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivite gözle görülür bir etki göstermediği gözlemlendi. Bunun sebebi deneylerde kullanılan *Hedera helix* ekstrakt miktarının az olduğu düşünülmüyordu. Kullanılan mikroorganizmaların identifikasyonları sonrası literatürde yapılan araştırmalar sonucu *Hedera helix* ekstraktının kullanılan *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium*'un üzerinde etki etmediği sonucuna ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Doğal rejenerasyon; Biyolojik temizlik; Mikrobiyolojik korozyon; Antimikrobiyal aktivite; *Hedera helix*

Teşekkür: 1919B012315282 numaralı projemiz 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı 2023/2 tarafından desteklenmiştir.

Investigation of the Potential of *Hedera helix* as a Natural Regeneration Product

Abstract

In this project, it was aimed to observe the comprehensive antimicrobial activity of *Hedera helix* plant extract obtained with ethanol and dH₂O solution on microorganisms. MIC, agar well diffusion and disk diffusion tests were performed with *Hedera helix* extract, which has proven antimicrobial activity in the literature. Samples taken from predetermined locations were cultured on EMB and SDA. The antimicrobial activity levels of the plant extracts were determined using microorganisms selected from the isolated samples. As a result of the experiments, it was observed that *Hedera helix* extract did not show a visible antimicrobial activity on the microorganisms used. The reason for this was thought to be the small amount of *Hedera helix* extract used in the experiments. After the identification of the microorganisms used, it was concluded that *Hedera helix* extract had no effect on *Klebsiella oxytoca* and *Bacillus megaterium*.

Keywords: Natural regeneration; Biological cleaning; Microbiological corrosion; Antimicrobial activity; *Hedera helix*

Acknowledgements: Our project number 1919B012315282 was supported by the 2209-A University Students Research Projects Support Program 2023/2.

Human papillomavirus (HPV) varlığı ile kliniğe başvurma nedenleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

Nehir Türkkan^{1*}, Sude Bingöl¹, Hanife Güler Dönmez¹,
Mehmet Sinan Beksaç^{2,3}

¹Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı,
Ankara, Türkiye

³İstinye Üniversitesi, Liv Hospital Ankara, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Ankara, Türkiye

*E-mail: turkkannehir18@gmail.com

*Orcid No:0009-0005-8158-4793

Özet

Human papillomavirus (HPV), en yaygın cinsel yolla bulaşan enfeksiyondur ve HPV 16 ile 18, servikal kanser vakalarının yaklaşık %70'inden sorumludur. Tarama ve aşı programları sayesinde HPV'nin sıklığı azalmakla birlikte, tarama programlarının tam olarak uygulanamadığı gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda kadınların kliniğe başvurma nedenleri ve HPV ile olan ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır (Etik no: GO18/908-09). Bu amaçla Hybrid Capture®2 teknolojisiyle HPV taraması yapılmış 171 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. HPV pozitif 74 kadın (%43,3) çalışma grubu, HPV negatif olan 97 (%56,7) kadın ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. HPV pozitif kadınların %33,9'u yüksek riskli, %9,4'ü ise düşük riskli HPV tipi açısından pozitif bulunmuştur. HPV pozitif kadınların %26,3'ünde tek tip HPV bulunurken, %17,0'sinde birden fazla HPV tipi bir arada bulunmaktadır. Birden fazla HPV pozitifliği gösteren kadınların %55,2'sinde HPV tip 16 bulunması dikkati çekmiştir. Başvurma nedenleri açısından, 171 kadının 60'ı (%35,1) rutin kontrol, 44'ü (%25,7) jinekolojik şikayet ve 67'si (%39,2) jinekolojik öykü nedeniyle kliniğe başvurmuştur. HPV varlığı ile başvuru nedenleri arasındaki ilişki incelendiğinde, HPV pozitif kadınların %45,9'unun rutin kontrol amacıyla kliniğe başvurduğu saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analizlerde, rutin kontrol nedeniyle başvuran kadınlar ile jinekolojik şikayet veya öykü nedeniyle başvuranlar arasında HPV varlığı açısından anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p=0.004$). Bununla birlikte, HPV risk tipi ve birden fazla HPV tipi ile enfekte olma durumunun başvurma nedenleriyle arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Sonuç olarak, rutin kontrol amacıyla hastanelere başvuran kadınlarda HPV pozitiflik oranının jinekolojik şikayetler ve jinekolojik öyküler ile başvuranlara kıyasla daha yüksek gözlemlenmesi düzenli gerçekleştirilen taramanın kadın sağlığı için önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: HPV; düşük risk; jinekolojik öykü; rutin kontrol; jinekolojik şikayet; servikojinal simir

Evaluation of the relationship between the presence of human papillomavirus (HPV) and reasons for clinic attendance

Abstract

Human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection and HPV 16 and 18 are responsible for about 70% of cervical cancer cases. Although the prevalence of HPV has decreased due to screening and vaccination programs, it remains a significant issue in developing countries where screening programs are not fully implemented. Therefore, our study aims to investigate the reasons for women's attendance at the clinic and their relationship with HPV (Ethic no: GO18/908-09). For this purpose, 171 women who were screened for HPV with Hybrid Capture®2 technology were included in the study. HPV-positive 74 women (43.3%) were considered the study group, and HPV-negative 97 women (56.7%) were considered the control group. Among HPV positive women, 33.9% were positive for high-risk and 9.4% for low-risk HPV types. While 26.3% of HPV-positive women had a single type of HPV, 17.0% had multiple types of HPV infection at the same time. It was notable that HPV type 16 was found in 55.2% of women who tested positive for multiple HPV types. In terms of reasons for attendance, 60 out of 171 women (35.1%) visited the clinic for a routine control, 44 (25.7%) for gynecological complaints, and 67 (39.2%) due to a gynecological history. When examining the relationship between HPV presence and reasons for attendance, it was found that 45.9% of HPV-positive women visited the clinic for a routine control. Statistical analyses showed a significant difference in HPV presence between women who attended for routine control and those who attended for gynecological complaints or history ($p = 0.004$). However, no significant relationship was found between HPV risk type and the presence of multiple HPV infections and the reasons for attendance ($p > 0.05$). In conclusion, the observation of a higher HPV positivity rate among women attending hospitals for routine control compared to those attending for gynecological complaints and histories highlights the importance of regular screening for women's health.

Keywords: HPV; low risk; gynecological history; routine screening; gynecologic complaints; cervicovaginal smear.

Rekombinat KATFO Enziminin MCF-7 Hücre Hattında *in vitro* İncelenmesi

**Tuğçe Karabulut¹, Elif Kale Bakır²,
Asuman Deveci Özkan, Yonca Yüzügüllü Karakuş²**

¹Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 41001 Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 41001 Kocaeli, Türkiye

³Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, 54050 Sakarya, Türkiye

*E-mail: tugcekarabulut03@gmail.com

*Orcid No: 0009-0005-2305-5455

Özet

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmada rol alan antioksidanlar, güçlü antikanser terapötikleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde tedavide kullanılan kemoterapi ilaçlarının insan vücudu üzerindeki zararlı yan etkileri dikkate alındığında doğal antioksidanlar umut vadeden antikanser bileşikleridir. Endojen kaynaklı antioksidanlardan katalaz enzimi hücre ömrünü etkileyen antioksidan enzimlerden biridir. Bu özellikleri, oksidatif stres varlığında oluşan reaktif oksijen türleri ile hücrenin baş edebilmesi esnasındaki katkılarından kaynaklanmaktadır. Son zamanlarda antikanser çalışmalarında hedef moleküllerin belirlenmesi, kanser tedavilerinde destek tedavi için ilaç keşiflerinde kullanılmalarını kolaylaştırmaktadır. Hedef molekül olarak *E. coli*'de laboratuvarımızda yıllardır saf olarak üretilen *S. thermophilum* kaynaklı rekombinant katalaz fenol oksidazın (rKATFO) keşfi ve etkili birçok özelliği (çift aktivite yeteneği, fenolik maddelerin antioksidan özelliklerini artırıcı etkisi, yüksek stabilite, vb); ancak kanser tedavisindeki rolü hala belirsizdir. Bu kapsamda *S. thermophilum* 'un çift aktiviteli rKATFO enziminin MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik (WST-1 analizi) etkisi incelendi. MCF-7 hücreleri öncelikle 96 kuyulu hücre kültürü plakalarına her kuyucuğuna 2×10^4 hücre/mL de olacak şekilde ekildi. Belirlenen konsantrasyonlarda rKATFO (25, 50, 100, 200, 500 ve 1000 U/mL) uygulanarak hücreler 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra her bir kuyuya 10 µL WST-1 boyası eklenip 1-4 saat 37°C'de inkübe edilecek ve 460-620 nm dalga aralığında Elisa Reader'da ölçümleri yapıldı. Canlılık analizi ile elde edilen veriler değerlendirilerek MCF-7 hücrelerinde rKATFO için 24 saat uygulama sonrasında 206 U/mL etkin konsantrasyon (IC_{50}) olarak belirlendi. Sonuçta, rKATFO'nun meme kanser hücre hattına karşı sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiş olup kanser hücrelerine karşı antiproliferatif bir ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Scytalidium thermophilum*; katalaz; fenol oksidaz; kanser; rekombinant

Teşekkür: Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje no: FYL-2024-3691)

***In vitro* Examination of Recombinant KATFO Enzyme in MCF-7 Cell Line**

Abstract

Antioxidants, which play a role in protecting against the harmful effects of free radicals, appear to be effective therapeutic agents against cancer. Considering the harmful side effects on the human body of chemotherapeutic drugs used for treatment today, natural antioxidants are among the most promising cancer-fighting agents. The enzyme catalase, one of the body's own antioxidants, is one of the antioxidant enzymes that influence cell life. These properties are due to its contribution to the cell's ability to deal with reactive oxygen species produced during oxidative stress. More recently, the identification of target molecules in anticancer studies has facilitated their use in drug discovery for adjuvant therapy in cancer treatments. The discovery of recombinant catalase phenol oxidase (rKATFO) derived from *S. thermophilum*, which has been produced in *E. coli* in our laboratory for years, and its numerous effective properties (dual activity capacity, increase in antioxidant properties of phenolic substances, high stability, etc.) should be mentioned as a target molecule; however, its role in cancer treatment is still unclear. In this context, the cytotoxic effect (WST-1 assay) of the double active rKATFO enzyme of *S. thermophilum* on the MCF-7 cell line was investigated. MCF-7 cells were first seeded in 96-well culture plates at 2×10^4 cells/mL each. After incubating the cells with rKATFO (25, 50, 100, 200, 500 and 1000 U/mL) at the specified concentrations for 24 and 48 hours, 10 μ L of WST-1 dye was added to each well, incubated at 37 °C for 1-4 hours and measured in the Elisa Reader at 460-620 nm. The data obtained by viability analysis were evaluated, and 206 U/mL was determined as the effective concentration (IC_{50}) for rKATFO in MCF-7 cells after 24 hours of application. In conclusion, rKATFO was found to exhibit a cytotoxic effect against breast cancer cell lines, and it is predicted to have the potential to be used as an antiproliferative agent against cancer cells.

Keywords: *Scytalidium thermophilum*; catalase; phenol oxidase; cancer; recombinant

Acknowledgements: This study has been supported by Kocaeli University Scientific Research Coordination Office (Project no: FYL-2024-3691)

Retina Nöronlarındaki Hücre-Hücre Etkileşimlerinde Pea3 Proteinlerinin Rolü

Sedef Işık¹, Işıl Kurnaz^{1,2}

¹ *Biotechnology Institute, Gebze Technical University, Kocaeli, Turkey*
syusufogullari2018@gtu.edu.tr

² *Molecular Biology and Genetics, Gebze Technical University, Kocaeli, Turkey*
ikurnaz@gtu.edu.tr

Özet

Pea3 / ETV4, Erm / ETV5 ve Er81 / ETV1, ETS alanı transkripsiyon faktörü süper ailesi içindeki PEA3 alt ailesine ait transkripsiyon faktörleridir. Sinir sisteminde motor nöron devrelerinin oluşumu, retinal farklılaşma, akson uzaması vb. gibi birçok süreçte yer alırlar. Bu görevlerle, Pea3 proteinlerinin özellikle Nörovasküler sistemde gelişim sırasında hücre-hücre etkileşiminde rol oynadığı varsayılmaktadır. Pea3 fosfomutantlarının nöronal ve vasküler hücreler arasındaki iletişim üzerinde herhangi bir etkisi olup olmadığını kontrol etmek için model COPASI programı ile oluşturulmuştur. Belirlenen adımlarda kullanılan kcat ve k değerleri değiştirilerek nPea3 fosfomutantlarının oluşumu, nPea3 mutantlarının DNA bağlama yetenekleri ve nPea3P fosfomutantlarının transaktivasyon aktivitesi incelenmiştir. İlerleyen deneyler için ise HUVEC ve Retinal öncül hücreler için hangi transfeksiyon ajanının ve hangi konsantrasyonlarda kullanılacağını seçmek için kontrol deneyleri yapıldı. GraphPad'de çizilen grafiklerde görülmüştür ki fosfomutantları simüle etmek için kcat değerlerinin değiştirilmesi, fosforilasyon seviyelerinin azalması nedeniyle mutantların DNA bağlama yeteneğinin azalmasına neden olmuştur. Transaktivite üzerindeki etki, hem kcat hem de k değerleri birlikte değiştirilerek araştırılmış ve değerlerdeki değişimin negatif etkiyi daha da artırdığı ve transaktivitede bir azalmaya neden olabileceği gösterilmiştir. COPASI sonuçlarının test edilmesi amacıyla kurulan kontrol deneyleri sonucunda, kullanılan hücrelerde en iyi sonuçları veren transfeksiyon reaktifinin PEIpro® olduğu görülmüştür. Kullanılan her iki hücre hattı için 1µg DNA:1µl PEIpro® ajanı oranının uygun olduğu bulunmuştur.

İlerleyen dönemde yapılacak deneylerde PEIpro® ile deneylere devam edilecek olup 1002 ve BAP projelerimizin sonuçları COPASI sonuçlarıyla ayrıntılı olarak karşılaştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: ETS domain transkripsiyon faktörü ailesi, Pea3 transkripsiyon faktörü, COPASI

Role Of Pea3 Proteins In Cell-To-Cell Interactions In Retinal Neurons

Abstract

Pea3 / ETV4, Erm / ETV5, and Er81 / ETV1 are transcription factors belonging to the PEA3 subfamily within the ETS domain transcription factor superfamily. They are involved in many processes such as formation of motor neuron circuits in the nervous system, retinal differentiation, and axon elongation etc. With these tasks, Pea3 proteins are hypothesized to play a role in cell-cell interaction during development, especially in Neurovascular system. To check are there any effect of Pea3 phosphomutants on communication between neuronal and vascular cells, the model was created with the COPASI program. By changing the values of k_{cat} and k used in the determined steps the creation of nPea3 phosphomutants, the DNA binding abilities of nPea3 mutants, and the transactivation activity of nPea3P phosphomutants were examined. Control experiments were performed to select which transfection agent and at what concentrations to use for HUVEC and Retinal precursor cells. Changing the k_{cat} values to simulate phosphomutants resulted in reduced DNA binding ability of the mutants because phosphorylation levels decreased in the graphs plotted in GraphPad. The effect on transactivity was investigated by changing both k_{cat} and k values together, and it has been shown that change of values further increased the negative effect and may cause a reduction in transactivity. As a result of control experiments, it was observed that the transfection reagent that gave the best results in the cells used was PEIpro®. A ratio of 1µg DNA:1µl reagent was found appropriate for both cell lines used. In the experiments to be carried out in the following period, experiments with PEIpro® will be continued and the results of our 1002 and BAP projects will be compared with the COPASI results in detail.

Keywords: ETS domain transcription factor family, Pea3 transcription factor, COPASI

Kahve Demleme Yöntemlerinin Kahve Toplam RNA ve miRNA İçeriğine Etkisi

Metehan Yaman¹, Nuray Ahmadli², Fatih Atilla Bağcı¹, Dilek Pirim^{1,2*}

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Bursa, Türkiye

*E-mail: dilekpirim@uludag.edu.tr

*Orcid No: 0000-0002-0522-9432

Özet

Kahve bitkisinden ekstrakte edilmiş eksozom benzeri nanopartiküllerin (EPDEN) içeriğindeki miRNA'ların kahve tüketimiyle dolaşıma geçerek alemler arası gen regülasyonunu etkileme potansiyeli vardır. Fakat, demlenmiş kahvedeki miRNA miktarı ve demleme yöntemlerinin miRNA miktarına etkisi henüz araştırılmamıştır. Bu kapsamda çalışmamızda Türk kahvesi, filtre kahve ve French press demleme yöntemlerinin basınç, filtrasyon ve sıcaklık gibi parametrelerinin etkisiyle kahve içeriğinde yer alan total RNA ve miRNA miktarına etkileri incelenmiştir. Arabica kahve bitkisinden elde edilmiş kahve çekirdekleri ile yapılan kahve içeceklerinden iki farklı RNA izolasyon kiti (miRNeasy Seum/Plazma Advance, Qiagen ve EURx GeneMATRIX Universal RNA/miRNA Purification Kit, EURx) kullanılarak RNA izole edilmiştir. İzole edilen RNA örneklerinin RNA ve miRNA içerikleri spektrofotometrik ve florometrik yöntemler kullanılarak ölçülmüştür. Çalışmamız sonucunda üç kahve demleme yöntemiyle hazırlanan kahve örneklerinden ölçülebilir miktarlarda miRNA (>0.025 ng/ul) elde edilmiştir. Bununla beraber, kahve demleme yöntemlerinin içeceklerin miRNA içeriklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı ve kahve miRNA'larının uygulanan yöntemlere dirençli olduğu saptanmıştır. Bulgularımız kahve içeriğindeki miRNA'ların memeli dolaşımına geçişi ve hedef mRNA'larını regüle etme potansiyelinin daha kapsamlı çalışmalarla incelenmesi üzerine ön veriler sunarak bu alanda daha fazla araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: miRNA, arabica kahve, EPDENs, Alemler arası gen regülasyonu

Teşekkür: Bu araştırma Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: FLO-2024-1828)

Influence of Coffee Brewing Methods on Coffee Total RNA and miRNA Content

Abstract

The presence of miRNA in exosome-like nanoparticles (EPDEN) extracted from the coffee plant has the potential to enter the bloodstream through coffee consumption and influence cross-kingdom gene regulation. Recent studies have indicated that EPDENs derived from plants can enter the circulation of animals and transfer various proteins, lipids, and nucleic acids to animal cells. However, the quantity of miRNA in commonly consumed coffee beverages post-brewing and the impact of brewing methods on miRNA levels have not yet been explored. In this study, we investigated how Turkish coffee, filter coffee, and French press brewing methods affect the levels of total RNA and miRNA in coffee. We examined the impact of parameters such as pressure, filtration, and temperature. RNA was extracted from coffee made with *Arabica* coffee beans using two different RNA isolation kits (miRNeasy Serum/Plasma Advance from Qiagen and EURx Gene-MATRIX Universal RNA/miRNA Purification Kit from EURx). The RNA and miRNA levels in the isolated RNA samples were measured using spectrophotometric and fluorometric methods. Our study found measurable amounts of miRNA (>0.025 ng/ul) in coffee samples prepared using three different brewing methods. However, we also found that the brewing methods did not have a statistically significant effect on the miRNA content of the beverages and that coffee miRNAs were resistant to the applied methods. These findings provide preliminary data on the presence of miRNAs in coffee and their potential to regulate target mRNAs in mammalian circulation. This suggests the need for further research in this area.

Keywords: microRNA, *Arabica* coffee, EPDENs, cross-kingdom gene regulation

Acknowledgements: This research was funded by Bursa Uludag University Scientific Research Unit, Türkiye (Grant No: FLO-2024-1828)

Küçük Molekül Kaynaklı İlaç Tepkisinde Trm11 Enziminin Rolünün Araştırılması

Mirim Dilara Özdemir^{1*}, Mehmet Tardu²

¹*İstanbul .Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye*

²*İstanbul .Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye*

*E-mail: mirimdilaraozdemir@ogr.iu.edu.tr

*Orcid No: 0009-0001-8584-3140

Özet

Günümüze kadar yapılmış çalışmalarda hücre içerisinde sentezlenen DNA, RNA ve protein gibi biyopolimerlerin üzerinde çok fazla sayıda modifikasyon tespit edilmiştir. DNA'daki kalıtsal bilginin taşınmasından protein sentezine kadar birçok hücre içi faaliyette görevi olan RNA molekülleri üzerinde 150'den fazla nükleozit modifikasyonu rapor edilmiş, her geçen gün bu sayı artmaktadır. Bu modifikasyonlar mRNA ile tRNA, rRNA, ve miRNA gibi hem kodlayan hem de kodlamayan RNA türlerinde tanımlanmış olup, RNA türlerinin yapısal bütünlüğü, stabilitesi ve fonksiyonel kapasitesi üzerinde etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır. Yapılan son çalışmalar modifikasyonların farklı RNA türlerindeki dağılımının, transkripsiyon ve translasyon da dahil olmak üzere birçok hücre içi moleküler mekanizma yoluyla protein üretimini etkileyebileceğini göstermiştir. RNA modifikasyonlarını yükleyen enzimler arasında mayalardan insanlara kadar birçok organizmada korunmuş olan tRNA metiltransferaz (Trm) nükleozit modifiye edici enzim ailesi önemli bir yere sahiptir çünkü tRNA metilasyonlarının tRNA yapısının stabilizasyonundan, kodon-antikodon etkileşiminin güçlendirilmesi ve Wobble baz eşleşmesinin düzenlenmesine kadar protein sentezinin farklı adımları ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda, *Saccharomyces cerevisiae* trm11Δ mutantlarının küçük molekül kaynaklı ilaç stresine verdiği tepkiyi inceledik. Bunun için yabanıl tip (YT) ve mutant maya hücrelerini, değişen konsantrasyonlarda sikloheksimit, penisilin g, triklosan da dahil olmak üzere 13 farklı küçük moleküle maruz bırakarak hücrelerin büyüme fenotiplerindeki değişimleri araştırdık. Elde ettiğimiz sonuçlar ile m²G₁₀ modifikasyonundan sorumlu TRM11 geni silinmiş mutant suşun YT maya hücrelerine kıyasla 0,1 ng/μl sikloheksimite karşı dirençli olduğunu gösterdik. Bu bulgular bize antifungal ajan olarak kullanılan sikloheksimit tepkisinin yönetilmesinde TRM11 genin olası rolünü anlamamızda yardımcı olacaktır. Gelecekteki araştırmalarda RNA-sek de dahil olmak üzere omik çalışmalarını kullanarak, sikloheksimitten etkilenen biyolojik yolların global ölçekte kapsamlı bir analizini yapacağız.

Anahtar Kelimeler: RNA nükleozit modifikasyonları, Trm11 enzimi, Küçük molekül, İlaç stresi, Sikloheksimit

Teşekkür: Bu çalışma TÜSEB 2023-A2-36194 numaralı ve TÜBİTAK 2232A-121C066 numaralı projeler tarafından desteklenmektedir.

Investigating the Role of Trm11 Enzyme in the Small Molecule Induced Drug Response

Abstract

Recent investigations have revealed a wide array of modifications present in biopolymers such as DNA, RNA, and proteins synthesized within cellular environments. Over 150 distinct nucleoside modifications have been documented on RNA molecules, playing a crucial role in various intracellular functions, from genetic information transmission via DNA to protein synthesis, with this number steadily increasing. These modifications have been observed in both coding and non-coding RNA species, including mRNA, tRNA, rRNA, and miRNA, influencing RNA's structural integrity, stability, and functional capabilities. Recent research suggests that the distribution of modifications across different RNA types can impact protein synthesis through various molecular pathways, including transcription and translation. Among the enzymes responsible for RNA modifications, the tRNA methyltransferase (Trm) family, conserved across a wide range of organisms from yeast to humans, plays a critical role. tRNA methylations are linked to protein synthesis stages like stabilizing tRNA structure, enhancing codon-anticodon interactions, and regulating Wobble base pairing. In our study, we analyzed the response of *Saccharomyces cerevisiae* *trm11*Δ mutants to small molecule-induced drug stress by assessing the growth phenotypes of wild-type (WT) and mutant yeast cells exposed to 13 different small molecules, including cycloheximide, penicillin G and triclosan at various concentrations. Our findings showed that the *TRM11* gene deletion mutant, responsible for m²G₁₀ modification, exhibited resistance to 0,1 ng/μl cycloheximide compared to WT cells. These results enhance our understanding of the *TRM11* gene's potential role in modulating responses to cycloheximide, commonly used as an antifungal agent. Future research will explore cycloheximide's global effects through omics studies like RNA-Seq.

Keywords: RNA nucleoside modifications, trm11 enzyme, small molecules, drug stress, cycloheximide

Acknowledgements: This study is supported by the TÜSEB project numbered 2023-A2-36194 and the TÜBİTAK project numbered 2232A-121C066.

Retinoblastoma ve Biyoinformatik

^{1*}Musa Alp Öztürk, ²Akın Tekcan

¹ Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Moleküler Tıp Bölümü, Amasya, Türkiye

² Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Moleküler Tıp Bölümü, Amasya, Türkiye

*E-mail: musaalpozturk@gmail.com

*Orcid No: 0009-0008-3141-558X

Özet

İlk kaydı 1597 yılında yapılan Retinoblastoma hastalığı, gelişme aşamasında olan retina da RB1 geninde meydana gelen çeşitli mutasyon ve inaktivasyonlar sonucu meydana gelir aynı zamanda otozomal dominant yolla da yeni jenerasyona aktarılabilir. Retinoblastoma ortalama her 18000 canlı doğumda 1 görülebilirken hastalık ırklar veya cinsiyetler arasında farklılık göstermez ve sağ kalım oranı gelişmiş ülkelerde %95'e yakındır ancak RB1 mutasyonu geçirmiş çocukların ileriki yaşamlarında başka maligniteler gösterme olasılığı da yüksektir. GenBank erişim numarası (NM_000321) olan insan RB1 geni tanımlanan ilk tümör baskılayıcı genidir ve gende aşama aşama ilerleme kaydedilen araştırmalar tümör baskılayıcı genlere olan ilgiyi arttırmaktadır. Aynı zamanda genel kromatin yapısını ve özellikle de histon metilasyonunu stabilize ederek yapısal heterokromatini korur. Bunlar ise genin hücre döngüsü, farklılaşması ve yaşlanması gibi olaylarda rolünü ortaya çıkarmaktadır. Biz tümörün biyoinformatik yöntemlerden olan moleküler doking teknikleri ile RB1 genini yeniden aktif hale getiren veya getirebilecek veya genin baskıladığı transkripsiyon faktörlerini inhibe edebilecek ligandları araştırmak istiyoruz.

Anahtar Kelimeler: Retinoblastoma; Biyoinformatik; Moleküler Doking; Kanser; RB1 Geni

Teşekkür: Çalışmalarında her zaman yanımda olan ve beni destekleyen hocam Prof. Dr. Akın TEKCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Abstract

Retinoblastoma disease, first recorded in 1597, occurs as a result of various functions and inactivations in the RB1 gene in the developing retina, and can also be transmitted to the next generation via an autosomal dominant pathway. While retinoblastoma occurs on average in 1 in every 18,000 live births, the disease does not differ between races or genders and the survival rate is close to 95%, but it is also possible that children who have had RB1 may develop other malignancies later in life. The human RB1 gene, with GenBank accession number (NM_000321), is the first tumor suppressor gene identified, and developing the gene stepwise process is increasing the interest in tumor suppressor genes. It also maintains structural heterochromatin by stabilizing general chromatin characters and histone methylation in particular. These play a role in events such as gene-cell issues, differentiation and aging. We want to investigate ligands that can reactivate or reactivate the RB1 gene with applied docking techniques, which are bioinformatic impacts of the tumor, or that can inhibit the transcription suppressed by the gene.

Keywords: Retinoblastoma; Bioinformatics; Molecular Docking; Cancer; RB1 Gene

Acknowledgements: I would like to thank to Prof. Dr. Akin TEKCAN who is always be here and helps to me in my researches.

Ticari olarak satılan keçiyoynuzu (*Ceratonia siliqua*) unu ve matcha (yeşil çay tozu) tozunun antioksidan aktiviteleri

Zeynep Akçay Teker^{1*}

¹*Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi, Ar-Ge Birimi, Rize, Türkiye*

^{*}*E-mail: zeynep_akcayteker21@erdogan.edu.tr*

^{*}*Orcid No: 0000-0002-2977-3731*

Özet

Antioksidanlar, vücudu serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan bileşiklerdir. Serbest radikaller, normal metabolizma süreçleri veya çevresel faktörler sonucu oluşan, hücrelere zarar verebilen reaktif moleküllerdir. Antioksidanlar meyve, sebze, kuruyemiş ve tam tahıllar gibi gıdaların tüketilmesiyle vücuda alınması sağlanır. Bu çalışmada, ticari olarak satılan keçiyoynuzu unu ve matcha tozunun antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmamız ile bu iki ürünün antioksidan aktivitesini 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikali (DPPH) antioksidan kapasite tayin yöntemi ile değerlendirmek amaçlanmıştır. Yapılan çalışmada keçiyoynuzu unu ve matcha tozu belirgin bir şekilde yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Keçiyoynuzu ununa ait IC₅₀ değeri 128122, 73mg. mL⁻¹ ve matcha tozuna ait IC₅₀ değeri 2783,90 mg.mL⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Değerler standart olarak karşılaştırılan troloksun IC₅₀ eş değeri olan 859,80 mg.mL⁻¹'e göre yüksek bulunmuştur. Bu durum örneklerin antioksidan kapasitelerinin oldukça yüksek olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Keçiyoynuzu Unu; Matcha Tozu; Antioksidan Aktivitesi; DPPH.

Teşekkür: Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi'nin ar-ge laboratuvarlarında bulunan test cihazları ve ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirildi.

Antioxidant activities of commercially available carob (*Ceratonia siliqua*) flour and matcha (green tea powder) powder

Abstract

Antioxidants are compounds that protect the body from the harmful effects of free radicals. Free radicals are reactive molecules that are formed as a result of normal metabolic processes or environmental factors and can damage cells. Antioxidants are taken into the body by consuming foods such as fruits, vegetables, nuts and whole grains. In this study, the antioxidant activities of commercially available carob flour and matcha powder were investigated. The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of these two products by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) antioxidant capacity determination method. In the study, carob flour and matcha powder showed significantly high antioxidant activity. The IC₅₀ value of carob flour was 128122,73 mg.mL⁻¹ and the IC₅₀ value of matcha powder was 2783,90 mg.mL⁻¹. The values were found to be higher than the IC₅₀ equivalent value of 859,80 mg.mL⁻¹ of trolox compared as standard. This showed that the antioxidant capacity of the samples was quite high.

Keywords: Carob Flour; Matcha Powder; Antioxidant Activity; DPPH.

Acknowledgements: Fish Pro Jel was carried out using the test devices and equipment available in the R&D laboratories of Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi.

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) deri ve kılçıklarından elde edilen jelatin ve unların aminoasit profil değerlendirmesi

Ayşe Demirbaş^{1,2*}, Zeynep Akçay Teker²

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Bölümü, Rize, Türkiye

² Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi, Ar-Ge Birimi, Rize, Türkiye

*E-mail: ayse.demirbas@erdogan.edu.tr

*Orcid No: 0000-0002-7629-3263

Özet

Aminoasitler, proteinlerin yapı taşları olarak vücutta birçok biyolojik işlevi desteklemektedir. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), ekolojik ve ekonomik açıdan önemli olmakla birlikte aminoasit, vitamin ve mineral bakımından oldukça zengin içeriğe sahip bir balık türüdür. Bu çalışmada gökkuşığı alabalığında atık olarak ortaya çıkan deri ve kılçıktan elde edilen jelatin ve unun aminoasit profili değerlendirilmiştir. Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile ölçülerek besin değerinin belirlenmesine katkıda bulunmuştur. Deriden elde edilen en yüksek aminoasit değeri 1088,81 ng/ml olarak alaninde gözlenirken yalnızca homosistin aminoasiti bulunmamaktadır. Diğer örneklerde fenilalanin, 3-aminoizobütirik asit, gama-aminobütirik asit, norvalin, valin, glutamin, sitrülün, ornitin ve 1-metilhistidin aminoasitleri bulunmamaktadır. Kılçık jelatininde en yüksek olan değer 39,01 ng/ml ile aspartik asit, deri ununda 6,83 ng/ml ile alanin ve kılçık ununda 35,60 ng/ml ile 3-metilhistidinde gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre gökkuşığı alabalığı derisinden elde edilen jelatinde aminoasit konsantrasyonları diğer örneklerle kıyaslandığında belirgin şekilde yüksek çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aminoasit Profili; Gökkuşığı Alabalığı; Balık Jelatini; Balık Unu.

Teşekkür: Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi'nin ar-ge laboratuvarlarında bulunan test cihazları ve ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirildi.

Amino acid profile evaluation of gelatin and flours obtained from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin and bones

Abstract

Amino acids support many biological functions in the body as the building blocks of proteins. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is an ecologically and economically important fish species that is rich in amino acids, vitamins and minerals. In this study, the amino acid profile were evaluated. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to determine the nutritional value. The highest amino acid value obtained from the skin was observed in alanine as 1088.81 ng/ml, while only homocystine amino acid was absent. Phenylalanine, 3-aminoisobutyric acid, gamma-aminobutyric acid, norvaline, valine, glutamine, citrulline, ornithine and 1-methylhistidine amino acids were absent in other samples. The highest value was observed in aspartic acid with 39,01 ng/ml in fishbone gelatin, alanine with 6,83 ng/ml in skin meal and 3-methylhistidine with 35,60 ng/ml in fishbone meal. According to the results of the study, amino acid concentrations in gelatin obtained from rainbow trout skin were significantly higher compared to other samples.

Keywords: Amino Acid Profile; Rainbow Trout; Fish Gelatin; Fish Meal.

Acknowledgements: Fish Pro Jel was carried out using the test devices and equipment available in the R&D laboratories of Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi.

Siyez ve Dağdaş Buğday Fidelerinde Tuz ve Su baskınının Büyümeye Etkisi

Berna Çalıcı^{1*}, Nuray Ergün², Pelin Şengül Toraman³

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hatay, Türkiye

¹*E-mail: berna_kulac82@hotmail.com

*Orcid No: 0000-0002-5312-1792

²E-mail: ergun.nuray@gmail.com

Orcid No: 0000-0001-7725-3602

³E-mail: psengul31@gmail.com

Orcid No: 0000-0002-4213-765X

Özet

Tuzluluk (T), su baskını (SB), kuraklık vb. Streslere maruz kalan buğday fidelerinde büyüme ve verim olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu çalışmada, atasal buğday (*Triticum monococcum* L., Siyez) ve ekmeklik modern buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş) T, SB ve su baskını ile tuzun etkileşilerine (T+SB) maruz bırakılmıştır. T ve T+SB streslerinin etkisinde Siyez'in büyüme parametreleri, Dağdaş'a göre daha fazla etkilenmiştir. SB stresinin etkisinde klorofil miktarı (Kl) Siyez buğdayında azalma eğilimi gösterirken Dağdaş buğdayında artmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, Dağdaş buğdayı streslerin tek ve çapraz etkisine Siyez buğdayına göre daha fazla dayanıklılık göstermektedir. Stres etkisindeki tarım arazilerinden maksimum verimin elde edilmesinde modern buğdayların etkisi büyüktür.

Anahtar Kelimeler: *Triticum aestivum*; *Triticum monococcum*; sürgün boy; klorofil

Teşekkür: Danışanım Prof. Dr. Nuray Ergün'e ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Effects of Salt and Waterlogging on Growth in Eincorn and Dağdaş

Abstract

Growth and yield are negatively affected in wheat seedlings exposed to stresses such as salinity (T), flooding (SB), drought, etc. In this study, ancestral wheat (*Triticum monococcum* L., Siyez) and modern bread wheat (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş) was exposed to T, SB, flooding and salt interactions (T+SB). Under the influence of T and T+SB stresses, the growth parameters of Eincorn was affected more than those of Dağdaş. Under the influence of SB stress, the ammount of chlorophyll (Kl) tended to decrease in Eincorn wheat, while it increased in Dağdaş wheat. According to the study results, Dağdaş wheat is more resistant to single and cross effects of stresses than Eincorn wheat. Modern wheats have a great impact on obtaining maximum yield from stressed agricultural lands.

Keywords: *Triticum aestivum*; *Triticum monococcum*; shoot lenght; chlorophyll

Acknowledgements: I would like to thank my advisor Prof. Dr. Nuray Ergün and my laboratory colleagues.

NK-92 (Doğal Öldürücü) Hücrelerinden İzole Edilen Ekstrasellüler Veziküllerin Prostat Kanseri Hücrelerinin Proliferasyon ve Apoptoz Üzerindeki Etkisi

Mehtap Kızılpınar^{1*}, M. Reza Dastouri²

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara Türkiye

²Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

*E-mail: mkizilpinar@ankara.edu.tr

*Orcid No: 0000-0001-5943-9147

Özet

Prostat kanseri (PCa), neoplazi ile başlayarak adenokarsinoma kadar ilerleyen çok adımlı bir prosese sahip hormon duyarlı bir kanser türüdür. Kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler prostat kanseri ile mücadelede yararlanılan temel tedavi yöntemleridir. İlgili tedavilerin kısıtlı olması ve yan etki profillerinin yüksek seyredebilmesi nedeniyle yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. İmmünoterapi, kanser ile savaşta bağışıklık sistemini ön plana koyan cazip bir tedavi yöntemidir. Özellikle doğal öldürücü (NK) hücreler gibi bağışıklık hücrelerinin ve hücrelerden türevlenen ekstrasellüler veziküllerin (EV) immünoterapi olarak kullanımı oldukça umut vaat etmektedir. EV'ler eksozomları ve mikrovezikülleri ihtiva eden nano boyutlu hücre dışı keseciklerdir. EV'ler proteinler, nükleik asitler ve lipitler gibi biyomolekülleri içermekte olup pek çok fizyolojik ve patolojik olayda önemli rol oynarlar. İmmünomodülatör özellikleri sebebiyle bağışıklık sisteminin kansere karşı regüle edilmesinde rol oynamaktadırlar. NK türevli EV'ler, ihtiva ettiği Fas ligandı, perforinler, granzimler gibi yapılarla kanser hücrelerine karşı apoptozun indüklenmesini ve sitotoksiteyi sağlar. Ek olarak yapıları itibarıyla biyo-uyumlu olmaları, yarılanma ömürlerinin uzun olması, kan-beyin bariyerinden geçebilmeleri, tümör mikroçevresine invaze olabilmeleri ve modifikasyona yatkın olmaları EV'leri kanser ile savaşta önemli birer terapötik aday haline getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doğal öldürücü hücre; ekstrasellüler vezikül; prostat kanseri

Effect of Extracellular Vesicles Isolated from NK-92 (Natural Killer) Cells on Proliferation and Apoptosis of Prostate Cancer Cells

Abstract

Prostate cancer (PCa) is a hormone-sensitive cancer type with a multi-step process starting with neoplasia and progressing to adenocarcinoma. Chemotherapy, radiotherapy and surgery are the main treatment methods used in the fight against prostate cancer. New treatment methods are needed because relevant treatments are limited and their side effect profiles may be high. Immunotherapy is an attractive treatment method that prioritizes the immune system in the fight against cancer. In particular, the use of immune cells such as natural killer (NK) cells and extracellular vesicles (EV) derived from cells as immunotherapy is very promising. EVs are nano-sized extracellular vesicles containing exosomes and microvesicles. EVs contain biomolecules such as proteins, nucleic acids and lipids, and they play an important role in many physiological and pathological events. Due to their immunomodulatory properties, they play a role in regulating the immune system against cancer. NK-derived EVs provide apoptosis induction and cytotoxicity against cancer cells with structures such as Fas ligand, perforins, and granzymes. In addition, their biocompatibility due to their structure, their long half-life, their ability to pass through the blood-brain barrier, their ability to invade the tumor microenvironment and their tendency to modification make EVs important therapeutic candidates in the fight against cancer.

Keywords: Natural killer cell; Extracellular vesicle; Immunotherapy

Patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisinde yüksek ışığa verilen cevap ile ilişkili anahtar genlerin ve yolakların belirlenmesi

Tuğba Gürkök Tan^{1*}, Nuray Çiçek², Pınar Portakal¹

¹Çankırı Karatekin Üniversitesi, Gıda ve Tarım MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Çankırı, Türkiye

²Çankırı Karatekin Üniversitesi, Orman Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Çankırı, Türkiye

*E-mail: t.gurkokmail.com

*Orcid No:0000-0003-0599-5628

Özet

Karbonhidrat, lif ve potasyum kaynağı olarak insanların beslenmesinde ön plana çıkan Patates (*Solanum tuberosum* L.), dünya çapında en yaygın olarak tüketilen besinlerin başında yer almaktadır. Hayati bir çevresel faktör ve enerji kaynağı olan ışık, bitkinin yaşam döngüsü boyunca büyümesi üzerinde etkilidir. Patates bitkisinde yürütülen çeşitli çalışmalar ışığın bitkinin morfolojisi ve büyümesi üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada GEO veri tabanında yer alan veriler kullanılarak yine bu veri tabanına entegre GEO2R yazılımı ile patatesteki yüksek ışığa verilen cevap gen ifade analizleri ile belirlendi. İstatistiksel olarak anlamlı 1224 gen tespit edildi. PPI ağı ve hub genlerinin oluşturulmasında STRING, Cytoscape ve cytoHubba kullanıldı. Yolak analizleri için STRING veri tabanı kullanıldı. Belirlenen anahtar genlerin MAPK sinyal iletim yolağı, sirkadiyen ritim yolaklarında yer aldığı belirlendi. Bu çalışma patates bitkisinin yüksek ışığa verdiği tepkilerin moleküler mekanizmalarına ilişkin veriler sunarak, yüksek ışığa toleranslı patates çeşitlerinin gelişmesi ile ilgili yapılacak çalışmalara destek sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Patates; gen ifadesi, **yüksek ışık; anahtar gen; yolak**

Identification of key genes and pathways associated with high light response in potato (*Solanum tuberosum* L.)

Abstract

Potato (*Solanum tuberosum* L.), which is prominent in human nutrition as a source of carbohydrate, fiber and potassium, is one of the most widely consumed foods worldwide. Light, a vital environmental factor and energy source, is effective on the growth of the plant throughout its life cycle. Various studies conducted on the potato plant have shown that light has an effect on the morphology and growth of the plant. In this study, the response to high light in potatoes was determined by gene expression analyses using the data in the GEO database and the GEO2R software integrated into this database. 1224 statistically differentially expressed genes were identified. STRING, Cytoscape and cytoHubba were used to create the PPI network and hub genes. The STRING database was used for pathway analyses. It was determined that the key genes identified were involved in the MAPK signaling pathway and circadian rhythm pathways. This study may provide data on the molecular mechanisms of the potato plant's response to high light and support studies on the development of high light tolerant potato varieties.

Keywords: Potato; gene expression; high light; key gene; pathway

Meme kanseri tedavisinde TLR hedefli *in vitro* Fotoimmüno- Terapi uygulaması

Elif Nur Uzunhasanoğlu^{1,2*}, Hülya Yanık², Pelin Balçık-Ercin^{4,5}
Meltem Göksel^{2,3}, Yusufhan Yazır^{1,2}

¹Kocaeli Üniversitesi, Kök Hücre ve Doku Yenilenmesi A.D., Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi, Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi,
Kocaeli, Türkiye

³Kocaeli Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kocaeli, Türkiye

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

⁵Fauna ve Flora Araştırma ve Uygulama Merkezi, İzmir, Türkiye

*E-mail: akinelifnur@gmail.com *Orcid No: 0009-0004-0251-7529

Özet

Meme kanseri, kadınlarda en yaygın ikinci ölüm nedenidir. Meme kanserinin çok sayıda alt türü vardır ve tedavisinde tek bir yöntemin uygulanması yeterli değildir. Günümüzde kemoterapi, radyoterapi vb. geleneksel tedaviler yerini immünoterapi ve fotodinamik terapi (PDT) gibi yenilikçi yaklaşımlara bırakmıştır. Bu yöntemlerden biri olan, PDT ile immünoterapinin bir arada kullanıldığı fotoimmünoterapidir (PIT). Bu çalışmada, immünomodülatör imiquimod molekülü, etkili bir PDT ajanı olan ftalosiyanin molekülü ile konjuge edilmiştir. Bu ajanın, imiquimod'un kanser hücrelerinde bulunan TLR7/8'e özgünlüğü sayesinde tümör mikroçevresinde immün yanıtı desteklerken aynı zamanda ışık ve ftalosiyanin makromolekülünün ROS oluşturma kapasitesi ile de tümörü tahrip etmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışmada PIT ajanı sentezlenerek karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir ve *in vitro* koşullarda ajanın meme kanseri hücre hatları üzerindeki anti-kanser etkinliği araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fotodinamik Terapi, İmmünoterapi, Imiquimod, Meme Kanseri, Ftalosiyanin

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 122Z460 nolu "1001 projesi" ve KOÜ-BAP FOA-2024-3623 nolu "Öncelikli Alan Araştırma Projesi" tarafından desteklenmiştir. *In vitro* çalışmalar KÖ-GEM'deki hücre kültürü laboratuvarında yürütülmüştür.

Application of TLR targeted *in vitro* Photoimmuno-Therapy (PIT) in breast cancer treatment

Abstract

Breast cancer is the second most common cause of death among women. There are numerous subtypes of breast cancer, and a single treatment method is not sufficient for its therapy. Today, traditional treatments such as chemotherapy and radiotherapy are being replaced by innovative approaches like immunotherapy and photodynamic therapy (PDT). One such method is photoimmunotherapy (PIT), which combines PDT and immunotherapy. In this study, the immunomodulatory imiquimod was conjugated with phthalocyanine, an effective PDT agent. This agent aims to enhance the immune response in the tumor microenvironment through imiquimod's specificity for TLR7/8 receptors found in cancer cells, while simultaneously destroying the tumor through the light-induced reactive oxygen species (ROS) generating capacity of the phthalocyanine macromolecule. The PIT agent was synthesized and characterized in this study, and its anticancer efficacy was investigated *in vitro* on breast cancer cell lines.

Keywords: Photodynamic Therapy, Immunotherapy, Imiquimod, Breast Cancer, Phthalocyanine

Acknowledgements: This study was supported by The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK, 122Z460) and KOU-BAP (FOA-2024-3623). *In vitro* studies were conducted in the cell culture laboratory at KÖGEM.

ZNTİ-O2 Metal Kompozit Malzemesinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti ve Muhtemel Kullanım Avantajlarının Belirlenmesi

Güldane Bengi¹, Ece Serbest², Çağdaş Özdemir³, Arzu Erol Afatoğlu⁴,
Eslem Sarihan⁵, Edanur Tokgöz⁶

^{1,2,4,5,6}Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Zonguldak, Türkiye

³University of Basilicata, Bilim Fakültesi, Potenza, İtalya .

*E-mail: bengiguldane@gmail.com

*Orcid No: 0009-0000-2680-3336

Özet

Çalışmamız gram negatif bakterilerin, insanlara temas yoluyla bulaştığı bölgelerdeki metal yüzeylerin, antimikrobiyal aktivite gösterebilen metal matrisli kompozit malzemeler ile yer değiştirilmesi gibi temel bir motivasyona odaklanmıştır. Çalışmamızın kapsamı metal malzemelerin antimikrobiyal aktivitesinin direkt lavabolardaki metal yüzeylerden elde edilen mikroorganizmalar üzerinde test edilmesi şeklindedir. Gram negatif cins türlerine ait bakterilerin izolasyon ve karakterizasyonu yapılmıştır. Ek olarak bu antimikrobiyal aktivite çalışmaları iki farklı antimikrobiyal aktivite yöntemi üzerinde (Agar Disk Difüzyon ve Koloni Sayma Metodu) test edildi. İzole edilen gram negatif bakterilerin VITEK II cihazı aracılığıyla identifikasyonları yapılmıştır. Kompozit metal malzemelerin identifikasyonu tamamlanan gram negatif bakterilere karşı üstün bir antimikrobiyal etki göstermiştir. Malzemelerin olası kullanım yerleri için yapılacak deneyler belirlendi. Malzemenin üstün antimikrobiyal etkisi literatüre önemli katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kompozit malzeme; Gram (-) bakteri izolasyonu; İdentifikasyon; Antimikrobiyal etki; İnovasyon.

Teşekkür: 1919B012317420 numaralı projemiz 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı 2023/2 tarafından desteklenmiştir.

Determination Of Antimicrobial Activity Of ZNTI-O2 Metal Composite Material and Determination Of Possible Use Advantages

Abstract

Our study focuses on the basic motivation of replacing metal surfaces in areas where gram-negative bacteria are transmitted to humans through contact with metal matrix composite materials that can show antimicrobial activity. The scope of our study is to test the antimicrobial activity of metal materials on microorganisms obtained directly from metal surfaces in sinks. Isolation and characterization of bacteria belonging to gram-negative genus species were performed. In addition, these antimicrobial activity studies were tested on two different antimicrobial activity methods (Agar Disk Diffusion and Colony Counting Method). The isolated gram-negative bacteria were identified using the VITEK II device. The identification of composite metal materials has shown a superior antimicrobial effect against gram-negative bacteria. Experiments to be carried out for possible uses of the materials were determined. The superior antimicrobial effect of the material makes a significant contribution to the literature.

Keywords: Composite material;Gram (-) bacteria isolation;Identification;Antimicrobial effect;Innovation.

Acknowledgements: Our project number 1919B012317420 was supported by the 2209-A University Students Research Projects Support Program 2023/2.

***Lactiplantibacillus plantarum* GD2 Kaynaklı Liyofilize Paraprobiyotiğinin (PRB-Lp_{GD2}) Yara İyileşme Üzerinde Anti-oksidan ve Anti-inflamatuar Aktivitesinin Analizi**

Betül Yıldırım^{1*}, Mine Türkteş²

¹Gazi Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

*E-mail: yldrrmbetul@gmail.com

*Orcid No:0000-0001-8885-5131

Özet

Gelişmiş ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olarak görülen kronik yaralar, iyileşme hızının genellikle yavaş olduğu ve iyileşme eğiliminin olmadığı yaralardır. Bunun yanında yara iyileşmesinde kullanılan mevcut yaklaşımlar her yara tipinde etkili olmamaktadır. Kronik yaraları hedef alacak ve yara iyileşme sürecini hızlandırabilecek yeni potansiyel terapötik ajanlara ve bu ajanların yara iyileşmesi tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılması için yeni stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla kullanılan paraprobiyotiklerin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri çalışmalarla birlikte belirlenmiş olsa da paraprobiyotiklerin terapötik bir ajan olarak kronik yaralar üzerindeki etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, kronik yaraların tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılma potansiyeli olan *Lactiplantibacillus plantarum* GD2 kaynaklı liyofilize paraprobiyotiğinin (PRB-Lp_{GD2}) DPPH ve ABTS yöntemi, metal şelatlama aktivitesi, demir indirgeme gücü (FRAP), fosfomolibdat aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve ksantin oksidaz inhibisyonu aktivitesi ile anti-oksidan ve anti-inflamatuar aktiviteleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Paraprobiyotik; yara iyileşmesi; anti-oksidan; anti-inflamatuar

Teşekkür: Proje Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: FYL-2023-8945).

Analysis of Anti-oxidant and Anti-inflammatory Activity of *Lactiplantibacillus plantarum* GD2 Induced Lyophilized Paraprobiotic (PRB-Lp_{GD2}) on Wound Healing

Abstract

Chronic wounds, seen as an important health problem in developed countries, are wounds where the healing rate is generally slow and there is no tendency to heal. In addition, current approaches used in wound healing are not effective in all wound types. There is a need for new potential therapeutic agents target chronic wounds and accelerate the wound healing process, as well as new strategies for successful use in the treatment of wound healing. Although the positive effects of paraprobiotics used for this purpose on wound healing have been determined by studies, the effects of paraprobiotics on chronic wounds as a therapeutic agent are not yet fully known. In this study, DPPH and ABTS method, metal chelating activity, iron reducing power (FRAP), phosphomolybdate activity, lipid peroxidation inhibition and xanthine oxidase inhibition activity and anti-oxidant and anti-inflammatory activities of lyophilized paraprobiotic (PRB-Lp_{GD2}) induced *Lactiplantibacillus plantarum* GD2, which has the potential to be used as a therapeutic agent in the treatment of chronic wounds, were investigated. The results will be discussed.

Keywords: Paraprobiotic; wound healing; anti-oxidant; anti-inflammatory

Acknowledgements: The project was financially supported by Gazi University Scientific Research Projects Unit (project number FYL-2023-8945).

Manyetik Nanopartiküllerin Alzheimer Hastalığı'nda Epigenetik Regülasyonlar Üzerine Etkileri

Şennur Fuşa^{1*}, Mine Türктаş¹

¹Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

*E-mail: sennurfusa@gmail.com

*Orcid No:0000-0002-6317-2948

Özet

Alzheimer Hastalığı (AH) dünya genelinde yaşa bağlı gelişebilen ve demansa sebebiyet veren nörodejeneratif bir hastalıktır. Epigenetik DNA dizilerindeki değişikliklerden bağımsız olarak gen ifadesindeki değişimlerdir. Epigenetik regülasyonlardan biri olan DNA metilasyonu birçok biyolojik süreçte rol oynamakla beraber öğrenme, hafıza ve bilişsel gelişim gibi süreçlerde de önemli rollere sahiptir ve AH ile de yakından ilişkilidir. Manyetik nanopartiküller (MNP) küçük boyutları, biyoyumlulukları, toksik olmamaları gibi özellikleri sayesinde ilaçların geçemediği kan beyin bariyerini geçebildiği, ilaç dağıtım platformları ve daha çeşitli polimer kaplamalarıyla birlikte kullanıldıklarında AH tedavisinde dikkat çekici bir şekilde başarılı oldukları tespit edilmiştir. Metilasyona Duyarlı Çoğaltılmış Polimorfizm (MSAP) yöntemi genomik DNA'nın metilasyona duyarlı restriksiyon endonükleazları ile kesilmesi ve kesilen parçaların amplifikasyonuna dayanan Amplifiye Parça Uzunluğu Polimorfizmi (AFLP) yönteminin bir modifikasyonudur. Çalışmada MNP uygulamasının AH oluşturulmuş hücre hatlarının metilasyon profilleri üzerine etkileri (MSAP) tekniği ile incelenmiştir. Bu çalışma AH, epigenetik ve MNP'nin bir arada analiz edildiği ilk çalışmadır. Elde edilen veriler detaylı olarak sunulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı; biyoinformatik; epigenetik; manyetik nanopartikül; omik

Teşekkür: Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: FYL-2023-8920).

The Effects of Magnetic Nanoparticles on Epigenetic Regulations in Alzheimer's Disease

Abstract

Alzheimer's Disease (AD) is a worldwide age-related neurodegenerative disease that causes dementia. Epigenetics are changes in gene expression that are independent of DNA sequences. DNA methylation, one of the epigenetic regulations, plays a role in many biological processes and has important roles in processes such as learning, memory and cognitive development, and is closely associated with AD. Magnetic nanoparticles (MNPs) have been found remarkably successful in the treatment of AD when they are used in conjunction with drug delivery platforms and various polymer coatings, owing to their small size, biocompatibility, and non-toxic properties which allow them to cross the blood-brain barrier that drugs cannot penetrate. Methylation-Sensitive Amplified Polymorphism (MSAP) method is a modification of Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) that involves digestion of genomic DNA with methylation-sensitive restriction endonucleases followed by amplification of the digested fragments. The study investigated the effects of (MNP) application on the methylation profiles of AD-induced cell lines using the MSAP technique. This study is the first to analyze AD, epigenetics, and MNPs together. Detailed findings will be presented.

Keywords: Alzheimer's disease; bioinformatics; epigenetics; magnetic nanoparticles; omics

Acknowledgements: The project was financially supported by Gazi University Scientific Research Projects Unit (project number FYL-2023-8920).

Hastane Öncesi Tanısı Atlanan Kritik Hastalarda Kan Gazı Analizinin Prognostik Önemi

Türkan Güney^{1*}, Mehmet Dokur², Suna Koç³, Mehmet Karadağ⁴

¹*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,
Bilecik, Türkiye.*

²*Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

³*Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı,
İstanbul, Türkiye.*

⁴*Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoistatistik
Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.*

**E-Mail: turkan.guney@bilecik.edu.tr*

**Orcid No: (0000-0003-3078-9893)*

Özet

Bu çalışma, mavi kod prosedürü gerektiren ve hastane öncesi tanısı atlanmış olan kritik hastalarda kan gazı parametrelerinin prognostik önemini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Çalışmaya, hastaneye kritik durumda getirilen ve tanısı hastane öncesinde atlanan 16 hasta dahil edilmiştir. Hastaların demografik özellikleri ve kan gazı parametreleri kaydedilerek analiz edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile incelenmiş, değişkenler tanımlayıcı istatistiklerle özetlenmiştir. Normal dağılım gösteren veriler için Student t-testi, normal dağılmayan veriler için Mann-Whitney U testi kullanılarak iki bağımsız grup arasında karşılaştırmalar yapılmıştır. Hastaların yaş ortalaması 56.9 ± 22.1 yıl olup, %81.2'si erkektir. Resüsitasyon oranı %87.5, mortalite oranı ise %68.8 olarak bulunmuştur. Kan gazı analizinde pH, SO_2 , FHHb, glukoz ve laktat değerlerinin mortalite ile anlamlı ilişkili olduğu saptanmıştır. Ex hastalarda pH ve SO_2 ortalamaları yaşayanlara göre daha düşük ($p < 0.05$), FHHb, glukoz ve laktat değerleri ise anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Sonuç olarak, tanısı atlanan mavi kod gerektiren kritik hastalarda kan gazı parametrelerinin mortaliteyi öngörmeye önemli olduğu bulunmuştur. pH, SO_2 , FHHb, glukoz ve laktat seviyeleri prognostik belirteç olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Kritik hasta, kan gazı, prognostik faktör, mortalite

Prognostic Importance of Blood Gas Analysis in Critically Ill Patients with Missed Pre-hospital Diagnosis

Abstract

This study aims to evaluate the prognostic significance of blood gas parameters in critically ill patients who require a code blue procedure and whose diagnosis was missed in the pre-hospital setting. The study included 16 patients who were brought to the hospital in critical condition with diagnoses overlooked prior to admission. The demographic characteristics of the patients and their blood gas parameters were recorded and analyzed. The normality of the data distribution was assessed using the Shapiro-Wilk test, and variables were summarized using descriptive statistics. Comparisons between the two independent groups were made using the Student's t-test for normally distributed data and the Mann-Whitney U test for non-normally distributed data. The mean age of the patients was 56.9 ± 22.1 years, with 81.2% being male. The resuscitation rate was found to be 87.5%, and the mortality rate was 68.8%. Blood gas analysis revealed significant associations between pH, SO_2 , FHHb, glucose, and lactate values with mortality. The mean pH and SO_2 levels were lower in deceased patients compared to survivors ($p < 0.05$), while FHHb, glucose, and lactate values were significantly higher ($p < 0.05$). In conclusion, blood gas parameters have been found to be important in predicting mortality in critically ill patients with missed code blue diagnosis. pH, SO_2 , FHHb, glucose and lactate levels can serve as prognostic markers.

Keywords: Critically ill patient, blood gas, prognostic factor, mortality

Propolis ve arı ekmeğinin yağ asidi profilleri: Gıda raf ömrü üzerindeki etkileri

Zeynep Demirkan¹, Esra Balkis¹, Bülent Kaya¹, Fatma Caf³

¹Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Arı ve Arı Ürünleri Bölümü, Bingöl, Türkiye

²Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Bingöl, Türkiye

³Institute of Sciences Bingöl University, Food, Agriculture and Livestock Vocational School/
Veterinary Program, Bingöl, Turkey Orcid Id:0000-0002-0363-4848, fcac@bingol.edu.tr

*E-mail: z.engez@hotmail.com

*Orcid No: 0000-0002-8101-8194

Özet

Propolis ve arı ekmeği kimyasal açıdan oldukça zengin içeriğe sahip olmakla birlikte, içerikleri toplandıkları bölgeye göre değişkenlik göstermektedir. Arı ürünleri, kimyasal içerikleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle gıda endüstrisinde, özellikle raf ömrünün uzatılması açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Propolis ve arı ekmeğinin etil alkol ekstresinin FAME analizi sonucuna göre propoliste 10, arı ekmeğinde 20 adet yağ asidi tespit edilmiştir. Yağ asidi tayininde miktar olarak yüksek çıkan oleik asit, linoleik asit ve linolenik asitlerin tirozinaz enzimine bağlanma enerjileri hesaplandı. Yağ asitlerinin gıdalardaki raf ömrünü azaltan enzimlere karşı etkinliği, doğal arı ürünlerinin sentetik alternatifler yerine tercih edilmesine olanak tanıyabilir.

Anahtar Kelimeler: Propolis; Arı Ekmeği; Yağ Asidi; Yerleştirme; Tirozinaz.

Fatty acid profiles of propolis and bee bread: effects on the shelf life of foods

Abstract

Propolis and bee bread have a very rich chemical content, but their content varies depending on the region where they are collected. Bee products have a great potential in the food industry, especially in terms of extending shelf life, due to their chemical content and positive effects on health. According to the FAME analysis of the ethyl alcohol extract of propolis and bee bread, 10 fatty acids were detected in propolis and 20 in bee bread. The binding energies of oleic acid, linoleic acid and linolenic acids, which were found to be high in fatty acid determination, to the tyrosinase enzyme were calculated. The effectiveness of fatty acids against enzymes that reduce shelf life in foods may allow natural bee products to be preferred over synthetic alternatives.

Keywords: Propolis; Bee Bread; Fatty Acid; Docking; Tyrosinase.

In-silico Modelleme Teknikleri Kullanılarak Anti-CD20 Nanobody Dizayn

Özlem Gülaçtı^{1*}, Alper Yılmaz²

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
İstanbul, Türkiye

*E-mail: ozlem.gulacti@gmail.com

*Orcid No: 0009-0008-4411-9253

Özet

Hücrel tedaviler, özellikle kanser hastalarının tedavilerinde önemli bir gelişim göstermiştir. CAR-T hücre tedavileri, hastaya ait T hücrelerinin genetik olarak modifiye edilerek, bağışıklık sisteminin kanser hücrelerini tanıyıp yok etmesini sağlamaktadır. Ancak, geleneksel olarak kullanılan tek zincirli değişken parça içeren CAR-T hücrelerinin başlıca dezavantajları nörotoksitesi, immünogenitesi ve büyük boyutlarıdır. Boyutları nedeniyle hedefleme spesifikliği sınırlı kalabilmektedir. Nanobody'ler, küçük boyutları ve yüksek bağlanma afiniteleri sayesinde, CAR-T hücrelerinin daha spesifik ve etkili bir şekilde hedef hücrelere yönlendirilmesini sağlayabilir. Son 10 yılda B hücrelerini etkileyen lenfoma gibi çeşitli kanserleri tedavi etmek için B hücresi yüzey belirteci olan CD19'a özel dört CAR-T hücresi FDA onayı almıştır. Bu çalışmanın amacı, nanobody'lerin CAR-T hücre tedavilerindeki potansiyelini araştırmak ve in silico yöntemlerle sıklıkla CD19'un düşük/negatif fenotipiyle nükseden hastalığa karşı B hücrelerine daha spesifik yüzey molekülü CD20'ye karşı anti-CD20 nanobody CAR-T tasarımını optimize etmektir.

Öncelikle, mevcut nanobody dizileri ve hedef protein yapıları analiz edilmiş, kullanılmak istenen programlar test edilmiş, antijen-antikor yapısına en uygun olan lightdock seçilmiş ardından had-dock ile doğruluğu kanıtlanmıştır. Nanobody'lerin hedef antijenlerle etkileşimleri ve afiniteleri incelenmiştir. In silico analizler sonucunda, CAR-T hücreleri için ideal hedefleme özelliklerine sahip anti-CD20 nanobody tasarlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: CAR-T; in-silico; nanobody; CD20; lightdock

Anti-CD20 Nanobody Design Using In-silico Modeling Techniques

Abstract

Cellular therapies have shown significant progress, particularly in the treatment of cancer patients. CAR-T cell therapies involve genetically modifying a patient's T cells to enable the immune system to recognize and eliminate cancer cells. However, traditional CAR-T cells, which utilize single-chain variable fragments, have major disadvantages, including neurotoxicity, immunogenicity, and large size. Due to their size, their targeting specificity can be limited. Nanobodies, with their small size and high binding affinity, can potentially allow CAR-T cells to target cells more specifically and effectively. In the last decade, four CAR-T therapies targeting the B cell surface marker CD19 have received FDA approval for treating various cancers, including lymphomas affecting B cells. The aim of this study is to explore the potential of nanobodies in CAR-T cell therapies and to optimize the design of anti-CD20 nanobody CAR-T cells, which specifically target the CD20 surface molecule, in silico, for patients with relapsed disease characterized by low/negative phenotypes of CD19.

Initially, existing nanobody sequences and target protein structures were analyzed, and various programs were tested to determine the most suitable one for the antigen-antibody structure; Lightdock was selected and validated with Haddock for accuracy. The interactions and affinities of the nanobodies with the target antigens were examined. As a result of the in silico analyses, an anti-CD20 nanobody with ideal targeting properties for CAR-T cells was designed.

Keywords: CAR-T; in-silico; nanobody; CD20; lightdock

CCDC43'ün hücre içi lokalizasyonunun ve moleküler partnerlerinin incelenmesi

Merve Tuzlakoğlu Öztürk

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi Gebze 41400 Kocaeli.

CCDC43, sarılı sarmal domain içeren (coiled-coil domain-containing; CCDC) protein ailesinin yeni üyelerinden biri olup 17 kromozom üzerinde bulunan bir gen tarafından ifade olunan 224 amino asitlik bir proteindir. Genotype-Tissue Expression (GTEx) portalına göre, CCDC43 geni kas-iskelet dokularında aşırı ifade olmakta; baş, boyun ve üretral kanser türlerinde ise ifade artışı göstermektedir. CCDC43 proteinine bakıldığında, hidrofilik ve yüklü amino asitlerden oluştuğu ayrıca yapısında olası bir RNA-bağlanma bölgesi bulundurduğu görülmektedir. RNA-bağlayıcı proteinlerin (RBP) translyasyon faktörleri ile birlikte hücrede farklı stres koşullarına yanıt olarak membransız organelleri oluşturduğu bilinmektedir. Literatürde, CCDC43'ün moleküler işlevi, etkileşim partnerleri ve hücre içi lokalizasyonu ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, öncelikle farklı stres koşullarında CCDC43'ün hücre içi lokalizasyonu araştırıldı. Bu doğrultuda, CCDC43'ü yeşil floresan protein (GFP) ile birlikte ifade ettirerek normal ve stres koşullarında hücre içi yerleşimini konfokal mikroskopi kullanarak inceledik. Yanı sıra, BioID yöntemi ile CCDC43'ün hücre içinde etkileştiği proteinleri belirleme çalışmalarını gerçekleştirdik. Streptavidin kullanılarak yapılan ve kütle spektrofotometri analizini içeren BioID yöntemi sayesinde, CCDC43 proteininin Serin/Arginine splicing faktörleri (SRSF2, SRSF3, SRSF4, SRSF5, SRSF7) ile etkileşimi olabileceğini belirledik. Bu protein ailesinin RNA tanıma motifi bulundurması, CCDC43'ün öncül-mRNA splicing aşamasında SRSF ailesi proteinleri ile birlikte bu sürecin bir parçası olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar kelimeler: CCDC43, BioID, Splicing faktörleri

Investigation of CCDC43 cellular localization and molecular partners

CCDC43 is a new member of the coiled-coil domain-containing (CCDC) protein family located on chromosome 17, encoding a 224-amino-acid protein. According to the Genotype-Tissue Expression (GTEx) portal, the CCDC43 gene is overexpressed in musculoskeletal tissues and up-regulated in head neck, and urethral cancers. The overall amino acid composition of the CCDC43 protein is hydrophilic and the charged residues and putative RNA binding domain are consistent with the multivalent character of the protein. RNA-binding proteins (RBPs) and translation factors can form membrane-less organelles to respond to different stress conditions. To date, little is known about the molecular function, interactors, and cellular localization of CCDC43. In this study, we characterized the intracellular localization of and how change response of CCDC43 to the different stress conditions. We fused CCDC43 to green fluorescence protein (GFP) to visualize cellular localization under normal and stress conditions by using confocal microscopy. Then we investigated protein interactors of CCDC43 with an unbiased proximity-dependent biotinylation method BioID. We employed BioID2 based streptavidin pull-down assay followed by mass spectrophotometry analysis for potential interactors. Among the highest ranked candidates, Serine/Arginine splicing factors (SRSF2, SRSF3, SRSF4, SRSF5, SRSF7) were observed. Due to each of these family members containing an RNA recognition motif (RRM) for binding RNA and also an RS domain for binding other proteins, we suggest that CCDC43 can be related to pre-mRNA splicing and transport with the spliceosome machinery.

Keywords: CCDC43, BioID, Splicing factors

Kuraklık Stresindeki Buğday Fidelerinde Putresinin Fizyolojik Etkisi

Pelin Şengül Toraman^{1*}, Nuray Ergün², Berna Çalıcı³

^{1,2-3} Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hatay, Türkiye

¹*E-mail: psengul31@gmail.com

¹*Orcid No:0000-0002-4213-765X

²E-mail: ergun.nuray@gmail.com

²Orcid No:0000-0001-7725-3602

³ E-mail: berna_kulac82@hotmail.com

³Orcid No:0000-0002-5312-1792

Özet

Buğday (*Triticum turgidum* L. var. *dicoccum*, Gacer, *Triticum aestivum* L., Konya-2002) fidelerinde %5 polietilen glikol (PEG-6000) ve farklı putresin (PUT) dozlarının (0,5 mM ve 1 mM) etkileşimleri incelenmiştir. Buğday fidelerinin sürgün boyu, sürgün taze ve kuru ağırlığı, kök boyu, kök taze ve kuru ağırlığı, klorofil a (kl a), klorofil b (kl b), toplam klorofil (kl a+b) miktarlarını belirlemek amaçlanmıştır. %5 PEG-6000 etkisiyle meydana gelen kuraklık stresi etkisinde iki buğday çeşidi olumsuz etkilenerek sürgün boy, taze ağırlık, kuru ağırlık, klorofil miktarlarında azalma gözlenmiştir. Gacer buğdayında kök boyunda ve taze ağırlığında artış gözlenirken Konya-2002 de azalma gözlenmiştir. PUT etkisinde, her iki buğday çeşidinde de sürgün boy, taze ağırlık, kök boyu ve taze ağırlık miktarında, kl a, kl b, kl a+b, miktarlarında artışlar gözlenmiştir. Uygulanan %5 PEG-6000 buğdaylarda kuraklık stresi etkisi oluşturmuş ve PUT'in bu stres etkisini azalttığı gözlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız parametreler birlikte incelendiğinde Gacer buğdayının Konya- 2002' ye göre kuraklığa karşı daha toleranslı olduğu düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Gacer; klorofil; PEG-6000; *Triticum aestivum*

Teşekkür: Danışmanım sayın Prof. Dr. Nuray Ergün'e ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Physiological Effect of Putrescine on Drought Stressed Wheat Seedlings

Abstract

The interactions of % 5 polyethylene glycol (PEG-6000) and different putrescine (PUT) doses (0.5 mM and 1 mM) were examined in wheat (*Triticum turgidum* L. var. *dicoccum*, Gacer, *Triticum aestivum* L., Konya-2002) seedlings. It was aimed to determine the shoot length, shoot fresh and dry weight, root length, root fresh and dry weight, chlorophyll a (kl a), chlorophyll b (kl b), total chlorophyll (kl a+b) amounts of wheat seedlings. Under the drought stress effect caused by PEG, two wheat varieties were negatively affected and a decrease in shoot length, fresh weight, dry weight and chlorophyll amounts was observed. While an increase in root length and fresh weight was observed in Gacer wheat, a decrease was observed in Konya-2002. Under the PUT effect, increases were observed in shoot length, fresh weight, root length and fresh weight, kl a, kl b, total kl a, kl a/b amounts in both wheat varieties. The applied %5 PEG-6000 created a drought stress effect in wheat and it was observed that PUT reduced this stress effect. When the parameters we used in our study are examined together, it can be thought that Gacer wheat is more tolerant to drought than Konya-2002.

Keywords: Gacer; chlorophyll; PEG-6000; *Triticum aestivum*

Acknowledgements: I would like to thanks to my advisor, Prof. Dr. Nuray Ergün and all my friends who helped me in the laboratory.

NK-92 (Doğal Öldürücü) Hücrelerinden İzole Edilen Ekstrasellüler Veziküllerin Prostat Kanseri Hücrelerinin Proliferasyon ve Apoptoz Üzerindeki Etkisi

Mehtap Kızılpınar ^{1*}, M. Reza Dastouri²

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara Türkiye

²Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

*E-mail: mkizilpinar@ankara.edu.tr

*Orcid No: 0000-0001-5943-9147

Özet

Prostat kanseri (PCa), neoplazi ile başlayarak adenokarsinoma kadar ilerleyen çok adımlı bir prosese sahip hormon duyarlı bir kanser türüdür. Metastaz, prostat kanserine bağlı ölümlerin ana sebebi olup De Nunzio ve Lombardo tarafından yayımlanan verilere göre 2020 yılında dünya çapında 375.304 kişi yaşamını yitirmiştir. Kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler prostat kanseri ile mücadelede yararlanılan temel tedavi yöntemleri olup ilgili yöntemler hasta klinik durumu, yaşı, hastalık evresi gibi parametrelere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. İlgili tedavilerin kısıtlı olması ve yan etki profillerinin yüksek seyredilmesi nedeniyle yeni tedavi yöntemlerine ivedilikle ihtiyaç vardır.

İmmunoterapi, kanser ile savaşta bağışıklık sistemini ön plana koyan ve vücudun kendini savunmasını tetikleyen cazip bir tedavi yöntemidir. Son yıllarda prostat kanseri de dahil olmak üzere kanser ile mücadelede ilgili yöntemle önemli sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle doğal öldürücü (NK) hücreler gibi bağışıklık hücrelerinin ve hücre elemanlarının immünoterapi olarak kullanımına dayanarak yapılan çalışmalar oldukça umut vadetmektedir. Bahsi geçen bağışıklık hücre kaynaklı elemanlardan olan ekstrasellüler veziküller (EV)'ler, endosomal kökenli eksozomları ve plasma zarından köken alan mikrovezikülleri ihtiva eden nano boyutlu hücre dışı keseciklerdir. EV'ler proteinler, nükleik asitler ve lipitler gibi biyomolekülleri içermekte olup pek çok fizyolojik ve patolojik olayda önemli roller oynarlar. İmmunomodülatör özellikleri sebebiyle bağışıklık sisteminin kansere karşı regüle edilmesinde rol oynadıkları in vitro ve in vivo deneyler ile saptanmıştır. Ek olarak yapıları itibarıyla biyo-uyumlu olmaları, yarılanma ömürlerinin uzun olması, kan-beyin bariyerinden geçebilmeleri, tümör mikroçevresine invaze olabilmeleri ve modifikasyona yatkın olmaları EV'leri kanser ile savaşta birer terapötik aday haline getirmektedir.

NK hücrelerinden türevlenen EV'lerin kanser ile savaşta immünoterapi yöntemi olarak kullanılması ise yukarıda bahsi geçen avantajlara ek olarak NK hücresine özgü bazı spesifik üstünlükleri de beraberinde getirmektedir. EV'lerin ihtiva ettiği Fas ligandı, perforinler, granzimler gibi protein temelli yapılarla hem intrinsik hem de ekstrinsik yollarla kanser hücrelerine karşı apoptozun indüklenmesi ve sitotoksitenin sağlanması mümkün olmaktadır.

Özetle, NK hücrelerinden türevlenen EV'ler, kanser ile mücadelede kullanılmak üzere önemli bir potansiyele sahip olup üzerine daha çok çalışma yapılmaya değer bir konudur.

Anahtar kelimeler; Doğal öldürücü hücre, Ekstrasellüler vezikül, İmmunoterapi

Effect of Extracellular Vesicles Isolated from NK-92 (Natural Killer) Cells on Proliferation and Apoptosis of Prostate Cancer Cells

Abstract

Prostate cancer (PCa) is a hormone-sensitive cancer type with a multi-step process starting with neoplasia and progressing to adenocarcinoma. Chemotherapy, radiotherapy, and surgery are the main treatment methods used in the fight against prostate cancer. New treatment methods are urgently needed due to the limitations of the relevant treatments and the high side effect profiles.

Immunotherapy is an attractive treatment method that prioritizes the immune system and triggers the body's defense mechanism in the fight against cancer. Studies based on using immune cells and cellular elements, especially natural killer (NK) cells, as immunotherapy are quite promising. Extracellular vesicles (EVs),

which are among the immune cell-derived elements mentioned, are nano-sized extracellular vesicles containing endosomal exosomes and plasma membrane-derived microvesicles. EVs contain biomolecules such as proteins, nucleic acids, and lipids, which play important roles in many physiological and pathological events. It has been determined through *in vitro* and *in vivo* experiments that they play a role in regulating the immune system against cancer due to their immunomodulatory properties. In addition, their biocompatibility, long half-life, ability to pass through the blood-brain barrier, invade the tumor microenvironment, and their tendency to modify make EVs a therapeutic candidate in the fight against cancer.

The use of EVs derived from NK cells as an immunotherapy method in the fight against cancer brings with it some unique advantages specific to NK cells, in addition to the mentioned above. It is possible to induce apoptosis and provide cytotoxicity against cancer cells through both intrinsic and extrinsic pathways with protein-based structures such as Fas ligand, perforins, and granzymes contained in EVs.

In summary, EVs derived from NK cells have significant potential for use in combating cancer and further research is needed.

Key Words: Natural killer cell, Extracellular vesicle, Immunotherapy

PROCEEDINGS BOOK
BİLDİRİLER KİTABI
Tam Metinler

Rekombinant KATFO Enziminin MCF-7 Hücre Hattında *in vitro* İncelenmesi

**Tuğçe Karabulut¹, Elif Kale Bakır², Asuman Deveci Özkan,
Yonca Yüzügüllü Karakuş²**

¹Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 41001 Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 41001 Kocaeli, Türkiye

³Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, 54050 Sakarya, Türkiye

*E-mail: tugcekarabulu03@gmail.com

*Orcid No:0009-0005-2305-5455

Özet

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmada rol alan antioksidanlar, güçlü antikanser terapötikleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde tedavide kullanılan kemoterapi ilaçlarının insan vücudu üzerindeki zararlı yan etkileri dikkate alındığında doğal antioksidanlar umut vadeden antikanser bileşikleridir. Endojen kaynaklı antioksidanlardan katalaz enzimi hücre ömrünü etkileyen antioksidan enzimlerden biridir. Bu özellikleri, oksidatif stres varlığında oluşan reaktif oksijen türleri ile hücrenin baş edebilmesi esnasındaki katkılarından kaynaklanmaktadır. Son zamanlarda antikanser çalışmalarında hedef moleküllerin belirlenmesi, kanser tedavilerinde destek tedavi için ilaç keşiflerinde kullanılmalarını kolaylaştırmaktadır. Hedef molekül olarak *E. coli*'de laboratuvarımızda yıllardır saf olarak üretilen *S. thermophilum* kaynaklı rekombinant katalaz fenol oksidazın (rKATFO) keşfi ve etkili birçok özelliği (çift aktivite yeteneği, fenolik maddelerin antioksidan özelliklerini artırıcı etkisi, yüksek stabilite, vb); ancak kanser tedavisindeki rolü hala belirsizdir. Bu kapsamda *S. thermophilum* 'un çift aktiviteli rKATFO enziminin MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik (WST-1 analizi) etkisi incelendi. MCF-7 hücreleri öncelikle 96 kuyulu hücre kültürü plakalarına her kuyucuğuna 2×10^4 hücre/mL de olacak şekilde ekildi. Belirlenen konsantrasyonlarda rKATFO (25, 50, 100, 200, 500 ve 1000 U/mL) uygulanarak hücreler 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra her bir kuyuya 10 µL WST-1 boyası eklenip 1-4 saat 37°C'de inkübe edilecek ve 460-620 nm dalga aralığında Elisa Reader'da ölçümleri yapıldı. Canlılık analizi ile elde edilen veriler değerlendirilerek MCF-7 hücrelerinde rKATFO için 24 saat uygulama sonrasında 206 U/mL etkin konsantrasyon (IC_{50}) olarak belirlendi. Sonuçta, rKATFO'nun meme kanser hücre hattına karşı sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiş olup kanser hücrelerine karşı antiproliferatif bir ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Scytalidium thermophilum*; katalaz; fenol oksidaz; kanser; rekombinant

Teşekkür: Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından desteklenmektedir (Proje no: FYL-2024-3691).

***In vitro* Examination of Recombinant KATFO Enzyme in MCF-7 Cell Line**

Abstract

Antioxidants, which play a role in protecting against the harmful effects of free radicals, appear to be effective therapeutic agents against cancer. Considering the harmful side effects on the human body of chemotherapeutic drugs used for treatment today, natural antioxidants are among the most promising cancer-fighting agents. The enzyme catalase, one of the body's own antioxidants, is one of the antioxidant enzymes that influence cell life. These properties are due to its contribution to the cell's ability to deal with reactive oxygen species produced during oxidative stress. More recently, the identification of target molecules in anticancer studies has facilitated their use in drug discovery for adjuvant therapy in cancer treatments. The discovery of recombinant catalase phenol oxidase (rKATFO) derived from *S. thermophilum*, which has been produced in *E. coli* in our laboratory for years, and its numerous effective properties (dual activity capacity, increase in antioxidant properties of phenolic substances, high stability, etc.) should be mentioned as a target molecule; however, its role in cancer treatment is still unclear. In this context, the cytotoxic effect (WST-1 assay) of the double active rKATFO enzyme of *S. thermophilum* on the MCF-7 cell line was investigated. MCF-7 cells were first seeded in 96-well culture plates at 2×10^4 cells/mL each. After incubating the cells with rKATFO (25, 50, 100, 200, 500 and 1000 U/mL) at the specified concentrations for 24 and 48 hours, 10 μ L of WST-1 dye was added to each well, incubated at 37 °C for 1-4 hours and measured in the Elisa Reader at 460-620 nm. The data obtained by viability analysis were evaluated, and 206 U/mL was determined as the effective concentration (IC_{50}) for rKATFO in MCF-7 cells after 24 hours of application. In conclusion, rKATFO was found to exhibit a cytotoxic effect against breast cancer cell lines, and it is predicted to have the potential to be used as an antiproliferative agent against cancer cells.

Keywords: *Scytalidium thermophilum*; catalase; phenol oxidase; cancer; recombinant

Acknowledgements: This study has been supported by Kocaeli University (Project no: FYL-2024-3691).

1. GİRİŞ

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan serbest radikallerin artışı ile onları detoksifiye eden antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanabilir. Serbest radikaller (SR, ROS, reaktif oksijen türleri) ise bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, molekül ağırlığı düşük ve oldukça reaktif moleküllerdir. Oksidatif stresin, Alzheimer, Parkinson, diyabet, yaşlanma (aging), kanser, şizofreni, bipolar ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi çok sayıda hastalığın temel nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Hücreler, kendilerini zararlı miktardaki serbest radikallerden koruyabilmek amacı ile “antioksidan sistemler” veya kısaca “antioksidanlar” olarak adlandırılan savunma mekanizmalarından yararlanırlar (Aguirre vd., 2005; Özcan vd., 2015). Katalazlar (EC 1.11.1.6), hidrojen peroksitin

(H₂O₂) su ve moleküler oksijene parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir. Doğada yaygın olarak bulunmaktadırlar (Kurakov vd., 2001).

Kanser her zaman tüm hastalıklar içerisinde mortalitesi yüksek malign bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda, sosyal, ekonomik ve elektronik teknolojide artan kanserli hasta sayısı ile birlikte, artış eğilimi giderek daha şiddetli hale gelmektedir (Li vd., 2016). Birçok çalışmada litoleik asit, YF-452 ve berberin türevleri gibi bazı sentetikler ve türevlerinin meme kanseri üzerinde anti-tümör etki gösterdiği ve bunlar gibi kimyasal yolla sentezlenebilen küçük moleküllerin meme kanseri tedavisi için yeni potansiyel terapötik maddeler haline geldikleri belirtilmektedir (Lin vd., 2020). Şu anda piyasada temozolomid, doksorubisin ve sisplatin gibi birçok kemoterapi ilacı bulunmaktadır. Ancak bu ilaçların insan vücudu üzerindeki yan etkileri giderek daha belirgin hale gelmekte olup göz ardı edilemez durumdadır. Örneğin doksorubisin ciddi kardiyak toksisite oluşturabilirken, temozolomid kan, deri, göz ve gastrointestinal reaksiyonlara neden olabilmektedir (Zhang vd., 2016). Bu nedenle, kanser tedavisi için yeni ilaçların araştırılması önem arz etmektedir. 20. yüzyılın ortalarından beri, antioksidanlar yaşlanma, kanser ve (ya) inflamatuvar hastalıkların profilaktik tedavisi, hatta kanserde oksidatif stresi azaltarak kemo ve radyoterapinin olumsuz etkilerini iyileştirmek için de kullanılabilmektedir (Gulcin vd., 2020; Khurana vd., 2018). Ek olarak, antioksidanlar, kanser hastalarında hayatta kalma oranlarını arttırdığı ve terapötik etkinliği iyileştirdiği görülen kemoterapi kaynaklı toksisiteyi azaltmadaki ana etkinlikleri nedeniyle, farklı kemoterapötik ilaçların kullanımıyla ilişkili morbiditeyi azaltabilmektedir (Athreya ve Xavier, 2017).

Scytalidium thermophilum tarafından üretilen katalaz enzimi temel fonksiyonu yanında substratı H₂O₂ olmadan ya da herhangi bir kofaktöre ihtiyaç duymadan bazı fenolik bileşikler okside edebilmektedir. Çift aktivite yeteneğinden dolayı enzim kısaca KATFO (Katalaz Fenol Oksidaz) olarak isimlendirilmiştir. Etki ettiği fenolik bileşikler arasında katekol, kafeik asit, katekin, klorojenik asit ve L-DOPA gibi *o*-difenolikler ile hidrokinon gibi bazı *p*-difenolikler bulunmaktadır. Rekombinant ekspresyon sistemi kullanarak üretilen formu, doğal enzime göre daha yüksek (yaklaşık 3 kat) aktiviteye sahiptir (Koclar Avcı vd., 2013; Yuzugullu vd., 2013).

Son zamanlarda antikanser çalışmalarında hedef moleküllerin belirlenmesi, kanser tedavilerinde destek tedavi için ilaç keşiflerinde kullanılmalarını kolaylaştırmaktadır. Hedef molekül olarak *E. coli*'de laboratuvarımızda yıllardır saf olarak üretilen *S. thermophilum* kaynaklı rekombinant katalaz fenol oksidazın (rKATFO) keşfi ve etkili birçok özelliği (çift aktivite yeteneği, fenolik maddelerin antioksidan özelliklerini artırıcı etkisi, yüksek stabilite, vb) (Koclar Avcı vd., 2013; Sutay Kocabaş vd., 2008; Yuzugullu vd., 2013); ancak kanser tedavisindeki rolü hala belirsizdir. Bu kapsamda gerçekleştirilen çalışmada rKATFO enziminin yaygın kanser türlerinden biri olan meme kanserinde uygulanabilirliğini araştırmak üzere saf halde üretilen enzim MCF-7 hücrelerine uygulanarak sitotoksik (WST-1 analizi) etkisi araştırıldı.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Mikroorganizma, Kültür Hazırlanması ve rKATFO İçeren Süpernatantın Eldesi

KATFO enziminin genini taşıyan rekombinant plazmit (pET28a-KATFO), *E. coli* BL21 (DE3) star suşuna ait tek koloni 50 µg/mL kanamisin içeren LB besi yerinde (10 mL) çoğaltıldıktan sonra yine aynı miktarda kanamisin içeren 1 litre LB besiyerine aktarıldı ve 600 nm’de OD’si 0,4 ila 0,6 arasına gelene kadar büyümeye bırakıldı. İstenilen aralığa ulaşılmca enzim üretimini arttırmak amacıyla 0,1 mM IPTG (=Isopropylthio-β-galactoside) eklendi ve 120 rpm’de 24 saat inkübe edildi. Hücreler daha sonra santrifüj ile çöktürülerek (10 dak, 6000 rpm) -80 °C’de saflaştırmada kullanmak üzere muhafaza edildi (Yuzugullu vd., 2013).

2.2. rKATFO Saflaştırma

Afinite kromatografi yöntemiyle rKATFO saflaştırılmasında kullanılmak üzere -80 °C’de muhafaza edilen hücreler buzda eritildikten sonra 100 mL lizis tamponuna (50 mM Na-HEPES, %25 (w/v) süktroz, %1 (v/v) Triton X-100, 5 mM, MgCl₂·x6H₂O 1 mg/mL lizozim, 5 µL benzonase nucleace (5KU, Sigma), 1:4 oranında EDTA içermeyen proteaz inhibitör tablet, pH 8,0) transfer edilerek yaklaşık 3 saat lizis işlemine maruz bırakıldı. Hücreler daha sonrasında 10000xg’de çöktürülerek süpernatant kısmı bir gece boyunca bağlama tamponuna (0,5 M NaCl içeren 20 mM Sodyum fosfat, pH 7,4) karşı diyaliz edilerek saflaştırmada kullanılmak üzere hazır duruma getirildi. Bunun için 5 mL’lik HiTrap kolonu AKTA Prime Plus Kromatografi cihazına (GE Healthcare, Amerika) bağlandı. Daha sonra kolondan bağlama tamponu (20 mM Sodyum fosfat, 0,5 M NaCl, 20 mM İmidazol, pH:7,4) geçirilerek His-etiketli proteinlerin kolona bağlanması için hazır hale getirildi. Lizis işlemi uygulanan, hücrelerden arındırılan ve kolona yüklemek için hazır hale getirilen istenilen proteini içeren diyaliz örneği, 1,0 mL/dak akış hızı ile kolona yüklendi. Kolona bağlanmamış veya zayıf bağlanmış proteinleri uzaklaştırmak için kolon yıkama tamponu (20 mM Sodyum fosfat, 0,5 M NaCl, 40 mM İmidazol, pH 7,4) ile yıkama işlemine maruz bırakıldıktan sonra elüsyon tamponu (20 mM Sodyum fosfat, 0,5 M NaCl, 500 mM İmidazol, pH 7,4) ile hedef proteinin kolondan uzaklaştırılması gerçekleştirildi. Saflaştırma sırasında kullanılan tüm çözeltiler AKTA cihazına verilmeden önce 0,22 µm’lik filtrelerden geçirildi.

2.3. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE) Analizi

Afinite kromatografi sonrası toplanan fraksiyonlarda saf haldeki hedef proteinin tespiti için SDS-PAGE uygulandı. Bu analizde, Bio-Rad Mini-Protean (Amerika) sistemi kullanıldı. SDS-PAGE; % 5 v/v yükleme jeli (125 mM Tris-HCl (pH 6,8), % 0,1 SDS, % 5 Akrilamid ve TEMED) ve % 15 v/v ayırma jeli (375 mM Tris-HCl (pH 8,8), % 0,1 SDS, % 15 Akrilamid ve TEMED) hazırlanarak

gerçekleştirildi (Laemmli, 1970). Örnekler indirgeme ajanı içeren yükleme tampon ile 90 °C’de 10 dak kaynatıldı. Protein markör’ı olarak ProSieve™ (140-15 kDa) kullanıldı. Elektroforez 250 V’da 50 dk yürütülerek gerçekleştirildi. Yürütülen jeller Coomassie Brilliant Blue (CBB) boyama ile boyandı.

2.4. Katalaz Aktivite Analizi ve Protein Miktar Tayini

Saf haldeki protein örneğinin katalaz aktivite analizi spektrofotometrik (Cary 60 UV-Vis Spektrofotometre, Agilent) yöntemle yapıldı. Katalaz aktivite ölçümü için hazırlanacak reaksiyon karışımı (1 mL), 10 mM H₂O₂ solüsyonu (pH’sı 7,0 olan 100 mM Sodyum fosfat tamponu içinde hazırlanmış) ile uygun şekilde seyreltilmiş saf protein örneğinden oluşmaktadır. H₂O₂’nin kaybolma hızı 240 nm’de ($\epsilon_{240}(\text{H}_2\text{O}_2) = 39,4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; Merle vd., 2007) ölçülerek hesaplandı. Bir birim katalaz aktivite (1 U); 1 μmol H₂O₂’yi 1 dakikada parçalayabilen enzim miktarıdır (Yuzugullu vd., 2013). Katalaz aktivite ölçüm analizlerinde “kontrol” olarak reaksiyon ortamına enzim yerine tampon çözelti (100 mM Sodyum fosfat tamponu, pH 7,0) eklenerek aktivite ölçümleri yapıldı. Katalaz aktivite ölçümleri en az 3 kez tekrarlandı. Protein miktar tayini ise Bradford (1976) yöntemi ile standart olarak sıgır serum albümini kullanılarak belirlendi.

2.5. Hücre Kültürü Şartları

Çalışmada hormon duyarlı meme kanseri (MCF-7) hücre hatları kullanıldı. MCF-7 hücreleri DMEM (Dulbecco’s Modified Eagle Medium) besiyerinde 2 mM L-glutamin, 50 IU/mL penisilin ve 50 mg/mL streptomisin eklendikten sonra 37°C’ de 5 CO₂ olacak şekilde kültüre edildi.

2.6. WST-1 Canlılık Analizi

Tüm analizlerde WST-1 analizi ile belirlenecek en etkin saat dilimi ve konsantrasyonlarda saf rKATFO hücrelere uygulanarak deneyler gerçekleştirildi. MCF-7 hücreleri öncelikle 96 kuyulu hücre kültürü plakalarına her kuyucuğuna 2x10⁴ hücre/mL de olacak şekilde ekildi. Belirlenen konsantrasyonlarda rKATFO (25, 50, 100, 200, 500 ve 1000 U/mL, de Oliveira vd., 2016) uygulanarak hücreler 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra her bir kuyuya 10 μL WST-1 boyası eklenip 1-4 saat 37°C’de inkübe edildi ve 460-620 nm dalga aralığında Elisa Reader’da ölçümleri yapıldı. rKATFO ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı %100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları % olarak ifade edildi.

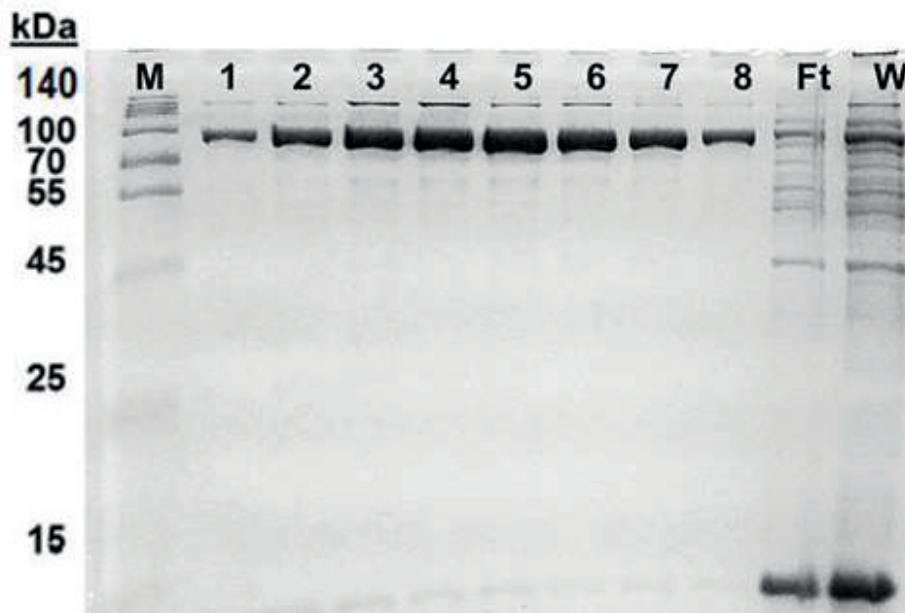
2.7. İstatistik Analizi

Veriler “Graph Pad Prism v.9” istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. 0,05’den küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. rKATFO Üretimi ve Saflaştırma Bulguları

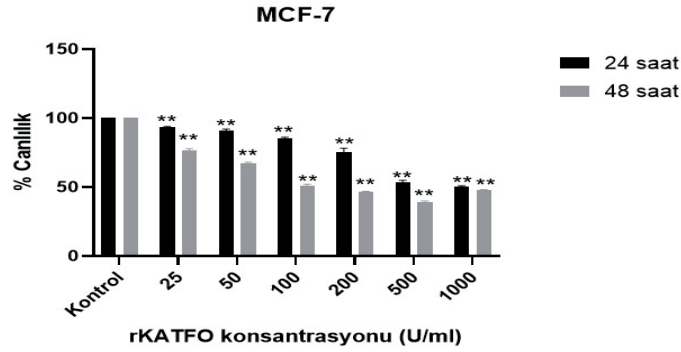
E. coli BL21(DE3)star hücrelerinden rKATFO üretimi için affinite kromatografisinde kullanmak üzere 50 mg ham ekstrakt edildi. Daha sonra rKATFO enzimini içeren süspansiyondan enzim artan imidazol konsantrasyonunda (0.1–0.5 M) ve 1 mL içeren fraksiyonlarda toplandı ve her bir fraksiyon SDS-PAGE ile analiz edildi (Şekil 1). Saf rKATFO proteini içeren fraksiyonlar bir gece 20 mM sodyum fosfat tamponuna (pH 7,4) karşı diyaliz edilerek imidazol uzaklaştırıldıktan sonra konsantre edildi.



Şekil 1: His-Bağlı Hi-Trap Chelating (GE Healthcare, Amerika) kolon kullanılarak saflaştırılan rKATFO proteininin SDS-PAGE jel görüntüsü. M, protein markör (marker) (ProSieve™, Lonza, İsviçre); 1.-8. sıra arası, 150-270 mM imidazole içeren fraksiyonlar; Ft, kolona bağlanmadan geçen süzüntü; W, 0,5 M NaCl ve 25 mM imidazol içeren 20 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,4) ile yıkanan fraksiyonu kapsamaktadır.

3.2. WST-1 Canlılık Analizi

rKATFO için canlılık analizi ile elde edilen veriler MCF-7 hücrelerinde 24 saat uygulama sonrasında 890 U/mL, 48 saat uygulamasından sonra 244 U/mL etkin konsantrasyon (IC_{50}) olarak belirlendi (Şekil 2). Elde edilen verilerde rKATFO için 100, 200, 500 ve 1000 konsantrasyonlarında canlılık sırasıyla %85, %75, %53 ve %50 olarak belirlendi.



Şekil 2: rKATFO'nun MCF-7 hücreleri üzerine 24 saat ve 48 saat boyunca olan sitotoksik etkisi (**p<0.01)

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, rKATFO enzimi başarılı bir şekilde saflaştırıldı. Tek aşamalı kromatografik yöntemle elde edilen saf enzim, SDS-PAGE analizinde belirgin bir bant (80 kDa) göstererek istenen saflık seviyesine (>%95) ulaştığını kanıtladı. Saf rKATFO, MCF-7 meme kanseri hücre hattında uygulandığında, hücre canlılığını önemli ölçüde azaltarak potansiyel antikanser özelliğini sergiledi.

Hücre kültürü çalışmalarında WST-1 canlılık analizi ile tespit edilen 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri boyunca belirlenen IC₅₀ değerleri, rKATFO'nun etkinliğini kantitatif olarak göstermektedir. Ayrıca, rKATFO'nun kanser hücreleri üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesinde kontrol grubu yapılan karşılaştırmalar, enzimin sitotoksik etkilerini doğrulamaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları, katalaz enziminin (rKATFO) kanser hücreleri üzerindeki etkisini ve anti-kanser potansiyelini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, rKATFO'nun terapötik bir ajan olarak geliştirilmesine yönelik gelecekteki çalışmalarda dikkate alınması gereken bazı kritik hususlar bulunmaktadır. Katalaz enziminin sadece MCF-7 meme kanseri hücre hattında değil, aynı zamanda diğer kanser türlerine ait hücre hatlarında da test edilmesi, geniş spektrumlu antikanser bir ajan olup olmadığının belirlenmesi açısından yararlı olacaktır. Özellikle farklı doku kökenine sahip kanser hücrelerinde yapılacak testler, katalaz enziminin kanser türleri arasındaki seçiciliğini ve etkinliğini değerlendirmemize olanak tanır. Bu öneriler doğrultusunda yapılacak araştırmalar, katalaz enziminin kanser tedavisinde etkin bir biyomolekül olarak kullanılmasına yönelik bilimsel literatüre önemli katkılar sağlayacaktır. Enzimin biyoteknolojik uygulamalarda kullanımına ilişkin daha ileri çalışmalar, rKATFO'nun klinik alanda kullanılabilirliği yolunda önemli bir adım olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje no: FYL-2024-3691).

KAYNAKLAR

1. Aguirre, J., Ríos-Momberg, M., Hewitt, D., Hansberg, W. 2005. “Reactive oxygen species and development in microbial eukaryotes”, Trends in Microbiology, 13(3), 111–118.
2. Athreya, K., Xavier, M. F. 2017. “Antioxidants in the Treatment of Cancer”. Nutrition and cancer, 69(8), 1099–1104.
3. Bradford, M. 1976. “A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding”, Analytical Biochemistry, 72, 248–254.
4. Kawabata, K., Yoshioka, Y., Terao, J. 2019. “Role of intestinal microbiota in the bioavailability and physiological functions of dietary polyphenols”, Molecules, 24(2), 370.
5. Khurana, R. K., Jain, A., Jain, A., Sharma, T., Singh, B., Kesharwani, P. 2018. “Administration of antioxidants in cancer: debate of the decade”. Drug discovery today, 23(4), 763–770.
6. Kurakov A.V., Kupletskaya M.B., Skrynnikova E.V., Somova N.G. 2001. “Search for micromycetes producing extracellular catalase and study of conditions of catalase synthesis”, Applied Biochemistry and Microbiology 37, 59–64.
7. Li, Z., Su, H., Yu, W., Li, X., Cheng, H., Liu, M., Pang, X., Zou, X. 2016. “Design, synthesis and anticancer activities of novel otobain derivatives”, Organic & biomolecular chemistry, 14(1), 277–287.
8. Ögel, Z. B., Yüzügüllü, Y., Mete, S., Bakir, U., Kaptan, Y., Sutay, D., Demir, A. S. 2006. “Production, properties and application to biocatalysis of a novel extracellular alkaline phenol oxidase from the thermophilic fungus *Scytalidium thermophilum*”. Applied Microbiology and Biotechnology, 71(6), 853–862.
9. Yuzugullu, Y., Trinh, C. H., Smith, M. A., Pearson, A. R., Phillips, S. E. V., Sutay Kocabas, D., Bakir, U., Ogel Z. B., McPherson, M. J. 2013. “Structure, recombinant expression and mutagenesis studies of the catalase with oxidase activity from *Scytalidium thermophilum*”, Acta Crystallographica Section D 69, 398–408.
10. Zhang, J., Luo, Y., Zhao, X., Li X., Li, K., Chen, D., Qiao, M., Hu, H., Zhao, X. 2016. “Co-delivery of doxorubicin and the traditional Chinese medicine quercetin using biotin-PEG2000-DSPE modified liposomes for the treatment of multidrug resistant breast cancer”. The Royal Society of Chemistry Advances, 6, 113173–113184.

Çörek otu (*Nigella sativa*) ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ve sitotoksitesine farklı çözücü seçiminin etkisi

Esra Balkis^{1*}, Zeynep Demirkan², Bülent Kaya¹

¹ Fen Bilimleri Enstitüsü Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genteik Bölümü, Bingöl-12000 Türkiye Orcid Id: 0000-0002-7148-2145, balkisesra@gmail.com
Orcid Id: 0000-0002-1216-6441, bkaya@bingol.edu.tr

² Bingöl Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Arı ve Arı Ürünleri Bölümü, Bingöl-12000, Türkiye Orcid Id: 0000-0002-8101-8194 *z.engez@hotmail.com

*E-mail: balkisesra@gmail.com

*Orcid No: 0000-0002-7148-2145

Özet

Nigella sativa (*N. sativa*) tohumu gıda kullanımının yanı sıra tedavi amacıyla da kullanılmaktadır. Çalışmada, *N. sativa* tohumunun; metanol (ME), su (SE), sirke (SiE) kullanılarak ekstraksiyonu yapılmış, toplam fenolik/flavonoid içerik, DPPH radikal süpürme aktivitesi ile insan deri hücre hattı (HDF) ve insan melanom hücre hattı (451-Lu) üzerine etkisi belirlenmiştir. Bulgulara göre, toplam fenolik madde miktarı metanol ile hazırlanmış *N. sativa* ekstraktında; (ME) 72,08 mg GAE/g; toplam flavonoid madde miktarı 192,30 mg QE/g; DPPH aktivitesi %85,17 olarak belirlenmiştir. Sitotoksik analizlerde, sağlıklı deri (HDF) ve deri melanom (451-Lu) hücrelerde sitotoksik etkinin en yüksek olduğu konstrasyon 1000 µg/mL olarak belirlenmiştir. Metanol çözücü sisteminin, *N. sativa* tohumunun aktif bileşenlerinin ekstraksiyonunda en yüksek verimi sağladığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çörek otu; Antioksidan; Sitotoksitesite; Ekstraksiyon; Tıbbi Bitkiler

Effect of solvent selection on antioxidant capacity and cytotoxicity of black cumin extracts

Abstract

Black cumin seed is used not only for food purposes but also for therapeutic purposes. In this study, black cumin seeds were extracted using methanol, water, and vinegar, and the total phenolic/flavonoid content, DPPH radical scavenging activity, and their effects on human dermal fibroblast (HDF) and human melanoma (451-Lu) cell lines were determined. According to the findings, the total phenolic content in the methanolic black cumin extract (ME) was found to be 72.08 mg GAE/g; the total flavonoid content in ME was 192.30 mg QE/g; and the DPPH activity in ME was 85.17%. In cytotoxic analyses, the concentration with the highest cytotoxic effect on healthy and melanoma cells was measured as 1000 µg/mL. It was determined that methanol provided the highest yield in extracting the active components of black cumin seeds.

Keywords: Black cumin; Antioxidant; Cytotoxicity; Extraction; Medicinal plants

1. GİRİŞ

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre, dünyada yaklaşık 72 bin çiçekli tıbbi bitki, ülkemizde ise yaklaşık 500 bitki tıbbi ve aromatik bitki olarak değerlendirilmektedir (1,2). Ülkemizde genellikle tıbbi ve aromatik bitkiler halk hekimliğinde kullanılmakla birlikte önemli bir ekonomik değere sahiptir (3). *N. sativa*; siyah kimyon, bereket tanesi ve siyah tohum gibi farklı isimlendirilmeleri olup *Ranunculaceae* familyasının *Nigella* cinsinde yer almaktadır. Genellikle Akdeniz ülkelerinde yayılış göstermekte, tek yıllık, otsu bitkinin 20 türünün 12'si ülkemizde yetişmektedir (1,4,5,6,7). *N. sativa* bitkisinin tohumları özel kokulu olup baharat olarak değerlendirilmesinin yanında ilaç, parfümeri ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır (8).

N. sativa bitkisinin sabit ve uçucu yağlarından ağrı kesici, antibakteriyel, antitümör ve kan şekeri düşürücü etkileri sebebiyle modern tıpta da kullanımı yaygındır (9). *N. sativa*'da bulunan timokinin bitkiye; antikanser, antioksidan, antihistaminik, antinflamatuar ve antimikrobiyal gibi farklı farmakolojik özellikler sağlamaktadır (10). Katı veya sıvı fazda bulunan bir ya da birden fazla bileşiğin farklı çözünürlük özelliklerinden yararlanılarak diğer bir sıvı faza alınması işlemi ekstraksiyon olarak adlandırılmaktadır (11). Ekstraksiyon gıda analizlerinde hızlı, doğru ve güvenilir sonuçlar elde etmek için uygulanan ilk basamaktır (12).

Bu çalışmada farklı polarite seviyesine sahip olan çözücü sistemlerin *N. sativa* üzerindeki etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Farklı polaritedeki çözücülerden alınan ekstraktlardaki *N. sativa* ekstraksiyonlarının toplam fenolik içeriği, toplam flavonoid içeriği, DPPH radikal süpürücü aktivitesi ve sitoksisitesi üzerinde etkinlikleri değerlendirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Çörek Otu Ekstraksiyonu

10 gr öğütülmüş *N. sativa* tohumları 100 mL metanol, su ve sirke gibi farklı çözücüler içerisinde 48 saat boyunca 40 °C de manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Ardından oda sıcaklığına gelmesi beklenerek karışım filtre kâğıdıyla süzüldü. 24 saat süresince +4 °C buzdolabında bekletilerek takip eden gün analizlere geçildi.

Antioksidan Analizler

Toplam Fenolik Madde Tayini

N. sativa 'nın farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri Mohamed Hajji vd.(2010) yöntemine göre belirlendi. Numuneler 500 uL olacak şekilde deney tüplerine alındı, üzerlerine 500 uL Folin reaktifi eklendi. Ardından 500 uL Na₂CO₃ ve 3500 uL saf su eklenerek her bir deney tüpü vortekslendi. Deney

tüpleri karanlık laboratuvar ortamında 90 dk boyunca bekletildi. Bekleme süresi sonunda, spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) kullanılarak 760 nm’de absorbans ölçümleri yapıldı. Sonuçlar galik asit eşdeğerliği olarak hesaplandı (13).

Toplam Flavonoid Madde Tayini

N. sativa’nın farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların toplam flavoid içerikleri Zhishen vd. (1999) yönetimine göre, numunelerden 250 uL deney tüplerine alındı, üzerlerine 150 uL NaNO₂ eklendi ve 6 dk beklemenin ardından 75 uL AlCl₃ eklendi. 5 dk boyunca laboratuvar ortamında bekletilen deney tüplerine 1000 uL NaOH ve 2500 uL saf su eklendi. Eklemeler sonunda numuneler vortekslendi. Spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) kullanılarak 510 nm’de absorbans ölçümleri yapılarak quercetin eşdeğerliği olarak hesaplandı (14).

DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi

N. sativa’nın farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların DPPH radikal süpürücü aktivitesi Hatano vd. (1988), yöntemine göre belirlendi. Numunelerden 0.3 mL alındı, üzerine 2.7 mL taze olarak hazırlanan DPPH solüsyonu deney tüplerine eklendi ve örnekler vortekslendi. 60 dk boyunca karanlık laboratuvar ortamında bekletildi. Kontrol olarak örnek yerine saf su kullanıldı. Spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) ile 517 nm’de absorbans ölçümleri BHA ile kıyaslanarak hesaplandı (15).

$$\text{DPPH scavenging (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100]$$

* A_C: Absorbance of control sample

* A_E: Absorbance of the example sample

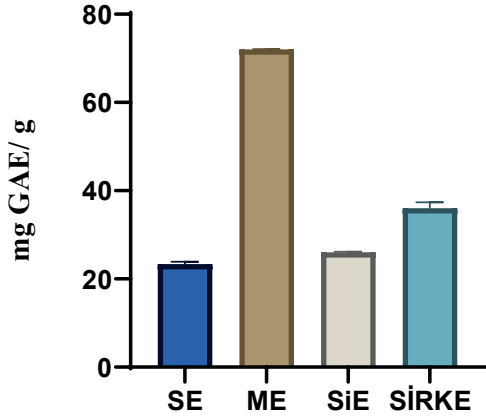
Sitotoksizite Analizleri

500 mL DMEM besiyerine %10 (50 mL) FBS ve %1 (5 mL) penisilin-streptomisin eklendi. Kullanılincaya kadar +4 C’de tutuldu. -80 °C’den stok halde tutulan 451-Lu ve HDF hücre hatları kullanıldı. Karyotipte çözünen hücreler 15 ml’lik falcon tüplerine alındı ve 4 ml DMEM besiyeri eklendikten sonra 4500 rpm’de 4 dakika santrifüj edildi ve üstteki sıvı atıldı. Hücrelere tekrar 4 mL besiyeri eklendi ve pipetleme yapıldı. Bu işlemten sonra hücreler 25 falkona aktarıldı, 37°C ve %5 CO₂ inkübatöründe çoğaltıldı ve 96’lık well platede kuyucuklara 10.000 hücre gelecek şekilde ekim yapıldı. Numunelerin konsantrasyonları 2 mg/mL olarak ayarlandı. Seri dilüsyonlarla farklı konsantrasyonlarda uygulama (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 µg/mL) yapıldı. 24 saat boyuna 37°C ve %5 CO₂ inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuğa 50 µL XTT (*sodium 3’-[1- (phenylaminocarbonyl)- 3,4- tetrazolium]-bis (4-methoxy6-nitro) benzene sulfonic acid hydrate*) eklendi, 4 saatlik beklemenin ardından 450-630 nm’de ölçüm yapıldı (Spectramax Plus 384 Elisa mikropilaka).

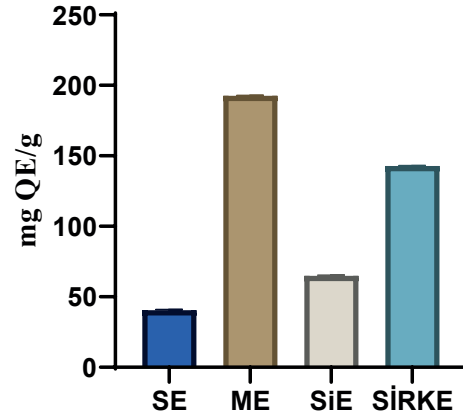
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Antioksidan Analizler

Sentetik antioksidanların yerine özellikle bitkisel kökenli doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin eldesi ve kullanımı için büyük bir ilgi mevcuttur (16). *N. sativa* tohumu ve tohumundan elde edilen ekstraktların antioksidan özelliklerinden dolayı eczacılık, kozmetik ve gıda endüstrisi gibi farklı alanlarda yoğun bir şekilde kullanılmakta, özellikle besinlerin depolanma şartlarında ki bozulmalarının önlemesi için kullanılan bitkisel uçucu yağlar arasında *N. sativa* yağı yer almaktadır (17). Doğal antioksidanların en önemli gruplarını fenolik maddeler oluşturmaktadır (18). *N. sativa* uçucu yağının bakteri öldürücü, kanser önleyici, iltihap giderici, antidiyabetik, antiradikal gibi çeşitli özellikleri Sultan, (19); Lutterodt vd. (20); Bourgou vd. (21) tarafından yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (19,20,21). İlhan (22) ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, *N. sativa* yağının farelerde antioksidan özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (22). Kar vd. (2007) yaptıkları çalışmada iki farklı yöreden elden edilen *N. sativa* tohumlarının Folin-Ciocalteau yöntemine göre elde edilen toplam fenolik madde içerikleri 1451 mg/GAE g ve 1588 mg/GAE g olarak bulunmuştur (23). Hindistan bölgesinden alınan *N. sativa* tohumlarının metanolik ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini 4,1 mg GAE/ g ekstrakt olarak bulmuşlardır (24). Buran vd. (25) tarafından üzüm çekirdeği, *N. sativa* ve keten tohumu tozlarının antioksidan, fenolik ve flavonoid madde miktarlarının belirlendiği çalışma da *N. sativa* tohumlarının metanol ekstraktlarında en yüksek fenolik madde miktarına ($39,18 \pm 0,87$ mg/g GAE) sahip olduğunu tespit etmişlerdir (25). Bu çalışmada üç farklı çözücü kullanarak yapılan analizlerde, metanol ekstraktlarının en yüksek fenolik ve flavonoid madde içeriklerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı SE 23,77 mg GAE/g, SiE 26,12 mg GAE/g, ME 72,08 mg GAE/g, sirke 36,99 mg GAE/g; toplam flavonoid madde miktarı SE 40,3 mg QE/g, SiE 64,63 mg QE/g, ME 192,30 mg QE/g, sirke 142,46 mg QE/g olarak bulunmuştur. Sirkenin asidik özelliğinden dolayı fenolik ve flavonoid miktarı yüksek çıkmıştır.

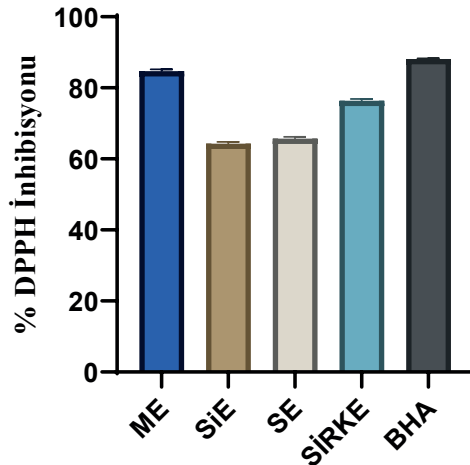


Şekil 1. Toplam fenolik madde miktarı



Şekil 2. Toplam flavonoid madde miktarı

Kar vd. (23) tarafından Samsun ve Mısır'dan temin ettikleri *N. sativa* tohumlarının antioksidan aktivitesinin incelendiği çalışmada, *N. sativa* ekstraktlarının endüstride yaygın olarak kullanılan BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlara kıyasla her iki *N. sativa* tohumunun daha iyi aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır (23). DPPH yönteminde 517 nm'de okunan absorbans değerleri azaldıkça serbest radikal süpürücü aktivitesi o kadar artmaktadır (26). Numunelerimizin DPPH radikal süpürücü aktivitesi yüzde inhibisyon olarak hesaplanmış ve SE %66,23, SiE %64,77, ME %85,17, sirke %76,87 ve sentetik antioksidanlardan olan BHA'nın %88,37 olarak bulunmuştur.



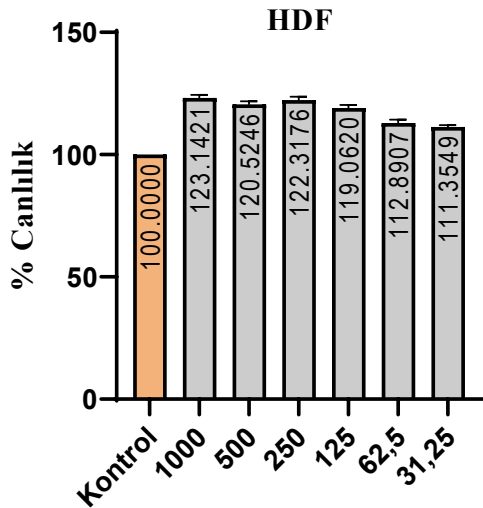
Şekil 3. Farklı ekstraktların DPPH giderim aktivitesi

Sonuçlar arasındaki rakamsal farklılıklar, Ashraf vd. (27)'nin belirttiği gibi bitkinin yetiştirilme zamanı, iklim ve çevre koşullarındaki farklılıklar ile toprak yapısındaki değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (27).

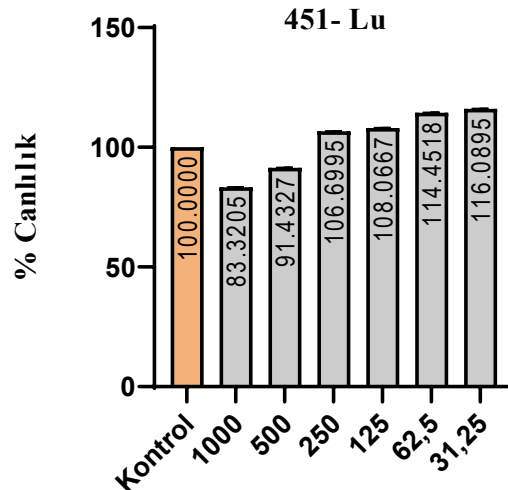
Sitotoksosite Analizleri

Bitkilerden elde edilen ekstraktların sitotoksitesini değerlendirmek için çeşitli yöntemler mevcuttur. Sitotoksosite değerlendirmeleri için kullanılan standart test yöntemleriyle daha düşük ve daha yüksek toksisite ile sonuçlanabilecek konsantrasyonlar belirlenebilir (28,29). Doğal bileşiklerin sitotoksik etki mekanizmalarıyla hücre morfolojik değişikliklere yol açabilir, bağlanmayı önleyebilir, hücre döngüsüne ve DNA replikasyonunu inhibe ederek hücre canlılığını önemli ölçüde azaltabilir (30). Farklı çözücülerle elde edilen *N. sativa* ekstraktlarıyla hazırlanan düşük ve yüksek konsantrasyonlarla 451-Lu ve HDF hücre hatlarında sitotoksosite analizleri gerçekleştirilmiştir. SE, ME ve SiE ekstraksiyonlarında sağlıklı hücre hattı olan HDF hücrelerinin tüm konsantrasyonlarında hücre canlılık oranı kontrole göre artmışken insan melanom hücre hattı olan 451-Lu hücrelerinde hücre canlılık oranı kontrole göre azalmıştır. Sitotoksik etki değerlendirmesinde, ekstraktların sitotoksik özelliklere sahip olduğu belirlenmiş bununla beraber ME ekstraktında sağlıklı hücrede canlılığa pozitif etki yaparken kanserli hücrelerin canlılıklarını azalttığı belirlenmiştir.

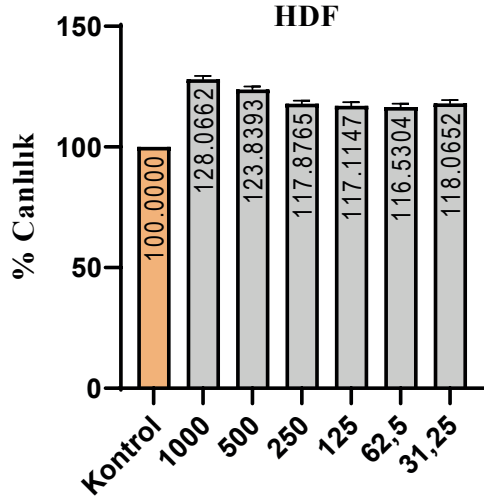
N. sativa tohumunda bulunan timokinon, hücre döngüsünü kontrol eder ve hücre çoğalmasını düzenleyen gen proteinlerin ifadesini etkileyebilmektedir. Hücre döngüsünde farklı noktalara etki eden timokinonun kanser hücreleri üzerinde öldürücü etki yaptığı önceki araştırmalarda bildirilmiştir. Araştırmalar, çözücü olarak metanol kullanılarak elde edilen *N. sativa* tohumu ekstraktlarının, sağlıklı hücreler üzerine sitotoksik etki göstermediğini buna karşın kanserli hücrelerin canlılığını azalttığını göstermektedir (28,29,30).



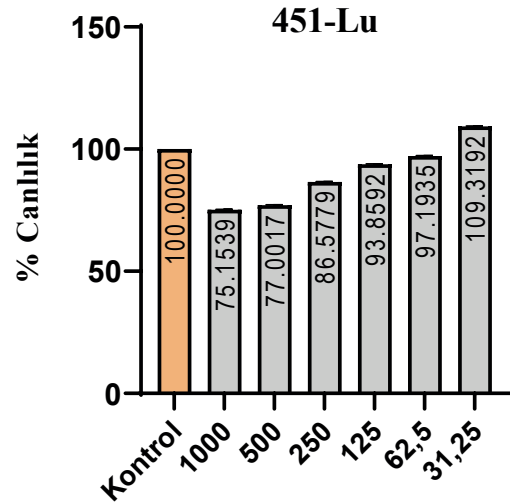
Şekil 4. SE Konsantrasyon (µg/mL)



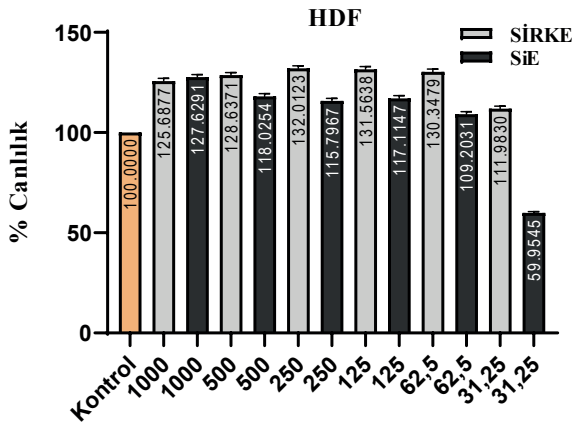
Şekil 5. SE konsantrasyon (µg/mL)



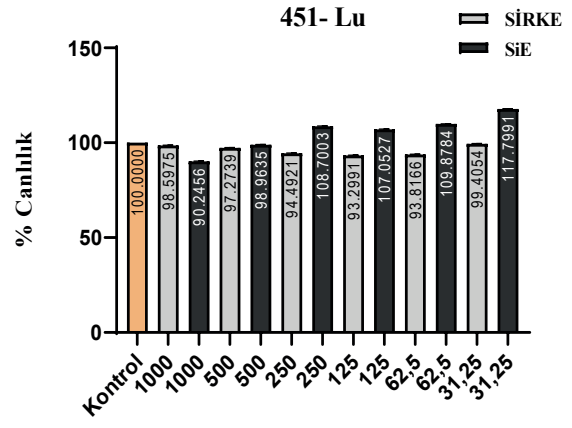
Şekil 6. ME Konsantrasyon (µg/mL)



Şekil 7. ME Konsantrasyon (µg/mL)



Şekil 8. Sirke ve SiE Konsantrasyon (µg/mL)



Şekil 9. Sirke ve SiE Konsantrasyon (µg/mL)

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

N. sativa 'nın tohumlarında bulunan aktif bileşikler, özellikle timokinonun; antikanser, antioksidan ve antihistaminik etkilerine dair birçok çalışma mevcuttur. Çeşitli hücre hatlarında gerçekleştirilen sitotoksik araştırmalar, bu bileşiklerin kanser yolaklarına hücre döngüsünün farklı aşamalarında müdahale ederek kanser hücrelerinde apoptozu indüklediğini ortaya koymuştur.

Mevcut çalışma sonucunda literatürle tutarlılık gösteren analiz sonuçları farklı çözücülerle elde edilen *N. sativa* tohumu ekstraktlarının antikanser ve antioksidan özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı tıbbi uygulamalarda önemli bir potansiyelinin olduğunu doğrulamıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma YÖK 100/2000 Bursiyerleri tarafından gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı YÖK'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. H Karadoğan & T. Çarkçı Isparta bölgesinde kültüre alınan aromatik bitkilerin drog ve uçucu yağ verimlerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 2001;54:60-71.
2. Karik Ü & M Öztürk. Türkiye dış ticarinde tıbbi ve aromatik bitkiler. Bahçe, 2009; 38(1):21-31.
3. Bayram E, Kırıcı S, Tansı S, vd. tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. TM-MOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII Teknik Kongresi, 2010; 11-15.
4. Turhan B. Türkiye'de bitkiler ile tedavi: Geçmişte ve bugün. Nobel Kitapevleri, 1999.
5. Ceylan A, Tıbbi bitkiler (I. Genel Bölüm). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 1983;312.
6. Seçmen Ö, Gemici Y, Bekat G, vd. Tohumlu bitkiler sistematigi. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 2000;116, 394.
7. Türközü D, & Yıldırım B, Van ekolojik koşullarında farklı azot dozlarının ve ekim zamanlarının çörek otu (*Nigella sativa L*)'nda verim, verim unsurları ve kalite üzerine etkileri. Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 2007;839-842.
8. Ceylan A. Tıbbi bitkiler II: (uçucu yağ bitkileri). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi. 1997.
9. Kılıç C, & Arabacı O. *N. sativa (Nigella sativa L)*'nda farklı ekim zamanı ve tohumluk miktarının verim ve kaliteye etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2016;13(2):49-56.
10. Güzelsoy P, Aydın S, & Başaran A. Potential effects of thymoquinone the active constituent of black seed (*Nigella sativa L.*) on human health. Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi. 2008;7.2.
11. Nakilcioğlu E, & Ötleş S. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu ve gıda sanayindeki uygulamaları. Akademik gıda. 2014;12(2):88-94.
12. Benthin B, Danz B, & Hamburger M. Pressurized liquid extraction of medicinal plants. Journal of Chromatography A. 1999;837(1-2): 211-219.
13. Hajji M, Jarraya R, Lassoued I, vd. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers. Process Biochemistry. 2010;45(9):1486-1493.
14. Chang, C.C, Yang, M.H, Wen, H.M, vd. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis,. 2002;10(3).
15. Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, vd. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. Chemical and pharmaceutical bulletin. 1988;36(6):2090-2097.
16. Faydalıoğlu E, & Sürücüoğlu M. Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. Erzincan University Journal of Science and Technology. 2013;6(2):233-265.

17. Bulca S. *N. sativanun* bileşenleri ve bu yağın ve diğer bazı uçucu yağların antioksidan olarak gıda teknolojisinde kullanımı. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2014;11(2):29-36.
18. Moure A, Cruz J.M, Franco, vd. Natural antioxidants from residual sources. Food chemistry. 2001;72(2):145-171.
19. Sultan M.T, Butt, M.S, Anjum F.M, vd. Nutritional profile of indigenous cultivar of black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. Pak. J. Bot. 2009;41(3):1321-1330.
20. Lutterodt H, Luther M, Slavin M. Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. LWT-Food Science and Technology. 2010;43(9):1409-1413.
21. Bourgou S, Pichette A, Marzouk B, vd. Antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and antibacterial activities of extracts from *Nigella sativa* (black cumin) plant parts. Journal of Food Biochemistry. 2012;36(5):539-546.
22. İlhan A, Gürel A, Armutçu F, vd. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. Neuropharmacology. 2005;49(4):456-464.
23. Kar Y, Şen N, & Tekeli Y. Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörek otu (*nigella sativa* L.) tohumlarının antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science. 2007;2(2):197-203.
24. Singh G, Marimuthu P, Heluani Carola S. vd. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2005;85(13):2297-2306.
25. Buran A, Topdemir A, & Öztürk R. Üzüm çekirdeği, çörek otu ve keten tohumu tozlarının antioksidan, fenolik ve flavonoid madde miktarları. International Conference on Innovative Academic Studies. 2022;10-13.
26. Ndhlala A.R, M M, & Van S.J. Natural antioxidants: fascinating or mythical biomolecules? Molecules. 2010;15(10):6905-6930.
27. Ashraf M, Ali Q, & Iqbal Z. Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2006;86(6):871-876.
28. Alexa V.T, Galuscan A, Soica C.M. vd. In vitro assessment of the cytotoxic and antiproliferative profile of natural preparations containing bergamot, orange and clove essential oils. Molecules. 2022;27(3):990.
29. Li M, Tang D, Yang, T, vd. Apoptosis triggering, an important way for natural products from herbal medicines to treat pancreatic cancers. Frontiers in pharmacology. 2022;12:796300.
30. Pilut C.N, Manea A, Ioana M, vd. Comparative evaluation of the potential antitumor of *Helleborus purpurascens* in skin and breast cancer. Plants. 2022;11(2):194.

Hedera helix'in Doğal Rejenerasyon Ürünü Olarak Kullanılma Potansiyelinin Araştırılması

Ebrar Küçükünlü^{1*}, Feyza Alşahin², Sıdıka Yaren Işıklanmak³,
Erdem Emir Sevinç⁴, Çağdaş Özdemir⁵, Arzu Erol Afatoğlu⁶

^{1,2,3,4,6}. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Bölümü, Zonguldak, Türkiye

⁵. University of Basilicata, Bilim Fakültesi, Potenza, İtalya

*E-mail: ebrarkcknl@gmail.com

*Orcid No: 0009-0002-5062-4711

Özet

Projemizde etanol ve dH₂O ile elde edilen *Hedera helix* bitki ekstraktının, mikrobiyolojik korozyona uğrayan yüzeylerden izole edilen mikroorganizmalar üzerindeki kapsamlı antimikrobiyal aktivitesinin tespiti hedeflenmiştir. Literatürde antimikrobiyal aktivitesi kanıtlanmış *Hedera helix* ekstraktının MIC, agar kuyu difüzyon ve disk difüzyon testleri yapıldı. Korozyon olduğu belirlenen duvar yüzeylerinden alınan örneklerin EMB ve SDA'ya ekimi yapıldı. İzole edilen örneklerden seçilen gram negatif bakteriler kullanılarak bitki ekstraktlarının aktiviteleri belirlendi. Deneyler sonucunda *Hedera helix*'in, bakteriler üzerinde gözle görünür bir antimikrobiyal aktivitesi gözlemlenmedi. Bunun başlıca sebebi izole edilen ve kullanılan bakterilerin identifikasyonları sonrası literatürde yapılan araştırmalar sonucu bu bakterilerin *Hedera helix* ekstraktına güçlü direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Bakteriler *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium*'tur. Mikrobiyolojik korozyon oluşturan bu bakterilerin inhibe edilmesi için yüksek miktarda *Hedera helix* ile tekrar test edilecek ve güçlü etkisi olduğu bilinen yeni bitki ekstraktları üzerinde analiz edilecektir.

Anahtar Kelimeler: Doğal rejenerasyon; Biyolojik temizlik; Mikrobiyolojik korozyon; Antimikrobiyal aktivite; *Hedera helix*

Teşekkür: 1919B012315282 numaralı projemiz 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı 2023/2 tarafından desteklenmiştir.

Investigation of the Potential of *Hedera helix* as a Natural Regeneration Product

Abstract

Our project aimed to determine the comprehensive antimicrobial activity of *Hedera helix* plant extract obtained with ethanol and dH₂O on microorganisms isolated from surfaces subjected to microbiological corrosion. MIC, agar well diffusion and disk diffusion tests were performed for *Hedera helix* extract, whose antimicrobial activity has been proven in the literature. Samples taken from wall surfaces determined to be corroded were transplanted into EMB and SDA. The activities of plant extracts were determined using

gram-negative bacteria selected from the isolated samples. As a result of the experiments, no visible antimicrobial activity of *Hedera helix* was observed on bacteria. The main reason for this is that, as a result of the research conducted in the literature after the identification of the isolated and used bacteria, it was determined that these bacteria showed strong resistance to *Hedera helix* extract. The bacteria are *Klebsiella oxytoca* and *Bacillus megaterium*. It will be tested again with high amounts of *Hedera helix* to inhibit these bacteria that cause microbiological corrosion and will be analyzed on new plant extracts known to have a strong effect.

Keywords: Natural regeneration; Biological cleaning; Microbiological corrosion; Antimicrobial activity; *Hedera helix*

Acknowledgements: Our project number 1919B012315282 was supported by the 2209-A University Students Research Projects Support Program 2023/2.

1. GİRİŞ

Hedera helix bitkisi, yüzyıllardır geleneksel tıpta kullanılan önemli bir bitki olup, özellikle antimikrobiyal özellikleriyle dikkat çekmektedir. Yapısındaki çeşitli biyoaktif bileşikler, özellikle saponinler ve polifenoller, bitkinin antibakteriyel ve antifungal özelliklerine katkıda bulunur. Bu çalışmanın amacı, *Hedera helix* bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini kapsamlı bir şekilde değerlendirmektir. Literatürde *Hedera helix*'in antimikrobiyal özellikleri farklı çalışmalarla desteklenmiş olsa da, bu etkinin çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki etkisini ayrıntılı inceleyen güncel çalışmalar sınırlıdır. Özellikle, etanol ve dH₂O gibi farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstraktların etkinliği konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu araştırma, bu boşluğu doldurmayı ve farklı çözücülerle hazırlanan *Hedera helix* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin karşılaştırılmasını hedeflemektedir (1) ir.

Proje önerimizin temel motivasyon kaynağı, özellikle kendimizin ekstrakt ettiği bitkilerden yüzeyinde mikrobiyolojik korozyonun olduğu bir duvar alanının doğal olarak rejenere edilmesi ve yeşil restorasyon terimine yenilikçi, makul şekilde tasarlanan ve bizzat yaşam alanlarımızda da kullanılabilecek bir vizyon getirmektir. Günümüzde hem arkeolojik hem de normal alanların birçok restorasyon işlemi çeşitli kimyasalların kullanılması ile gerçekleştirilmektedir. Bu durum yer yer doğaya, uygulamayı yapan personele ve hatta uygulanan malzeme alana zarar vermektedir(2,3).

Çalışmada, literatürde antimikrobiyal etkisi kanıtlanmış olan *Hedera helix* ekstraktı kullanılarak çeşitli mikroorganizmalar üzerinde minimum inhibitör konsantrasyon (MIC), agar kuyu difüzyon ve disk difüzyon yöntemleri uygulanmıştır. Bu yöntemler, bitki ekstraktlarının farklı mikroorga-

nizma türleri üzerindeki inhibisyon etkisini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan testlerdir. MIC testi, bir maddenin mikroorganizmaların büyümesini engelleyen en düşük konsantrasyonunu belirlerken; agar kuyu ve disk difüzyon yöntemleri ise ekstraktın belirli bir bakteri üzerinde oluşturduğu inhibisyon bölgesini ölçmektedir. Bu testler, *Hedera helix* ekstraktının mikroorganizmalar üzerindeki etkisini hem kantitatif hem de kalitatif olarak değerlendirmeye olanak sağlamıştır. Deneyde hazırlanan bitki ekstaktları ile muamele edilen hedef ajanlar üzerinde antimikrobiyal testler uygulandı akabinde ekstraktın etkinliği spektrofotometrik analizlerle desteklendi. Projemizde gerekli analizler için önceden belirlenmiş olan ve yüzeyinde mikrobiyolojik korozyonun olduğu gözlemlenen bölgelerden alınan örnekler VITEK II sonucuna göre, *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium* olduğu belirlendi(4–6).

Bu çalışmanın bulguları, bitkisel ekstraktların klinik ve endüstriyel uygulamalarda kullanılma potansiyeline önemli bir katkı sağlamaktadır. Özellikle doğal antimikrobiyal ajanlara olan ilginin arttığı günümüzde, *Hedera helix* gibi bitkilerin etkinliğinin detaylı bir şekilde araştırılması, gelecekteki tedavi yöntemleri ve koruyucu uygulamalar için önemli bir kaynak oluşturabilir. Bu çalışma, bitkisel ekstrelerin antimikrobiyal aktivitelerinin çözücü tipi, ekstraksiyon yöntemi ve mikroorganizma türüne göre nasıl değiştiğine dair kapsamlı veriler sunarak literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

Bitki Ekstraktı Hazırlama

Hedera helix bitkisi okul çevresinden toplandı ve su ile yıkandı. Kâğıt havlu ile fazla suları alınarak tepsiye dizildi ve 5-10 dakikada bir ters-düz edilerek fırında kurutuldu.

Kurutulan bitki yaprakları havan yardımıyla ezilerek toz haline getirildi. Bu kısımda cımbız yardımıyla içerisinde kalan ve parçalanmayan kısımlar ayrıldı.

Toz halinde getiren bitki yaprakları hassas terazide 0,0750g tartılarak ependorf tüplerine aktarıldı. Bu işlem sonucunda elimizde içerisinde 0,0750g olan iki adet ependorf tüpü mevcut. İçerisinde bitki tozu bulunan ependroflara 1,5ml dH₂O koyuldu ve tüpler etiketlendi. Ependorf tüpleri parafin ile sarılıp ultrasonik su banyosuna koyuldu. Su banyosu 40°C’de 1 saat çalıştırıldı. 15-20 dakikada bir kontrol edildi.

Su banyosundan çıkan örneklerin parafinleri yenilenerek santrifüj cihazına koyuldu. Tüpler 14.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminin sonuna tüplerdeki süpernatant kısımları yeni ependorf tüplerine aktarıldı ve etiketlendi. Tüpler parafilmlenerek +4°C buzdolabına kaldırıldı.

Toz halinde getiren bitki yaprakları hassas terazide 0,0750g tartılarak ependorf tüplerine aktarıldı. Bu işlem sonucunda elimizde içerisinde 0,0750g olan iki adet ependorf tüpü mevcut. İçerisinde bitki tozu bulunan ependroflara 1,5ml etanol koyuldu ve tüpler etiketlendi. Ependorf tüpleri parafin ile sarılıp ultrasonik su banyosuna koyuldu. Su banyosu 40°C'de 1 saat çalıştırıldı. 15-20 dakikada bir kontrol edildi.

Su banyosundan çıkan örnekler santrifüj işleminden önce tüpler kapakları açık bir süre bekletildi ve santrifüj işlemi 10.000rpm'de 15 dakika yapıldı. Tüpler parafilmlenerek +4°C buzdolabına kaldırıldı.

Besiyerlerinin Hazırlanması ve Sterilizasyon

Deneylerde kullanılacak ve otoklavlanması gereken malzemeler toplandı (Cam tüpler ve kapakları, farklı boylarda mikropipet uçları). Kullanılacak besiyeri miktarları hesaplandı.

TSA için; tartım kabı hassas teraziye koyulduktan sonra darası alındı ve tartım kabına spatülle TSA besiyeri koyularak 4g tartıldı. 4g besiyeri otoklavlanabilir cam şişeye koyuldu ve üzerine mezur ile 100ml dH₂O koyuldu.

TSB için; tartım kabı hassas teraziye koyulduktan sonra darası alındı ve tartım kabına spatülle TBA besiyeri koyularak 7,5g tartıldı. 7,5g besiyeri otoklavlanabilir cam şişeye koyuldu ve üzerine mezur ile 250ml dH₂O koyuldu.

EMB için; tartım kabı hassas teraziye koyulduktan sonra darası alındı ve tartım kabına spatülle EMB besiyeri koyularak 2,82g tartıldı. 2,82g besiyeri otoklavlanabilir cam şişeye koyuldu ve üzerine mezur ile 75ml dH₂O koyuldu ve bir miktar ısıtıcıda ısıtıldı.

SDA için; tartım kabı hassas teraziye koyulduktan sonra darası alındı ve tartım kabına spatülle SDA besiyeri koyularak 4,87g tartıldı. 4,87g besiyeri otoklavlanabilir cam şişeye koyuldu ve üzerine mezur ile 75ml dH₂O koyuldu ve bir miktar ısıtıcıda ısıtıldı.

Otoklavlanabilir şişelerin kapakları gevşek bırakıldı ve üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı. Şişelerin üzerine otoklav bandı yapıştırıldı. Diğer malzemelerinde üstleri alüminyum folyo ile kapatıldı ve otoklav sepetine yerleştirildi. Otoklav içerisindeki su kontrol edildikten sonra sepetler otoklava yerleştirildi. Otoklav sıvı modda 121°C'de 15dk çalıştırıldı.

Benchlerin üzerleri %70'lik etanolle silindi ve bek alevi açıldı. TSA, EMB ve SDA besiyerileri etiketlenmiş petri kaplarına döküldü ve soğuması beklendi. TSB, TSA, EMB ve SDA besiyerileri buz dolabına kaldırıldı.

Örnek Toplama

SDA ve EMB besiyerleri dolaptan çıkarıldı.

Fakültedeki biyolojik korozyona uğramış bölgelerden dH_2O ile ıslatılmış steril eküvyon çubuğuyla örnek alındı. -1. kattaki boru üstü, -1. kattaki merdiven altı, -1.kattaki bodrum kat tabelası altı, 0. kattaki yangın merdiveninden, bahçedeki su giderinin olduğu duvardan, balkon duvarından ve bahçedeki boru içerisinden örnekler alınarak laboratuvara getirildi. Her numune yerinden ikişer örnek alındı.

Örnekler steril ortamda SDA ve EMB besiyerlerine ekildi. Sonrasında 24 saat inkübe edilmesi için 37°C 'deki etüve koyuldu.

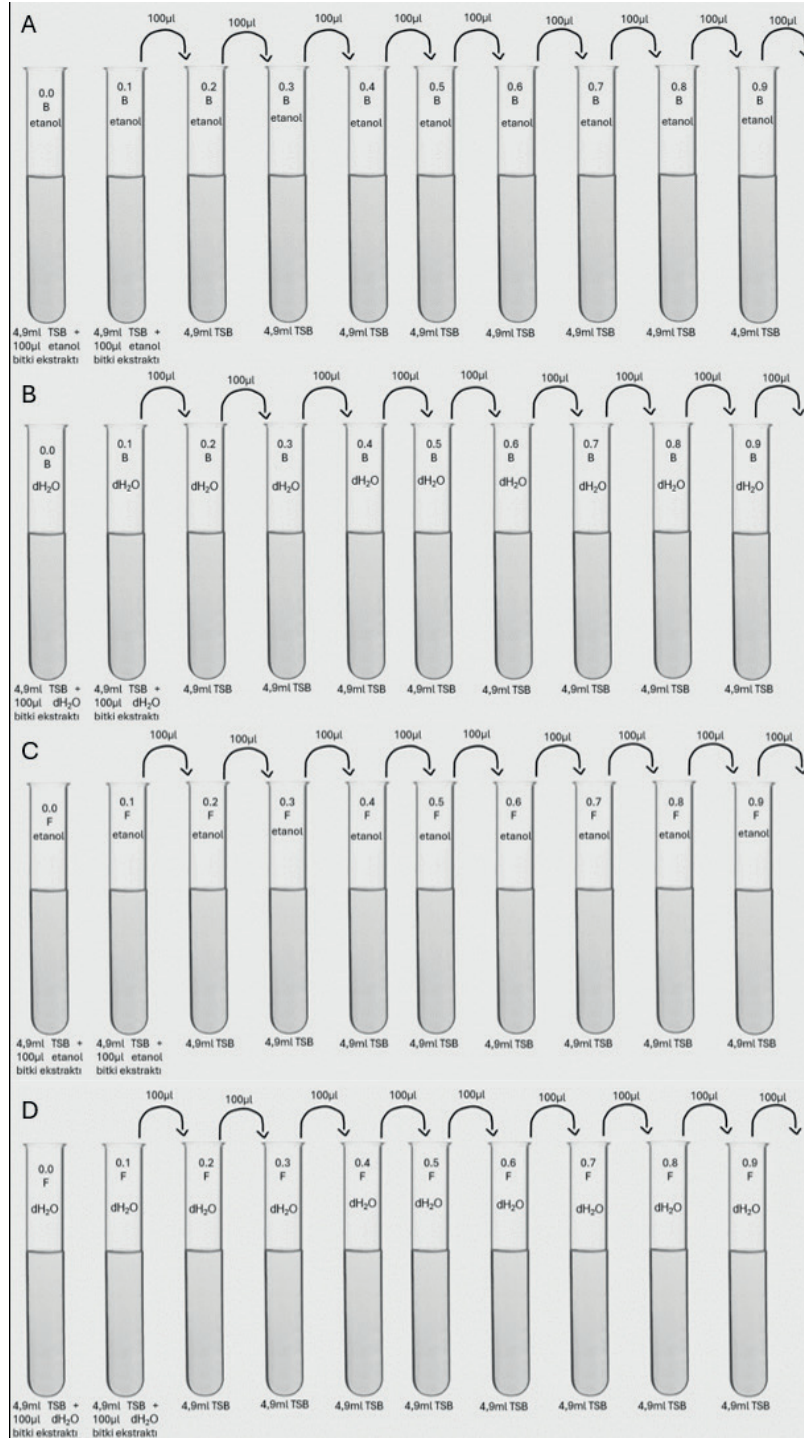
Antimikrobiyal Aktivite Testi – Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

60 adet tüp ve kapağı ayarlandı ve tüplüklere dizildi. 40 tüpe 5ml TSB, 20 tüpe 2ml TSB mikropipetle koyuldu. Tüplerin ağızları ateşten geçirilerek tüplüklere geri koyuldu. İçerisinde 2ml TSB olan 20 tüp buzdolabına kaldırıldı.

İçerisinde 5ml TSB olan tüplerden 100ul çıkartıldı ve 20 tüp etanol ve 20 tüp dH_2O olarak etiketlendi.

Etanol 0.0 ve etanol 0.1 etiketli tüplere 100ul etanol ile hazırlanan bitki ekstraktı koyuldu. Etanol 0.1 etiketli tüpten 100ul alınarak etanol 0.2 etiketli tüpe koyuldu. Etanol 0.2 etiketli tüpten 100ul alınarak etanol 0.3 etiketli tüpe koyuldu. Bu işleme etanol 0.9 numaralı tüpe kadar sırayla devam edilerek seri dilüsyon yapıldı. 0.9 etiketli tüpten 100ul alınıp atık beherine atıldı.

Bu işlem etanol ile hazırlanan ekstrakt ve dH_2O ile hazırlanan ekstraktla iki kere yapıldı. İşlem sonucunda aşağıdaki görsellerdeki gibi 40 adet tüp elde edildi(7).



Şekil 1: A; Etanol ile hazırlanan ekstraktın gram (-) bakteri üzerinde denenmesi için hazırlanan MIC, B; dH₂O ile hazırlanan ekstraktın gram (-) bakteri üzerinde denenmesi için hazırlanan MIC, C; Etanol ile hazırlanan ekstraktın fungus üzerinde denenmesi için hazırlanan MIC, D; dH₂O ile hazırlanan ekstraktın fungus üzerinde denenmesi için hazırlanan MIC

Etüvdeki SDA ve EMB besiyerlerinden örnek alınacak koloniler belirlendi ve içerisinde 500 µl

TSB besiyeri olan ependorflara, bu kolinler koyuldu. Ependorf tüpleri çalkalamalı etüve koyuldu. Yaklaşık iki saat sonra üreme gözlenen 3 ve 7 numaralı tüpler seçildi.

3 numaralı tüpteki gram negatif bakteriler B etanol-0.0 ve B dH₂O-0.0 olan tüpler hariç seri dilüsyon yapılan tüplere 20ul ekildi. 7 numaralı tüpteki funguslar F etanol-0.0 ve F dH₂O-0.0 olan tüpler hariç seri dilüsyon yapılan tüplere 20ul ekildi.

3 ve 7 numaralı tüpte kalan mikroorganizmalar çoğaltılmak üzere içerisinde 3ml TSB besiyerine ekildi. Tüm tüpler 37°C'deki çalkalamalı etüve kaldırıldı.

Antimikrobiyal Aktivite Testi – Agar Kuyu Difüzyon ve Agar Disk Difüzyon

Fitre kağıtları delgeç ile delinerek diskler oluşturuldu. Farklı genişliklerdeki pipetler kesildi. Diskler ve pipetler UV'de steril edildi. 15 dakika sonra diskler çevrildi diğer yüzeyi de steril edildi.

Agar Kuyu Difüzyon

Çoğaltılan gram negatif bakterilerden 5ul alınıp 2 adet TSA besiyerine koyuldu ve drigalski spatülü ile yayıldı. Kuruması beklendi. Çoğaltılan funguslardan 5ul alınıp 2 adet TSA besiyerine koyuldu ve drigalski spatülü ile yayıldı. Kuruması beklendi.

Kuruyan besiyerlerine küçük, orta ve büyük genişlikte olan pipetlerle kuyular açıldı. Sırasıyla kuyulara 10ul, 20ul ve 30ul bitki ekstraktı koyuldu. Gram negatif yayılmış iki petriden bir tanesindeki kuyulara etanol ile hazırlanmış ekstrakt, diğerine ise dH₂O ile hazırlanan ekstrakt koyuldu. Fungus yayılmış iki petriden bir tanesindeki kuyulara etanol ile hazırlanmış ekstrakt, diğerine ise dH₂O ile hazırlanan ekstrakt koyuldu. Petriler etüve kaldırıldı.

Disk Difüzyon

Diskler 10, 15 ve 20ul etanol ile hazırlanan ekstrakt ve dH₂O ile hazırlanan ekstrakt emdirildi.

Çoğaltılan funguslardan 5ul alınıp 2 adet TSA besiyerine koyuldu ve drigalski spatülü ile yayıldı. Kuruması beklendi. Kuruyan besiyerlerinden birine 10, 15 ve 20ul etanollü ekstrakt emdirilen diskler ve tetrasiklin antibiyotiği yerleştirildi. Diğerine ise 10, 15 ve 20ul dH₂O'li ekstrakt emdirilen diskler yerleştirildi.

Çoğaltılan gram negatif bakterilerden 5ul alınıp 2 adet TSA besiyerine koyuldu ve drigalski spatülü ile yayıldı. Kuruması beklendi. Kuruyan besiyerlerinden birine 10, 15 ve 20ul etanollü ekstrakt emdirilen diskler ve tetrasiklin antibiyotiği yerleştirildi. Diğerine ise 10, 15 ve 20ul dH₂O'li ekstrakt emdirilen diskler yerleştirildi. Petriler etüve kaldırıldı.

24 saatin sonunda hazırlanan seri dilüsyonlardaki üremeler kontrol edildi.

B etanol 0.0-0.1-0.9, B dH₂O 0.0-0.1-0.9, F etanol 0.0-0.1-0.6-0.9, F_{dH₂O} 0.0-0.1-0.9 etiketli tüp-

lerden 5ul alınarak TSA besiyerine koyuldu ve drigalski spatüle ile yayıldı. Petriler etüve kaldırıldı. MIC’te kullanılan 40 tüp buzdolabına kaldırıldı(8).

Sonuçların Değerlendirilmesi ve İdentifikasyon

24 saat sonra agar kuyu difüzyon, agar disk difüzyon ve MIC’in yayma ekimleri kontrol edildi.

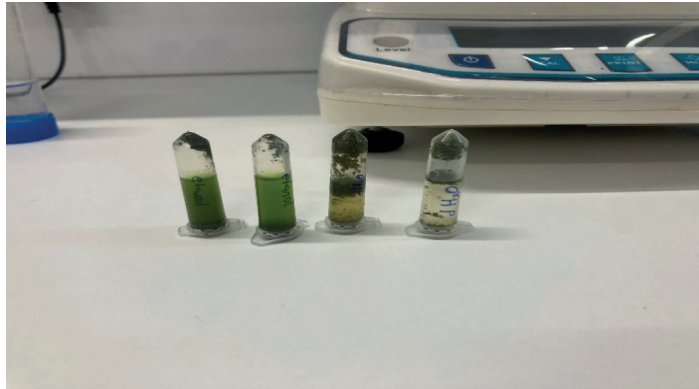
Buzdolabındaki MIC tüpleri çıkartılarak tüplerdeki bakteri yoğunluğu spektrofotometre ile ölçüldü.

3 numaradaki gram negatif bakteri ve 7 numaralı fungus, Zonguldak Bülent Ecevit Tıp Fakültesi’ne identifikasyon için gönderildi.

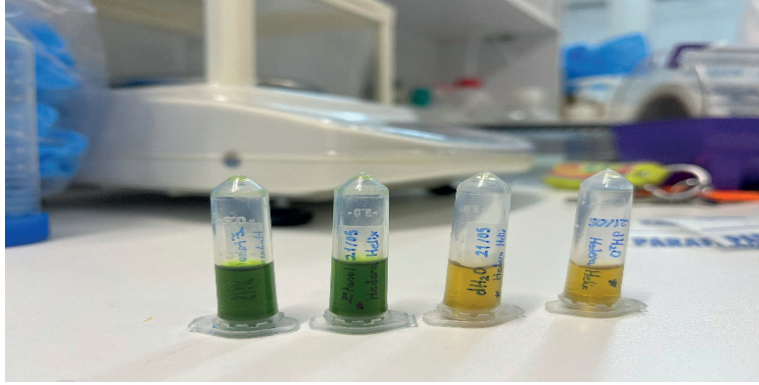
3. BULGULAR VE TARTIŞMA



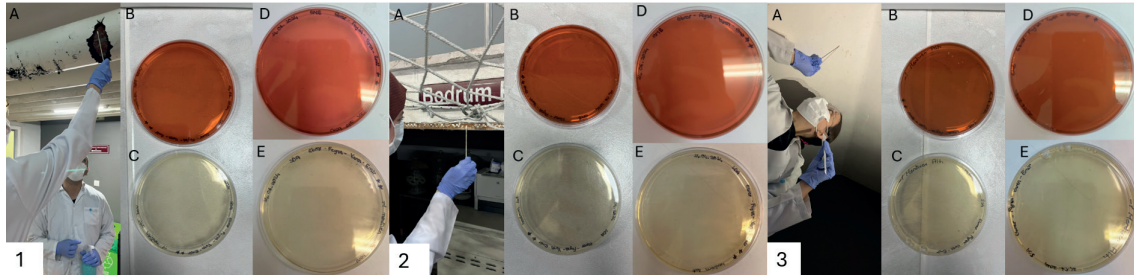
Şekil 2: Hedera helix bitkisinin toplandığı yer



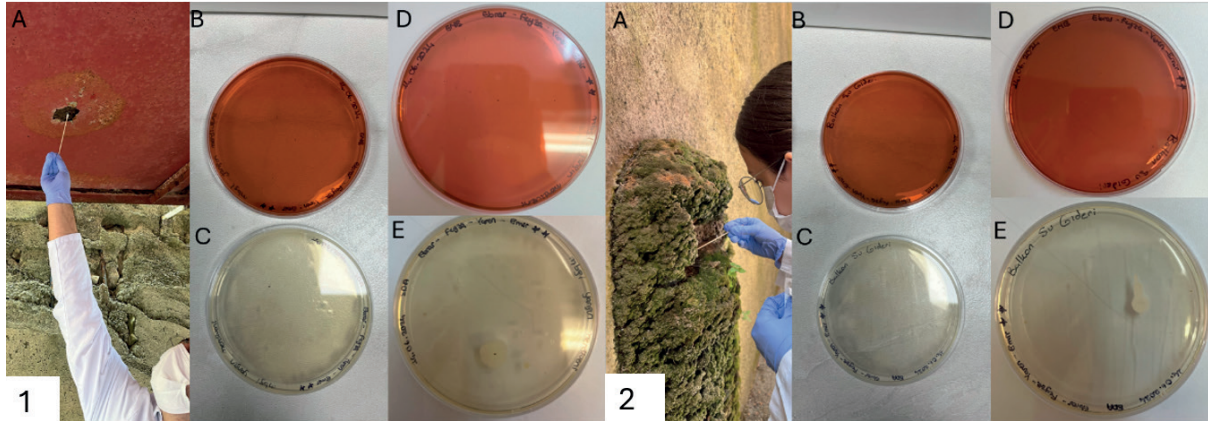
Şekil 3: Toz Hedera helix’in çözücülerle birleştirilmesi, a ve b; etanol c ve d; dH₂O



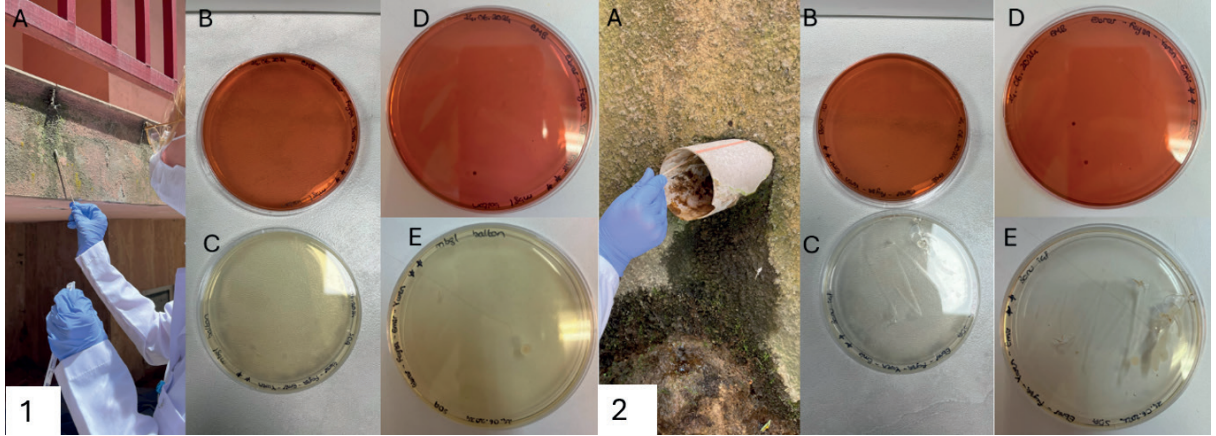
Şekil 4: Hedera helix Ekstraktı a ve b; etanol c ve d; dH₂O



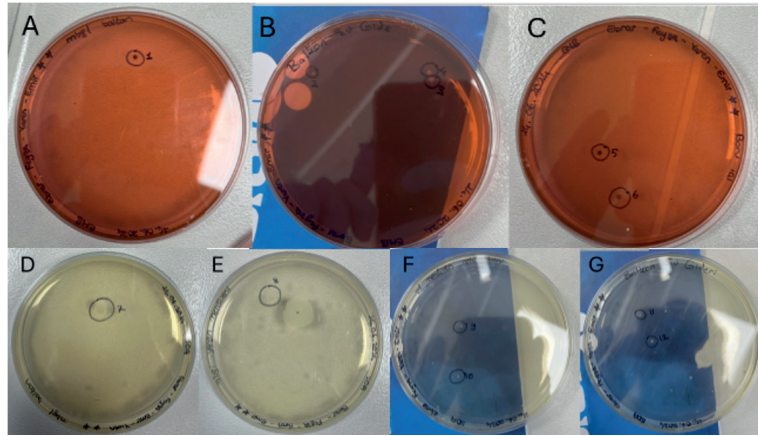
Şekil 5: 1A; Merdiven üstü boru, 1B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 1C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 1D ve 1E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü; 2A; Bodrum Kat, 2B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 2C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 2D ve 2E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü; 3A; -1.Kat Merdiven Altı, 3B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 3C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 3D ve 3E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü



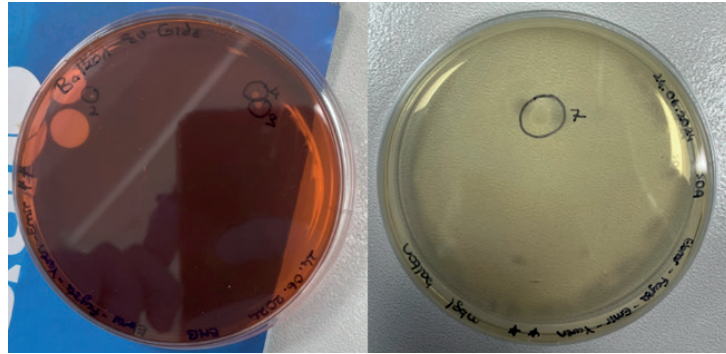
Şekil 6: 1A; Yangın Merdiveni, 1B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 1C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 1D ve 1E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü; 2A; Su Gideri, 2B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 2C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 2D ve 2E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü



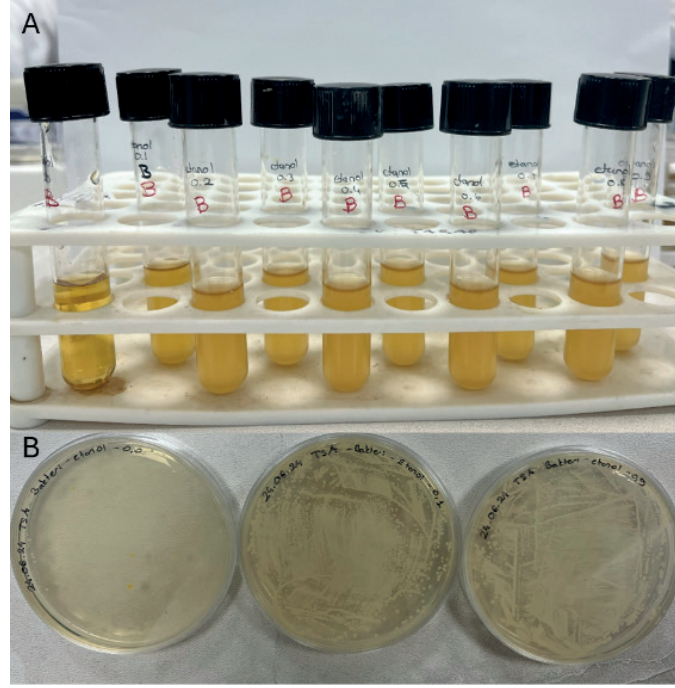
Şekil 7: 1A; MBG1 Balkon, 1B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 1C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 1D ve 1E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü; 2A; Su Gideri, 2B; Örneğin EMB Besiyerine ekilmiş hali, 2C; Örneğin SDA Besiyerine ekilmiş hali, 2D ve 2E;24 saat sonra besiyerlerindeki görüntü



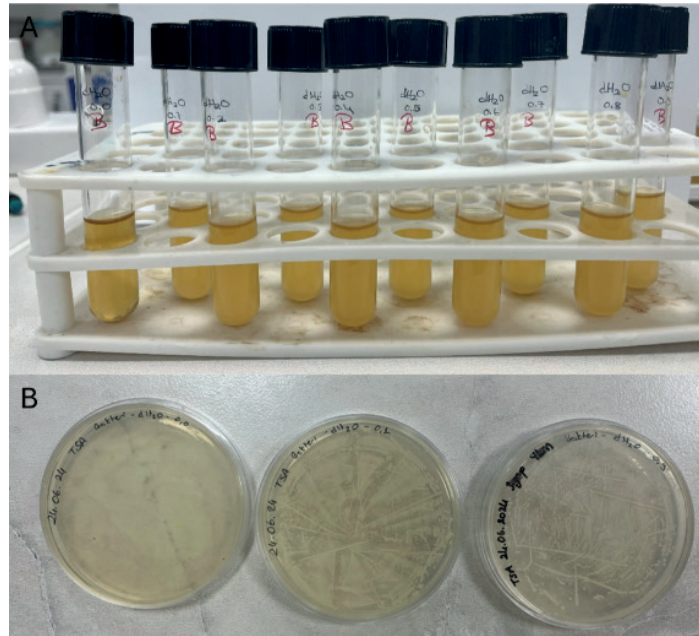
Şekil 8: Seçilen mikrobiyal kültürler, A;MBG1 Balkon, B; Balkon Su Gideri, C;Boru İçi, D;MBG1 Balkon, E;Yangın Merdiveni, F; -1 Merdiven Üstü Boru, G; Balkon Su Gideri



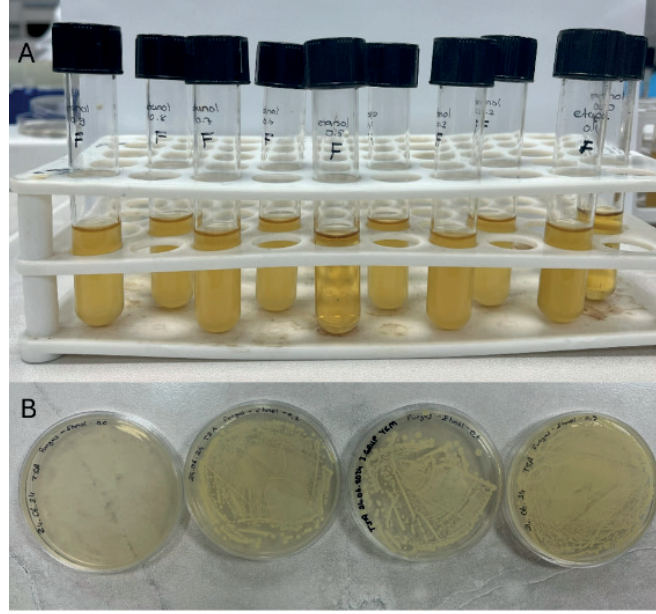
Şekil 9: Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde kullanılmak için seçilen 3 ve 7 numaralı mikrobiyal kültürler



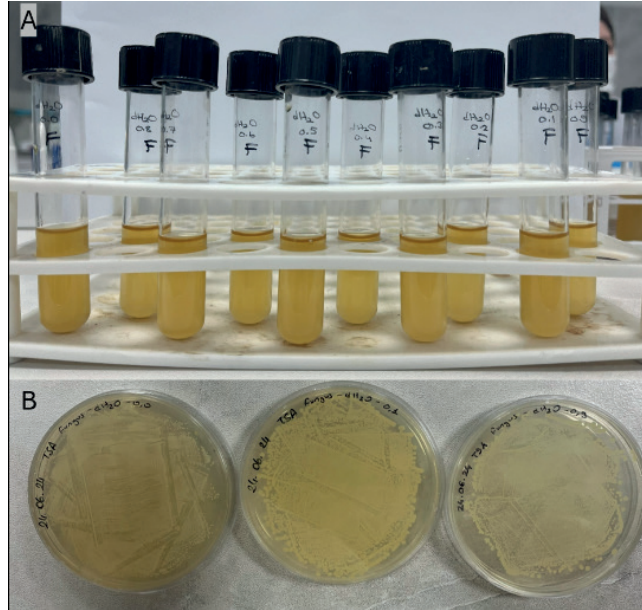
Şekil 10: A; MIC, Etanol ekstraktı ile muamele edilmiş Gram (-) Bakterilerin 24 saat sonraki görünümü, B; Etanol ekstraktı ile muamele edilen gram (-) bakterilerdeki 24 saatlik MIC sonunda soldan sağa B etanol-0.0, B etanol-0.1 ve B etanol-0.9'un 24 saat sonraki yayma ekimi sonucu



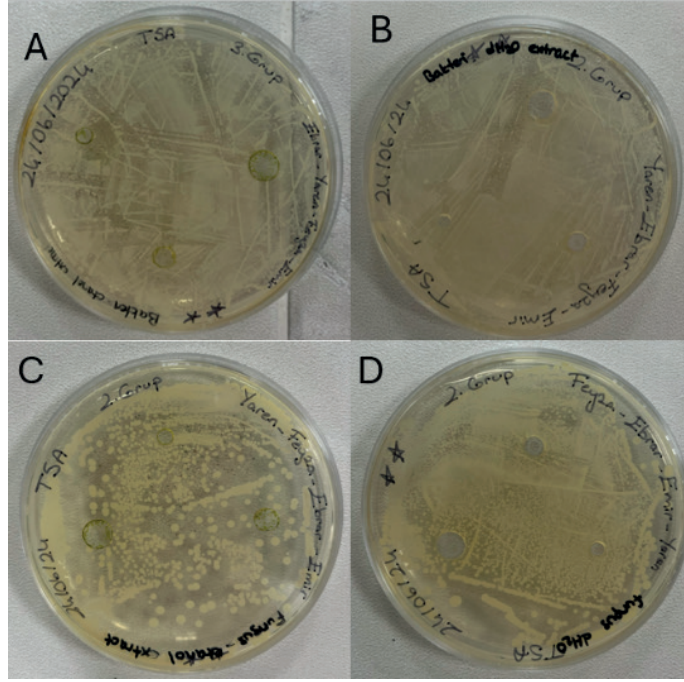
Şekil 11: A; MIC, dH₂O ekstraktı ile muamele edilmiş Gram (-) Bakterilerin 24 saat sonraki görünümü, B; dH₂O ekstraktı ile muamele edilen gram (-) bakterilerdeki 24 saatlik MIC sonunda soldan sağa B dH₂O-0.0, B dH₂O-0.1 ve B dH₂O-0.9'un 24 saat sonraki yayma ekimi sonucu



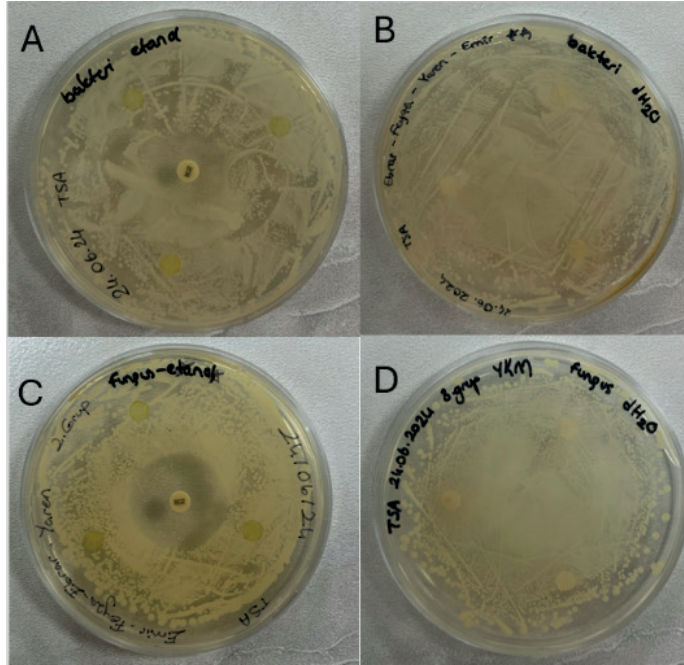
Şekil 12: A; MIC, Etanol ekstraktı ile muamele edilmiş Fungusların 24 saat sonraki görünümü, B; Etanol ekstraktı ile muamele edilen funguslardaki 24 saatlik MIC sonunda soldan sağa F etanol-0.0, F etanol-0.1, F etanol-0.6 ve F etanol-0.9'un 24 saat sonraki yayma ekimi sonucu



Şekil 13: A; MIC, dH₂O ekstraktı ile muamele edilmiş Fungusların 24 saat sonraki görünümü, B; dH₂O ekstraktı ile muamele edilen funguslardaki 24 saatlik MIC sonunda soldan sağa F dH₂O-0.0, F dH₂O-0.1 ve F dH₂O-0.9'un 24 saat sonraki yayma ekimi sonucu



Şekil 14: Agar kuyu difüzyon sonuçları. A; etanol ekstraktı ile muamele edilen gram (-) bakteri, B; dH₂O ekstraktı ile muamele edilen gram (-) bakteri, C; etanol ekstraktı ile muamele edilen fungus, D; dH₂O ekstraktı ile muamele edilen fungus



Şekil 15: Agar disk difüzyon sonuçları. A; etanol ekstraktı ile muamele edilen gram (-) bakteri, B; dH₂O ekstraktı ile muamele edilen gram (-) bakteri, C; etanol ekstraktı ile muamele edilen fungus, D; dH₂O ekstraktı ile muamele edilen fungus

- İdentifikasyon sonucunda 3 numaralı örnek *Klebsiella oxytoca*, 7 numaralı örnek ise *Bacillus megaterium* olarak belirlendi (Şekil 9).

Bu çalışmada, *Hedera helix* bitkisi ekstraktının *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium* üzerinde antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Deneysel sonuçlar, kullanılan *Hedera helix* ekstraktının bu mikroorganizmalar üzerinde gözle görülür bir antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Başlangıçta, ekstraktın antimikrobiyal etkinlik göstermemesinin temel nedeninin, deneylerde kullanılan ekstrakt miktarının düşük olabileceği düşünülmüştür. Ancak, mikroorganizmaların tanımlanması ve bu mikroorganizmalara yönelik literatür taraması sonucunda, *Hedera helix*'in özellikle *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium* üzerinde sınırlı bir etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır(9,10).

Klebsiella oxytoca ve *Bacillus megaterium* gibi bakteriler, doğal dirence sahip oldukları bilinen ve çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı zorluk çıkaran türlerdir. *Klebsiella oxytoca*, Gram-negatif yapısı nedeniyle dış zarındaki lipopolisakkarit katmanı ile birçok bitkisel ekstreye karşı daha dirençli olabilirken(11), *Bacillus megaterium* spor yapısı sayesinde çevresel strese ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirebilir(12). Bu direnç mekanizmalarının, *Hedera helix*'in bu mikroorganizmalar üzerinde etkisiz kalmasına neden olabileceği değerlendirilmektedir.

Ayrıca literatürde yer alan birçok çalışmada olduğu gibi bitki ekstraktlarının eldesi işlemlerinde kullanılan çözücünün etanol, metanol veya distile su olması gibi unsurların yanında konsantrasyonlarının yetersiz kalması bu çalışmanın sonuçlarına doğrudan etki ettiği gözlemlenmiştir(13,14).

Öte yandan, *Hedera helix*'in antimikrobiyal etkinliğinin artırılması için daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılması veya daha güçlü antimikrobiyal ajanlarla birlikte uygulanması önerilmektedir. Literatürde, bitkisel ekstrelerin sinerjistik etkiler gösterdiği durumlar bildirilmiştir. Örneğin, bazı bitkisel ekstreler veya sentetik antimikrobiyal maddelerle kombinasyon halinde kullanıldığında, tek başına etkisiz olan bileşiklerin antimikrobiyal etkinliği belirgin şekilde artabilmektedir. Bu bağlamda, *Hedera helix* ekstraktının daha güçlü antimikrobiyal ekstraktlar veya sentetik ajanlarla birlikte kullanılması, *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium* üzerindeki antimikrobiyal etkisini artırma potansiyeline sahiptir(15)

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gelecekte yapılacak çalışmalar, *Hedera helix*'in farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini daha kapsamlı bir şekilde değerlendirmeli ve çeşitli kombinasyon stratejilerini test etmelidir. Ayrıca, bu ekstraktın farklı konsantrasyonlarda ve farklı ekstraksiyon yöntemleriyle hazırlanmış formlarının antimikrobiyal etkinliğinin karşılaştırılması, potansiyel olarak daha etkili formülasyonların geliştirilmesine yol açabilir.

Hedera helix'in geleneksel tıpta çeşitli kullanım alanları bulunmakta olup, bu bitkinin antimikrobiyal potansiyelini optimize etmek, modern tıp ve farmakoloji için de yeni fırsatlar sunabilir.

Bu çalışmada kullanılan mikroorganizmalar, özellikle *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium* gibi, farklı mikrobiyolojik analizlerde referans veya karşılaştırma materyali olarak da kullanılabilir. Bu mikroorganizmalar, geniş bir yelpazede çevresel ve sağlıkla ilgili etkilerle ilişkilendirilmiş patojenler olduğundan, bu tür bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkinin incelenmesi, gelecekteki çalışmalar için oldukça değerli veriler sunabilir.

Dolayısıyla, bu çalışmalardan elde edilen mikroorganizmalar ve *Hedera helix* ekstraktının antimikrobiyal etkileri, sadece korozyon kontrolü değil, aynı zamanda doğal antimikrobiyal maddelerin potansiyel kullanımları üzerine yapılacak daha ileri çalışmalarda da önemli bir referans noktası olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma, *Hedera helix* ekstraktının *Klebsiella oxytoca* ve *Bacillus megaterium* üzerindeki sınırlı etkisini vurgulamakta, ancak bu ekstraktın daha etkili antimikrobiyal kombinasyonların bir parçası olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Gelecekteki araştırmalar, bu kombinasyonların biyolojik etkinliklerini ve olası klinik uygulamalarını araştırarak, *Hedera helix*'in antimikrobiyal ajanlar arasındaki yerini belirlemede önemli katkılar sağlayabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 1919B012315282 numaralı proje ile desteklenmiştir, teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Gavrilă AI, Zălaru CM, Tatia R, Seciu-Grama AM, Negrea CL, Calinescu I, et al. Green Extraction Techniques of Phytochemicals from *Hedera helix* L. and In Vitro Characterization of the Extracts. Plants. 2023 Nov 1;12(22).
2. González-Parra JR, Di Turo F. The Use of Plant Extracts as Sustainable Corrosion Inhibitors for Cultural Heritage Alloys: A Mini-Review. Vol. 16, Sustainability (Switzerland) . Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
3. Sheydaei M., The Use of Plant Extracts as Green Corrosion Inhibitors: A Review. Vol. 7, Surfaces. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024. p. 380–403.
4. Qabaha K, Abbadi J, Yaghmour R, Hijawi T, Naser S, Al-Rimawi F. Unveiling the antibacterial and antioxidant potential of *Hedera helix* leaf extracts: recent findings. Can J Physiol Pharmacol. 2023;102(1):26–32.
5. Suica-Bunghez Ir, Sorescu Aa, Doncea Sm, Constantin M, Raut I, Ion Rm. Phytochemical, Antioxidant And Antimicrobial Characterization Of *Hedera Helix* L. Extract. Journal of Plant Development. 2020;27:47–53.
6. Arslan S, Perçin D, Silici S, Koç AN, Er Ö. Farklı Çözücülerle Hazırlanan Propolis Özütlerinin Mutans Streptokoklar Üzerine In Vitro Antimikrobiyal Etkisi The in vitro Effects of Propolis Extracts Prepared with Different Solvents on Mutans Streptococci. Journal of Health Sciences. 2010;19(1):68–73.

7. ÖZDEMİR Ç, Erol A, Scrano L. Comparative examination of in vitro methods to evaluate the antimicrobial activity of biomaterials. Emergent Mater. 2024;
8. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. Vol. 49, Clinical Infectious Diseases. 2009. p. 1749–55.
9. Zazharskyi V V., Davydenko P, Kulishenko O, Borovik I V., Brygadyrenko V V. Antibacterial ve fungicidal activities of ethanol extracts from *Cotinus coggygia*, *Rhus typhina*, *R. trilobata*, *Toxicodendron orientale*, *Hedera helix*, *Aralia elata*, *Leptopus chinensis* and *Mahonia aquifolium*. Regul Mech Biosyst. 2020;11(2):305–9.
10. Terlecka P, Terlecki K. Antimicrobial activity of *Hedera helix* L. In: Biologically active compounds of plant origin in medicine. Lublin; 2020. p. 81–9.
11. Yang J, Long H, Hu Y, Feng Y, McNally A, Zong Z. *Klebsiella oxytoca* Complex: Update on Taxonomy, Antimicrobial Resistance, and Virulence. Vol. 35, Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology; 2022.
12. Cho W Il, Chung MS. *Bacillus* spores: a review of their properties and inactivation processing technologies. Vol. 29, Food Science and Biotechnology. The Korean Society of Food Science and Technology; 2020. p. 1447–61.
13. Erecevit Sönmez P, Çakılcıoğlu U. Türkiye’de Yetişen *Centaurea urvillei* DC. subsp. *urvillei*’ nin Antibakteriyel ve Antifungal Özelliği. International Journal of Pure and Applied Sciences. 2021 Dec 31;7(3):517–25.
14. Özdal Salar M, Yardimci H, Serdar DİKER K. Bazı endüstriyel bitkilerin *Salmonella* Serotipleri üzerindeki antimikrobiyel etkileri, 2015. Available from: www.veteriner.org.tr/tr/dergi
15. Abbasifar A, Ghani S, Ahsani Irvani M, Rafiee B, Valizade Kaji B, Akbari A. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by Using Extracts of *Hedera helix*. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2017 Jan 18;In Press(In Press).

Ticari olarak satılan keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*) unu ve matcha (yeşil çay tozu) tozunun antioksidan aktiviteleri

Zeynep Akçay Teker^{1*}

¹*Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim şirketi, Ar-Ge Birimi, Rize, Türkiye*

**E-mail: zeynep_akcayteker21@erdogan.edu.tr*

**Orcid No: 0000-0002-2977-3731*

zet

Antioksidanlar, vücudu serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan bileşiklerdir. Serbest radikaller, normal metabolizma süreçleri veya çevresel faktörler sonucu oluşan, hücrelere zarar verebilen reaktif moleküllerdir. Antioksidanlar meyve, sebze, kuruyemiş ve tam tahıllar gibi gıdaların tüketilmesiyle vücuda alınması sağlanır. Bu çalışmada, ticari olarak satılan keçiboynuzu unu ve matcha tozunun antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmamız ile bu iki ürünün antioksidan aktivitesini 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikali (DPPH) antioksidan kapasite tayin yöntemi ile değerlendirmek amaçlanmıştır. Yapılan çalışmada keçiboynuzu unu ve matcha tozu belirgin bir şekilde yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Keçiboynuzu ununa ait IC₅₀ değeri 128122, 73mg.mL⁻¹ ve matcha tozuna ait IC₅₀ değeri 2783,90 mg.mL⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Değerler standart olarak karşılaştırılan troloksun IC₅₀ eş değeri olan 859,80 mg.mL⁻¹'e göre yüksek bulunmuştur. Bu durum örneklerin antioksidan kapasitelerinin oldukça yüksek olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Keçiboynuzu Unu; Matcha Tozu; Antioksidan Aktivitesi; DPPH.

Teşekkür: Bu alışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (Tubitak) tarafından Proje kodu ve numarası (Tubitak 1512 - 2230205) altında desteklenmektedir. Yazar ayrıca, ar-ge laboratuvarlarının kullanılmasına yönelik destekleri için Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim şirketi'ne teşekkür etmek isterler.

Antioxidant activities of commercially available carob (*Ceratonia siliqua*) flour and matcha (green tea powder) powder

Abstract

Antioxidants are compounds that protect the body from the harmful effects of free radicals. Free radicals are reactive molecules that are formed as a result of normal metabolic processes or environmental factors and can damage cells. Antioxidants are taken into the body by consuming foods such as fruits, vegetables, nuts and whole grains. In this study, the antioxidant activities of commercially available carob flour and matcha powder were investigated. The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of these two products by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) antioxidant capacity determination method. In the study, carob flour and matcha powder showed significantly high antioxidant activity. The IC₅₀ value of carob flour was 128122,73 mg.mL⁻¹ and the IC₅₀ value of matcha powder was 2783,90 mg.mL⁻¹.

The values were found to be higher than the IC50 equivalent value of 859,80 mg.mL⁻¹ of trolox compared as standard. This showed that the antioxidant capacity of the samples was quite high.

Keywords: Carob Flour; Matcha Powder; Antioxidant Activity; DPPH.

Acknowledgements: This work is supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (Tubitak) under Project code and number (Tubitak 1512 - 2230205) . The authors also would like to acknowledge the Fish Pro Jel Food Industry Trade Joint Stock Company for the support of using ar-ge laboratories.

1. GİRİŞ

Antioksidanlar, serbest radikallere elektron vererek onları nötralize eden ve böylece biyolojik süreçlerde oksidatif hasarı en aza indiren kimyasal bileşenlerdir (2). Serbest radikallerin artan oluşumu, çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilen aşırı oksidatif strese neden olur (14). Yapılan çalışmalarla güçlü antioksidan özelliklere sahip yeni bileşiklerin arayışına girilmiştir (3). Keçiboynuzu unu ve matcha tozu, antioksidanlar açısından zengin doğal kaynaklar olup, sağlık faydaları açısından önemli potansiyele sahiptir (7). Yapılan çalışmalarla düşük miktarda yağ içeriğine sahip keçiboynuzu posası diyet lifi, polifenoller, mineraller, siklitoller gibi birçok değerli bileşenin kaynağı olarak değerlendirmeye çalışılmaktadır (11). Ayrıca keçiboynuzu unu tüketimi sağlık açısından değerlendirildiğinde yüksek antioksidan aktivite göstermekte, kolesterol seviyelerini düşürmekte ve glikoz toleransını artırmaktadır. (13). Polifenol içeriği yüksek olan yeşil çayda taze yaprakların kuru ağırlığının yaklaşık %30'unu flavanol ve flavonollerin olması sağlık açısından önemlidir. (11,8). Karmaşık matrislerin antioksidan aktivitesini ve kapasitesini değerlendirmek amacıyla sıklıkla kullanılan hızlı spektrofotometrik analizler, reaksiyon mekanizmaları ile matris ve çözücü etkilerinin yeterince anlaşılmaması nedeniyle genellikle sınırlı ve kapsamlı olmayan sonuçlar sunmaktadır. (1). Bileşiklerin antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) serbest radikalinin model olarak kullanılması yaygın bir uygulamadır. Mevcut yöntemler arasında, DPPH spektrofotometrik testi, basitliği ve uygulama kolaylığı nedeniyle en yaygın kullanılan serbest radikal değerlendirme yöntemi olarak öne çıkmaktadır (5). Bu test, antioksidan aktivitenin nicel olarak belirlenmesine olanak tanırken, çeşitli biyolojik ve kimyasal örneklerin analizinde etkin bir araç olarak kullanılmaktadır. DPPH'nin, serbest radikal scavenging kapasitesinin belirlenmesi konusundaki güvenilirliği, araştırmacılar arasında bu yöntemin tercih edilmesinin temel nedenlerinden biridir. Antioksidan içeriklerinin araştırılması amacıyla bu çalışmada keçiboynuzu unu ve matcha tozunun antioksidan kapasiteleri DPPH metodu ile değerlendirilmektedir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada Hünnap markalı Keçi boynuzu unu ve Çaykur markalı Matcha tozu kullanılmıştır (Şekil 1). Örneklerden 20 gr tartılarak üzerlerine 80 ml metanol (CH_3OH) eklenmiştir. Ultrasonik su banyosunda 30 dakika boyunca 25°C 'de iyice çözünmeleri sağlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar süzülerek falkon tüplere alınmıştır, 4000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Dibe çöken çökelti kısmından ayrılmıştır.



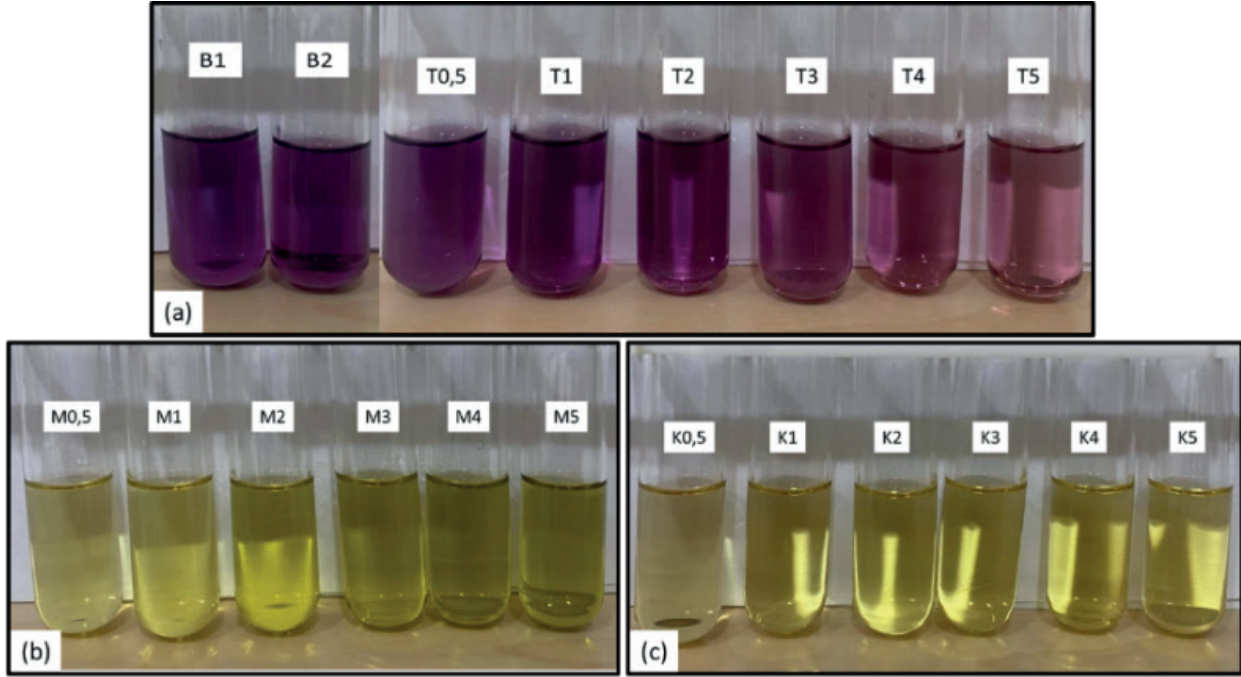
Şekil 1: Ticari olarak satılan keçi boynuzu unu ve matcha tozundan elde edilen ekstraktlar

Bileşiklerin antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi için DPPH serbest radikali kullanıldı. Brand-Williams ve diğerleri (1995) tarafından oluşturulan metoda göre analizler yapılmıştır. 10 mg DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 100ml metanol ile çözdürülerek DPPH stok çözeltisi hazırlanmıştır. DPPH stok çözeltisinden 3,5 birim metanolden 6,5 birim alınarak DPPH çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

Standart solüsyonu hazırlarken $1000\ \mu\text{M}$ 'lık çözelti için 0,025gr Trolox tartılarak 100 ml metanol- le çözülmüştür. Standart solüsyonundan ve örnekler için hazırlanan ekstraksiyondan metanol ile $100\ \mu\text{M}$, $200\ \mu\text{M}$, $400\ \mu\text{M}$, $600\ \mu\text{M}$, $800\ \mu\text{M}$ ve $1000\ \mu\text{M}$ konsantrasyon olacak şekilde tüplere tüplere alınmış ve vortexlenerek konsantrasyonları hazırlanmıştır (4).

Tüpler iki tekrar olacak şekilde hazırlanarak içlerine 3,9 ml DPPH çalışma solüsyonu koyulmuştur. Üzerlerine 100 µL hazırlanan standart ve örnek solüsyonları eklenerek 30 saniye vortexlenmiştir. 60 dakika karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. UV Spectrofotometer de 515nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek %İnhibition değeri hesaplanmıştır. (Şekil 2)

$$\% \text{Inhibition} = 100 * (A_0 - A) / A_0 \quad (A_0 = \text{Blanc absorbance}, A = \text{Sample absorbance})$$



Şekil 2: (a) Blank ve Troloksa ait konsantrasyonlar; (b) Matcha tozuna ait konsantrasyonlar; (c) Keçiboynuzu ununa ait konsantrasyonlar.

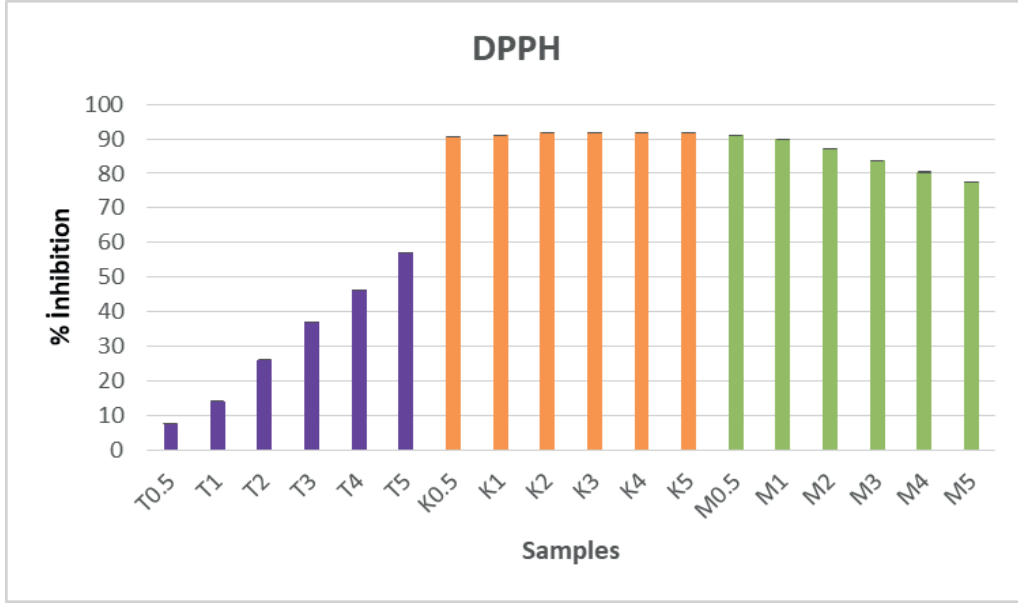
IC50 değeri, yüzde inhibisyonun 50'ye eşit olduğu bileşik konsantrasyonu olarak tanımlanmıştır ve en az iki bağımsız deneyin ortalaması alınmalıdır. %inhibisyon değeri ve konsantrasyonları kullanarak x (ekstrakt konsantrasyonu), y (DPPH inhibisyonu (%)) grafiği çizilmiştir. Düz bir çizgiye (doğrusal regresyon) uydurulmuştur. IC50 değeri daha sonra doğrusal doğru denklemi kullanılarak tahmin edilmiştir. Aşağıdaki formüllere göre IC50 değeri hesaplanmıştır.

$$Y = a * X + b,$$

$$IC50 = (50 - b) / a.$$

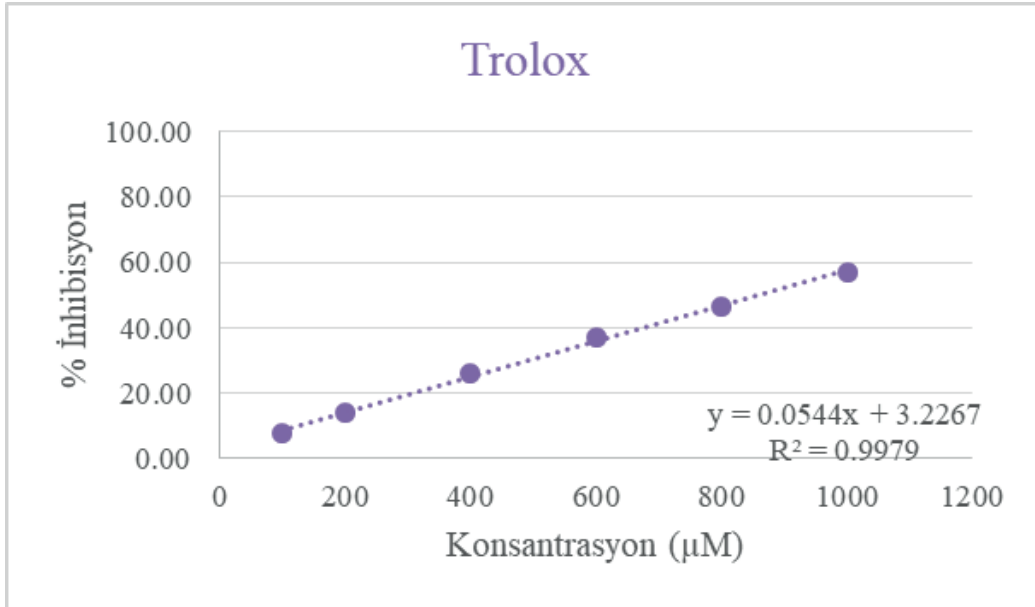
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Keçiboynuzu unu ve matcha tozuna ait %inhibisyon değerleri grafikte verilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki keçiboynuzu ununa ait %inhibisyon değeri %90,58 ile %91,96 değer aralığındadır. Matcha tozuna ait % inhibisyon değeri ise %77,48 ile %91,10 arasındadır (Şekil3).



Şekil 3: Troloks, Keçiboynuzu unu ve Matcha tozuna ait %inhibisyon değerleri

Troloksa ait DPPH kalibrasyon eğrisi Şekil 4 belirtilmiştir.



Şekil 4: Troloksa ait kalibrasyon eğrisi

Çalışmada keçiboynuzu unu ve matcha tozunun antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Keçi-boynuzu unu ve matcha tozu yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Keçiboynuzu unu ve matcha tozu, antioksidan aktiviteleri açısından değerli doğal kaynaklardır. Sağlık yararlarını maksimize

etmek için bu ürünlerin düzenli olarak tüketilmesi önerilmektedir (12). Yapılan analizlerin sonuçlarına göre keçiyoynuzu ununun okunan absorbans değerlerinde azalma gözlenirken matcha tozunun absorbans değerlerinde artış söz konusudur. Bunun sebebi matcha tozunu yeşil renginin inkübasyon sırasında tamamen kaybolmamasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle IC50 değeri hesaplanırken matcha tozuna ait değerler negatif çıkmaktadır. Örneklere ait IC50 değerleri troloks ile kıyaslandığında değerler troloksa göre yüksek çıkmaktadır (IC50troloks: 859,80; IC50keçiyoynuzu: 128122,73; IC50matcha: 2783,90). Bu durumda örneklerin antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Keçiyoynuzu unu ve matcha tozu, yüksek antioksidan kapasiteleriyle dikkat çekmektedir. Her iki ürünün de sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratabileceği ve beslenme rejimlerine dahil edilebileceği sonucuna varılmıştır (15,7).

Keçiyoynuzu unu ve matcha tozu, antioksidan aktiviteleri açısından değerli doğal kaynaklardır. Sağlık yararlarını maksimize etmek için bu ürünlerin düzenli olarak tüketilmesi önerilmektedir. Gelecek çalışmalar, her iki ürünün uzun dönemli sağlık etkilerini ve farklı sağlık koşullarındaki etkinliğini daha detaylı bir şekilde araştırmalıdır (12).

KAYNAKLAR

1. Angeli, L., Populin, F., Morozova, K., Ding, Y., Asma, U., Bolchini, S., ... & Scampicchio, M. (2024). Comparative analysis of antioxidant activity and capacity in apple varieties: Insights from stopped flow DPPH• kinetics, mass spectrometry and electrochemistry. *Food Bioscience*, 58, 103729.
2. Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326.
3. Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
4. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
5. Deutchoua, A. D. D., Nguemmaleu, Y., Liendji, R. W., Hanga, S. S. P., Nguelo, B. B., Dedzo, G. K., & Ngameni, E. (2024). Unusual reactivity of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) with Fe 3+ controlled by competing reactions. *RSC advances*, 14(2), 1354-1359.
6. Jamshidi-Kia, F., Wibowo, J. P., Elachouri, M., Masumi, R., Salehifard-Jouneghani, A., Abolhassanzadeh, Z., & Lorigooini, Z. (2020). Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 9(3), 191-199.
7. Kim, H., & Choi, Y. (2024). Comparative Analysis of Natural Antioxidants. *Food Chemistry*

8. Mandel, S. A., Avramovich-Tirosh, Y., Reznichenko, L., Zheng, H., Weinreb, O., Amit, T., & Youdim, M. B. (2005). Multifunctional activities of green tea catechins in neuroprotection. *Neurosignals*, 14(1-2), 46-60.
9. Mozahheb, N.; Arefian, E.; Amoozegar, M.A. Designing a whole cell bioreporter to show antioxidant activities of agents that work by promotion of the KEAP1–NRF2 signaling pathway. *Sci. Rep.* 2019, 9, 3248. [CrossRef] [PubMed]
10. Sivanesan, I., Gopal, J., Muthu, M., Chun, S., & Oh, J. W. (2021). Retrospecting the antioxidant activity of japanese matcha green tea—lack of enthusiasm?. *Applied Sciences*, 11(11), 5087.
11. Tetik, N., Turhan, I., Oziyci, H. R., & Karhan, M. (2011). Determination of D-pinitol in carob syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(6), 572-576.
12. Thompson, R., & Patel, N. (2022). The Impact of Matcha on Oxidative Stress. *Nutritional Biochemistry*.
13. van Rijs, P., & Fogliano, V. (2020). Roasting carob flour decreases the capacity to bind glycoconjugates of bile acids. *Food & Function*, 11(7), 5924-5932.
14. Végh, R., Sipiczki, G., & Csóka, M. (2023). Investigating the Antioxidant and Color Properties of Bee Pollens of Various Plant Sources. *Chemistry & Biodiversity*, 20(7), e202300126.
15. Zhang, L., & Lee, S. (2023). Antioxidant Properties of Carob Flour. *Journal of Food Science*.

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) deri ve kılçıklarından elde edilen jelatin ve unların aminoasit profil değerlendirmesi

Ayşe Demirbaş^{1*}, Zeynep Akçay Teker²

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Bölümü, Rize, Türkiye

²Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi, Ar-Ge Birimi, Rize, Türkiye

*E-mail: ayse.demirbas@erdogan.edu.tr

*Orcid No: 0000-0002-7629-3263

Özet

Aminoasitler, proteinlerin yapı taşları olarak vücutta birçok biyolojik işlevi desteklemektedir. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), ekolojik ve ekonomik açıdan önemli olmakla birlikte aminoasit, vitamin ve mineral bakımından oldukça zengin içeriğe sahip bir balık türüdür. Bu çalışmada gökkuşığı alabalığında atık olarak ortaya çıkan deri ve kılçıktan elde edilen jelatin ve unun aminoasit profili değerlendirilmiştir. Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile ölçülerek besin değerinin belirlenmesine katkıda bulunmuştur. Deriden elde edilen en yüksek aminoasit değeri 1088,81 ng/ml olarak alaninde gözlenirken yalnızca homosistin aminoasiti bulunmamaktadır. Diğer örneklerde fenilalanin, 3-aminoizobütirik asit, gamma-aminobütirik asit, norvalin, valin, glutamin, sitrülün, ornitin ve 1-metilhistidin aminoasitleri bulunmamaktadır. Kılçık jelatininde en yüksek olan değer 39,01 ng/ml ile aspartik asit, deri ununda 6,83 ng/ml ile alanin ve kılçık ununda 35,60 ng/ml ile 3-metilhistidinde gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre gökkuşığı alabalığı derisinden elde edilen jelatinde aminoasit konsantrasyonları diğer örneklerle kıyaslandığında belirgin şekilde yüksek çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aminoasit Profili; Gökkuşığı Alabalığı, Balık Jelatini; Balık Unu.

Teşekkür: Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (Tubitak) tarafından Proje kodu ve numarası (Tubitak 1512 - 2230205) altında desteklenmektedir. Yazarlar ayrıca, ar-ge laboratuvarlarının kullanılmasına yönelik destekleri için Fish Pro Jel Gıda Sanayi Ticaret Anonim Şirketi'ne teşekkür etmek isterler.

Amino acid profile evaluation of gelatin and flours obtained from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin and bones

Abstract

Amino acids support many biological functions in the body as the building blocks of proteins. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is an ecologically and economically important fish species that is rich in amino acids, vitamins and minerals. In this study, the amino acid profile were evaluated. Liquid chroma-

tography-mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to determine the nutritional value. The highest amino acid value obtained from the skin was observed in alanine as 1088.81 ng/ml, while only homocystine amino acid was absent. Phenylalanine, 3-aminoisobutyric acid, gamma-aminobutyric acid, norvaline, valine, glutamine, citrulline, ornithine and 1-methylhistidine amino acids were absent in other samples. The highest value was observed in aspartic acid with 39,01 ng/ml in fishbone gelatin, alanine with 6,83 ng/ml in skin meal and 3-methylhistidine with 35,60 ng/ml in fishbone meal. According to the results of the study, amino acid concentrations in gelatin obtained from rainbow trout skin were significantly higher compared to other samples.

Keywords: Amino Acid Profile; Rainbow Trout; Fish Gelatin; Fish Meal.

Acknowledgements: Acknowledgements: This work is supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (Tubitak) under Project code and number (Tubitak 1512 - 2230205) . The authors also would like to acknowledge the Fish Pro Jel Food Industry Trade Joint Stock Company for the support of using ar-ge laboratories.

1. GİRİŞ

Balık ve diğer deniz ürünleri, esansiyel amino asitler, çoklu doymamış yağ asitleri, vitaminler ve minerallerin iyi bir kaynağı olarak kabul edilir (6,2). Gökkuşaağı alabalığı, hem ekonomik değeri hem de besin içeriği açısından önem taşımaktadır. Bu balığın işlenmesi sonucunda deri, kılçık ve iç organlar gibi yan ürünler açığa çıkmaktadır. Protein bakımından zengin olan bu yan ürünler balık üretiminde kaynak verimliliğini ve sürdürülebilirliği artırmak için etkin bir şekilde değerlendirilmelidir (8). Balığın deri ve kılçıklarından elde edilen jelatin ve un, çeşitli endüstrilerde kullanılmakta ve bu ürünlerin aminoasit profili, sağlıklı beslenme açısından önem arz etmektedir (10). Çalışmada gökkuşaağı alabalığının işlenmesi sonucu ortaya çıkan deri ve kılçıktan elde edilen jelatin ve un örneklerinin aminoasit içerikleri belirtilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada gökkuşaağı alabalığı kılçık ve derisi kullanılmıştır. Kılçık unu üretmek amacıyla kılçıklar çeşme suyuyla kaynatıldıktan sonra kalan et parçaları uzaklaştırılmıştır. Daha sonra etüvde 80 °C’de yaklaşık 8 saat kurutularak kuruyan kılçık parçaları öğütücüde un haline getirilmiştir. Deri unu üretirken temizlenmiş deriler küçük parçalara ayrılıp, çeşme suyuyla yıkandıktan sonra 80 °C etüvde yaklaşık 8 saat kurutulup öğütücü yardımı ile un haline getirilmiştir. Jelatin üretimi için deri ve kılçıklar ayrı olarak aynı alkali-asidik yöntem ile gerçekleştirildi. Sırayla 0,8 M sodyum klorür, 0,2 M sodyum hidroksit çözeltisinde, 0,05 M Asetik Asit çözeltisinde yaklaşık 30 dakika bekletilerek her çözelti değişiminde deriler çeşme suyuyla iyice yıkanmıştır. Daha sonra deriler distile su ile 45 °C’de 16 saat ekstraksiyona bırakıldı. Süre sonunda kaba filtre kağıdından geçirilerek sıvı kısım 45 °C etüvde kurutulmuştur.

Gökkuşağı alabalığı atıklarından elde edilen jelatin ve un örnekleri kullanılarak amino asit yoğunlukları sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemiyle belirlenmiştir (7). LC-MS/MS cihazı, sıvı kromatografisinin (LC) yüksek çözünürlük gücü ile üçlü kuadropol kütle spektrometresinin hassas ölçüm yeteneklerini bir araya getirir. Sıvı kromatografisi, karışımdaki bileşenleri ayırırken; kütle spektrometrisi, her bir bileşenin yapısal tanımını sağlamada önemli bir rol oynamaktadır (1).



Şekil 1: (a) Kurutulmuş gökkuşağı alabalığı kılçığı, (b) Kurutulmuş gökkuşağı alabalığı kılçığı unu, (c) Gökkuşağı alabalığı kılçığından yapılmış jelatin, (d) Kurutulmuş gökkuşağı alabalığı derisi, (e) Kurutulmuş gökkuşağı alabalığı derisi unu, (f) Gökkuşağı alabalığı derisinden yapılmış jelatin.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Jelatin ve un örneklerinin aminoasit profilleri, Tablo 1’de verilmiştir. Sonuçlar, gökkuşağı alabalığının farklı parçalarının farklı aminoasit profilleri sunduğunu ortaya koymaktadır (5).

Tablo 1: Örneklere Ait Aminoasit Profili (A1: Deri Jelatini, A2: Kılçık Jelatini, A3: Deri Unu, A4: Kılçık Unu.)

Aminoasit	A1	A2	A3	A4
Taurin	80.5553	5.4522	1.3258	2.9104
Triptofan	26.9436	2.2833	1.8982	2.9958
Fenilalanin	57.0268	ND	ND	ND
Tirozin	67.7736	3.4426	1.7555	3.9659
Lösin	106.4590	2.8584	1.7837	6.8577

İzolösin	112.2695	4.8159	3.9407	6.3603
Metionin	78.2224	ND	ND	2.8088
3-Aminoizobütirik asit	49.4455	ND	ND	ND
Gama-Aminobütirik asit	38.5879	ND	ND	ND
2-Aminoadipik asit	9.7177	0.9294	0.6527	0.5016
Norvalin	3.9489	ND	ND	ND
Valin	83.1358	ND	ND	ND
Glutamik asit	241.7957	10.2230	4.2124	27.4336
Etanolamin	33.7133	0.2601	ND	ND
Beta-Alanin	131.3944	5.7006	0.4547	9.3995
Aspartik asit	109.5019	39.0112	4.9078	7.9842
2-Aminobütirik asit	8.0838	2.0551	2.0141	2.3863
Treonin	269.0582	ND	ND	13.0276
Serin	279.0912	10.5758	ND	6.6925
Alanin	1088.8076	9.4462	6.8280	20.0187
Glisin	330.3777	14.7880	8.1433	21.6325
Trans-4-Hidroksiprolin	72.8496	2.3229	0.8435	3.3374
Asparagin	29.5655	6.0879	1.9006	1.7469
Prolin	65.8287	5.1885	ND	ND
Glutamin	3.2770	ND	ND	ND
Sarkozin	178.0307	11.5035	2.7655	1.6273
Homositrülin	2.0023	1.9905	1.8044	1.8082
Sitrülin	30.7755	ND	ND	ND
Orto-Fosforiletanolamin	3.4838	0.3506	0.6209	0.4362
Orto-Fosfoserin	1.1242	0.4838	0.4549	0.0570
Homosistin	ND	ND	ND	0.0435
Sistin	3.5766	8.5598	1.0611	1.0541
Argininosüksinik asit	0.6216	0.3056	0.2524	0.5377
Arginin	383.2250	4.4124	1.7239	23.7678
Histidin	288.1844	ND	ND	15.9283
Sistatyonin	3.0520	0.1652	0.0152	0.0245
5-Hidroksilizin	17.0198	1.2875	3.5473	0.3850
Ornitin	53.7226	ND	ND	ND

Lizin	274.4746	ND	ND	15.0859
Karnosin	10.2360	0.3271	0.4965	2.0151
1-Metilhistidin	0.3217	ND	ND	ND
3-Metilhistidin	342.0869	1.1398	ND	35.5951
Anserin	496.7762	0.4317	0.2418	30.0549

Deriden elde edilen en yüksek aminoasit değeri 1088,81 ng/ml olarak alaninde gözlenirken homosistin aminoasiti bulunmamaktadır. Diğer örneklerde fenilalanin, 3-aminoizobütirik asit, gamma-aminobütirik asit, norvalin, valin, glutamin, sitrülün, ornitin ve 1-metilhistidin aminoasitleri bulunmamaktadır. Kılçık jelatininde en yüksek olan değer 39,01 ng/ml ile aspartik asitken treonin, homosistin, histidin ve lizin aminoasitleri de bulunmamaktadır. Deri ununda en yüksek değer 6,83 ng/ml ile alaninken etanolamin, treonin, serin, prolin, homosistin, histidin, lizin ve 3-metilhistidin bulunmamaktadır. Kılçık ununda en yüksek olan değer 35,60 ng/ml ile 3-metilhistidinde gözlenirken Etanolamin ve Prolin aminoasitleri de bulunmamaktadır. Çalışma sonuçlarına göre gökkuşağı alabalığı derisinden elde edilen jelatinde aminoasit konsantrasyonları diğer örneklerle kıyaslandığında belirgin şekilde yüksek çıkmıştır. Gökkuşağı alabalığından elde edilen jelatin, özellikle bağ dokusu sağlığı için önemli olan glisin ve prolin açısından zengindir. Bu aminoasitler, cilt sağlığı ve eklem fonksiyonları üzerinde olumlu etkilere sahip olabilir (Zhao et al., 2018). Öte yandan, alabalık unu, esansiyel aminoasitler açısından daha zengin bir profil sunarak, besleyici bir katkı maddesi olarak değerlendirilebilir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deniz ürünleri esansiyel amino asitler, vitaminler ve minerallerin potansiyel bir kaynağıdır (9). Büyüme ve bakım için gerekli olan bazı amino asitler diyetle dahil edilmelidir. Aspartik asit, glisin ve glutamik asit gibi amino asitlerin de yara iyileşmesi sürecinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (12,3). Gökkuşağı alabalığından elde edilen jelatin ve unlar, besin değeri açısından önemli kaynaklardır. Bu ürünlerin aminoasit profili, sağlık yararlarını artırmak için potansiyel bir fırsat sunmaktadır. İleri düzey araştırmalar, bu ürünlerin sağlık üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak için gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Bilgin, Ö., Çarlı, U., Erdoğan, S., Maviş, M. E., Gürsu, G. G., & Yılmaz, M. (2019). Karadeniz’de (Sinop Yarımadası civarı) avlanan izmarit balığı, *Spicara smarıs* (Linnaeus, 1758), etinin LC-MS/MS kullanarak amino asit içeriğinin tespiti ve ağırlık-boy ilişkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(2), 130-136.
2. Corapci, B., & Guneri, N. (2019). Comparative assessment of nutritional composition and

physicochemical properties of fresh, freeze-dried and rehydrated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) mince. *Food Science and Technology*, 40(Suppl. 1), 163-169.

3. Erkan, N., Selçuk, A., & Özden, Ö. (2010). Amino acid and vitamin composition of raw and cooked horse mackerel. *Food Analytical Methods*, 3, 269-275.
4. Erkan, N., Selçuk, A., Özden, Ö., 2010, Amino acid and vitamin composition of raw and cooked horse mackerel, *Food analytical methods*, 3, 269-275.
5. García-Carreno, F. L., et al. (2019). Nutritional value and amino acid composition of fish proteins. *Aquaculture Nutrition*, 25(1), 21-34.
6. Rebolé, A., Velasco, S., Rodríguez, M. L., Treviño, J., Alzueta, C., Tejedor, J. L., & Ortiz, L. T. (2015). Nutrient content in the muscle and skin of fillets from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, 174, 614-620. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.072>. PMID:25529727
7. Sadiq, M. B., et al. (2020). Amino acid composition of fish meal and its potential use in animal feed. *Aquaculture Research*, 51(9), 3712-3721.
8. Valcarcel, J., Hermida-Merino, C., Piñeiro, M. M., Hermida-Merino, D., & Vázquez, J. A. (2021). Extraction and characterization of gelatin from skin by-products of seabream, seabass and rainbow trout reared in aquaculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12104.
9. Varlık C, Erkan N, Baygar T (2004) Su Ürünleri Besin Bileşimi. In: Varlık C (ed) (2004). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi (p. 1-43). 2004. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4465. İstanbul/Türkiye
10. Zhang, Y., et al. (2021). Composition and properties of fish gelatin: A review. *Journal of Food Science*, 86(7), 2953-2965.
11. Zhao, X., et al. (2018). Health benefits of gelatin and its hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, 43, 123-132.
12. Zuraini A, Somchit MN, Solihah MH, Goh YM, Arifah AK, Zakaria MS, Somchit N, Rajion MA, Zakaria ZA, Mat Jais AM (2006) Fatty acid and amino acid composition of three local Malaysian *Channa* spp. fish. *Food Chem* 97:674–678

Siyez ve Dağdaş Buğday Fidelerinde Tuz ve Su baskınının Büyümeye Etkisi

Berna Çalıcı^{1*}, Nuray Ergün², Pelin Şengül Toraman³

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hatay, Türkiye

¹*E-mail: berna_kulac82@hotmail.com

*Orcid No: 0000-0002-5312-1792

²E-mail: ergun.nuray@gmail.com

Orcid No: 0000-0001-7725-3602

³E-mail: psengul31@gmail.com

Orcid No: 0000-0002-4213-765X

Özet

Tuzluluk (T), su baskını (SB), kuraklık vb. Streslere maruz kalan buğday fidelerinde büyüme ve verim olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu çalışmada, atasal buğday (*Triticum monococcum* L., Siyez) ve ekmeklik modern buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş) T, SB ve su baskını ile tuzun etkileşimlerine (T+SB) maruz bırakılmıştır. T ve T+SB streslerinin etkisinde Siyez'in büyüme parametreleri, Dağdaş'a göre daha fazla etkilenmiştir. SB stresinin etkisinde klorofil miktarı (Kl) Siyez buğdayında azalma eğilimi gösterirken Dağdaş buğdayında artmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, Dağdaş buğdayı streslerin tek ve çapraz etkisine Siyez buğdayına göre daha fazla dayanıklılık göstermektedir. Stres etkisindeki tarım arazilerinden maksimum verimin elde edilmesinde modern buğdayların etkisi büyüktür.

Anahtar Kelimeler: *Triticum aestivum*; *Triticum monococcum*; sürgün boy; klorofil

Teşekkür: Danışanım Prof. Dr. Nuray Ergün'e ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Effects of Salt and Waterlogging on Growth in Eincorn and Dağdaş

Abstract

Growth and yield are negatively affected in wheat seedlings exposed to stresses such as salinity (T), flooding (SB), drought, etc. In this study, ancestral wheat (*Triticum monococcum* L., Siyez) and modern bread wheat (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş) was exposed to T, SB, flooding and salt interactions (T+SB). Under the influence of T and T+SB stresses, the growth parameters of Eincorn was affected more than those of Dağdaş. Under the influence of SB stress, the ammount of chlorophyll (Kl) tended to decrease in Eincorn wheat, while it increased in Dağdaş wheat. According to the study results, Dağdaş wheat is more resistant to single and cross effects of stresses than Eincorn wheat. Modern wheats have a great impact on obtaining maximum yield from stressed agricultural lands.

Keywords: *Triticum aestivum*; *Triticum monococcum*; shoot lenght; chlorophyll

Acknowledgements: I would like to thank my advisor Prof. Dr. Nuray Ergün and my laboratory colleagues.

1. GİRİŞ

Dağdaş-94 ve Siyez buğday türlerinin belirtilen parametreler açısından stres tepkisi incelenmiştir. Türlerin T, SB, T+SB uygulamalarının etkisinde meydana gelen streslere verdikleri cevaplar karşılaştırılarak farklılıkların belirlenmesi ayrıca, türlerin oluşan bu streslere toleranslı olup olmadığını belirlemek amacıyla bu çalışma yapılmıştır.

Diploid, $2n=14$ kromozom yapısına sahip Siyez buğdayı özellikle çimlenme döneminde soğuk stresine (2), düşük kuraklık stresine (3) toleranslıdır. Bu özellikleri yönünden değişen iklim şartlarına bağlı olarak ortaya çıkabilecek gıda sorununun önüne geçilmesine katkı sağlayacak buğday çeşitlerindendir (6).

T stresi tarımda sınırlayıcı etkileri olan en önemli çevresel streslerdendir. Toprak tuzluluğuna maruz kalan tarım arazilerinde yetişen bitkilerin ürün verimliliği, büyüme, gelişmesi ve vejetatif dönemleri de dahil olmak üzere olumsuz yönde etkilenmektedir (5). Buna klorofil a, klorofil b (K1 a, K1 b) içeriklerinde ve fotosistem II'nin verimliliğindeki önemli düşüşler neden olmaktadır (9).

SB, yağmurla sulanan bölgelerde bitkinin kalite verimini olumsuz olarak etkileyen abiyotik bir strestir (7). Değişen iklim şartlarının etkisi sonucu aralıklarla yağması beklenen yağmurun ani şekilde ve uzun süreli olması, yanlış sulama tekniklerinin kullanılması, arazi yapısı, toprak içeriği gibi nedenlerde su baskını stresi meydana gelmektedir (11). Ani yağışların etkisiyle normalde hava ile dolu olan toprak porları oksijenin düşük bir çözünürlüğe sahip olmasından ötürü su ile dolmaktadır. Toprak porlarındaki hava ile dolu gözenek sayısı azaldıkça oksijen eksikliği başlamaktadır (4). Bu da bitki dokularında oksijen eksikliği ile birlikte ROT birikimine neden olmaktadır. Bitki de normal koşullarda Reaktif Oksijen Türleri (ROT)'nin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge bulunmaktadır. Stres koşullarının etkisi ile bu denge bozulmakta buna bağlı olarak ROT'lar nükleik asitlere, proteinlere, zar bütünlüğüne ve fotosentetik mekanizmaya zarar vermektedir (8).

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada iki buğday türü (*Triticum monococcum* L., Siyez ve *Triticum aestivum* L. cv, Dağdaş-94) tohumları kullanılmıştır. Buğday materyalleri Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarındaki ulusal tohumlardan temin edilmiştir.

Tohumlar % 2'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dk bekletilerek steril edilmiş tohumlar saf su ile yıkanıp yaklaşık bir saat saf su içine bırakılarak şişmesi sağlanmıştır. Daha sonra toprak, kum ve torf (2v:1v:2v) karışımı hazırlanmıştır. Bu karışımın belirli bir kısmı tuz stresi (%0,7 NaCl) uygulaması için kullanılmıştır. Bu karışım viyollere doldurulup her viyole yaklaşık 18 tohum olacak

şekilde ekimi yapılmıştır. Viyollere alınan tohumlar 12 saat gündüz 24 ± 2 °C'lik ve 12 saat gece 16 ± 2 °C'lik ortamda yaklaşık 25 gün yetiştirilmiştir.

Deney 8 farklı gruba ayrılmıştır. Siyez ve Dağdaş buğdayları için kontrol grubu (T ve SB uygulanmamış), T grubu (%0,7 NaCl uygulanmış), SB grubu (SB uygulanmış), T+SB grubu (T ve SB streslerinin birlikte uygulanması) ayrı ayrı oluşturulmuştur.

Deney aşamasında hasat yapılırken her gruptan grubu en iyi temsil eden 3 örnek alınmıştır. Hasat sonunda fidelerin büyüme ve klorofil ölçümlerini yapılabilmek için fidelerin taze sürgün kısımları kesilmiştir. Sürgünlerin uzunluk (cm) verileri ölçülmüştür.

Taze ağırlıkları (gr) tespit edilmiş sürgünler 80°C' lik etüvde 48 saat süreyle suyu uzaklaştırılmış ve kuru ağırlığı (KA) tartılmıştır.

Klorofil ekstraksiyonu öncesi sodyum fosfat tamponu hazırlanarak, bu tampon ile %80'lik aseton'un pH'sı 7,8'e ayarlanmıştır. Hasat günü taze yapraklardan alınan örneklerin klorofil ekstraksiyonu %80'lik aseton kullanılarak yapılmıştır. Spektrofotometre %80 aseton (pH 7,8) ile 750 nm dalga boyunda sıfırlanmıştır. Spektrofotometrede 664 ve 647 nm dalga boylarında klorofil a ve klorofil b miktarlarının ölçümü yapılmıştır. Klorofil miktarları Porra & ark. (12) göre yapılmış, Klorofil a+b hesaplanmıştır.

Grup faktörü (kontrol, tuz stresi, su baskını stresi, tuz+su baskını stresi), zaman faktörünün (0.saat, 3.saat ve 24.saat) ve her iki faktörün etkileşiminin, ölçüm değerleri üzerindeki etkisi iki yönlü karma varyans analizi (two way mixed ANOVA) kapsamında incelendi Grup faktörünün ikili karşılaştırmalarında Duncan metodu tercih edildi. Değişkenlerin kendi aralarında yapılan korelasyon analizinde pearson korelasyon katsayısı verildi. İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) ve MS-Excel 2007 programları kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

T stresi etkisinde Siyez ve Dağdaş-94 buğday türlerinde sürgün boy uzunluğu, önemli derecede etkilenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 1). Siyez türünde sürgün boylanmasında meydana gelen azalma, Dağdaş-94 ten daha fazla olmuştur (Şekil 1). Ata buğdayı Siyez, modern buğday Dağdaş-94'e göre tuz stresine daha duyarlıdır.

T+SB uygulamasında Siyez buğday türünde sürgün boy uzunluğunda meydana gelen farklılıklar önemlidir ($p<0.05$). Siyez türünde T+SB uygulamasında zamana bağlı (0- 3 saat ve 3- 24) sürgün gelişiminin olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiş, ($p<0.001$) bu etkinin en fazla 24. saatte olduğu gözlenmiştir (Şekil 1).

T stresine maruz bırakılan Siyez türünde sürgün KA miktarında meydana gelen azalma önemli olarak belirlenmiştir ($p<0.05$), (Şekil 2).

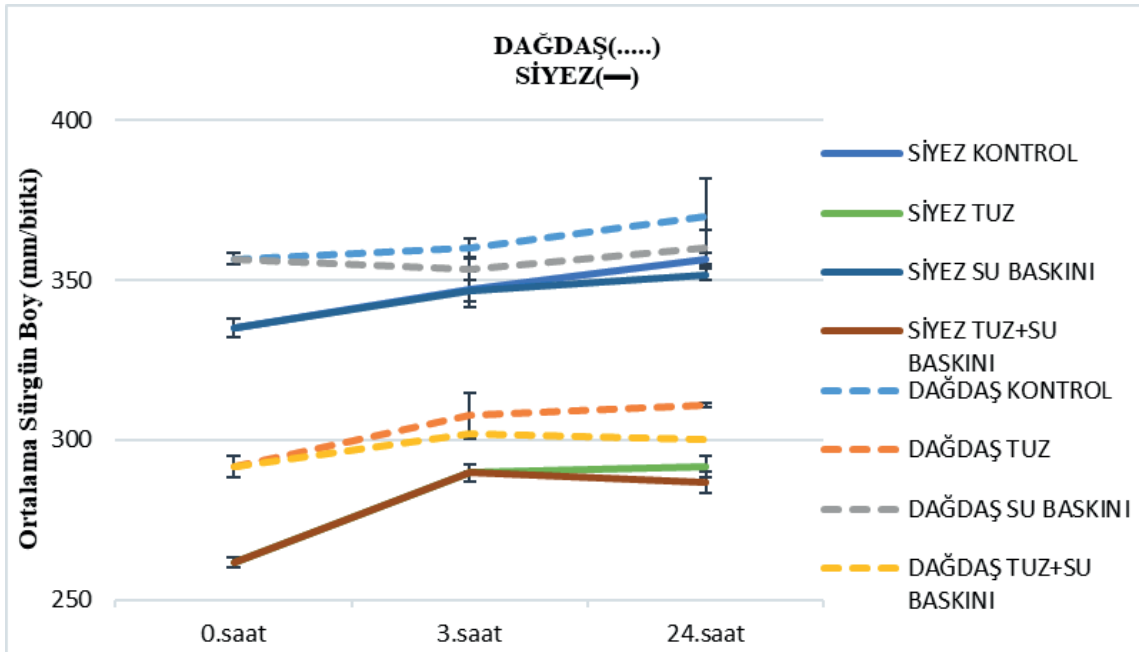
SB uygulanmış Siyez ve Dağdaş-94 türlerinde sürgün KA miktarı azalmıştır (Şekil 2). Sürgün KA miktarındaki azalma Dağdaş-94 türünde, Siyez türüne göre daha fazla olmuştur ($p<0.05$).

T ve SB streslerinin etkileşiminde sürgün KA miktarı azalmıştır. Siyez'in sürgün KA miktarının, Dağdaş-94'ten daha fazla etkilendiği görülmüştür (Şekil 2), ($p<0.05$).

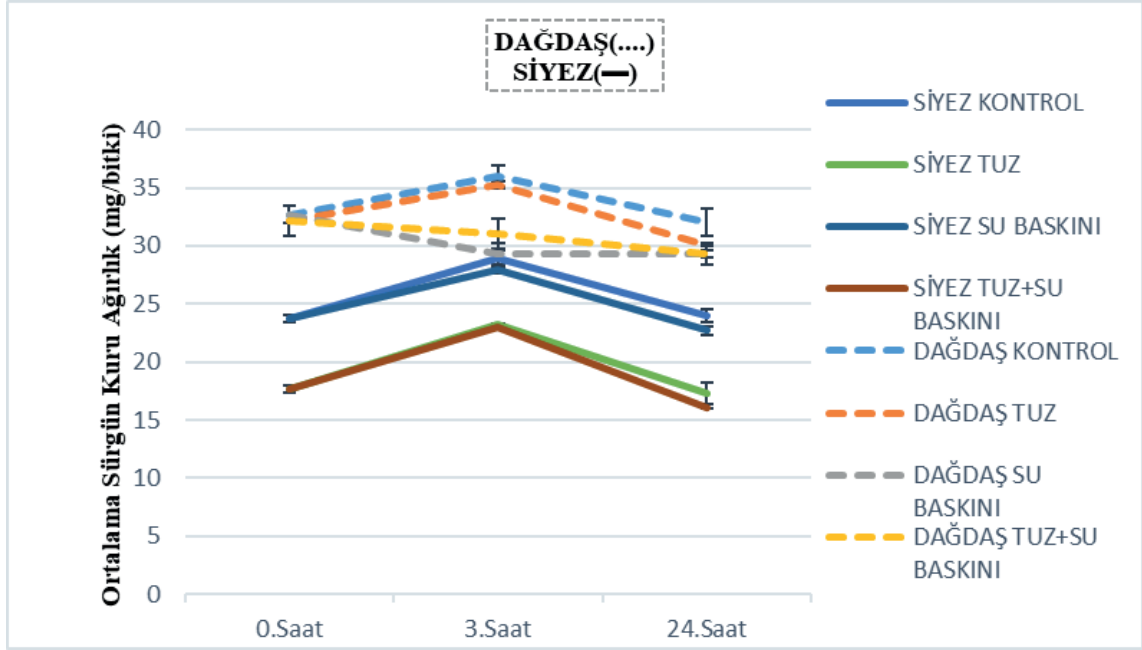
T stresi etkisinde ata buğdayı Siyez'de ve modern buğday Dağdaş-94'te K1 a (Şekil 3), K1 b (Şekil 4), K1 a+b (Şekil 5) miktarları azalmıştır. Siyez buğdayında K1-a, K1b, K1a+b miktarındaki azalma Dağdaş-94'e göre daha fazla bulunmuştur.

SB stresinin etkisinde Siyez'de K1 a, K1 b, K1 a+b miktarı önemli şekilde azalırken, Dağdaş'ta önemli miktarda artma olmuştur. ($p<0.05$).

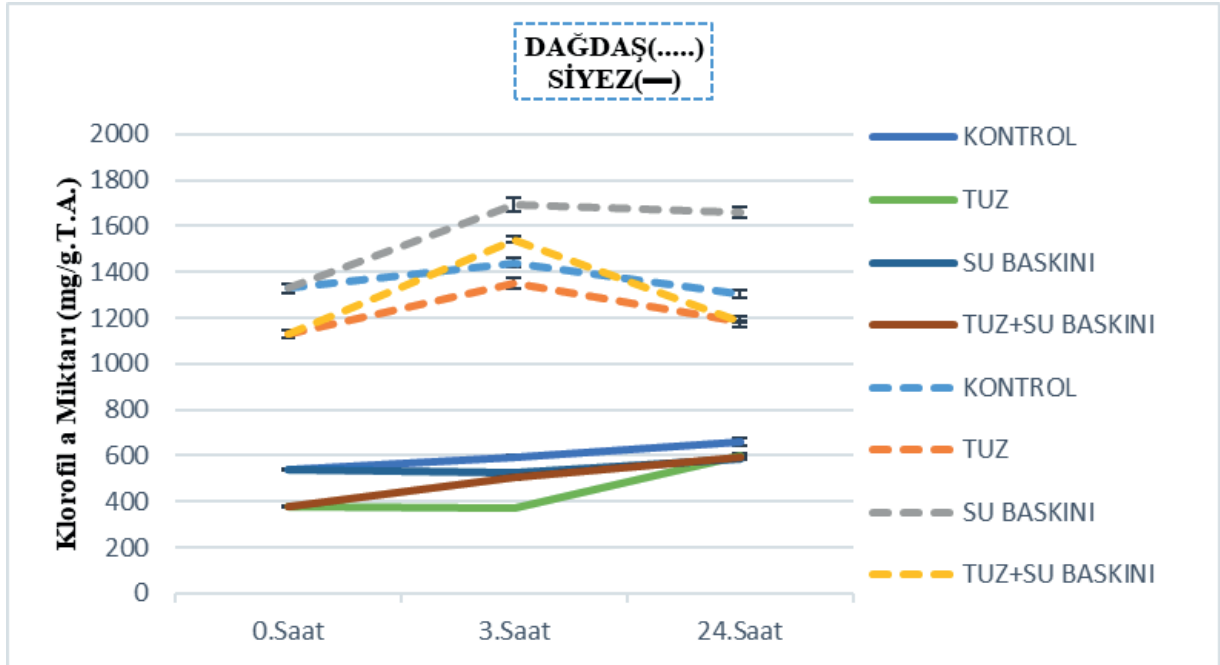
Siyez ($p<0.05$) ve Dağdaş-94 ($p<0.05$) türlerinde T+SB etkisinde meydana gelen değişimler önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Siyez türünün K1 a (Şekil 3), K1 b (Şekil 4) miktarında meydana gelen klorofil kaybının, Dağdaş-daha fazla olduğu görülmüştür. K1 a+b miktarı Siyez çeşidinde azalırken, Dağdaş çeşidinde 3.saatte artmış 24.saatte azalmıştır (şekil 5).



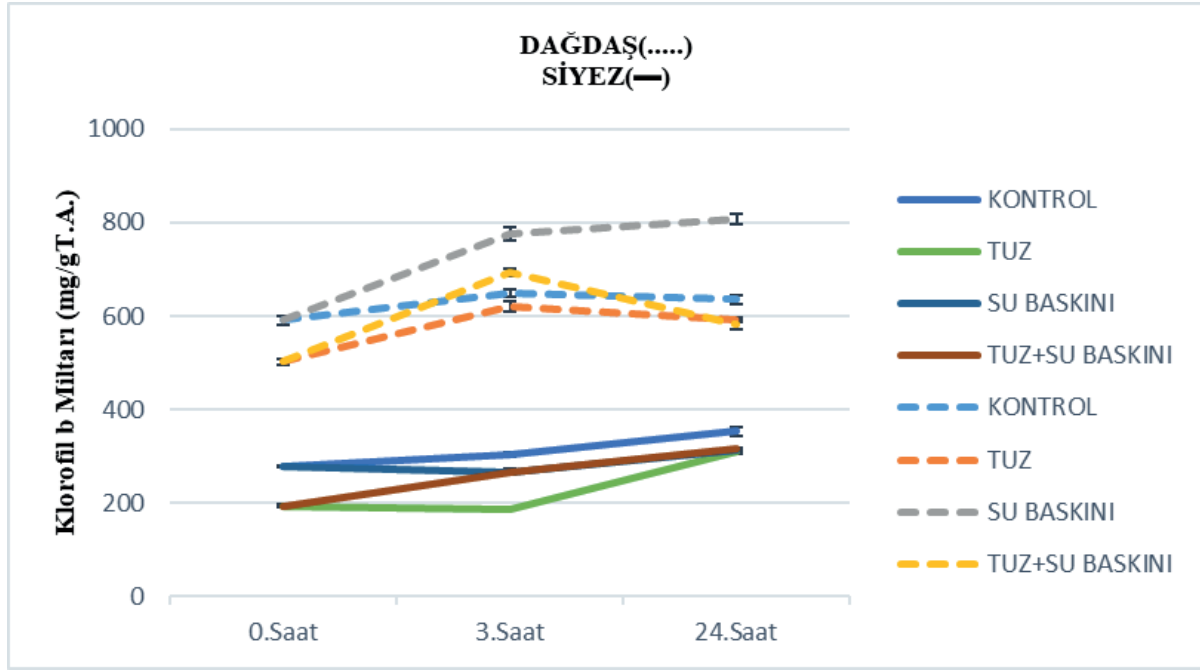
Şekil 1: Tuz, Su Baskını ve Tuz+ Su Baskını Uygulamaları Altında Yetişen Buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) ve (*Triticum monococcum* L. Siyez Fidelerinin Ortalama Sürgün Boyunda Değişimler (mm bitki -1)



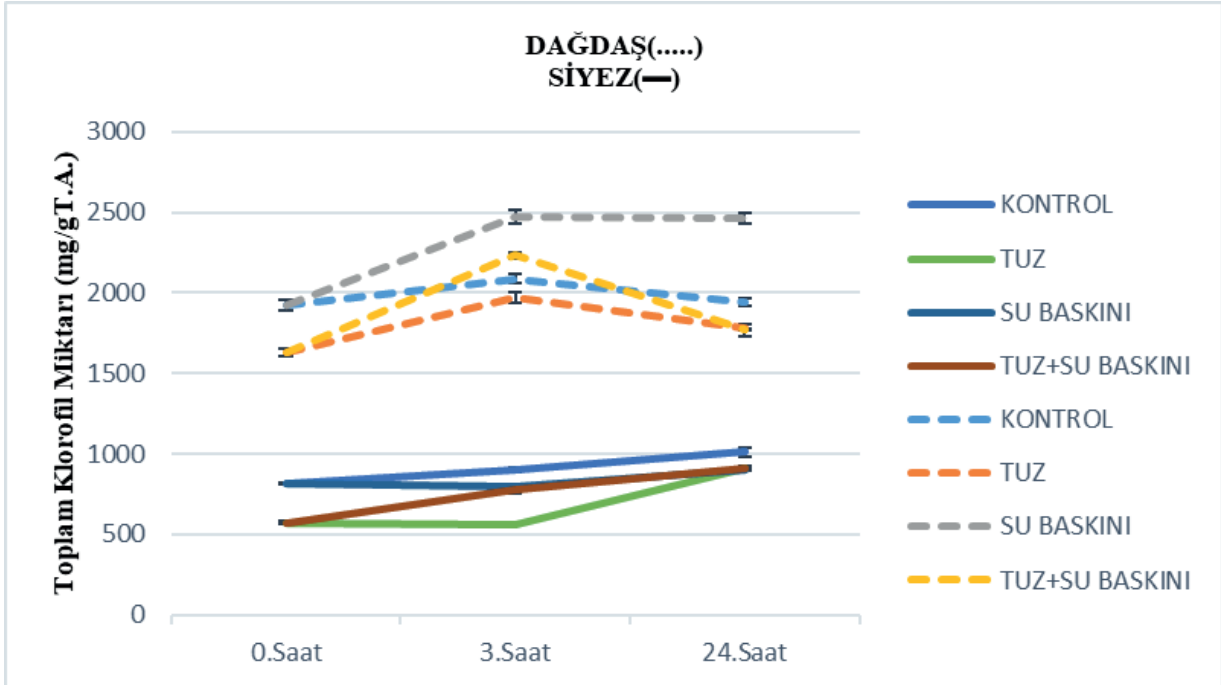
Şekil 2. Tuz, Su Baskını ve Tuz+Su Baskını Uygulamaları Altında Yetişen Buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) ve (*Triticum monococcum* L. Siyez) Fidelerinin Ortalama Sürgün Kuru Ağırlığındaki Değişmeler (mg bitki).



Şekil 3: Tuz, Su baskını ve Tuz+Su Baskını Uygulamaları Altında Yetişen Buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) ve (*Triticum monococcum* L. Siyez) Fidelerinin Ortalama Sürgün Kl- a Miktarındaki Değişmeler (mg g-1T.A)



Şekil 4: Tuz, Su Baskını ve Tuz+ Su Baskını Uygulamaları Altında Yetişen Buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) ve (*Triticum monococcum* L., Siyez) Fidelerinin Ortalama Sürgün K1-b Miktarındaki Değişmeler (mg g⁻¹ TA).



Şekil 5: Tuz, Su Baskını ve Tuz+Su Baskını Uygulamaları Altında Yetişen Buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) ve (*Triticum monococcum* L. Siyez) Fidelerinin Ortalama Sürgün K1 a+b miktarındaki değişmeler (mg g⁻¹ TA).

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

T stresi etkisinde Dağdaş buğdayına göre, Siyez buğdayında çimlenme oranının daha düşük olduğu gözlenmiştir. T stresi etkisi altında sürgün boy her iki buğday türünde de önemli derecede azalmıştır ($p<0.001$), (Şekil 1), (15). T stresinin etkisi sonucu bitki toprağındaki yüksek T konsantrasyonunun artmasıyla topraktaki kullanılabilir su miktarının azalmasına bağlı olarak bitki gelişiminin yavaşladığı düşünülmektedir. Bu azalma atasal buğday Siyezde, modern buğday Dağdaş'a göre daha fazla olmuştur. Bu durum Dağdaş buğdayının T stresine toleransının Siyez buğdayından daha fazla olduğunu göstermektedir. Prazak (13), yapmış olduğu çalışma çalışmamızla uyumlu sonuç göstermiştir.

T+SB streslerinin çapraz etkisi altında Siyez buğdayında, Dağdaş buğdayına göre daha büyük miktarda sürgün boy kaybı olmuştur. Siyez buğdayı bu streslerin çapraz etkisine daha hassastır. Geçen zamana paralel olarak 24. saatte bu etki daha fazla hissedilmiştir.

T ve T+SB streslerinin etkisi altında Siyez buğdayında KA miktarı önemli derecede azalmış ve bu azalma 24. saatte daha fazla bulunmuştur ($p<0.05$), (Şekil 2). KA miktarındaki azalma aerob metabolizmadan anaerob metabolizmaya geçiş nedeni ile meydana gelen enerji kaybından ve organik madde birikimindeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonuçlarımız Asif & ark.'nın (1) çalışmaları ile uyumludur.

Kontrol Dağdaş buğday fidelerinin Kl Siyez buğdayından (17) daha yüksek miktarda belirlenmiştir. Siyez türünde T ve T+SB streslerinin etkisinde Kl a, Kl b, Kl a+b azalmıştır (Şekil 3,4,5). Siyez Kl a, Kl b, Kl a+b 3. Saatte en fazla T stresinden etkilenirken, 24. Saatte streslerin çapraz etkisinden daha fazla etkilenmiştir. Dağdaş Kl a, Kl b, Kl a+b de T stresi etkisinde azalma meydana gelirken streslerin çapraz etkisinde 3. saatte artmıştır. 24. saatte T+SB stresinden T stresine oranla daha fazla etkilenmiştir ($p<0.001$), (Şekil 3,4,5). Streslerin tek başına etkisine kıyasla çapraz etkisi ve strese maruz kalma süresinin uzunluğu bitki verimini önemli derecede etkilemektedir. T stresi etkisinde, klorofil sonuçlarımız Tiwari & ark.'nın (19) çalışmaları ile paralellik göstermektedir. Siyez'in Kl içeriği SB stresi altında azalmıştır, bu durum Smethurst & Shabala (16), Toraman & ark.'nın (20) sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bu sonucun SB stresi etkisi altında toprakta oksijen ile dolu porların su ile kaplanması sonucu bitkinin anaerobik bir ortam oluşturarak enerjinin azalmasına, zar bütünlüğünün ve fotosentetik mekanizmanın bozulmasına, fotosentez hızında ve bitkinin büyüme, gelişmesinde, sürgün biyokütlesinde azalmaya neden olmaktadır (10). Dağdaş buğdayında ise klorofil içeriğinde Tiryakioğlu & ark. (18), Sairam & Saxena (14)'in sonuçları ile uyumlu olarak artış olmuştur. Turfan (21), tuzluluk stresi etkisinde klorofil içeriğinin azaldığını, duyarlı türlerde toleranslı türlere göre daha yüksek bir azalma olduğunu belirtilmiştir. Dağdaş buğdayı T ve T+SB streslerinin etkisinde Siyez'e göre daha toleranslı olduğu belirlenmiştir. Bu tür çalışmaların sayısını arttırmak, abiyotik streslere ve

bu streslerin tek başına ve çapraz etkisine karşı toleranslı türlerin belirlenmesi, artan nüfus ve besin ihtiyacı arasındaki dengenin korunmasında önemlidir.

Kullanılan SB stres sürelerine ek olarak daha uzun süreler kullanılarak sürgün boy uzunluğunda SB stresinin etkisi daha iyi gözlemlenebilir.

KAYNAKLAR

1. Asif S, Ali Q, Malik A. Evaluation of salt and heavy metal stress for seedling traits in wheat. Biological and Clinical Sciences Research Journal, 2020(1).
2. Aslan D, Ordu B, Zencirci N. Einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. Siyez ssp. *monococcum*) tolerates cold stress better than bread wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) during germination. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2016; 25(2), 182-192.
3. Baloglu MC, Inal B, Kavas M ve ark. Diverse expression pattern of wheat transcription factors against abiotic stresses in wheat species. Gene. 2014; 550(1), 117-122.
4. Barrett-Lennard, Shabala SN. The waterlogging/salinity interaction in higher plants revisited—focusing on the hypoxia-induced disturbance to K⁺ homeostasis. Functional Plant Biology. 2013; 40(9), 872-882.
5. El Moukhtari A, Cabassa-Hourton C, Farissi, M ve ark. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development. Frontiers in plant science. 2020; 11, 1127.
6. Ertop MH, Atasoy R. Comparison of physicochemical attributes of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. Siyez) and durum wheat (*Triticum durum*) and evaluation of morphological properties using scanning electron microscopy and image analysis. Journal of Agricultural Sciences, 2019; 25(1), 93-99.
7. Gill MB, Zeng F, Shabala L ve ark. Identification of QTL related to ROS formation under hypoxia and their association with waterlogging and salt tolerance in barley. International journal of molecular sciences, 2019; 20(3), 699.
8. Hasanuzzaman M, Bhuyan MHM, Parvin K ve ark. Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. International Journal of Molecular Sciences, 2020; 21(22), 8695.
9. Kaya C, Ashraf, M. The endogenous L-cysteine desulfhydrase and hydrogen sulfide participate in supplemented phosphorus-induced tolerance to salinity stress in maize (*Zea mays*) plants. Turkish Journal of Botany. 2020; 44(1), 36-46.
10. Özer H, Karadoğan T, Oral E. Bitkilerde Su Stresi ve Dayanıklılık Mekanizması Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 1997; 28(3).
11. Özseven İ, Gençtan T. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) Genotiplerinde Uzun Süreli Su Baskınlarının Bayrak Yaprığı Klorofil İçeriğine Etkisi. ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2018; 28(2), 1-16.
12. Porra RJ, Thompson RA, Kriedemann PE. Determination of accurate extinction coefficient and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvent verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochem. and Biophysica Acta, 1989; 975, 384- 394.

13. Prazak R. Salt tolerance of *Triticum monococcum* L. Siyez L., *T. dicoccum* (Schränk) Schulbl., *T. durum* Desf and *T. aestivum* L. seedlings. Institute of Agricultural Sciences. 2001; 42(3), 289-292.
14. Sairam RK, Saxena DC. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science. 2000; 184(1), 55-61.
15. Sihmar M, Sharma JK, Santal, AR ve ark. Simüle edilmiş tarla yetiştirme koşullarında tane dolumu sırasında altı zıt buğday genotipi üzerindeki tuzluluk stresi etkisinin değerlendirilmesi. Tahıl Araştırma İletişimleri. 2024; 52 (2), 605-617.
16. Smethurst CF, Shabala S. Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne: comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. Functional Plant Biology. 2003; 30(3), 335-343.
17. Soylu O, Ergün N, Çalıcı B ve ark. Kuraklık Stresinde Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Ön Uygulamasının Buğday Fidelerinde, Büyüme ve Katalaz Üzerine Etkileri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi. 2021; 9(2), 477-485.
18. Tiryakioğlu M, Karanlık S, Aslanyürek D. Farklı su baskını sürelerinin ekmeklik buğday fidelerinde yaprak alanı, kuru madde ve klorofil içeriğine etkisi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi. 2014; 1(2), 281-288.
19. Tiwari BK, Aquib A, Anand R. Analysis of physiological traits and expression of NHX and SOS3 genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) under salinity stress. J. Pharmacogn. Phytochem, 2020; 9, 362-366.
20. Toraman PŞ, Ergün N, Çalıcı B. Some abiotic stress on growth and lipid peroxidation on wheat seedlings. Natural and Engineering Sciences 2020; 5(3), 144-154.
21. Turfan N, Sarıyıldız T, Mutlu E. Variation in Chemical Constituents of Siyez Wheat (*Triticum monococcum* L. Siyez L.) in Response to Some Abiotic Stress Factors. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2019; 7(4), 598-605.

Propolis ve arı ekmeğinin yağ asidi profilleri: Gıda raf ömrü üzerindeki etkileri

Zeynep Demirkan¹, Esra Balkis¹, Bülent Kaya¹, Fatma Caf³

¹Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Arı ve Arı Ürünleri Bölümü, Bingöl, Türkiye Orcid Id: 0000-0002-8101-8194

²Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye Orcid Id: 0000-0002-7148-2145, balkisesra@gmail.com Orcid Id: 0000-0002-1216-6441, bkaya@bingol.edu.tr

³Bingöl Üniversitesi Gıda, Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu/ Veterinerlik Programı, Bingöl, Türkiye Orcid Id:0000-0002-0363-4848, fcalf@bingol.edu.tr

E-mail: z.engez@hotmail.com

*Orcid No: 0000-0002-8101-8194

Özet

Propolis ve arı ekmeği kimyasal açıdan oldukça zengin içeriğe sahip olmakla birlikte, içerikleri toplandıkları bölgeye göre değişkenlik göstermektedir. Arı ürünleri, kimyasal içerikleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle gıda endüstrisinde, özellikle raf ömrünün uzatılması açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Propolis ve arı ekmeğinin etil alkol ekstresinin FAME analizi sonucuna göre propoliste 10, arı ekmeğinde 20 adet yağ asidi tespit edilmiştir. Yağ asidi tayininde miktar olarak yüksek çıkan oleik asit, linoleik asit ve linolenik asitlerin tirozinaz enzimine bağlanma enerjileri hesaplandı. Yağ asitlerinin gıdalardaki raf ömrünü azaltan enzimlere karşı etkinliği, doğal arı ürünlerinin sentetik alternatifler yerine tercih edilmesine olanak tanıyabilir.

Anahtar Kelimeler: Propolis; Arı Ekmeği, Yağ Asidi; Moleküler Docking, Tirozinaz.

Fatty acid profiles of propolis and bee bread: effects on the shelf life of foods

Abstract

Propolis and bee bread have a very rich chemical content, but their content varies depending on the region where they are collected. Bee products have a great potential in the food industry, especially in terms of extending shelf life, due to their chemical content and positive effects on health. According to the FAME analysis of the ethyl alcohol extract of propolis and bee bread, 10 fatty acids were detected in propolis and 20 in bee bread. The binding energies of oleic acid, linoleic acid and linolenic acids, which were found to be high in fatty acid determination, to the tyrosinase enzyme were calculated. The effectiveness of fatty acids against enzymes that reduce shelf life in foods may allow natural bee products to be preferred over synthetic alternatives.

Keywords: : Propolis; Bee Bread; Fatty Acid; Docking; Tyrosinase.

1. GİRİŞ

Gıdaların bozulmalarını önlemek için kullanılan sentetik maddeler son derece ucuz olmasına karşın bu maddelerin istenmeyen yan etkilerinin olması sentetik maddelere alternatif olarak doğal madde arayışları oldukça önem kazanmıştır (1). Doğal maddeler arasında arılardan elde edilen arı ürünleri (propolis, perga, polen vb.) de yer almaktadır (2). Gıdaların raf ömrünü uzatmakta kullanılan yöntemler arasında yenilebilir kaplama ve filmler yer almaktadır. Kaplamalar, yenilebilir ambalaj materyali olarak gıda yüzeyine uygulanan tabakadır. Yenilebilir filmler ise önceden şekillendirilmiş, oluşturulduktan sonra gıdanın üzerine yerleştirilen doğal malzemelerden yapılmış materyaller olarak adlandırılmaktadır (3). Propolis *Apis mellifera* tarafından bitkilerin tomurcuklarından, ağaçların kozalak ve dış kabuklarından toplandıkları polen, reçine ve mumsu maddelerce zenginleştirdikleri antiviral, antimikrobiyal ve antifungal etkilere sahip arı ürünüdür (4). Propolis içeriğinde %45-55 reçine, %25-35 balmumu ve yağ asitleri, %10 esansiyel yağlar, %5 polen ve %5 mineral madde yer almaktadır (5). Propolisin gıda teknolojisinde, bakteriyel çoğalmayı önleyici ve raf ömrünü uzatıcı etkileri, yapılan çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (6). Poleninin laktik asit bakterileri tarafından fermente edilip, bal ve arıların tükürük bezleri salgılarıyla zenginleştirildikten sonra petek gözlerde depolandıkları arı ürünü arı ekmeği (perga) olarak adlandırılmaktadır (7,8). Arı enzimleriyle fermente edilmiş polen olarak isimlendirilen perga yapısında; protein, aminoasit, karbohidratlar, fenolik asitler, polifenoller, omega-3 yağ asitleri, esansiyel yağ asitleri, vitamin, mineral ve protein açısından zengin fermente bir arı ürünüdür (9,10). Tirozinaz enzimi; hayvan, fungus, yüksek bitkilerde yer alan moleküler oksijeni kullanarak monofenollerin o-difenollere hidroksilasyonunu; odifenollerinde o-kinonlara oksidasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Gıda teknolojisinde, gıda ürünlerinin raf ömürlerini uzatmada, enzimatik kahverengileşmesini inhibe etme yeteneğinden dolayı tirozinaz inhibitörlerinden faydalanılmaktadır. Tirozinaz inhibitörleri aynı zamanda güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir (11). Tirozinazlar, bitkilerin mikrobiyal ve viral enfeksiyonlara karşı direnç göstermesinde, elverişsiz iklim koşullarına karşı dayanıklı olmalarında ve gıda teknolojisi açısından oldukça önemli role sahip bir enzimdir. Bununla beraber besin renklendirici ve lezzet arttırıcı olarak da kullanılmaktadır (12). Arjantin propolisinin incelendiği çalışmada, propolisin mahsulleri koruma ve hasat edilen meyve ile sebzelerin ömrünü uzatma potansiyeline sahip doğal bir ürün olduğu belirtilmiştir. Bu yüzden sağlık, gıda muhafazası ve ambalajlamayı iyileştirmek için yenilikçi ürünlerde kullanılma potansiyeli oldukça yüksektir (13). Yapılan çalışmalarda, propolisin et ve et ürünlerinde bozulmayı geciktirdiği, süt ve süt ürünlerinde mikrobiyal etkiyi azaltarak bozulmayı önlediği gözlemlenmiştir. Özellikle sığır etinden yapılan hamburger köftesi üzerinde yapılan denemelerde, üç ay boyunca dondurulmuş köftede hiçbir bozulma gözlemlenmemiştir. Ayrıca, pastörize edilmiş meyve sularında bozulmaya neden olan 6 maya türüne karşı inhibe edici etkisi tespit edilmiştir (6).

Bu çalışmanın amacı; propolis ve arı ekmeğinin yağ asidi profillerini inceleyerek, bu ürünlerin gıda raf ömrü üzerindeki potansiyel etkilerini değerlendirmektir. Arı ürünlerinin kimyasal içerikleri ve biyolojik aktiviteleri, gıda endüstrisinde özellikle raf ömrünün uzatılması açısından önemli bir rol oynamaktadır. Propolis ve arı ekmeğinin etil alkol ekstresinin FAME analizi ile yağ asidi bileşenlerini belirleyerek, tirozinaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkilerini moleküler docking çalışması ile teorik olarak belirlenmesi bu arı ürünlerinin sentetik koruyucular yerine kullanılıp kullanılamacağı ile ilgili bir ön çalışmadır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Propolis ve Arı ekmeği Ekstraksiyonu

Bingöl ili yerel arıcılarından temin edilen propolis ve arı ekmeği numuneleri öğütüldükten sonra -18 °C’ de muhafaza edilmiştir. Öğütülen propolis ve arı ekmeği numuneleri 1:10 (W/V) oranında n-hekzan ile 48 saat boyunca 40°C sıcaklık ve 150 rpm’ de manyetik çalkalayıcı da karıştırıldı. Ardından filtre kağıdı kullanılarak süzüldü ve rotary ile çözücü uzaklaştırılıp ekstratlar elde edildi. Kullanılncaya dek +4 °C de muhafaza edildi. (14).

2.2. GC-MS ile Yağ Asidi Bileşimi

Hekzan fraksiyonu elde edilen propolis ve arı ekmeği numunelerinden 0,1 gr alınarak üzerine 10 mL hekzan eklenip vortekslendi. 0,5 mL 2N metanollü KOH eklendi ve vortekslendikten sonra üst faz berraklaşana kadar (yaklaşık 1-2 saat) bekletildi. Üst faz GC amber renk vialine alındı ve analize gönderilerek yağ asidi içeriği tayini edildi. FAME analizinde GC-MS (7890A-Agilent 5975C) kullanıldı. MS ve FID dedektörleri eşzamanlı kullanıldı. Enjeksiyon hacmi 1 µL olarak belirlendi ve bölünmesiz mod da çalışıldı. Uzunluğu 100 m ve iç çapı 0,25 mm olan BPx90 kapiler kolon kullanıldı. Kolon sıcaklığı 120 °C’den başlayıp 3 °C/dak hızla 252 °C’ye ulaştı. Enjektör sıcaklığı 150 °C’de başladı ve 120 °C/dak hızında 250 °C nihai sıcaklığa kadar yükseltildi. Dedektör sıcaklığı 260 °C’de sabit tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Örneklerin FAME analizi, bir yağ asidi metil esterleri standardı (Supelco bileşeni FAME Mix) enjekte edilerek yapıldı ve her bir yağ asidinin alıkonma süreleri böylece belirlendi (15).

2.3. Moleküler Doking

Yerleştirme hesaplamalarında temel yerleştirme yazılımı olarak AutoDock-Vina 1.5.4 programı kullanıldı. Yardımcı program olarak RCSB Protein Data Bank ve ligand seçimleri için pubchem programları kullanılmıştır. Protein data bankası taranarak hedef olarak seçilen Tirozinaz (5M8O) enziminin yapısı, ligandına bağlı şekilde kodları ile birlikte ulaşıldı. Mevcut ligandın yerine

istediğimiz ligandı oturtabilmek için, ligandın seçilen enzimine bağlandığı yerin koordinatları (x,y,z) şeklinde belirlendi. Tek başına enzimlerin üç boyutlu yapısı için bağlı olduğu ligand kodları silindi. Böylece enzim başka bir ligandla bağlanmaya açık hale getirilmiş oldu. Ligand olarak belirlenen biyoaktif bileşiklerin iskeletleri seçilerek, her biri enzimlere bağlanma bölgesine gönderildi ve bağlanma enerjileri hesaplandı (16). Hedef olarak Tirozinaz (5M8O) ligand olarak oleik asit, linoleik asit, eikosatrienoik asit ve linolenik asit seçildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. GC-MS ile Yağ Asidi Tayini

3.1.1. Propolis' in GC-MS ile Yağ Asidi Tayini

Tablo 1: Propolis yağ asitleri

Doymuş Yağ Asitleri (%)		Doymamış Yağ Asitleri (%)	
n-Hexadecanoic acid	5,46	C 18:1 (cis - 9) (omega 9) Oleik asit	0,27
C 16:0 (Palmitik asit)	2,56	C 18:1 (trans - 9) (omega 9) Elaidik asit	1,47
C 12:0 (Laurik asit)	0,72	Erucic acid	0,02
C 14:0 (Miristik asit)	0,39	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	0,80
		8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	0,73

Bulgaristan'ın iki farklı bölgesinden topladıkları propolis örneklerinin GC/MS ile içerik tayinin de 15 fenolik asit (bunların 7'si propolis için yeni) , 2 keton, 8 fenolik asit esteri (propolis için yeni) , 6 flavonon ve 2 flavonol tanımlamışlardır (18). Okaliptus, kavak ve kestane propolis örneklerinin GC/MS ile analizinde organik asit grubundan butanedioik asit, 2-propenoik asit ve sinamik asit, esterlerden 3,4 bis sinamat ve hidrokarbon ve keton grubundan ise D-froktoz, beta-D-glukopiranoz gibi bileşikler her üç propolis grubunda da tespit edilen bileşiklerdir. Ancak her üç propolis örneğinde tespit edilen bu bileşiklerin kantitatif miktarları birbirinden farklıdır (19). Propolisin etil alkol ekstresinin FAME analizi sonucuna göre 4 tane doymuş 5 tane doymamış yağ asidi olmak üzere toplamda 10 adet yağ asidi tespit edilmiştir. Yağ asitleri ve miktarları Tablo 1. de yer almaktadır.

3.1.2. Arı ekmeğinin GC-MS ile Yağ Asidi Tayini

Tablo 2: Arı ekmeği yağ asitleri

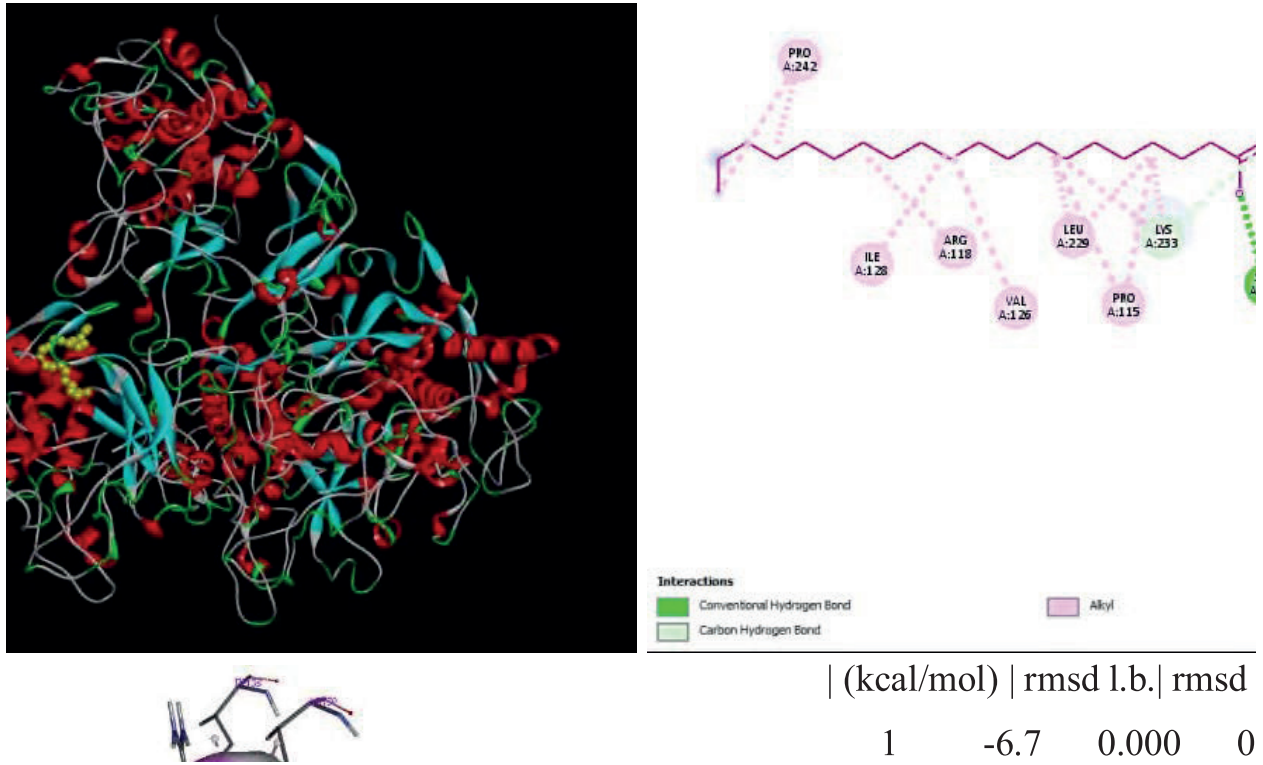
Doymuş Yağ Asitleri (%)		Doymamış Yağ Asitleri (%)	
C 16:0 (Palmitik asit)	25,14	C 18:1 (trans - 9) (omega 9) oleik asit	9,74
Methyl tetradecanoate	1,89	C 18:3 (alpha) (all cis - 9,12,15) (omega 3)	3,21
C 12:0 (Laurik asit)	0,71	C 20:3 (cis-11,14,17) (omega 3)	3,00
C 14:0 (Miristik asit)	0,56	C 18:2 (trans,trans-9,12) (omega6)	1,24
Methyloctadecanoate(=methyl stearate)	0,54	9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	1,04
C 18:0 (Stearik asit)	0,06	9-Eicosene, (E)-	0,3
Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	0,06	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	0,12
Heptadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester	0,06	1-Octadecene	0,04
Heptadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	0,06	Octadec-9-enoic acid	0,04
		9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester,	0,02
		8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	0,01

Arı ekmeği insan vücudu tarafından sentezlenemeyen ve besinlerden alınması gereken çoklu doymamış yağ asitleri açısından kaynak olarak gösterilmektedir (20). Kaplan ve ark. (21), farklı botanik kökenli sekiz arı ekmeği örneği üzerine yapmış oldukları çalışmada 20 doymuş ve 17 doymamış olmak üzere toplamda 37 yağ asidi belirlenmiş ve miktar olarak en fazla bulunan yağ asitlerini (9Z,12Z,15Z)-oktadeka-9,12,15-trienoik, (9Z,12Z)- -oktadeka-9,12-dienoik, heksadekanoik, (Z)-oktadek-9-enoik, (Z)-ikos-11-enoik ve oktadekanoik asit olarak belirlemişlerdir. Doymamış/doymuş yağ asidi oranı 1,38 ile 2,39 arasında değiştiğini ve arı ekmeğinin iyi bir doymamış yağ asidi kaynağı olabileceğini göstermektedir (21). Isidorov ve ark. (22), farklı ülkelerden arı ekmeği örneklerinin kimyasal bileşimini karşılaştırdığı çalışmasında arı ekmeğinin doymamış yağ asitleri (linoleik ve α -linolenik) bakımından zengin olduklarını rapor etmiştir (22). Arı ekmeğinin yağ asidi kompozisyonunun incelendiği bir çalışmada arı ekmeğinden ekstrakte edilen yağda 37 farklı yağ asidi tanımlanmış olup, bu yağ asitleri içerisinde (all-cis-9,12) (9Z,12Z)- oktadeka-9,12-dienoik asit (319.89 $\mu\text{g/g}$), heneikosanoik asit (369.04 $\mu\text{g/g}$), (9Z)- heksadeka-9-enoik asit (656.37 $\mu\text{g/g}$) ve (all-cis9,12,15)-oktadeka-6,9,15-trienoik asidin (954.51 $\mu\text{g/g}$) diğer yağ asitlerine göre daha yüksek miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir (23). Arı ekmeğinin etil alkol ekstresinin FAME analizi sonucuna göre, 9 tane doymuş 11 tane doymamış yağ asidi olmak üzere toplamda 20 adet yağ asidi tespit edilmiştir. Yağ asitleri ve miktarları Tablo 2. de yer almaktadır.

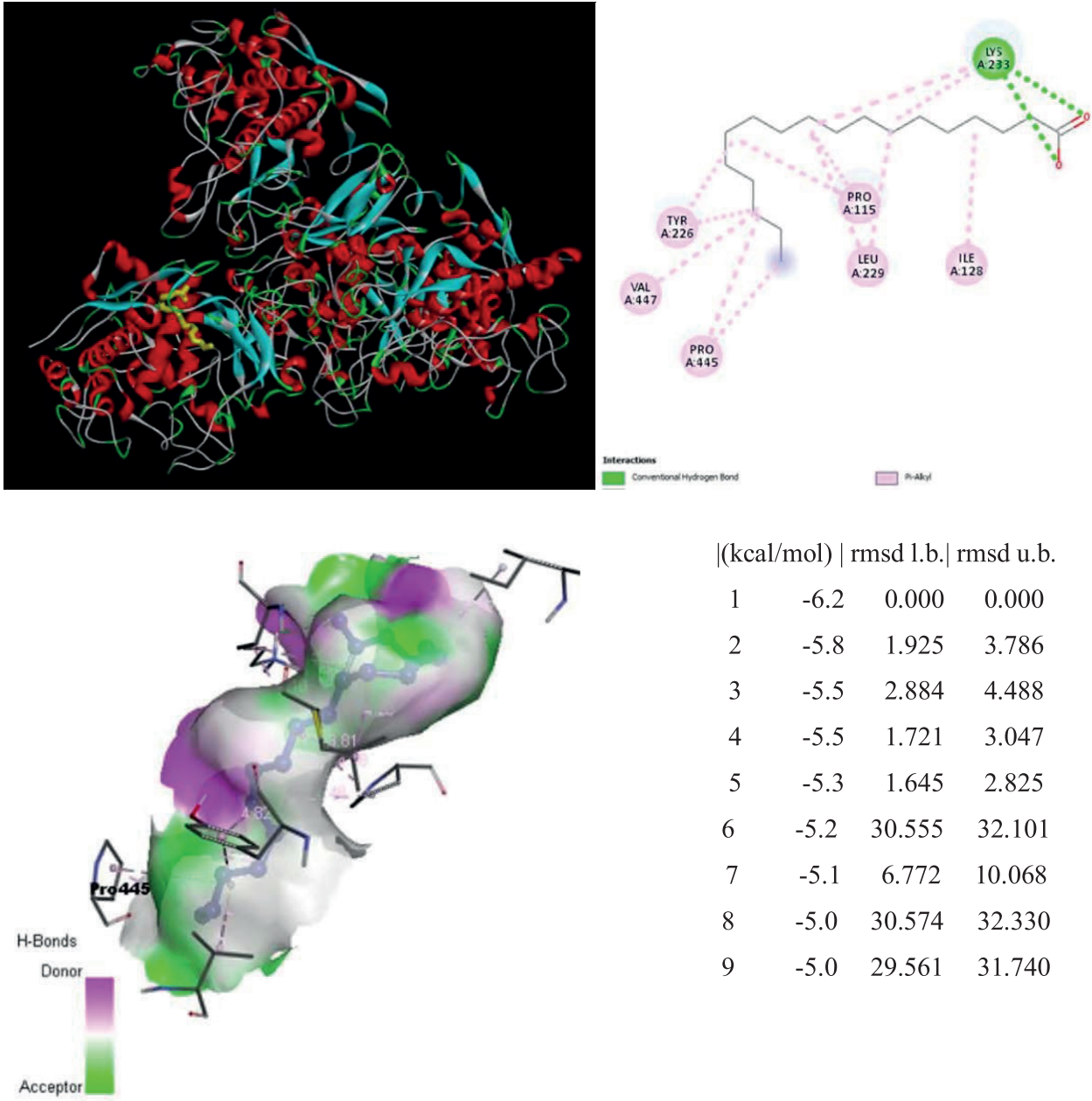
3.1.3. Moleküler Doking

Doking sonuçlarına göre seçilen yağ asitlerinin tirozinaz enzimine bağlanma enerjileri; eikosatrienoik asitin -6,7 kcal/mol, oleik asitin -6.0 kcal/mol; linoleik asitin -5.9 kcal/mol ve linolenik asitin -6.1 kcal/mol olarak tespit edilmiştir. Min ve ark. (26), tirozinaz inhibitörü olan paeonolün tirozinaz üzerindeki mekanizması ve taze kesilmiş elmalar üzerindeki anti-kararmaya yönelik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında; paeonolün, orta düzeyde bir bağlanma ile statik söndürme işlemi yoluyla tirozinazın floresansını söndürdüğünü bildirmişlerdir. Paeonolün tirozinaza bağlanmasının, tirozinazın kromofor mikroçevresini ve konformasyonunu değiştirebileceğini belirtmişlerdir. Tirozinazın aktif bölgesine bağlanarak inhibitör etkisiyle taze kesilmiş elmaların kararmalarını önleyebileceği bildirilmiştir. Bu durum anti-esmerleşme uygulamalarında doğal tirozinaz inhibitörlerini kullanarak gıda kararmalarını önleyerek raf ömrünü uzatabileceğini göstermektedir (26). Shamsuri ve ark. (27), tarafından enzimatik kararmaya ve tirozinaz enzimine karşı inhibitör etkisini araştırmak amacıyla (1E)-1-(2-pirazinil) etanon tiosemikarbazon (PT) molekülü sentezlenmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır. PT'nin tirozinaz üzerindeki inhibitör etkisi, moleküler doking analizleri ile desteklenmiştir. Sonuç olarak; PT ve benzeri olan bileşiklerin tirozinaz enzimine karşı umut vadeden inhibitörler olarak kullanılabileceğini ve bu tür bileşiklerin anti-kararma uygulamalarında etkili olabileceği rapor edilmiştir (27).

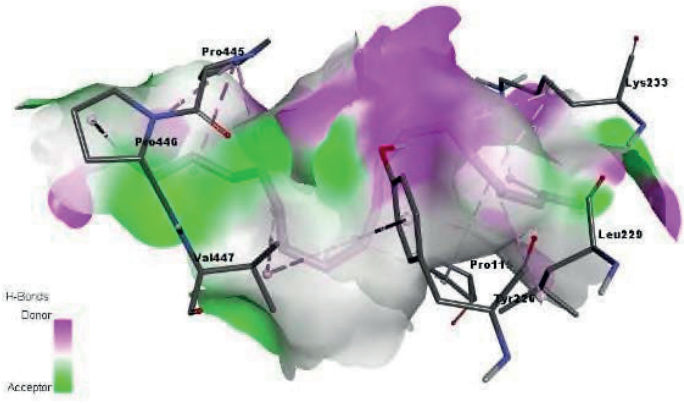
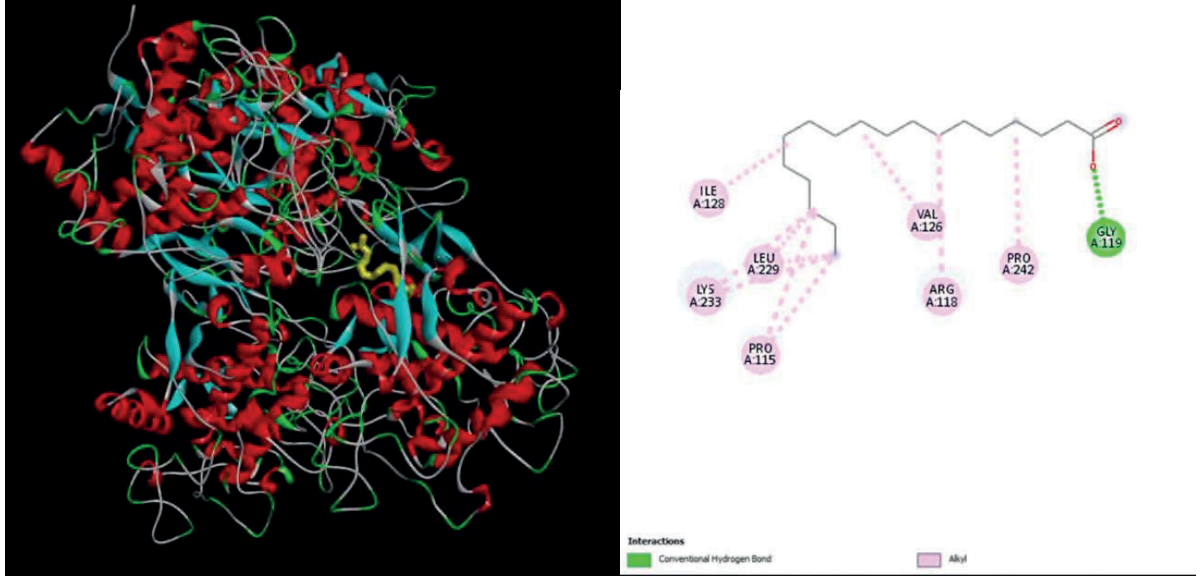
ygulamalarında etkili olabileceği rapor edilmiştir (27).



Şekil 2: Eikosatrienoik asitin moleküler doking ve bağlanma enerjileri

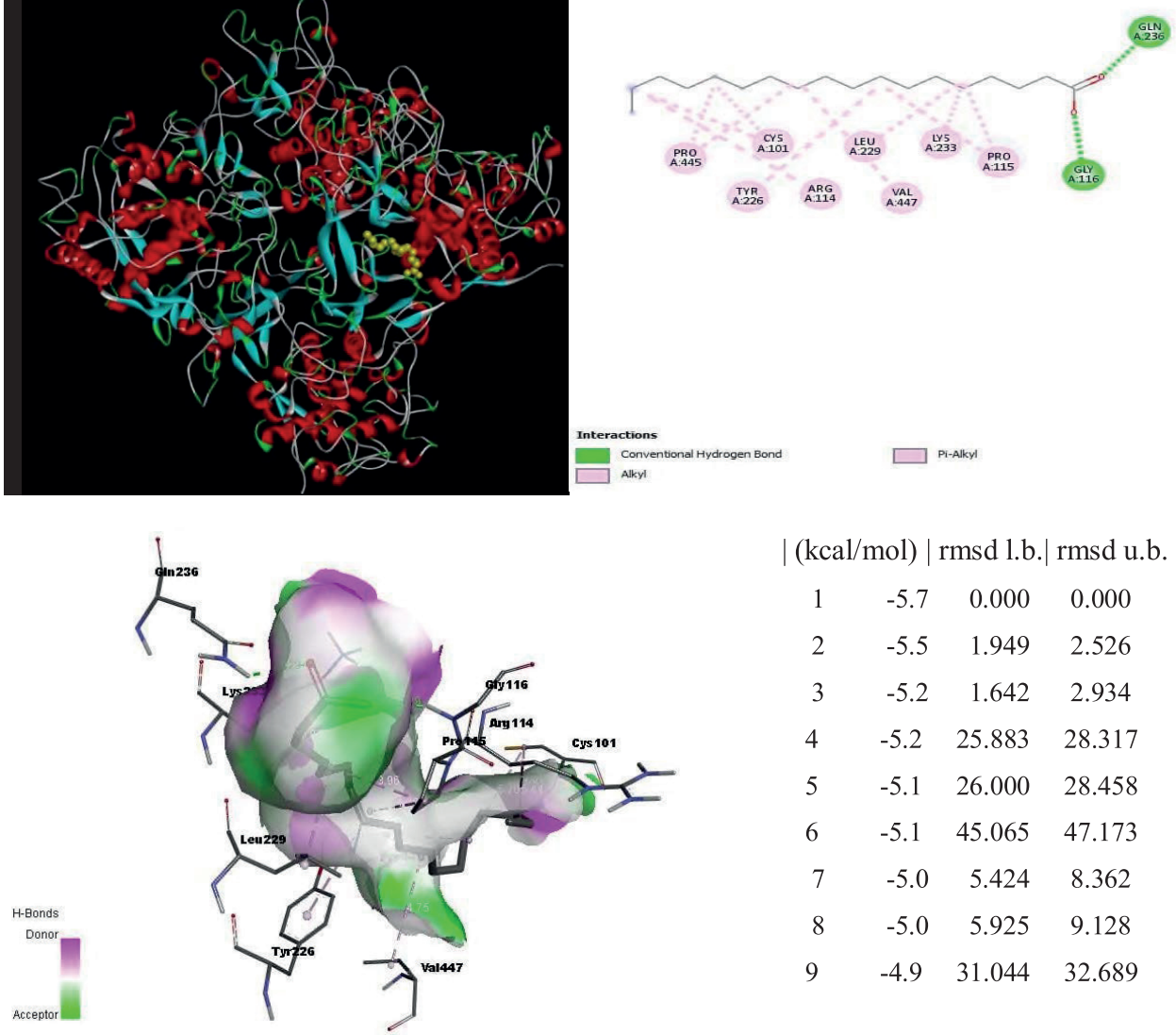


Şekil 3: Linoleik asitin moleküler doking ve bağlanma enerjileri



	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-5.9	0.000	0.000
2	-5.6	2.392	2.943
3	-5.3	3.593	8.656
4	-5.0	53.199	55.599
5	-5.0	27.999	30.116
6	-4.9	52.645	55.602
7	-4.9	11.125	14.608
8	-4.8	53.651	55.787
9	-4.8	3.958	8.679

Şekil 4: Linolenik asitin moleküler doking ve bağlanma enerjileri



Şekil 5: Oleik asitin moleküler doking ve bağlanma enerjileri

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yağlar, temel gıda bileşenleri arasında yer alır ve yalnızca yüksek enerji kaynağı olmakla kalmaz aynı zamanda içerdiği yağ asitlerinin özelliklerine bağlı olarak beslenme ve sağlık üzerinde de önemli roller üstlenir. Arı ürünlerinin; antimikrobiyal, antioksidan ve besin değeri artırıcı özellikleri, gıdaların kalitesini ve tazeliğini koruma konusunda önemli avantajlar sunmaktadır. Propolis ve arı ekmeğinin içinde bulunan; oleik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin moleküler doking yöntemiyle tirozinaz inhibisyonu simüle edilmiştir. Çalışma bulgularından elde edilen sonuç; propolis ve arı ekmeğinin içerisinde bulunan oleik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin tirozinaz inhibisyonunu sağlayabileceği ve gıdalardaki esmerleşmenin önlenmesine yardımcı olarak gıda raf ömrünü uzatabileceği belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma YÖK 100/2000 Bursiyerleri tarafından gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden dolayı YÖK'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Atan T. Propolis ile fonksiyonel maden suyu üretimi [tez]. Bursa:Uludağ University;2023.
2. Ulusoy E. Bal ve apiterapi. Uludağ Arıcılık Dergisi 2012;12(3):89-97.
3. Suhag R, Kumar N, Petkoska A.T, ve ark. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. Food Research International. 2020;136: 109582.
4. Kumova U. Önemli bir arı ürünü: Propolis. Uludağ Arıcılık Dergisi. 2002;2(2):10-24.
5. Keskin Ş, Yatanaslan L, Karlıdağ S, Farklı illerden toplanan propolis örneklerinin kimyasal karakterizasyonu. Uludağ Arıcılık Dergisi. 2020;20(1):81-88.
6. Atik A, & Gümüş T. Propolisin gıda endüstrisinde kullanım olanakları. Akademik Gıda. 2017;15(1):60-65.
7. Ciric J, Spiric D, Baltic T, ve ark. Element concentration and fatty acid composition of Serbian bee bread. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019;333(1):012050.
8. Detry R, Simon-Delso N, Bruneau E, ve ark. Specialisation of yeast genera in different phases of bee bread maturation. Microorganisms. 2020;8(11):1789.
9. Aylanc V, Falcão S.I, & Vilas-Boas M. Bee pollen and bee bread nutritional potential: Chemical composition and macronutrient digestibility under in vitro gastrointestinal system. Food Chemistry 2023;413: 135597.
10. Gül H, & Nakilcioğlu E. farklı coğrafyalardan toplanan arı ekmeklerinin kompozisyonlarına ve antioksidan özelliklerine genel bakış. 2. Uluslararası Tarım, Gıda, Veteriner ve Eczacılık Bilimleri Kongresi Belgrad. 2023;139.
11. Sökmen B.B, & Yılmazoğlu B. Tirozinaz enziminin giresun yöresinde yetişen yenilebilir kanlıca mantarından (*Lactarius salmonicolor*) saflaştırılması ve karakterizasyonu. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi. 2018;8(2):10-23.
12. Balentine D.A, Harbowy M.E, & Graham H.N. Tea: the plant and its manufacture. Chemistry and Consumption of the Beverage. 1998;38: 9780429126789.
13. Zampini I.C, Salas A.L, Maldonado L.M, ve ark. Propolis from the Monte region in Argentina: A potential phytotherapeutic and food functional ingredient. Metabolites. 2021;11(2):76.
14. Arslan S, Perçin D, Silici S, ve ark. Farklı Çözücülerle Hazırlanan Propolis Özütlerinin Mutans Streptokoklar Üzerine In Vitro Antimikrobiyal Etkisi. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2010;19(1):68-73.
15. Canbay Seçilmiş H, Bardakçı B. Determination of Fatty Acid, C, H, N and Trace Element Composition in Grape Seed by GC/MS, FTIR, Elemental Analyzer and ICP/OES. SDU Journal of Science. 2011;6 (2): 140-148.
16. Uzun M, Guvenalp Z, Kazaz C, ve ark. Matrix metalloproteinase inhibitor and sunscreen effective compounds from *Rumex crispus* L.: isolation, identification, bioactivity and molecular docking study. Phytochemical Analysis. 2020;31(6):818-834.

17. Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, ve ark. Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*.” Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 2005;69(1): 197-201.
18. Bankova V, Dyulgerov A, Popov S, ve ark. A GC/MS study of the propolis phenolic constituents. Zeitschrift für Naturforschung C. 1987;42(1-2):147-151.
19. Silici S. Farklı botanik orijine sahip propolis örneklerinde biyolojik olarak aktif bileşiklerin belirlenmesi.” Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi. 2008;24(1):120-128.
20. Urcan A, Mărghitaş L.A, Dezmirean D.S, ve ark. Chemical composition and biological activities of beebread-review. Bulletin of the university of agricultural sciences & veterinary medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies. 2017;74(1).
21. Kaplan M, Karaoğlu Ö, Eroğlu N, ve ark. Fatty acid and proximate composition of bee bread. Food technology and biotechnology. 2016;54(4):497-504.
22. Isidorov V.A, Isidorova A.G, Szczepaniak L, ve ark. Gas chromatographic–mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. Food Chemistry. 2009;115(3):1056-1063.
23. Dranca F, Ursachi F, & Oroian M. Bee bread: Physicochemical characterization and phenolic content extraction optimization. Foods. 2020;9(10):1358.
24. Stavropoulou M.I, Stathopoulou K, Cheilari A, ve ark. Chinou NMR metabolic profiling of Greek propolis samples: Comparative evaluation of their phytochemical compositions and investigation of their anti-ageing and antioxidant properties. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2021;194:113814.
25. Widelski J, Gawel-Bęben K, Czech K. Extracts from European propolises as potent tyrosinase inhibitors. Molecules. 2022;28(1):55.
26. Min X, Lu L, Xu X, ve ark. Investigation on the inhibition mechanism and binding behavior of paeonol to tyrosinase and its anti-browning property by multi-spectroscopic and molecular docking methods. International Journal of Biological Macromolecules. 2023;253(3):126962.
27. Shamsuri S.S, Normaya E, Ismail H, ve ark. (1E)-1-(2-pyrazinyl) ethanone thiosemicarbazone (PT) as a tyrosinase inhibitor with anti-browning activity: Spectroscopy, DFT and molecular docking studies. Journal of Molecular Structure. 2023;1291:136039.

13. ULUSAL MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

BİLDİRİ KİTABI

