



**PLATİ BALIĞI (*Xiphophorus maculatus*)'NDA
KATALAZ ENZİM GENİNİN
BİYOENFORMATİĞİ VE DOKU
SPESİFİK DAĞILIMI**

Esra Can ÇAPAN

Yüksek Lisans Tezi

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Enzim ve Mikrobiyal Biyoteknoloji Bilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Mehtap BAYIR

2019

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PLATİ BALIĞI (*Xiphophorus maculatus*)'NDA KATALAZ ENZİM
GENİNİN BİYOENFORMATİĞİ VE DOKU SPESİFİK DAĞILIMI

Esra Can ÇAPAN

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
Enzim ve Mikrobiyal Biyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2019

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

PLATİ BALIĞI (*Xiphophorus maculatus*)'NDA KATALAZ ENZİM GENİNİN
BİYOENFORMATİĞİ VE DOKU SPESİFİK DAĞILIMI

Dr. Öğretim Üyesi Mehtap BAYIR danışmanlığında, Esra Can ÇAPAN tarafından hazırlanan bu çalışma 21/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı – Enzim ve Mikrobiyal Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (3./3.) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr.Abdülkadir ÇILTAŞ

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehtap BAYIR

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsmail BEZİRGANOĞLU

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu .11.07.2019 tarih ve .28./...93..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PLATI BALIĞINDA (*Xiphophorus maculatus*) KATALAZ (*cat*) ENZİM GENİNİN BİYOENFORMATİK DOKU ANALİZİ

Esra Can ÇAPAN

Atatürk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Enzim ve Mikrobiyal Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Dr.Öğr. Üyesi Mehtap BAYIR

Bu çalışmada, plati balığı (*Xiphophorus maculatus*)'nda katalaz (*cat*) geninin biyoenformatiği (genin tanımlanması, yapısı, korunmuş gen sentezi, diğer omurgalılar tarafından kodlanan amino asit dizilerinin belirlenmesi vasıtasıyla bu organizmalarla olan filogenetik ilişkisinin ve gen yapılarının benzerlik oranlarının % olarak tespiti) çalışıldı ve doku spesifik dağılımı belirlendi. Dişi ve erkek plati balıklarından karaciğer, bağırsak, kas, beyin, kalp, göz, yüzme kesesi, solungaç, böbrek, deri, yumurtalık ve testis örnekleri alındı ve bu dokulardan cDNA elde etmek için önce her bir dokudan toplam RNA izole edildi. Sonunda tüm doku örneklerindeki qPCR ile *cat* geni transkriptleri belirlendi. Gen transkript miktarlarının hesaplanması, her bir balığın *cat* gen transkriptlerinin kopya sayılarının, referans genlerin (elangasyon faktör 1 alpha (*ef1a*) ve β -actin (*actb*)) kopya sayısına bölünmesi ile yapıldı. *Cat* enziminin transkript miktarları RT-qPCR ile belirlendi. Plati balığında *cat* geninin transkript seviyesi bağırsak (1270,94), kalp (1241,25), kas (419,157), beyin (46,205), göz (47,57), yüzme kesesi (28,99), solungaç (81,18), dalak (95,45), böbrek (20,25), yumurtalık (91,16) ve testis (113,22) ile karşılaştırıldığında karaciğerde (2162,21) önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber, bağırsak ve kalp dokularındaki *cat* gen transkripsiyon miktarının, kas, beyin, göz, yüzme kesesi, solungaç, dalak, böbrek, yumurtalık ve testis dokularındaki *cat* gen transkripsiyonlarından yüksek olduğu görülmüştür. Erkek ve dişi plati balığı dokuları arasındaki katalaz geninin transkript seviyelerinde bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılan birçok çalışmada da farklı dokulardaki birçok gen transkriptinin kopya sayısının benzer olduğu bildirilmekle beraber katalaz enzim geninin biyoenformatik çalışmaları, önemli bir model organizma olan plati balığında henüz yapılmamıştır. Bu sebeple, yapılan bu çalışmada öncelikle plati balığında katalaz geninin biyoenformatik çalışmaları gerçekleştirildi. Daha sonra farklı dokulardaki *cat* enziminin transkripsiyon seviyelerini belirlemek için laboratuvar çalışmaları yapıldı. Böylece biyoenformatik çalışmalarımızın sonuçları doğrulanarak, sonraki çalışmalar için hangi dokunun çalışılmasının yeterli olacağı konusunda öncü veriler elde edildi.

2019, 77 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyoenformatik, gen ekspresyonu, katalaz, plati balığı.

ABSTRACT

Master Thesis

BIOINFORMATICS AND TISSUE-SPECIFIC TRANSCRIPTION OF CATALASE (*cat*) ENZYME GENE IN PLATYFISH (*Xiphophorus maculatus*)

Esra Can ÇAPAN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Biotechnology
Department of Enzyme and microbial Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehtap BAYIR

In this study, we determined the tissue specific distribution of catalase (*cat*) gene and studied its bioinformatics (gene identification, structure and identification of amino acid sequences encoded by other vertebrates, identification of phylogenetic relationships and conserved gene synteny) in platyfish (*Xiphophorus maculatus*). Liver, intestine, muscle, brain, heart, eye, swimming bladder, gill, kidney, skin, ovary and testis samples were dissected from the female and male platyfishes and total RNA was isolated from each tissue before cDNA was synthesized. Finally, *cat* gene transcripts were determined in all tissue samples with qPCR. Calculation of gene transcript amounts was made by dividing the copy numbers of *cat* gene transcripts of each fish separately by the number of copies of the reference genes (elongation factor 1 alpha (*ef1α*) and β-actin (*actb*)). Assay of the steady-state levels of *cat* gene transcripts by RT-qPCR revealed. The steady-state level of platyfish *cat* transcript was abundant liver (2162.21) compared with the level of *cat* transcript in intestine (1270.94), heart (1241.25), muscle (419.157), brain (46.205), eye (47.57), swimming bladder (28.99), gill (81.18), spleen (95.45), kidney (20.25) ovary (91.16) and testis (113.22). The transcription of the liver was found significantly higher than the transcriptions of the other tissues. However the transcriptions of the intestine and heart was found significantly higher than transcriptions of the muscle, brain, eye, swimming bladder, gill, spleen, kidney and ovary and testis. There was no difference in transcript levels of catalase gene between male and female platyfish tissues. Many previous studies have shown that the number of copies of many gene transcripts in different tissues is similar. However, bioinformatics studies of the catalase enzyme gene have not been performed in platyfish which is an important model organism. For this reason, bioinformatics studies were carried out, followed by laboratory studies to determine the transcription levels of the *cat* enzyme gene in different tissues, so that the results of our bioinformatics studies were confirmed, and for subsequent transcripts, which tissue should be studied.

2019, 77 pages

Keywords: Bioinformatics, gene expression, catalase, platyfish.

TEŞEKKÜR

Teőekkürlerin az kalacağı, değerli bilgilerini benimle paylaőan, kendisine ne zaman danıősam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehtap BAYIR'a bana üniversite hayatım boyunca kazandırdıkları her şey için ve beni gelecekte söz sahibi yapacak bilgilerle donattıkları için teőekkürlerimi sunuyorum. Çalışmamda desteğini ve bana olan güvenini benden esirgemeyen değerli kardeőim Elifnur TIĞTEPE'ye ve beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiőtirerek getiren ve benden hiőbbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük őansım olan aileme ayrıca aile kelimesine büyük anlam katan desteğini her zaman hissettiren sevgili eőim İbrahim ÇAPAN' a sonsuz teşekkür ederim.

Esra Can ÇAPAN

Haziran, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	i
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	12
3. MATERYAL ve METOT	29
3.1. Biyoenformatik Analizler	29
3.1.1. Katalaz geninin tanımlanması	29
3.1.2. Primerlerin tasarlanması.....	30
3.1.3. Korunmuş gen sintenisi	30
3.1.4. Filogenetik ağaç	32
3.1.5. Plati Balığı (<i>Xiphophorus maculatus</i>) katalaz genin yapısı ve diğer omurgalılarla benzerlik-özdeşlik oranlarının belirlenmesi	32
3.2. Balık materyali ve Araştırma yeri	33
3.3. Moleküler Analizler	33
3.3.1. Toplam RNA izolasyonu	33
3.3.2. RNA'nın kantitatif tayini	34
3.3.3. DNase uygulaması.....	34
3.3.4. Reverse transkripsiyon (RT-PCR).....	34
3.3.5. PCR ürünlerinin büyüklüklerinin kontrol edilmesi ve DNA dizilim analizleri.....	35
3.3.6. Kantitatif PCR (qPCR).....	35
3.3.7. Sonuçların hesaplanması ve istatistiki analizler	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	37
4.1. Biyoenformatik Analizler	37

4.1.1. Katalaz (<i>cat</i>) geninin yapısı ve diğer omurgalılarla benzerlik-özdeşlik oranlarının belirlenmesi	38
4.1.2. Korunmuş gen sentenisi	45
4.1.3. Filogenetik ilişki.....	47
4.1.4. Plati balığı karaciğer, bağırsak, kas, beyin, kalp, göz, yüzme kesesi, solungaçlar, böbrek, deri, ovaryum ve testis dokularında <i>cat</i> mRNA seviyesi.....	
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	65



SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µL	Mikrolitre
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
cDNA	Komplementer Deoksiribonükleik Asit
cm	Santimetre
DEPC	Dietil Pirokarbonat
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Mg	Magnezyum
ml	Mililitre
mRNA	Mesajcı / Haberci Ribonükleik Asit
NCBI	National Center for Biotechnology Information
O ₂	Oksijen
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PUFA	Doymamış yağ aside
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
Rpm	1 Dakikadaki Rotor Devir Sayısı
RT-PCR	Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SOD	Süperoksit dismutaz
OD260	Nükleotid Konsantrasyon Hesaplayıcısı
OD280	Protein Konsantrasyon Hesaplayıcısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Plati erkek balığı.....	2
Şekil 1.2. Plati dişi balık	2
Şekil 4.1. Plati balığı katalaz geni korunmuş gen sentenisi.....	46
Şekil 4.2. Plati balığı katalaz geni için maksimum olasılık (maximum likelihood) metoduyla hazırlanmış filogenetik ağaç	48
Şekil 4.3. Plati balığı katalaz geni doku spesifik dağılımı.....	49
Şekil 4.4a. Real time PCR sonuçlarından kopya numaralarının ve melting eğrisinin birlikte gösterildiği bir örnek.....	50
Şekil 4.4b. Real time PCR sonuçlarından melting eğrisinin gösterildiği bir örnek.....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Plati balığı ve zebra balığı ensembl gen numaraları, ncbi cDNA numaraları, amino asit sayıları ve kromozom bölgeleri verilmiştir.	29
Çizelge 3.2. Plati balığı katalaz geni ve normalizasyon için kullanılan referans genler olan <i>beta actin</i> ve <i>elongation factor 1</i> genlerinin Real Time PCR’da kullanılan primerlerinin 5’ → 3’ dizilimleri	30
Çizelge 3.3. Korunmuş gen sentenisi dizaynında tespit edilen genler ve lokasyonları	31
Çizelge 4.1. Plati balığı (<i>Xiphophorus maculatus</i>) katalaz geni nükleotit sekansı	39
Çizelge 4.2. Plati balığı (Pb) ile diğer omurgalılarından medaka (Me), fugu (Fu), zebra balığı (Zb), fare (Fa), rat (Ra) ve insan (In) katalaz genleri arasındaki benzerlik-özdeşlik yüzde oranları	43

1. GİRİŞ

Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*, Cyprinodontiformes Poeciliidae) Kuzey Meksika'dan, Orta ve Güney Amerika'ya kadar yayılım gösteren neotropik (güney Meksika, Orta ve Güney Amerika ve Batı Hint adalarını içine alan zoocoğrafik bölge.) tatlı su balığıdır (Zaret 1984). Orta Amerika'ya özgü olan bu balık türü Havai, Birleşmiş Milletler, Peurto Riko, Palau, Madagaskar Jamaika, Kolombiya, Sri Lanka, Bahamalar olmak üzere birçok ülkede varlıklarını sürdürmektedirler. Queensland, Brisbane civarında bulunan birkaç kıyı drenaj ve Kuzey Queensland Nem Tropik Bölgelerinde de bulunmaktadır. Sıcak sularda, kanallarda ve yavaş akan sulu hendeklerde, alüvyonlu tabanlarda ve otlu göl kıyılarında yaşarlar. Omnivor olan plati balığı, akuvatik böceklerle, kabuklularla ve bitkilerle beslenir (Arthington 1989).

Önemli bir sucul model organizma olan plati balığı (*Xiphophorus maculatus*), canlı doğuran (Poeciliid) balıklar olup, akvaryum balığı olarak oldukça fazla talep görmesinin yanısıra akvakültür için de büyük önem arz ederler (Mahdi and Ahmad 2011). Yaklaşık 6 cm'ye kadar büyüebilmektedir. Yaban hayatındaki ise 2-5 cm arasında vücut uzunluğuna sahip olup, bu balıklar 3-4 aydan sonra cinsel olgunluğa ulaşırlar ve sık sık üreyebilirler. Plati balıkları, potansiyel zararlılar olarak sınıflandırılırlar. Yerli balıklarla yiyecek ve alanlar için rekabete girerler, yüksek doğurganlıkları nedeniyle ortaya çıkan su yollarında baskı kurarlar ve yerli balıkların yaşayamayacağı yerlerde hayatta kalabilirler. Çok fazla aşınmaya uğramış olan su yollarında dahi bulunurlar (Grant 1997). Plati balığı cinsiyet tayini gerektiren çalışmalar için ideal bir modellerdir. İç dölllenme ile üreyen balıklardır ve erkeğin anal yüzgeci modifiye organdır (gonopodyum). Bu nedenle de balığın öldürülmesine gerek kalmadan cinsiyet tayini kolayca yapılabilir (Schreibman and Kallman 1978; McKenzie *et al.* 1983).



Şekil 1.1. Plati erkek balığı



Şekil 1.2. Plati dişi balık

Bilindiği üzere zebra balığı ve medaka, model organizma olarak en yaygın kullanılan balık türleridir. Genel olarak, mevcut balık modelleri hastalık süreçlerini deşifre etmek ve anlamak ve yeni moleküler belirteçleri ve terapötik hedefleri belirlemek için olağanüstü fırsatlar sağlamıştır. Diğer bir önemli çalışma ise, hastalık için balık modellerinin kullanılarak yüksek verimli kimyasal madde tarama ekranlarının geliştirilmesidir. Balık embriyoları ve larvaları basitçe, bileşikleri içeren ortama batırılabilir ve bir binoküler mikroskop altında fenotipik etkiler bakımından değerlendirilebilir. Benzer şekilde hastalık belirteçleri üzerindeki etkiler, yüksek verimli RNA in situ hibridizasyon veya protein immüno lekelemesi kullanılarak değerlendirilebilir. Hastalığa bağlı belirli bir fenotip sergileyen embriyoların, on binlerce farklı bileşiğe çok bölmeli plakalara maruz bırakıldığı bazı kimyasal taramalar gerçekleştirilmiş olup, umut verici aday moleküllerin tanımlanmasına yol açmıştır (Santoriello and Zon 2012). Böylece, zebra balığı ve medaka'nın insan hastalıkları için hayvan modelleri olarak başarısı belgelenmekte ve yaygın olarak kabul edilmektedir. Plati balığı da genetik çalışmalarda bu iki sucul model organizma kadar önemli bir yere sahiptir. Çünkü, kayda değer miktarda soylara özgü kopyaların mevcudiyeti (yani bir gen çiftinin zebra balığı soyunda mevcut olması ve alt fonksiyonlara bağlanması söz konusu iken, medaka'da olmadığı ve bunun tersi olduğu için), sadece tek bir balık türü üzerinde değil, çeşitli teleost balıkların model organizma olarak kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu model organizmalardan biride plati balığıdır (Schartl 2014). Plati balığı, 1930'ların başlarından itibaren, ekoloji, evrim, genetik ve genomikten sistematığe kadar çeşitli alanlarda üzerinde çalışılan bir araştırma modeli olarak kullanılmakta (Kang *et al.* 2013; Schartl *et al.* 2013) ve kanser araştırmalarında araştırmacıların ilk tercih ettiği model organizmalar arasında yerini almaktadır (Boswell *et al.* 2009). Hatta araştırmalardaki önemi nedeniyle *Xiphophorus* genomu hakkında toplanan tüm bilgilerin toplandığı ortak bir veritabanı olan *Xiphophorus* Genetic Stock Center oluşturulmuştur (Kallman 2001).

Teleost balıklar, diğer omurgalıların sadece bir tanesine sahip oldukları birçok genin iki kopyasına sahiptir (Amores *et al.* 1998; Meyer and Schartl 1999; Postlethwait *et al.* 2000; Braasch and Postlethwait 2012). Bu genellikle değiştirilmiş gen ekspresyon

paternlerinde veya protein fonksiyonlarında ortaya çıkar. Yani her iki balık paralogunun ekspresyon bölgelerinin veya protein fonksiyonlarının komplemanları, diğer omurgalılarıdaki tek ortologa eşdeğerdir. Örneğin, bir fare geni karaciğerde ve böbreklerde eksprese edilirse, eşdeğer ayrı bir balık geninin bir kopyası karaciğerde ve ikinci kopya ise böbreklerde ifade edilir. Alt işlev bölünmesi veya alt işlevsellik olarak adlandırılan bu işlem (Force *et al.* 1999), bu tür genlerin fonksiyonel çalışmaları için geniş kapsamlı etkilere sahiptir. Örneğin, faredeki bir mutasyon, yetişkin organına özgü bir fonksiyona ilaveten erken gelişimde rol oynayan bir geni etkisizleştirdiğinde, yetişkin organın fonksiyonunu, bu gibi mutantlarda incelemek imkânsız hale gelir. Balıklarda her iki fonksiyon da kopyalar arasında bölünerek her iki fenotipi ayırmayı mümkün kılar. Böylece, teleost tüm genom çoğaltması (WGD), hastalık gelişiminde yer alan genler üzerinde yapılan çalışmalar için eşsiz fırsatlar sunar (Schartl 2014).

Teleost bir balık *Xiphophorus* cinsi, morfolojik olarak birbirinden farklı iki gruptan oluşmaktadır. Bunlar plati balığı ve swordtaillerdir. Hem plati balığı hem de swordtailler, cinsel gelişim, üreme, pigmentasyon ve kanser gibi polimorfik özelliklerin çalışılmasında öne çıkan modellerdir (Kallman 1975; Anders and Anders 1978; Volff and Schartl 2002; Meierjohann and Schartl 2006; Schartl 2008; Schultheis *et al.* 2009). Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) ve diğer *Xiphophorus* türlerinde, bu özelliklerin kontrolünde rol oynayan birçok genetik bölge, cinsiyet belirleyici bölgeye, bağlı oldukları cinsiyet kromozomları üzerinde bulunur (Gutbrod ve Schartl 1999). Ayrıca plati balığı (*X. maculatus*)'nda X, Y ve W olmak üzere üç tip cinsiyet kromozomu tanımlanmıştır. Erkekler XY veya YY, dişiler XX, WX veya WY olabilir (Kallman 1984). Pek çok genetik bölge, plati balığının X ve Y kromozomları ile eşleştirilmiştir, ancak W kromozomu hakkındaki bilgiler hala azdır. Bireylerin cinsel fenotipini belirleyen SEX olarak da adlandırılan, cinsiyet belirleyici olan locus SD (Kallman 1984), moleküler düzeyde henüz tanımlanmamıştır. SD'ye bağlı iyi çalışılmış bir lokus, bazı *Xiphophorus* interspesifik hibritlerinde spontan melanom oluşumundan sorumlu olan tümör lokusu (Tu)'dur (Gordon 1927; Kosswig 1928; Meierjohann and Schartl 2006; Schartl 2008). Bu lokusun kritik bileşeni, epidermal büyüme faktörü reseptörünün

mutasyonel olarak aktive edilmiş bir versiyonunu kodlayan bir gen olan *xmrk*'dir (Wittbrodt *et al.* 1989).

Plati balıkları ayrıca, bozuk beslenme rejiminin düzenlenmesi, enerji dengesi ve cinsi olgunluğun başlamasıyla bağlantılı olan hastalıklar için de model olarak kullanılmaktadır. Birçok türde, erkekler belirli bir yaşta, belirli bir vücut ağırlığı ve büyüklüğüne ulaştığında, cinsel olgunluğa erişirler. Bu durumda erkekler ikincil cinsiyet karakterlerini tamamen geliştirir ve bu karakterleri dahada büyütme için boy ve ağırlık artışları durur. Plati balığında cinsi olgunluk dönemi genetik olarak polimorfik bir lokus olan P-lokus tarafından belirlenir. Plati balığında cinsi olgunluk başlangıcı P-lokusundaki melanokortin 4 reseptörünü etkileyen kopya sayısı değişimi ile belirlenir (Lampert *et al.* 2010). Bu reseptörün, insanlarda gıda alımını ve enerji dengesini kontrol eden çok karmaşık ağda çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir ve bu reseptördeki mutasyonların obezite ve erken başlayan ergenlikle bağlantısı vardır. Plati balığındaki genetik olarak kontrol edilen ergenliğin evrimsel modeli, sadece hipotalamik melanokortin 4 reseptör sisteminden değil, aynı zamanda yağ dokusundan leptin yoluyla sinyalleri birleştiren ve böylece beslenme durumunu üreme ile bağlayan bu çok bileşenli sistemi analiz etmek için yeni bir araç sunmaktadır (Schartl 2014).

Ayrıca plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) melanom modelleri ve cinsel olgunluğa bağlı bozuklukların incelenmesinde kullanılan bir model organizmadır (Schartl 2014). Plati balığı, kanser araştırması için kullanılan en eski hayvan modellerinden biridir ve kanserin genetik bir bileşeni olduğuna dair kanıtı veren ilk canlıdır (Heston 1982; Schartl 2014). Geçen yüzyılın başlarında, bazı plati balığı melezlerinin (*Xiphophorus maculatus*), melanom olarak sınıflandırılan oldukça kötü huylu bir pigment hücre tümörü geliştirdiği tespit edilmiştir (Gordon 1927; Häussler 1928; Kosswig 1928). Plati balığı, gerçek bir mutant model olarak nitelendirilir. Çünkü kötü huylu cilt kanserleri, bu balık grubunun çeşitli türlerinde bulunan ve akraba tanıma ve eş seçiminde bir işlevi olan doğal olarak oluşan büyük pigment lekelerinden gelişir (Franck *et al.* 2001; Fernandez and Bowser 2010). Tüm bu bilgiler ışığında plati balığında bir dizi başka melanom modeli de geliştirilmiştir (Patton *et al.* 2010).

Xiphophorus maculatus aynı zamanda tüm diğer evrimsel modellerin lojistik bakış açısından önemli bir konumda olup, genom sekansları yapılmıştır (Schartl *et al.* 2013) ve ENSEMBL genom veri tabanında (http://uswest.ensembl.org/Xiphophorus_maculatus/Info/Index) yapılan sekanslara ulaşmak mümkündür. Ayrıca hücre hatları geliştirilmiştir ve genetik stok merkezinde San Marcos Üniversitesi (Anonymous 2019), doğal popülasyonlardan türetilmiş doğal hatlar ve suşların yanı sıra protokoller, genetik haritalar ve referans veritabanları hakkında kapsamlı bilgi mevcuttur.

Antioksidanlar organizmada reaktörler tarafından oluşan oksidatif strese karşı koruyucu bir görev sergileyen, burada oluşan hasarları temizleyen ve engelleyen, zaman zaman vücutta üretilen veya dışarıdan alınan (Shinde *et al.* 2012) bir savunma sistemidir. Antioksidanlar vücutta işlevini gerçekleştiren hücrelerin metabolik atıkları olan reaksiyonları etkisiz hale getirip koruyucu etki oluştururlar (Sen vd 2010). Ayrıca vücutta gerçekleşen tepkimeler sonucunda meydana gelen hasarları önler ve detoksifikasyonu gerçekleştirirler (Şener ve Yeğen 2009). Antioksidanlar reaktör oluşumunu önleyen veya zincir kıran yapılar olarak işlev görürler (Dündar ve Aslan 1999) ve hastalıkları önlemede görevlidirler (Pham-Huy *et al.* 2008). Antioksidanlar biyolojik olarak oksitlenebilir bir substrat ile karşılaştığında düşük konsantrasyonlarda bulunan ve bu substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya önleyen herhangi bir madde olarak tanımlanırlar (Halliwell and Gutteridge 1999). Antioksidanların bir başka görevi de organizma tarafından kolayca emilir reaktör oluşumunu giderir ya da fizyolojik olarak ilgili seviyelerde redox metalleri kontrol altına alırlar (Rahman 2007). Antioksidan enzimler endojen ve ekzojen faktörler tarafından etkilenirler. Şöyle ki ekzojen ve endojen faktörler hücrede oksidantlar gibi davrandıkları için hem oksidatif dengeyi hem de antioksidan enzim gen ekspresyonunu (Jones 1997; Rogers *et al.* 2000) değiştirmelerinin yanı sıra antioksidan enzimlerin hormonal değişimleri üzerinde de önemli etkileri vardır (Dougall 1991; Sugino *et al.* 1998). Buna ilaveten pek çok antioksidanın, gen ekspresyonunu düzenlediği ve antioksidan enzim aktivitesini değiştirdiği bilinmektedir (Antolin 1996; Kim 1996). Antioksidanlar endojenler ve eksojenler olarak sınıflandırılır endojen ve ekzojen

antioksidanlar da kendi aralarında enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak ayrılırlar. Enzimatik antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon redüktaz (GR) olarak; nonenzimatik antioksidanlar: Glutasyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q 10, selenyum, α -lipoik asit ve transferrin ve seruloplazmin olarak gruplandırılırlar. Eksojen antioksidanlar ise; Vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar olarak ikili grup oluştururlar (Aydemir ve Karadağ 2009; Sen *et al.* Chakraborty 2011).

Protein yapısında olan, bu nedenle de proteinlerin tüm özelliklerini gösteren enzimler, tüm canlı organizmalarda bulunmakta ve biyolojik reaksiyonları hızlandırmada görev almaktadırlar. Aynı zamanda enzimler en büyük protein grubunu oluşturmakta ve dolayısıyla hücre zarlarının hepsinden geçmeleri her zaman mümkün olmamaktadır (Telefoncu 1986; Keha ve Küfrevioğlu 1993; Çimen vd 2005). Asit ve baz ortamlarına karşı duyarlı olan enzimler yüksek sıcaklıklarda da denatüre olduklarından dolayı enzimin etki hızının düzenlenmesinde sıcaklığın önemi büyüktür (Optimum sıcaklık koşulları 0°C ile yaklaşık 40°C-50°C arasındadır) (Keha ve Küfrevioğlu 1997; Çimen vd 2005). Katalaz da diğer tüm enzimler gibi protein yapısındadır. Katalaz hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda bulunur. Bu enzimin en önemli görevi, hidrojen peroksidi hücrelerden uzaklaştırmaktır (Master and Holmes 1977; DeDuve 1983; Çimen vd 2005). Dört protein biriminden meydana gelen enzimatik antioksidanlardan oluşan katalaz hem bir hem grubu hem de NADPH molekülü içerir (Kirkman vd 1987; Young and Woodside 2001). Katalaz moleküllerinin çoğunda NADPH molekülü yüzeye yakın ve birbirine sıkı bir şekilde bağlıdır (Zamocky and Koller 1999). Çoğunlukla peroksizomlarda, hücre içi organellerde kısmen mitokondride ve endoplazmik retikulumda yer almaktadırlar. Katalaz zararlı hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden (Limon-Pacheco and Gonsebatt 2009) ve bu dönüşümü süperoksit radikali olan süperoksit dismutaz SOD radikali aracılığı ile gerçekleştiren bir enzimdir (Cheung *et al.* 1988). Katalazın "Gençlik Kaynağı" olarak adlandırılan yaşlanma tedavisinde bir dönüm noktası olduğu da söylenir (Zamocky and Koller 1999; Sykes and Mauk 2000). Katalazın antioksidan özelliğinden

dolayı yaraları iyileştirmede potansiyel bir etkinlik sağladığı bilinmekte ve bu enzim antioksidan terapisi, kemoterapi ve tıbbi ilaç alanlarında kapsamlı olarak çalışılmaktadır (Abad *et al.* 2005, Kurahashi and Fujii 2015; Giordano *et al.* 2018). Katalaz kan akışından hızlıca elimine edilen, zayıf hücre içi dağıtımını gösteren bir enzimdir. Ayrıca katalazın kısa bir raf ömrüne sahip olması ve zayıf operasyonel stabilitesi nedeniyle potansiyel uygulanma alanları sınırlıdır (Kozower *et al.* 2003).

Enzimin katalizlediği tepkimelerin hızını etkileyen faktörlerden birisi de pH değeri (optimum 7,5-10,0)'dir (Aldemir 2002; Alırız ve Türkoğlu 2003; Çimen vd 2005). Biyoloji, kimya, tıp ve eczacılık gibi araştırma alanlarında da enzimler üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır (Erginkaya and Hammes 1992; Çimen vd 2005; Yüzügüllü ve Ögel 2013).

Günümüzde biyolojik veri kullanımının beklenenden çok daha fazla olması sebebiyle verilerin kullanılabilirliğini arttırmak için işlenmesi gereksinimi, bilgi teknolojisine dayanan, büyük bir çalışma sahasına sahip multidisipliner bir bilim dalını ortaya çıkartmıştır. Biyoformatik ve bilişimsel biyoloji çalışmaları, farklı türdeki biyolojik bilgilere ulaşımın kolaylaştırılmasını, bu bilgilerin verimli kullanımını ve bilgilerin rasyonel yönetimi için ihtiyaç duyulan bilgisayar yazılımlarının geliştirilmesini ve bu çalışmalarla büyük veri kümeleri içindeki ve arasındaki ilişkilerin farklı biyoistatistiksel metotlar ve algoritmalar ile hesaplanmaktadır (Baxevanis 2001; Atalay 2002). Biyoformatik alanında gerçekleştirilen çalışmalarda, bilhassa büyük ölçekli biyolojik verilerin yönetimini ve analizini yapmak için, bilgisayar bilimleri ve biyoistatistik gibi disiplinlerin bir araya gelmesiyle ortaya çıkan bilişim teknikleri biyolojik veriye uygulanmaktadır. Bu alanda gerçekleştirilmiş çalışmalarda çoğunlukla biyomoleküller hakkındaki çeşitli analiz tekniklerinin geliştirilmesi ve heterojen veri kaynaklarının birleştirilmesi hedeflenmektedir (Luscombe *et al.* 2001).

Tıp biliminin ilerlemesiyle değişen ve gelişen yeni yöntemler merak edilen yeni soruları doğurmaktadır. Biyoformatik bilimi de gerek tıp biliminin gerekse gelişen teknolojinin sonucu olarak sorulara cevap aramaktadır (Kuonen 2003). Yapılan

çalışmalar sonucunda 1950’li yıllarda proteinlerin sekonder yapılarından bahsedilmeleri biyoenformatik için başlangıç kabul edilirken gerçek anlamda biyoenformatik biliminin başlangıcı 1966 yılında bilgisayarla moleküler grafiklerin çizimi Scientific American dergisinde yayımlanması ile kabul edilmiştir. Böylece “Biyoenformatik” terimi kullanılmaya başlanmıştır. 1970 yılında Paulien Hogeweg tarafından, biyoenformatik ilk kez canlı sistemine ait bilgilerin incelenmesi amacıyla kullanılmıştır. 1988 yılında “National Center for Biotechnology Information (NCBI)” kurulmuştur ve moleküler çalışmalarda, genetik bilgilerin anlaşılmasında ve analizinde yeni yöntemler geliştirerek en etkin program haline gelmiştir. Bu program esas alınarak biyoenformatik ile çalışmanın birçok amacı ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalar; İnsan genom projesi (İGP) ile insan DNA’sında tanımlanmayan genlerin tanımlanması ve yaklaşık 3 milyar baz çiftinin diziliminin belirlenmesi, DNA ve protein dizilimlerinin veri tabanında depolanması, bu verilerin fonksiyonel işlevlerinin bilinmesi, hastalık yapıcı etmenlerin tedavi edici özelliklerinin araştırılması, verilerin analizinde ve yorumlanmasında spesifik tanımlayıcıların geliştirilmesi ve bu bilimin kullanımını giderek arttırmak için transfer edilmesi amaçlanmıştır. 2001 yılında ise insan genom projesinin izahı ile hız kazanmıştır (Hogeweg 2011). Biyoenformatiğin gelişiminde önemli bir yere sahip olan İGP çalışmaları ABD Enerji Bakanlığı ve Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yürütülen proje 2003 yılında tamamlanmıştır. Projeye çeşitli ülkeler katkıda bulunmuştur (Collins *et al.* 2003; Polat vd 2009). İGP’nin haricinde farklı canlı türlerinde de genom çalışmaları yürütülmüştür böylece farklı türde ki canlıların gen dizilimleri belirlenmiştir (Karabulut vd 2010).

Biyoenformatik bilimi üç temel esası hedefler; elde edilen verilerin ulaşılabilirliğini kolaylaştırmak ve yeni elde edilecek verilerin doğru ve büyük bir titizlikle yüklenebilirliğini sağlamak; kısaca veri tabanı oluşturmak ve depolamak edindiği ilk hedeftir. İkinci olarak, bilgisayar ve biyoloji biliminin buluşmasıyla biyoenformatiğin ana hatları oluşturularak aynı ya da farklı organizmalarda gen dizisi veya protein dizisi karşılaştırılıp yazılım kaynakları oluşturulur. Bu yazılım kaynaklarının gelişmesi iyi bir biyoloji bilgisi ve bilişim alanında uzmanlık gerektirmektedir. Bu anlamda yapılan yazılım biyoenformatik analiz araçları tasarlayarak veri depolarına hızlı ve doğru olarak

ulaşmayı hedeflemiştir (Luscombe *et al.* 2001). Üçüncü olarak toplanan verilerin (Luscombe *et al.* 2001) düzenlenmesi, değerlendirilmesi, benzerlik ve farklılıkların belirlenmesi, değişkenler arasında modelleme yapılarak biyoistatistikten faydalanıp sonuçları yorumlamaktır (Kumaresan *et al.* 2014). Sonuç olarak; çalışıldığı ilk yıllardan bu yana moleküler biyolojiden ayrılan biyoenformatik ayrı bir bilim dalı haline gelmiştir ve hızla artan veri miktarının gerektirdiği ihtiyaç ve hızlı bir gelişim gösteren bilgisayar teknolojisinin sunduğu imkanlar ile olmuştur.

Biyoenformatik çalışmalar günümüzde giderek yaygınlaşmakta ve pek çok alanda uygulama yapılmaktadır. Bu alanlar homolog bulma, tıbbi çalışmalarda ilaç geliştirme ve veri tabanlarının kullanımını arttırmaktır. Sıkça kullanılan veri tabanları MEDLINE, BLASTN, BALSTX, NCBI, UCSC, ENSEMBL, SWISSPROT, PDB, GenBank (USA), EMBL (Europe), DDBJ (Japan) gibi veri tabanları ve veri bankaları kullanılmaktadır (Attwood and Parry-Smith 1999; Luscombe *et al.* 2001; Tandon and Bhattacharjee 2009).

Biyoenformatik biliminin temelinde genetik veri ve gen ifadesi kullanılır. Genetik veri canlının hem kalıtsal hem de kalıtsal olmayan DNA özelliklerini içerir. Bu özellikleri incelemek için kullanılan dolaylı analiz yöntemi olan Mendel yerini şimdilerde sekanslama teknolojisine bırakmaktadır. Sekanslama teknolojisinde, nükleik asit zincirini DNA ve RNA oluşturken nükleotidleri ise A, T, C, G ve U sırası belirlemektedir (Cutchan 2008).

Genetik elementler ve genler her canlı türünde farklılık gösterirler. Zaman geçtikçe hızlanan ve mevcut maliyetlerini düşürerek çalışan sekanslama teknolojisi ve genetik analiz daha kaliteli bir yaşam sunmak için kullanılmaktadır (Gray 1999).

Bilişim teknolojilerinin son yıllarda ilerlemesi ile birlikte, moleküler biyoloji bilimi hızla gelişmektedir. DNA dizi analiz yöntemlerinin hızla gelişmesi bu bilimi doğrudan etkilemektedir ve birçok türün genomların DNA dizilerinin belirlenmesi, analiz edilmesi ve verilerin depolanması oldukça güçleşmektedir. Bu problemin önüne

geçebilmek için biriken verilerin dikkatli bir şekilde saklanması, düzenlenmesi, birleştirilmesi, arşivlenmesi ve kolayca erişilmesinde biyolojik bilgilerden veri tabanı oluşturarak ve bu verileri depolayıp, kolay bir şekilde erişimini sağlamak amacı ile biyoenformatik bilimi hedef alınmıştır. Böylece biyoloji, moleküler biyoloji, genetik, kimya, biyokimya, tıp, matematik ve istatistik gibi alanlarda bilime katkı sağlaması amaçlanmıştır. Biyoenformatik bu çalışmalarda yapılan canlı organizmalardaki genlerin etkin şekilde tanımlanmasını ve karakterizasyonunu sağlayan bir bilim dalıdır. Ülkemizde yeni yeni çalışılmaya başlanırken dünyada önemli bir çalışma dalı olarak kabul edilmekte ve hemen hemen her moleküler biyoloji laboratuvarlarında kullanılması deneylerin daha hızlı sonuç vermesi ile birlikte model organizmaların da kullanımını aktifleştirmektedir. Model organizma olarak sucül organizmaların kullanımı da son zamanlarda artmıştır. Bu çalışma da sucül organizmalardan biri olan plati balığında *cat* geninin biyoenformatiği ve doku spesifik dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Antioksidan enzimler, kanser ve yaşlanma gibi patofizyolojik süreçlerde oksidatif stresin potansiyel zararlı etkilerine karşı organizmanın korunmasında büyük rol oynar (Sun 1990; Sohal and Orr 1992).

Katalaz, tüm aerobik organizmalarda hidrojen peroksitin, su ve moleküler oksijene parçalanmasını katalizleyen temel antioksidan enzimdir (Chance *et al.* 1979). Bitkilerde (McClung 1997), bakterilerde (Storz and Tartaglia 1992) ve memelilerde (Bryant and Wilson 1995) katalaz geninin yapısı hakkında yeterince bilgi mevcut olmasına rağmen sucül model organizmalarda dahil olmak üzere diğer omurgalılarda bu genin yapısı ve işleyişi hakkında henüz yeterince bilgi yoktur. Memeli katalaz enzimi, yaklaşık 240000 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip homotetramer içeren bir hemedir. Memelilerde, hem transkripsiyonel (el-Hage and Singh 1989) hem de transkripsiyon sonrası (Reimer *et al.* 1994) işlemlerde katalaz gen ifadesinin düzenlenmesinin ne kadar kompleks olduğu kemirgen modellerde belirgin şekilde ortaya konulmuştur (Gerhard *et al.* 2000). Sıçanlar (Clerch 1995) ve fareler (Reimer and Singh 1996)'in katalaz geninin mRNA sekansı, protein (ler) e bağlanan %3 UTR (çevrilmemiş bölgede) dizisine sahiptir.

Katalaz, hidrojen peroksit metabolizmasının neden olduğu oksidatif strese karşı korunmada merkezi bir rol oynayan antioksidan enzimlerden biridir. Katalaz bitkilerde, bakterilerde ve memelilerde iyi çalışılmıştır, ancak diğer omurgalı türlerinde çok az çalışma yapılmıştır (Gerhard *et al.* 2000).

Gerhard *et al.* 2000, tam kodlama bölgesini içeren zebra balığı (*Danio rerio*) katalaz cDNA'sını klonlamış ve gen ifadesini hem ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) hem de western blot ile analiz etmişlerdir. Klonlama sonucunda elde edilen 526 amino asitlik dizilim, hem birincil DNA'nın, hem de amino asit dizilerinin omurgalı türleri arasında yüksek oranda korunduğunun bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışma, majör substrat kanalının ikinci ve üçüncü

seviyeleri ile ilişkili birkaç amino asit, substrat erişimindeki veya özgüllükündeki potansiyel farkların tespit edilememiş olmasına rağmen, katalaz enzim kompleksinde ana protein-heme temas noktalarının da iyi korunmuş olduğu belirtilmiştir. cDNA'nın %3'lük çevre bölgesi, polimorfik olan neredeyse mükemmel bir CA dizisinden oluşan sonlandırma kodonunun yanında bir dinükleotit tekrarı içerdiği de bu çalışmada paylaşılan bilgilerden biridir.

Son yıllarda geliştirilen teknikler sayesinde moleküler biyoloji bilimi hızla gelişmektedir. DNA dizi analiz yöntemlerinin büyük bir hızla yapılması sonucunda çeşitli türlerin genomlarının DNA dizilerinin belirlenmesi sağlanırken, hızlı bir şekilde veri artışı ve birikimi bu verilerin saklanması ve analizi giderek zorlaşmıştır. Bilgisayar kökenli gelişen bu bilimin her geçen gün artarak ivmelenmesiyle biriken bu verilerin dikkatli bir şekilde düzenlenmesi, saklanması, birleştirilmesi, arşivlenmesi ve kolayca erişilmesinde biyoenformatik biliminin katkısı çok büyüktür. Biyoenformatik moleküler biyoloji temelli olup, online genom veri tabanları, istatistik ve moleküler biyoloji tekniklerini kullanarak canlı organizmalardaki genlerin etkin şekilde tanımlanmasını ve karakterizasyonunu sağlayan bir bilim dalıdır. Bu bilim dalı ülkemizde yeni yeni çalışılmaya başlanmış olmasına rağmen dünyada önemli bir araştırma dalı olarak kabul görmektedir ve farklı amaçlarla kullanımı neredeyse her moleküler biyoloji laboratuvarının günlük aktiviteleri arasına girmiştir. Dünyada farklı canlılarda ve organizmalarda protein yapı ve dizi bilgilerinin düzenlenmesini ve depolama işlemini üstlenen üç önemli veri tabanı vardır. Bunlar Amerika Birleşik Devletleri merkezli NCBI-GenBank (Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi Gen Bankası; ABD-Maryland) (Benson *et al.* 2011), Avrupa orijinli EMBL (Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı; İngiltere-Hinxton) (Leinonen *et al.* 2010) ve Japonya merkezli DDJB (Japonya veri tabanı; Japonya-Mishima) (Kaminuma *et al.* 2010) veri tabanlarıdır. Bu üç veri tabanı 'International Sequence Database Collaboration (INSDC) olarak işbirliği yaparak günlük veri akışıyla sekansların üniform bir şekilde depolanıp erişimi kolaylaştırarak imkan sağlamaktadırlar (Benson *et al.* 2012).

Dizi eşleme yöntemlerine dayanan yapı ve dizilimlerin belli bir standart üstünde benzerlik göstermesi (homolog) ve bu genlerin araştırılması moleküler laboratuvar sonuçları ile değerlendirilerek veri tabanlarının sıkça kullanılmasını gerektirmektedir. Bu genler farklı organizma türlerindeki homolog genler ortolog genler olarak adlandırılır. Ortolog genlerin farklı türler arasında gen yapısı ve dizi analizi aracılığı ile yeni keşfedilen genlerin işlevlerinin açığa çıkarılmasında büyük rol oynar. Bu amaçla sekans eşleme amacıyla bilişimsel biyoloji yöntemleri (başlıca BLAST veya FASTA) geliştirilmiştir (Altschul 1990). Verilerin yazılımları bir nükleotid dizi ve protein yapısını kullanarak karşılık gelen veri tabanlarını tarar ve olası homolog genleri bulurlar. Bu anlamda sirke sineği ve ekme mayası gibi model organizmalar kullanılarak karşılık gelen genlerden elde edilen veriler daha sonra memeli organizmalarının ortolog genlerinin bulunmasında işlevlerinin açığa çıkarılmasında önemli role sahiptirler (Lipman *et al.* 1984). Plati balığı da gerek toksikoloji çalışmaları ve gerekse onkogenetik ve farmakolojik çalışmalar için yaygın olarak kullanılan ideal bir model organizmadır. Plati balığı kısa yaşam döngüsü, yüksek üreme gücü ve erken yaşam evresi boyunca transparan yapıda olması gibi pek çok avantaja sahiptir. Bu konunun seçilme nedeni; son yıllarda geliştirilen teknikler sayesinde moleküler biyoloji biliminin hızla gelişmesi ve moleküler biyoloji temelli olan, online genetik veri tabanları, istatistik ve moleküler biyoloji tekniklerini kullanarak canlı organizmalardaki genlerin etkin şekilde tanımlanmasını ve karakterizasyonunu sağlayan bir bilim dalı olan biyoenformatiğin ülkemizde çok yaygın olarak kullanılmamasıdır. Reaktif oksijen türleri tüm aerobik canlılarda DNA, protein ve lipitlere saldırarak önemli hasarlara neden olurlar ve bu olaya “Oksidatif Stres” adı verilir. Tüm ektotermik canlılar serbest radikal saldırısından korunabilmek için güçlü enzimatik ve nonenzimatik temelli antioksidan savunma sistemlerine ihtiyaç duyarlar (Martínez-Álvarez *et al.* 2005; Aras vd 2009; Bayır vd 2011). Enzimatik antioksidan savunma sisteminin temel enzimlerinden biri olan CAT projede çalışılmak üzere tercih edilmiştir. Çünkü, günümüzde çalışacağımız model organizmada (plati balığı) bu gen tanımlanabilmiş ve karakterize edilebilmiş değildir. Dolayısıyla yapılan bu çalışmada CAT enzim geninin farklı dokulardaki transkripsiyon seviyeleri belirlenerek hem biyoenformatik çalışmalarımızın sonuçları doğrulanmış, hem de daha sonraki bilimsel çalışmalara hangi transkript için hangi dokunun çalışılması gerektiği hususunda bilgi sağlanmıştır.

Biyolojik sistemlerde son elektron alıcısı olarak kullanılması, yüksek oksidasyon potansiyeline sahip olması ve final indirgemesinde toksik olmayan ürünler oluşturması gibi nedenlerle oksijen pek çok organizma için vazgeçilmez bir bileşiktir (Buechter 1988). Ancak bütün hücreler, metabolizma gidişatı içerisinde serbest radikaller adı verilen ve bünyesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran atom veya bileşik ile herhangi bir eşleşmemiş elektrona sahip olmamasına rağmen oldukça reaktif olan oksijen türevleri oluştururlar ve bu türevlerin ikisine beraber reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilir (Halliwell 1991; Lindsay and Astley 2002; Bartosz 2003). ROS'ler ayrıca doğal stres faktörleriyle karşı karşıya kalan (üreme, ani sıcaklık değişimleri, hipoksiya, hiperoksiya vs.) veya kimyasal maddelere maruz kalma sonucu da yüksek miktarlarda üretilirler ve DNA, protein ve lipitlere saldırarak önemli hasarlara neden olurlar (kanser, DNA'nın yapısının bozulması, balıklarda yüksek ölüm oranları gibi). Bu olaya "Oksidatif Stres" adı verilir. Canlı organizmalarda ROS'lerin ilk hedefi bünyelerindeki aktif çift bağlardan dolayı çoklu doymamış yağ asitleridir (PUFA) ve yağ asitlerinin zincir uzunluğu arttıkça ROS'lere karşı hassasiyetleri de artar ve son ürünleri malondialdehit gibi toksik ürünler olan lipid peroksidasyon olayı meydana gelir (Halliwell and Gutteridge 1989).

Enzimatik antioksidan savunma sisteminin temel enzimleri süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) glutatyon peroksidaz (GPx, EC 1.11.1.9) ve katalaz (CAT, EC 1.11.1.16)'dır (Filho *et al.* 2000). Katalaz (CAT; E.C. 1. 1. 1. 6), hidrojen peroksidin oksijen ve suya dönüşümünü katalizler (Shimuzu *et al.* 1984). Katalazın bu reaksiyonu iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta, kompleks I olarak ifade edilen ara ürün oluşur. Bu ara ürün, hidrojen peroksidin enzime bağlanması ile oluşur. Kompleks I'in ikinci hidrojen peroksit molekülüyle reaksiyonu, su ve moleküler oksijen oluşumuyla sonuçlanır (Chance *et al.* 1979; Gebicka *et al.* 1989; Akertek 1994; McCord 2000; Tunçmen 2004). Hidrojen peroksit biyolojik sistemlerde iki sistem tarafından kontrol edilir. Bunlardan birincisi katalaz (CAT) enzimi iken, ikincisi NADPH harcanması ile H₂O₂'yi suya indirgeyen glutatyon bağımlı antioksidan sistemdir (GR ve GPx enzimleri). CAT 240 kDa molekül ağırlığında olan ve H₂O₂'nin suya veya oksijene dismutasyonunu katalizleyen bir tetramerik heme enzimidir (Babior 1997). Bugüne

kadar yapılan çalışmalarda balıklarda oksidatif stresin neden olduğu fizyolojik ve metabolik zararlar (kan biyokimyası ve hematolojik parametre değişimleri, enzim aktivite ölçümleri vs.) olarak ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir (Ruas *et al.* 2008; Mueller *et al.* 2011; Velisek *et al.* 2011; Kubrak vd 2012; Fan vd 2013). Bu çalışmalar moleküler alanda da yürütülmeye devam etmekle beraber sadece belli organlardaki gen ekspresyonu ölçümleri ile sınırlı kalmaktadır (Male *et al.* 2005; Craig *et al.* 2007; Padmini *et al.* 2009; Woo *et al.* 2012; Sun *et al.* 2013; Xu *et al.* 2013). Ancak milyonlarca gen içeren veri tabanlarından elde edilen bu genlerin seçilmesinde yapılacak herhangi bir hata bu çalışmaların tamamını geçersiz hale getirecektir. Dolayısıyla biyoenformatik çalışmalar daha sonra yürütülecek tüm bilimsel çalışmaların sonuçlarını direkt olarak etkilemektedir.

CAT enzimi sitokrom sistemi tarafından kontrol edilen memelilerde, memeli olmayan aerobik hücrelerde, sitoplazmanın yapı taşlarında, yeşil bitkilerde, peroksizomlarda ve mitokondride, eritrositlerde hemoglobinlerde bulunmaktadır. Ayrıca karaciğer ve böbrekte ürikaz, CAT α -hidroksil asit oksitaz, D-amino asit oksidaz ve ksantin oksidaz yapısında yer almaktadır. Biyolojik sistemlerde CAT enziminin görevi H_2O_2 ve hidroperoksit gibi peroksitleri metabolizmada kademeli olarak hücre membranlarında oluşturabilecek hasarları engellemektedir (Deisseroth and Dounce 1970; Keha ve Küfrelioğlu 2000).

Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimatik oksijen yakalayıcı radikalleri yanı sıra hidrofilik, lipofilik tutucu radikeller gibi antioksidanları ve diğer indirgenleri yenileyen vücutta kendi savunma sistemini kuran hücresel mekanizmaları barındırır (Doğan 2002).

Reaktif oksijen türleri tarafından korunan birçok savunma mekanizması canlı organizmalarda CAT, SOD, GPx, ve GR enzimi gibi antioksidan enzimleri içerir (Domenicalli *et al.* 2001).

Oksidatif stres yoluyla embriyogenez sırasında etanol toksisitesinin mekanizması tam bilinmemekle birlikte yapılan önceki çalışmalarda medeka balıklarında (*Oryzias latipes*) embriyonik etkilerin aracılık edebileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada oksidatif stres ve mRNA'yı belirlemek için antioksidan enzimlerinden katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve peroksit dismutaz kullanılarak medeka balığı embriyogenezinde ve embriyolarda organogenez üç aşamada (0-2, 1-3 ve 4-6) 48 saat boyunca etanole (100 ve 300 mM) dölleme gününden sonra maruz bırakılmıştır. Oksidatif stresin varlığı blastula, gastrula ve neurula evrelerinde minimal düzeyde ilerlerken yumurtadan yeni çıkan yavrularda morfogenezin maksimum seviyeye kademeli olarak arttığı gözlenmiştir. Antioksidan enziminin mRNA'ları gelişim boyunca yapısal olarak ayrıntılı bir şekilde incelendi fakat; gen yapısı enzimler arasında aynı değildi. 1 dpf'deki katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) mRNA'larında döllemiş yumurtalar minimal düzeyde artışını sürdürürken süperoksit dismutaz (SOD) hızla düşmüştür katalaz ise kararlılığını korumuştur. Döllemiş yumurtalarda ki glutatyon S-transferaz (GST) enzim seviyesi çok yükselirken hızla 1 dpf'ye düşmüş ve ardından yavaş yavaş artarken glutatyon redüktaz (GR) enzimi ise gelişimi boyunca kararlılığını sürdürmüştür. 300 mM 1-3 -3 dpf'ye maruz kalan embriyolardaki etanol, oksidatif stresi azaltmayı başarırken ele alınan diğer etanol gruplarında önemli bir farkın olmadığı gözlenmiştir. Antioksidan enzim mRNA'ları ise etanol işleminden sonra değişmeden kalmıştır. Sonuç olarak karara bağlanan bu verilerden, etanol tarafından oksidatif stresin azaltılmasının, muhtemelen katalaz, GST, GR ve SOD'a bağlı aktivitelerin inhibe edilmesinden ziyade embriyoların normal büyümesinin engellenmesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır (Wu *et al.* 2011).

Zebra balığı (*Danio rerio*) mRNA'sından elde edilen cDNA uçları polimeraz zincir reaksiyonu (RACE-PCR) tekniği ile katalaz kodlayan, tamamlayıcı DNA olan cDNA klonu hızlı bir şekilde çoğaltılmıştır. cDNA klonunun nükleotit sekans analizi, 526 amino asit olup kodlanarak okuma bölgesini oluşturan ve 59 654 Da'luk moleküler kütleyle sahiptir. Ortaya çıkan amino asit sekansı domuz (%86.9), fare (%85.8), sıçan (%85), insan (%83.7), meyve sineği (%75.6), nematod (%71.1) ve maya (%58.6)'nın katalaz sekansı ile yüksek oranda benzerlik göstermiştir. Sekonder yapılar için diğer

memeli türlerinde bulunan amino asit kalıntıları korunmuştur. Ayrıca, zebra balığında katalazının kodlama bölgesi olarak ifade edilen, pET-20b (+) ekspresyon vektörü tanımlanmış ve *Escherichia coli* ekspresyon konakçısı olan BL21 (DE3) pLysS'ye dönüştürülmüştür. 60 kDa olan aktif katalaz proteini Coomassie mavi boyası ve poliakrilamid jel üzerindeki aktivitesinin ardından elektroforezde ekspres edilerek ve tespit edilmiştir (Ken *et al.* 2000).

Azoxystrobin tarımda sıkça kullanılan bir fungisitir ve bazı organizmalar üzerinde toksikolojik etkileri ile dikkat çekmiştir. Bu çalışmada da Azoxystrobinin zebra balığı (*Danio rerio*) üzerindeki toksik etkileri araştırılmıştır. Erkek ve dişi zebra balıkları üç kontrol grubundan oluşan Azoxystrobin'e (1, 10 ve 100 µg / L) ayrı ayrı maruz bırakılarak 7., 14., 21. ve 28. günlerde numune alınmıştır. Reaktif oksijen türleri (ROS) zebra balığı karaciğerlerinde fazla miktarda birikimi gözlenmiştir. Erkek zebra balığında Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesi inhibe edilirken dişi zebra balıkta 21 gün sonra önemli derecede azalma gözlenmiştir. Katalaz (CAT) aktivitesi, 1 µg / L Azoxystrobin uygulamasıyla indüklenen Glutathion-S-transferaz (GST) aktivitesinde 21. günden sonra önemli derecede artış gözlenmiştir. Lipid peroksidasyonu (LPO) üretilerek ve DNA hasarı konsantrasyona bağlı bir şekilde yol geliştirilmiştir. Sonuç olarak; Azoxystrobin zebra balığı karaciğerlerinde oksidatif stres ve genotoksisiteye neden olmuştur (Yingnan *et al.* 2016).

Model organizma olarak zebra balığı, moleküler seviyeden tüm organizma seviyesine kadar biyolojik seviyelerin geniş yelpazeleri üzerine etkilerinin araştırılması sağlanmıştır. Balık embriyolarının kullanımı toksik mekanizmaları anlamaya yönelik çalışmalar için ilgi çekici bir model ve kimyasalların çevresel risk değerlendirmesini ortaya koymuştur. Bu çalışmada *in vivo* modelde bir zebra balığı yaygın olarak kullanılan böcek ilacı diazinon ve herbisit (bitki öldürücü kimyasal) diuron gibi iki pestisit zebra balığının erken yaşam evrelerine etkilerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Daha önceden diazinon ve diuronun bütün organizma düzeyinde etkilere neden olduğu tespit edildiğinden, bu çalışma pestisitlere maruz kalmaya karşı suborganizma tepkileri, enzimatik tepkileri (biyokimyasal seviye) ve analiz edilmiş gen

ekspresyonu değişikliklerini (moleküler seviye) değerlendirilmiştir. Acetylcholinesterase (AChE), carboxylesterase (CES), ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD), glutathione-S-transferase (GST), catalase (CAT) ve glutathione peroxidase (GPx) aktiviteleri ve bunlara karşılık gelen genlerin gen ifadeleri; acetylcholinesterase (ache), carboxylesterase (ces2), cytochrome P450 (cyp1a), glutathione-S-transferase (gstp1), catalase (cat), glutathione peroxidase (gpx1a) ve ilave olarak glutathione reductase (gsr)'a maruz kalarak son noktalar ölçülmüştür. Hem biyokimyasal hem de moleküler düzeyde önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Buna ek olarak, zebra balığının farklı gelişim aşamalarının hassasiyetleri belirlenerek kimyasallara maruz kalmanın sona ermesinden 48 saat sonra enzim aktivitesinin kısmi geri kazanımı gözlemlenmiştir. Gen ekspresyonu değişiklikleri ve enzim aktivitelerindeki değişiklikler arasında gözlenen eşitsizlik farklı biyolojik organizasyon seviyelerinde değişikliklerin izlenmesi gerekliliğine işaret etmektedir. Biyokimyasal ve moleküler seviyedeki tepkilerin karşılaştırılması ile zebra balığı embriyoları ve larvalarında düşük organizasyon seviyelerinde diazinon ve diuronun etkileri üzerine veriler sağlamıştır (Velki *et al.* 2017).

Oksidatif stres, iskelet kasının normal ve patolojik işleyişinde rol oynamaktadır. Miyoblastların oksidatif strese karşı korunması kas kasılmasını iyileştirebilir ve yaşlanmayı geciktirebilir. *R. coriaria* sumak meyve ekstraktının, hidrojen peroksit ile indüklenen oksidatif stres koşullarında insan miyoblastları ve zebra balığı embriyoları üzerindeki etkisini araştırılmıştır %70'lik ham etanol (CE) fraksiyonları sumak meyvelerinden elde edilmiştir. Sumak etil asetat EtOAc fraksiyonu bileşimi 1H NMR ile incelenmiştir. CE ve EtOAc fraksiyonu ile muamele edilmiş insan miyoblastlarının canlılığı, tripan mavisi canlılık testi ile belirlenmiştir. Oksidatif stres, hücre döngüsü ve adezyon, akış sitometrisi ve mikroskop ile analiz edilirken gen ekspresyonu ise qPCR ile analiz edilmiştir. Sonuç olarak; EtOAc fraksiyonunun (IC₅₀ 2.57 ug /mL), en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve hidrojen peroksit kaynaklı oksidatif strese karşı en iyi koruyucu etkiyi sergilediği gözlenmiştir. Ayrıca hücre yapışmasını da geri kazanarak süperoksit dismutaz 2 ve katalaz etkisine aracılık etmiştir. Zebra balığı embriyolarının EtOAc

fraksiyonuna muameleleri sonucunda düşük konsantrasyonlara *in vivo* koşullarda hidrojen peroksitten kaynaklı ölümler ile sonlanmıştır. ¹H NMR analizi, bu fraksiyonda gallik asit varlığını ortaya koyarak ve *Rhus coriaria* özleri, süperoksit dismutaz 2 ve katalaza bağımlı mekanizmalar oksidatif stresi azaltarak iskelet kası atrofisinin ilerlemesini inhibe ederek yavaşlatılmıştır (Necej *et al.* 2017).

Balıklardaki enerjinin düzenlenmesi çoğu omurgalılarda olduğu gibi beyin ve periferik hormonları da içeren karmaşık bir sistemdir. Bu sistemde bazı peptidler incelenmiştir. Peptidlerin araştırılmasında model organizma olarak Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) kullanılmıştır. Plati balığı (*X. maculatus*) hakkında çok az şey bilinen tatlı su balıkları olmakla birlikte bu konuda ki en önemli özelliği beslenmeyi düzenleyen endokrin mekanizmasından olmasıdır. Yapılan araştırma içeriğinde peptidlerin kolesistokinin (CCK), kokain, amfetaminle düzenlenen transkript (CART), oreksijenik, oreksin ve nöropeptid Y (NPY) olan peptidlerin rolünü açıklamak için plati balığı ve CCK, orexin, periferik enjeksiyonlarının beslenmesi ve davranışları araştırılmıştır. CCK enjeksiyonları hem besin alımını hem de motor davranışını azaltırken, oreksin enjeksiyonları ise besin alımını arttırırken motor davranışlarını etkilememiştir. Peptidleri daha iyi karakterize etmek için, mRNA doku dağılımları incelenmiştir ve 10 gün boyunca erkek ve dişi balıklarda beyin ve bağırsakların etkileri değerlendirilmiştir. CCK, CART, NPY ve orexin, beyin, bağırsak ve gonadlar dahil olmak üzere dokularda yaygın dağılımları gösterilmiştir. Sonuç olarak Hem CCK hem de CART'da açlık durumunda düşüşler görülürken beyindeki oreksin mRNA doku dağılımında artış, bağırsakta ise CCK doku dağılımında düşüş görülmüş ancak NPY doku dağılımında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Genel olarak peptidlerin plati balığı 'te açlık durumunda beslenmenin düzenlenmesi ile fizyolojik değişiklikler olabileceği gözlenmiştir (Paul and Hélène 2017).

Rotenone, mitokondriyal elektron taşıma sisteminde kompleks I'i inhibe eden ve yaygın olarak kullanılan bir pestisitir. Rotenone'ye maruz kalan sıçanlar, Parkinson Hastalığı'nın (PD) birçok özelliğini göstermektedir. DA nöronlarındaki ROS'un ana kaynaklarından olan PD'nin en önemli özelliklerinden biri de oksidatif strestir. Son

yıllarda bağırsak ile merkezi sinir sisteminin (CNS) fonksiyonu arasında güçlü bağlantı oluşturarak yaygın bir popülerlik kazanmıştır. Bu çalışma ile PD'de GI disfonksiyonunun altında yatan mekanizmayı açıklamak için, beyinde ve bağırsaktaki oksidan-antioksidan durumunu ve ayrıca lokomotor aktiviteyi, rotenona maruz kalan zebra balıklarında araştırılması amaçlanmıştır. Yetişkin zebra balığı 30 gün boyunca 2 mg/L rotenone maruz bırakılmıştır. Deneyin sonunda lokomotor aktivitesi basit gözlemlerle belirlenmiştir. Homojenatlarda lipit peroksidasyonu (LPO), nitrik oksit (NO) seviyeleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktiviteleri belirlenerek ve lokomotor aktivitesi rotenona maruz kalan zebra balığında azaldığı gözlemlenmiştir. LPO hem beyinde hem de bağırsakta artarken NO ise beyinde arttığı saptanmıştır. GST ve CAT aktiviteleri her iki dokuda da azalırken SOD aktivitesi ise sadece bağırsaklarda azalmıştır. Sonuç olarak, ilk kez oksidatif stres ve NO ile rotenona maruz kalan zebra balığında bağırsak ve beyin eksenindeki bağlantı desteklenmiştir (Ünal vd 2018).

Evsel, endüstriyel ve tarımsal ortamlardaki zararlıları kontrol etmek için kullanılan Cypermethrin (CYP) sentetik bir piretroid insektisittir. Raporlara göre tatlı su sucul sistemlerdeki önemli en yaygın kirleticilerden biridir. İn vivo çalışmalara maruz kaldıktan sonra erişkin zebra balığı solungaç hücrelerinde süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivasyonunu potansiyel genotoksik etkisini ve aktivasyonunu değerlendirmeyi amaçlamıştır. Kuyruklu yıldız analizinde (CA), solungaç hücreleri hidrojen peroksitle belirli dozda (H_2O_2) in vitroya maruz bırakıldıktan sonra DNA hasarında artış olduğu bulunmuştur. Ayrıca CYP ile doza ve zamana bağlı olarak solungaç hücrelerinin DNA hasarında bir artış bulunmuştur. SOD ve CAT aktivitelerinde hem altı hem de dokuz gün boyunca 0.6 ug / L CYP'ye maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde arttığı doğrulanmıştır. Aynı işlemler Mn-sod ve cat genlerinin mRNA seviyelerinin önemli ölçüde artmasına da neden olmuştur. Bu veriler, CYP'nin solungaç hücrelerinin DNA hasarına ve oksidatif strese neden olduğunu, ROS dengesinin korunmasından sorumlu enzimlerin aktivitelerini ve aynı zamanda karşılık gelen gen ekspresyon seviyelerini değiştirdiğini göstermiştir (Paravani *et al.* 2019).

Teleostlar sıklıkla evrim geçirebilen cinsiyet belirlemede görev alan cinsiyet kromozomlarını ve cinsiyet belirleyici genleri özellikle erkek cinsiyetinde rol oynayan genleri tanımlamak için plati balığı *Xiphophorus maculatus* model organizma olarak kullanılmıştır. Plati balığı *X. maculatus*'ta farklılaşma, bakteriyel yapay kromozom contigs cinsiyet belirleyici bölgeden Y'yi X kromozomundan farklılaştıran bileşikler bir araya getirilerek analiz edilmiştir. Texim Y kromozomu üç yeni kopya gen (Y kromozomunda *X. maculatus*'ta ifade edilen erkek cinsiyetini belirleyen gen için) Y kromozomunu üzerinde tanımlanmış fakat X kromozomunda tanımlanmamıştır. Kökeninde texim1geni olarak adlandırılan yüksek oranda ilişkili olduğu bir dizi genden Y kromozomuna bağlı genlerin yanı sıra (*psödo*) otozomal bölgelerinde bu gene bağlı olmayan üç farklı texim geni tespit edilmiştir. Bugüne kadar herhangi bir organizmada fonksiyonel verisi bulunmayan texim genlerinin bir SGNH hidrolaz alanı ile esterazlar ve lipazlar öngörülmüştür. Texim proteinleri hayvansal CR1 retrotranspozonları, kodlanan proteinler, hayvansal aktive edici trombosit faktörü dahil, farklı kökene sahip asetilhidrolazlar (PAFah) ve bakteri hidrolazları texim gen dağılımı ile ilgilidir. Texim dizileri killibalığı, medaka, kirpi balığı, levrek, morina ve gar da dahil olmak üzere birçok balık türünde bulunurken zebra balığında bulunmamıştır. Texim benzeri genler ayrıca *Oikopleura* (*urochordate*), *Amphioxus* (*sefalokardat*) ve deniz kestanesinde (*echinoderm*) teşhis edilirken memelilerde ve diğer tetrapodlarda yoksundurlar. Helitron transpozonu olan *Oikopleura* (*urochordate*), *Amphioxus* (*sefalokardat*) ve deniz kestanesi (*echinoderm*) gibi kemikli balık soyundan gelen atalarına ait bu texim genin teşhis edilmesi ve bu genin mobilizasyonu öngörülmüştür. Y kromozomuna bağlı texim Y genlerinin, spermatogenezin ekspresyon evresinde testiste ifade edildiği RT-qPCR analizi sonucunda gösterilmiştir. Sonuç olarak teximY kromozomunun Helitron transpozisyonunda rol oynadığını göstermektedir. Balıklarda erkek cinsiyet belirleyici genleri ve texim genlerinin spermatogenez genleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Marta *et al.* 2009).

Günümüzde, yüzey sularında antidepresan kalıntılarının ortaya çıkması büyük bir endişe haline gelmiştir. Uzun yıllar boyunca depresyon ve diğer bozuklukları tedavi etmek için Amitriptilin (AMI), tanımlanmıştır. Bununla birlikte, hedef dışı organizmalar

üzerindeki etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. AMI'nin, zebrabalıklarında (*Danio rerio*) erken embriyonik gelişimi sırasında antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin mRNA ekspresyonu üzerindeki potansiyel etkisi hedeflenmektedir. Döllenenmiş *D. rerio* embriyoları, 300 ng / L ve 30 µg / L konsantrasyonlarında AMI'ye maruz bırakılarak ve döllenenmeden (hpf) 24, 48, 96 ve 144 saat sonra sitokrom P450 1A1, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz mRNA ekspresyonu ve katalaz ile değerlendirilmiştir. Antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin mRNA ekspresyonlarının zaman dilimleri, embriyonik gelişim sırasında genellikle taramadan sonra geçici değişikliklere neden olan karakteristik değişiklikleri ortaya koymuştur. Ayrıca; AMI, 144 saat sonra, 30 µg / L'lik AMI konsantrasyonu ile önemli ölçüde regüle edilen CAT durumu dışında, önemli bir etkiye neden olmamıştır. Sonuç olarak; antidepresan AMI'nin hedef dışı organizmanın *D. Rerio* embriyosunun erken embriyonik gelişimi sırasında antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerinde sadece orta dereceli küçük etkilere neden olduğu ve CAT AMI'den etkilenen tek biyobelirteç olduğunu göstermektedir (Sehonova *et al.* 2019).

Kadmiyum (Cd) oksidatif stresi indükleyen potansiyeli olan ancak esansiyel olmayan toksik ağır bir metaldir. Kadmiyum toksisitesi suda yaşayan habitatlarda birikim sonucu oluşan çevreyi kirleten faktör olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif strese bağlı gen ekspresyonunun daha iyi anlaşılması için farklı dokularda katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz 1a (GPx1a), glutatyon peroksidaz 1b (GPx1b), Cu/Zn süperoksit dismutaz (Cu / Zn-SOD), ve Mn süperoksit dismutaz (Mn-SOD) gibi altı antioksidan gen klonlanmış ve *Takifugu Obscurus* balığı için dizilmiştir. Bu balıkta dokuya özgü mRNA ekspresyonunda her bir antioksidan genin, diğer dokularla karşılaştırıldığında incelenen dokularda farklı ekspresyon modları göstermesine rağmen en yüksek ekspresyonu karaciğer dokusunda olduğu belirlenmiştir. Karaciğerde en çok eksprese edilen çeşitli antioksidan genlerden olan GR'nin ardına CAT, GPx1 ve Cu / Zn-SOD gibi diğer antioksidan genleri sıralanmıştır. Belirli zaman aralığında karaciğerdeki Cu / Zn-SOD hariç bütün antioksidan genler önemli ölçüde indüklenirken GR, CAT ve Mn-SOD mRNA ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla 5 katı kadar indüksiyon görülmüştür. Sonuç olarak *T. obscurus*'un karaciğer dokusunda sağlam bir

antioksidan sistemine sahip olduğu ve kadmiyum (Cd) maruz kalan antioksidan genlerin ekspresyonunu modüle ettiği gösterilmiştir (Kim *et al.* 2010).

Xiphophorus melanoma modeli, biyomedikal araştırmalarda tümör oluşumu için genetik bir model olarak dikkat çekmiştir. *Xiphophorus*'un spesifik olmayan hibridlerindeki melanom gelişimi, mutasyonla aktive olmuş X mrk reseptör tirozin kinazın aşırı spesifik ekspresyonunun pigment hücresine bağlanmıştır. Xmrk'nin transkripsiyonel regülasyonunda rol oynadığı R hipotezini ve sonuç olarak xmrk sinyalinin üst kısmındaki hareketleri test etmek için, yüksek oranda tümörjenik veya tümörjenik olmayan xmrk alleli ya da genomipleri taşıyan farklı *xiphophorus* genotiplerinin normal ve melanom dokularında xmrk transkript seviyelerinin nicel analizini yapılmıştır. Elde edilen sonuç, tümörjenik xmrk alel ekspresyonunun kötü huylu melanomlarda iyi huylu lezyonlara makromelanofor lekeler ve sağlıklı cilde göre yüksek olduğunu göstermektedir. Pigment hücrelerindeki tümörjenik olmayan xmrk alelinin transkripsiyonunun aksine, R'nin varlığı veya yokluğundan etkilenmez. Bu bulgular güçlü bir şekilde gösteriyor ki farklılık gösteren xmrk transkripsiyon başlatıcısının transkripsiyonal düzeni, *Xiphophorus* melanoma sistemindeki xmrk allellerinin tümöre neden olma potansiyelini belirler. Bu yüzden hipotezi destekleye R transkripsiyonal kontrol seviyesi üzerindeki xmrk nin onkojenik fonksiyonunu ortadan kaldırır (Regneri and Schartl 2012).

Yer değiştirme ve rekombinasyon yoluyla, genom plastisitesine ve evrimine önemli ölçüde katkı sağlayan gen ekspresyonunu düzenleyen ve yeni gen fonksiyonlarının evrimi için düzenleyici ve kodlayıcı sekanslar (CDS) üretmek amacıyla yapılmıştır. Plati balığı *Xiphophorus maculatus*'un Y kromozomunda yeni bir DNA transpozon olan süper aile tanımlanmıştır. Proteinin yapısında varsayılan N-terminal kısmı 11 kb uzunluğunda ve 24 ekzon içeren tek bir CDS taşımaktadır. Yapılan testlerle tüm yetişkin dokularında eksprese edilmiş, nükleik asit ve protein bağlayıcı alanlar içeren dizilimler birbirine karşılık geldiği gözlenmiştir. Herhangi bir transpozonda şimdiye kadar tarif edilmemiş yeni bir transpozaz tarif edilirken buna ek olarak, testise özđü bir izoform post-translasyonel protein modifikasyonunda C-terminali fonksiyonu önermiş

Ulp1SUMO proteaz domeni kodlayarak SUMO ve ubiquitin küçük peptidleri aracılık etmiştir ve bu yapı Zisupton olarak adlandırılmıştır. Y-kromozomal dizisinin yanı sıra, plati balığı 'te benzer beş kopya genom daha tanımlanmıştır. Tüm kopyalar 99-bp subterminal tekrarlarla sınırlandırılarak ve kopyaya özel 8-nt hedefiyle çevrelenerek genomdaki farklı pozisyon entegrasyonlarını yansıtmıştır. Zisupton sekanslar aynı zamanda farklı poeciliid türlerinde *X. maculatus*'un farklı popülasyonlarında farklı genomik yerlerde bulunmuştur. İlişkili türlerde ise popülasyonlar arasında polimorfizmlere nispeten yüksek oranda transpozisyon aktivitesini göstermiştir. Gen transferinin ortaya çıktığını gösteren türler arasındaki nükleotid kimliği Zisupton sekanslar ile diğer balık türlerinde, süroforlarda, sefalokratlarda ve hemikhordalarda olduğu gibi diğerlerinde de tespit edilirken basidiomycete mantarları, filamentli kahverengi algler ve yeşil alglerde uzak akrabalık ilişkilerinin olduğu tespit edilmiş ve Zisupton'dan türetilen genler tanımlanmıştır. Sonuç olarak, yeni bir DNA ailesini ortaya çıkarılarak balıklarda ve diğer organizmalarda genom çeşitliliği ve evrimsel inovasyondaki potansiyel rolleri ve transposonlara sahip olduğu kanıtlanmıştır (Astrid *et al.* 2012).

Model organizma tayini için yapılan bu çalışmada; zebra balığı ve medaka tümör gelişiminde kanser araştırması için deney araçları olarak kullanılmıştır. Bu balık türlerinde mikro dizilerin ortaya çıkışıyla yeni dizilim teknolojisini tüm genomlarda, ekzon ve transkriptom analizlerinde uygulanmıştır. İki balık modeli birbirleriyle ve insan tümörlerinden gelen verilerle karşılaştırıldığında aralarında uyum olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca balık ve insan tümörlerinin özellikleri tespit edilerek moleküler alanda da yüksek oranda benzerlik olduğu analizler sonucunda görülmüştür. Model organizma olarak kullanılan bu balık türlerinde insan tümör yapısı daha önce çalışılmamış gen yapısı ve moleküler yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu balık türlerinin yeni biyobelirteçler ve terapötik hedefler için değerli kılarak daha sonra ki çalışmalarda da dikkat çekici ve bilim dünyasını aydınlatmada kullanılması düşünülmektedir (Regneri *et al.* 2016).

Bir insanın beta actin cDNA'sı ile nükleotit sekansının tamamı incelenmiştir. Nudel ve arkadaşları tarafından rapor edilen sıçanın aktin analog bölgesinde hem 5' ucunda hemde 3' ucunda ki sekansın okunmayan bölgesinde %80 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. 3' ucunda okunmayan bölgenin bir kısmı kullanıldığı zaman, civciv de görülen aktin mRNA hibridizasyonu radyoaktif bir inceleme yapılarak bu dizilerin korunması ile beta aktin mRNA'nın okunmayan bölümleri üzerinde güçlü selektif basınçların olduğunu göstermiştir (Ponte *et al.* 1983).

İnsan DNA kütüphanesinden sitoplazmik beta-aktin genini taşıyan bir rekombinant faj izole edilmiştir. Bu genin nükleotit sekansı belirlenerek nükleotit sekansından elde edilen amino asit sekansı ile insan fibroblastlarından beta-aktin sekansı ile eşleştirilmiştir. Uyum gösteren bu gen, yapısında beş intron içermektedir. ATG başlatma kodonu ile anlamlı altı nükleotitten oluşan 5' ucunda intron (okunmayan bölge) bulunmuştur. Kodlama bölgesinde ise amino asitleri ile eşleşen dört intron bulunmuştur. Genomik DNA'sının 5' ucunda (okunmayan bölgedeki) intron I'den ve intron III'den türetilen DNA fragmanları ile hibridizasyonu, insan genomunda tek bir beta-aktin geni ile kuvvetli bir şekilde eşleşmesi gözlenmiştir. Genomik DNA'sının, 5' ucunda (okunmayan bölgedeki) intron I'den ve intron III'den türetilen DNA fragmanları ile hibridizasyonu, insan genomunda tek bir beta-aktin geninin varlığını kanıtlamıştır. Kodlama bölgesinin, 3' ucunda (okunmayan bölgenin) ve insan beta-aktin geninin 5' ucunun DNA'sındaki "CCAAT" kutusu ile "TATA" kutusu arasındaki dizi bloğunun DNA dizileri ile sıçan ve tavuk beta-aktin genlerinin dizileri karşılaştırılarak homolog oldukları saptanmıştır. Sonuç olarak beklenmedik bir şekilde, insan beta-aktin geninin intron III dizisi ile sıçan beta-aktin geni aralarında benzerlik olduğunu göstermiştir (Nakajima-Iujima 1985).

İmmünesüpresif rapamisinin (RAP), memeli hücrelerde p70 S6 kinazın (p70s6k), ribozomal S6 proteininin fosforilasyonunu spesifik olarak inhibe ettiği incelenmiştir. Proliferatif lenfoid hücrelere RAP ekleyerek hücre çoğalmasından önce protein sentezinin durdurulması jel elektroforezi ile incelenerek RAP, seçici proteinlerin ve spesifik elangasyon faktor-2 (*eEF-2*) sentezinin inhibe ettiği gözlenmiştir. RAP, sadece

spesifik *eEF-2*'yi değil aynı zamanda e1-alfa ve ribozomal proteinleri kodlayan mRNA'ların polisomal ilişkisini mRNA translasyonunu etkilemeden inhibe etmiştir. P70s6k'nin aktivite seviyesi ise *eEF-2*'nin biyosentezi oranı ile ilişkili olduğundan 5' ucunda sahip olduğu bir sekansa ribozomal protein mRNA'larının translasyonel düzenlemesini koordine etmekte rol almıştır. Sonuç olarak ribozomal protein sentezinin RAP'in proliferatif ve mitojenle aktifleştirilen hücreler üzerindeki diferansiyel antiproliferatif etkisini açıklamıştır (Terada *et al.* 1994).

Bayır vd 2011, uzun süreli açlık, besin kısıtlaması ve yeniden beslenmenin kahverengi alabalıkta (*Salmo trutta*) meydana getirmiş olduğu metabolik faaliyetleri incelenmişlerdir. Çalışmada solungaç ve karaciğer dokularının malondialdehid düzeyleri açlık ve besin kısıtlılığı ile önemli derecede değiştiği ve bu değerlerin yeniden beslenme sonrası normale dönmediği tespit edilmiştir. Antioksidan enzim aktivitelerinden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri karaciğer ve solungaçlarda belirli bir süre de açlık boyunca arttığı, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) aktivitesinin ise azaldığı gözlenmiştir. Çalışma sonucunda, kahverengi alabalıkta açlığın ve besin kısıtlamasının oksidatif strese neden olduğunu bildirmişlerdir.

Scytalidium thermophilum' termofilik olan bir mantar türü kullanılarak büyümeye bağlı olarak sürekli katalaz üreterek, hidrojen peroksit yokluğunda fenol oksidaz aktivitesi de göstermektedir. *S. thermophilum*'un bu özelliğinin buluşu ile birlikte, pek çok organizmada katalazlarında değişen oranlarda oksidaz aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Yıllardır katalaz üzerinde çalışılmasına rağmen bu enzimin peroksitten bağımsız olarak ikinci bir oksidaz aktivitesi oluşturduğu saptanmış ve kaynaklara aktarılmıştır. Oksidaz aktivitesinin arttırılması için katalaz enziminin üç boyutlu yapısını protein mühendisliği ile değiştirilmesi çalışılmıştır. Böylece tek basamakta hem oksijeni hem de hidrojen peroksiti ortamdaki uzaklaştırılarak daha verimli, kaliteli ve düşük maliyetli katalaz üretimi sağlanmış ve yapılacak yeni çalışmalara ışık tutmuştur (Yüzügüllü ve Ögel 2013).

Kılıçoğlu vd 2012, fare dokularında katot ışınli tñp (CRT) monitör kullanımına bağlı oluşan histopatoloji üzerine etkilerini ve C vitamininin oksidatif strese karşı olası koruyuculuğunu, radyasyonun oksidan ve antioksidan parametreleri ile ölçümleri değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada 40 albino dişi fare kullanılarak 4 grup oluşturulmuştur. Bu gruplar kontrol, C vitamini, bilgisayar ve bilgisayar ile C vitamini olacak şekilde ayrılmıştır. Bilgisayar ve bilgisayar ile C vitamini grupları monitör radyasyonuna maruz bırakılarak C vitamini belirli gün ve miktarda farelere oral olarak uygulanmıştır. Hayvanların kalp, karaciğer, böbrek, ve beyin dokularında malondialdehit (MDA) düzeyleri ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle ölçülerek dokularda histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında C vitamini alan grubun böbrek dokusunda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak artış saptanırken böbrek ve karaciğer dokularında meydana gelecek herhangi olumsuz bir değeriklik veya histomorfolojik bulgu görölmemiştir. Sonuç olarak C vitamini uygulamasıyla CRT-monitör kullanımına bağlı oluşan radyasyonun oksidatif stresi azaltarak ve böbrek ile karaciğer dokularında hücrenel değeriklikleri ortadan kaldırıp, radyasyonun neden olduğu olası hücrenel hasarı önlemesi gözlenmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Biyoenformatik Analizler

3.1.1. Katalaz geninin tanımlanması

Katalaz geninin tanımlanması için Ensembl veri tabanından yararlanıldı. Öncelikle genin gerçek ve fonksiyon gösteren bir gen olup olmadığının tespiti ve katalaz geninin tanımlanmasının doğruluğunu ispatlamak amacıyla NCBI veri tabanında (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)’da, ensembl veri tabanından elde ettiğimiz cDNA dizilimleri kullanılmak vasıtasıyla BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) işlemi yapıldı. Yapılan bioenformatik çalışmada hedef gen olan CAT’ın 1 izoformu olduğu belirlendi. Çalışmada kullanılan plati balığı ve sorgulayıcı gen olarak kullanılan zebra balığı *cat* gen ensembl numaraları, ncbi cDNA numaraları, amino asit sayıları ve kromozom bölgeleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Plati balığı ve zebra balığı ensembl gen numaraları, ncbi cDNA numaraları, amino asit sayıları ve kromozom bölgeleri verilmiştir.

Gen	Ensembl gen ID	NCBI cDNA ID	Amino asit sayısı	Kromozom bölgeleri
Plati balığı <i>cat</i>	ENSXMAG00000025437	XM_005815279	527	Kromozom 2:23,945,721-23,959,054
Zebra balığı <i>cat</i>	ENSDARG00000104702	NM_130912	526	Kromozom 25:7,492,663-7,504,554

3.1.2. Primerlerin tasarlanması

Plati balığı katalaz geni ve referans genler olan elongasyon faktör 1 ve beta aktin genleri için primer dizayn etmek amacıyla bu genlerin cDNA' ları ensembl genom veri tabanından elde edildi ve daha sonra elde edilen bu cDNA' lar kullanılarak ncbi genom veri tabanı (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)'ndan "Exon-Exon Junction" modeline göre herbir gen için forward (ileri) ve reverse (geri) primerler dizayn edildi. Dizayn edilen primer dizilimleri ve Real Time PCR'da kullanılan ortalama sıcaklıkları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Plati balığı katalaz geni ve normalizasyon için kullanılan referans genler olan *beta actin* ve *elongation factor 1* genlerinin Real Time PCR'da kullanılan primerlerinin 5' → 3' dizilimleri

Plati balığı	Forward (ileri) primer (5' → 3')	Reverse (geri) primer (5' → 3')	Tm (°C)
<i>cat1</i>	TCTGTGGCTGGGGAGTCTG	GCTGAACAGGAACGACAC CT	58,3
<i>β-actin</i>	ACCCAGATCATGTTTGAGACC	ATGTCACGCACGATTTCCC T	55,8
<i>Elongasyon faktör1</i>	ACGTCAAGATGGAGAGAACTCG	GTGAAGTGAACCCAGAGC GA	56,8

3.1.3. Korunmuş gen sentenisi

Korunmuş gen sentenisini oluşturmak için öncelikle plati balığı katalaz geninin kromozom bölgesi tespit edildi ve bu bölgede bulunan genlerin, balon balığı (*Fugu rupripes*), zebra balığı (*Danio rerio*), medaka (*Oryzias latipes*), stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) ve insan (*Homo sapiens*) bulunduğu gen bölgeleri belirlendi (Çizelge 3.3). Daha sonra bu veriler kullanılarak manuel olarak korunmuş gen sentenisi oluşturuldu (Şekil 3.1).

Çizelge 3.3. Korunmuş gen sentenisi dizaynında tespit edilen genler ve lokasyonları

GEN	Gen sembolü	Plati Balığı	Fugu	Zebra balığı	Medaka	İnsan	Stickleback
leucine rich repeat and Ig domain containing 1a	<i>Lingo1a</i>	2;23,52	9;9,84	25;7,22	6;9,64	15;77,61	4;116,92
high mobility group 20A	<i>Hmg20a</i>	2;38,82	9;9,95	25; 7,24	6; 9,20	15; 77,42	4;269,09
pseudopodium-enriched atypical kinase 1	<i>Peak1</i>	2;23,87	9;9,96	25; 7,34	6; 9,08	15; 77,10	4;315,61
synaptotagm in XII	<i>Syt12</i>	2;23,90	9;10,00	25; 7,46	6; 9,06	11;67,00	4;341,01
interferon induced transmembrane protein 1	<i>Ifitm1</i>	2;23,96	---	5;33,25	6;8,99	11;313,50	4;367,38
aminoaldehyde-semialdehyde synthase	<i>aass</i>	2;24,09	9;4,72	25;28,27	6;1,21	7;122,07	9;640,52
FEZ family zinc finger 1	<i>Fezf1</i>	2;24,13	9;4,74	25;28,27	24;23,55	7;122,30	9;658,69
calcium dependent secretion activator 2	<i>CADPS2</i>	2;24,15	9;4,74	25;27,93	5;19,72	7;122,31	9;666,87
structural maintenance of chromosomes 1B	<i>Smc1b</i>	2;24,38	9;13,65	25;16,55	6;7,16	22;45,34	11;018,50
BLOC-1 related complex subunit 5	<i>Borcs5</i>	2;24,38	9;13,66	25;17,92	6;7,18	12;12,35	11;031,75
bromodomain containing 1	<i>BRD1 (Iof many)</i>	2;24,33	18;7,13	4;27,13	23;7,34	---	20;220,96
FtsJ RNA methyltransferase homolog 1	<i>ftsj1</i>	2;2436	9;4,89	21;21,16	6;32,19	48;476,02	9;951,23
carboxypeptidase A4	<i>Cpa4</i>	2;24,41	9;12,33	25;16,58	6;2,87	7;130,29	10;399,24 (Paravania 2019)
catalase	<i>Cat</i>	2;23,94	9;10,01	25;7,49	6;9,05	11;34,43	4;352,92

3.1.4. Filogenetik ağaç

Plati balığı katalaz genin diğer teleost balıklar ve omurgalılarla arasındaki filogenetik ilişkinin belirlenmesi için CLUSTALW (Thompson *et al.* 1994) BioEdit programı (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/page2.html>) kullanılmıştır. Plati balığı katalaz geninin protein sekansı ile medaka (*Oryzias latipes*), balon balığı (*Fugu rupripes*), zebra balığı (*Danio rerio*), fare (*Mus musculus*), sıçan (*Rattus norvegicus*) ve insan (*Homo sapiens*) katalaz Cat protein sekansları dizilendi. Sonrasında MEGA6 (Tamura *et al.* 2013) programı kullanılarak maksimum olasılık (maximum-likelihood) filogenetik ağaç analizi yapıldı (Şekil 3.2) Dış grup olarak insan limfosit sitosolik protein (LCP2) kullanıldı (Kell *et al.* 2018).

3.1.5. Plati Balığı (*Xiphophorus maculatus*) katalaz genin yapısı ve diğer omurgalılarla benzerlik-özdeşlik oranlarının belirlenmesi

Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) *cat* gen sekanslarını belirlemek için, zebra balığı (*Danio rerio*) katalaz gen sekans dizilimleri sorgulayıcı olarak kullanılmak vasıtasıyla ensembl veri tabanı (<http://useast.ensembl.org/index.html>)'ndan sağlandı. Ensembl veri tabanında en uzun mRNA transkripti olan ENSXMAG00000025437 kullanıldı. Plati balığı (*X. maculatus*) *cat* geninin ekzon, intron, protein kodlayan nükleotidleri ve 5' ve 3' uçları belirlendi. Daha sonra oluşturulan gen yapısı üzerinde TATA kutusu ve poli A kuyruğu belirlendi (Çizelge 3.4).

Bilindiği üzere teleost balıklar, aynı gen ailesindeki gen yapısı için evrimsel olarak korunmuş bölgelere sahiptir. Bu nedenle, *cat* genlerinin ekzon-intron bağlantıları için zebra balığındaki *cat* gen yapıları referans gen olarak kullanıldı. *Cat* geninin transkripsiyonel olarak aktif olup olmadığını, yalancı (pseudogen) veya fonksiyonel olmayan bir gen olup olmadığını doğrulamak için NCBI veritabanındaki BLAST araştırmaları yapıldı. Bu BLAST araştırmaları için Ensembl veri tabanından elde edilen amino asit dizileri kullanıldı.

Plati balığı ile diğer teleost balıklardan olan medaka (*Oryzias latipes*), balon balığı (*Fugu rupripes*), zebra balığı (*Danio rerio*) ve diğer omurgalılarından olan fare (*Mus musculus*), sıçan (*Rattus norvegicus*) ve insan (*Homo sapiens*) katalaz *cat* gen sekansları kullanılarak benzerlik-özdeşlik belirlenmesi için BLOSUM62 matris algoritması kullanıldı (Gromiha, 2010) (Çizelge 3.5).

3.2. Balık materyali ve Araştırma yeri

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvar'nda yürütülen bu çalışmada üçer yetişkin dişi ve erkek plati balığı, laboratuvara getirildikten hemen sonra anestezi (MS222) uygulanarak karaciğer, bağırsak, kas, beyin, kalp, göz, yüzme kesesi, solungaçlar, böbrek, dalak, deri, ovaryum ve testis dokuları alındı. Doku örnekleri 1 ml RNA later içeren steril ve DNase/RNase free 2 ml'lik tüplere aktarıldı. Örnekler bir gece + 4°C'de tutulduktan sonra RNA izolasyonu yapılacak güne kadar -80 °C'de tutuldu. Çalışma Atatürk Üniversitesi deney hayvanları çalışma protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

3.3. Moleküler Analizler

3.3.1. Toplam RNA izolasyonu

Doku örnekleri, -80°C' den çıkarıldıktan sonra örneklerin buz üstünde çözünmesi beklenmiştir örnekler çözüldükten sonra RNA later uzaklaştırılıp, 1ml Trizol içeren 2 ml'lik nükleazlardan arı tüplerin içine konulduktan sonra çelik bilyeler kullanılarak, doku parçalayıcıda (Qiagen) dokular homojenize edildi. Örnekler 5 dak. 15-30°C'de inkübe edildi ve sonra 200 ul kloroform eklenip ve 15 sn iyice çalkalandı. Ardından 15-30°C'de 2-3 dak. daha inkübasyona bırakıldı ve sonra örnekler +4°C'de 12500 rpm'de 15 dak. santrifüj edildi. Bu işlemin ardından tüplerin şeffaf üst fazı tamamen alındı ve 1,5 ml'lik steril DNase/RNase free tüplere aktarıldı. Bu tüplere 500 ul isopropanol alkol ilave edildi ve karıştırılıp 15-30°C'de 10 dak. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası +4°C'de 12500 rpm'de 10 dak. daha santrifüj edildi. Santrifüjden alınan

örneklerin süpernatantları uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml %75'lik -20°C'de tutulan etanol ile yıkama işlemi yapıldı ve +4°C'de 9500 rpm'de 5 dak. tekrar santrifüj edildi (Bu aşama üç kez tekrarlandı). Süpernatantlar tekrar uzaklaştırıldıktan sonra 37°C'de 10 dk tam kuru pelet elde edilmek için beklendi ve üzerine 40 µl RNase free su aktarılarak 55-60°C su banyosunda 10 dak. bekletildikten sonra çalışmanın yapılacağı güne kadar -80°C'de korundu.

3.3.2. RNA'nın kantitatif tayini

RNA izolasyonu sonrası kantitatif analiz için Nanodrop (OD260 ve OD280 nm'de) ölçümleri yapıldı. RNA miktarlarının 800-1000 ng/ul arasında olması ve aynı zamanda OD260/OD280 oranının ise 2 olması durumunda RNA'lar kullanıldı. RNA'ların konsantrasyonlarının yüksek olması durumunda dilisyon yapıldı, düşük olması ve OD260/OD280 oranının 2'nin altında veya üstünde olması durumunda yeniden RNA izole edildi.

3.3.3. DNase uygulaması

Balık dokularından elde edilen toplam RNA'ya önce DNase uygulaması (DNaseI; Deoxiribonuclease I, Amplification Grade) yapıldı. Bu işlem sağlıklı bir çalışmanın gerçekleştirilmesi için cDNA elde etmeden önce yapılması gereken bir uygulama olup öncelikle mRNA örneklerinin buz üzerinde çözünmesi beklendi. Daha sonra DNase kiti protokolüne göre uygulama yapıldı. cDNA elde edilecek güne kadar bu örnekler -20 °C' muhafaza edildi.

3.3.4. Reverse transkripsiyon (RT-PCR)

cDNA elde etmek için High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit'i kullanıldı. Kit içerisinde bulunan 10X RT Buffer'dan 2 µL, 25X dNTP Mix (100mM)'den 0,8 µL, 10X RT Random Primerlerden 2 µL, Multiscribe Reverse Transcriptase'dan 1 µL, Nuclease free H₂O'dan 3,2 µL olacak şekilde toplam 10 µL RT master mix herbir doku

için hazırlandı. Bir önceki aşamada hazırlanan DNase uygulaması yapılmış olan RNA örnekleri ilave edilip RT-PCR yapıldı. RT-PCR prosedürü; 25°C’de 10 dakika, 37°C’de 120 dakika, 85°C’de 5 dk ve 4°C’de ∞ şeklinde gerçekleştirildi.

3.3.5. PCR ürünlerinin büyüklüklerinin kontrol edilmesi ve DNA dizilim analizleri

Primerlerin beklenen bölgelere bağlanıp bağlanmadığını kontrol etmek amacıyla PCR işlemi yapıldıktan sonra ürünler agaroz jelde 50 bp standarda (DNA Ladder) karşı yürütüldü. İstenilen bölgeleri çoğaltan ve gDNA’yı elde etmek için tasarlanan primerlerden elde edilen PCR ürünleri dizilim analizi için (Macrogen corp., Rockville, MD, USA)’ şirketine gönderildi. bir şirkete gönderildi. Her bir örnek için Forward Primer, Reverse Primer ve PCR ürününden 30’ar µL içeren 3 adet steril ependorf tüplere konularak yukarıda adı geçen profesyonel şirkete kargo ile gönderildi.

3.3.6. Kantitatif PCR (qPCR)

Katalaz gen transkriptinin miktarı (kopya sayısı/µL) qPCR cihazında SYBR Green PCR Kit metodu ile belirlendi (Bustin *et al.* 2005). Her bir qPCR tüpüne 10 µL SYBR Green, 5 µL DNase/RNase free saf su, 2 µL forward primer, 2µL reverse primer ve 1 µL cDNA konuldu. Örnekler için 2’şer tekerrür ve her analiz için bir kör kullanıldı.

qPCR prosedürü; 15 dak. 95°C’de başlangıç denaturasyonu, 20 sn 95°C’de denaturasyon, her bir gen için farklı sıcaklıkların belirlendiği optimum annealing sıcaklığında 30 sn ve 30 sn de 72°C’de elongasyon aşaması şeklinde olmak üzere toplam 40 döngü uygulanmıştır. Referans genler olarak kullanılan beta aktin ve elongasyon faktör 1 için de aynı qPCR prosedürü uygulandı (Böhne 2012). Katalaz gen ifadesinin hesaplanması için bu genin kopya sayısı referans genlerin kopya sayılarına ayrı ayrı bölünerek normalizasyon yapılmak suretiyle hesaplandı.

3.3.7. Sonuçların hesaplanması ve istatistiki analizler

qPCR uygulamasından sonra sonuçların normalize edilmesiyle elde ettiğimiz değerler istatistik analizlerde kullanılmıştır. İstatistik analizler, SPSS İstatistik Programı ile (Versiyon 10,0) yapılmıştır. Sonuçlar ANOVA testi yapılmak suretiyle değerlendirilmiştir (SPSS 1996).



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Biyoenformatik Analizler

Antioksidan enzimler son yıllarda daha fazla çalışılmakta olup, bilim dünyasındaki önemleri de giderek artmaktadır. Antioksidan seviyeleri ve ROS üretimi normal koşullarda dengede olmakla beraber, serbest radikallerin zararlı etkisi oksidatif stres kaynaklı hastalıklarda yol açabilir (Scandalios 1993). Balıklardaki stres tepkileri, farklı gen gruplarının ve ürünlerinin etkilerini içeren çok yönlü seviyeleri ortaya çıkarabilir. Strese tepki gösteren bir model organizma ile ilgili genetik karakteristiklerin anlaşılması moleküler çalışmalar için oldukça önemlidir. Stres toleransı yüksek olan ve stres toleransı olmayan balıklar arasında farklı olarak ifade edilen stres genlerinin tanımlanması ve karakterizasyonu, akvakültür seçim programlarında, stres toleransının geliştirilmesine yardımcı olmak için kullanılabilir, ayrıca insan da dahil olmak üzere diğer omurgalılar için bir model teşkil eden önemli genetik belirteçler sağlayacaktır (Iwama *et al.* 1999). Bununla birlikte, oksidatif stresin, insandaki 100'den fazla hastalıkta ya sebep ya da etki olarak büyük bir rol oynadığı bilinmektedir (Halliwell *et al.* 1992; Gutteridge 1993; Poljsak *et al.* 2013). Bu amaçla, çalışmada biyoenformatik araçlar kullanarak plati balığı (*X. macullastus*) antioksidan enzim genlerinden olan katalazın karakterizasyonu ve tanımlanması yapılmış ve dokularındaki mRNA dağılımı belirlenmiştir. Böylece gelecekteki balıklarda moleküler stres tepkisi üzerine yapılan çalışmaları aydınlatacak önemli veriler bu çalışma ile bilim dünyasına sunulmuştur.

Bilindiği gibi biyoenformatik çalışmalarda, öncelikle biyolojik veriler kullanılarak istatistik bilgiler toplanır ve sonra herhangi bir modelleme problemini çözmek için model oluşturulur. Son olarak, biyoenformatik bir problemini çözümlmek için bilgisayarlı bir algoritma kullanılarak değerlendirme yapılır. Tüm bu amaçlar için, bu çalışmada Ensembl genomik veritabanı, NCBI veritabanı, BioEdit yazılımı, BLOSUM62 matris programı ve MEGA6 programı kullanılarak elde edilen istatistikler değerlendirilerek sunulmuştur. Plati balığı ekson-intron yapısını belirlemek için, en uzun cDNA dizisi Ensembl genomik veri tabanından elde edildi ve bu genin 12 intron

ile ayrılmış 13 eksona sahip olduğu tespit edilmiştir. *Cat* geninin intronlarının gt-ag kuralını takip ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, varsayılan TATA kutusu ve poliadenilasyon sinyallerine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3).

4.1.1. Katalaz (*cat*) geninin yapısı ve diğer omurgalılarla benzerlik-özdeşlik oranlarının belirlenmesi

Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) katalaz genin yapısının belirlenmesi için ensembl genom veri tabanından faydalanılmıştır. Bu amaçla öncelikle ensembl gen numarası (ENSXMAG00000025437) bulundu. Daha sonra *cat* geninin eksonları ve üretmiş oldukları aminoasitler belirlendi. Her eksonun bitiş yerine, intronlar bulunarak yerleştirildikten sonra 5'upstream dizilimi ve 3'downstream dizilimi bulunarak, yerleştirilmeleri yapıldı (Çizelge 4.1). Katalaz genin eksonları büyük harflerle gösterilmiş olup, nükleotit pozisyonları her satırın sonunda numaralandırılmıştır. Transkripsiyonun başlama noktası +1 ile, 5' upstream dizilimi, 3'downstream dizilimi ve intronlar küçük harfle gösterilmiştir. Fonksiyonu sarmalın çözülmesini kolaylaştırarak transkripsiyonun başlama noktasını belirlemek için tamamen adenin ve timin nükleotitlerinden oluşmuş olan TATA kutusu ve poli adenilasyon sinyali olan AATAAAA dizilimi büyük harflerle ve sarı boyanmış olarak gösterilmiştir. Uzama basamağı mRNA üzerindeki ilk stop kodonuna ulaşılan kadar devam eder. Polipeptid sentezi o anda sonlanma basamağı ile bitirilir. Sonlama işlemi için sonlanma faktörleri (releasing factor, RF) gereklidir ve bu faktörler stop kodonu olan TAG, TGA veya TAA dizilimlerinden birisi ile karşılaşınca sonlanma işlemi başlar. Plati balığı *cat* geni için stop kodonu TGA olarak belirlenmiş olup, gen yapısının dizayn edildiği Çizelge 4.1'te asterisk ile gösterilmiştir.

Plati balığı *cat* geninin zebra balığı *cat* geni ile ortolojisini doğrulamak amacıyla, dizi benzerliği hesaplanarak Cat protein dizi analizi yapıldı. Bunun için plati balığı (*Xiphophorus maculatus*), medaka (*Oryzias latipes*), balon balığı (*Fugu rupripes*), zebra balığı (*Danio rerio*), fare (*Mus musculus*), sıçan (*Rattus norvegicus*) ve insan (*Homo sapiens*) Cat polipeptit dizilimleri hizalandı (Çizelge 4.2). Plati balığı protein

tcttaaccaaatattagcctaataatattatgttcacactcgctcctatcatgccggtttt 2100
 attggccattactcttctttttatcttctggaaggaagtcggacgacgacacaaagctgaaa 2160
 ctgtcctttcagacaattttggaccttctgtgaggtgtgaataaaaaatgtcaggaata 2200
 tagttgtttttttttgcoctccatagacgggtaataaacatgctgccttttctgttttc 2280
 cttcttgcccaatctaggtctgtgggtgatcaacagactctcgttggattgattaataca 2340
 tttagattattagtggttagagctgtagaagaatgtgccacacagacaactgatttaaaaa 2400
 agtccacttcttttatgcttttttttatagttttacctgctctgcttttttaagttcat 2460
 attgctgagatattttccagggtgtccacacacaccttaagaagtcttaaatcatatatac 2520
 taaaatgaaagactgtctgaaattaattggaaaatgtacaagttggccttagacacgtta 2580
 atcacaggtcttaactttgttctggcaggattattccatgtagttcattgttctccgg 2640
 cgccttttgtgtcgggcaaaaatttgactcgctcggaaacatcatcagtagcgtttgaggc 2700
 taccgctaactagctgctaataaacactagctagctagcttttttgtgttcatcattgat 2760
 aatggcaaatattatcggcagttggctggatgaccttcatcattgccactggctcacttct 2820
 gctaccaattcgtacgatgcaatgtgcttctgttcaaaagaatgaaataaaaaatctgga 2880
 ttttcttttgtacatttctgtttgttacatgtctttaatttcatcattcataggggtcttaaa 2940
 agtcttaaatgtgagttggtgaaaccggcagagatcgtgtttacttctgtttgtctttgtt 3000
 cagaggaatccaaatcctctcttctcatccaaagaagttttgacattaaactgaattta 3060
 aatgctattcatattgttgtgtaataaacatgtaaagtttaggggtgtagttgttagcca 3120
 gggtaatatgtattaagaattttccagtcggctttccattgggttactctttgtctgtca 3180
 cctcatgagaagcacttttaataagaataagatgaatggtttgagcccaacttttaaat 3240
 atataattttttaaatcttgaactgcatttggttccag**AGACCAGATGTGCTAACGAC** 3300
 -R--P--D--V--L--T--T
AGGAGGTGGCCATCCCGTTGGGGACAAGCTCAACCTGCAGACTGCGGGGCCGAGGGGCC 3360
 --G--G--G--H--P--V--G--D--K--L--N--L--Q--T--A--G--P--R--G--P
TCTGCTCGTGCAGGATGTGGTCTTCACCGATGAGATGGCCACTTCGACCGGGAGCGAAT 3420
 --L--L--V--Q--D--V--V--F--T--D--E--M--A--H--F--D--R--E--R--I
CCCAGAGAGAGTGGTGCACGCTAAAGGCGCAGgttagctaacggttgtcttacagctcat 3480
 --P--E--R--V--V--H--A--K--G--A--
 gtgttttggactcaaggtctcattttgctttgataaacaagtttcacgcaataaattcaa 3540
 cccctccagacagcaagagtttaagtttttattgtagaactgcttttcgtaataataat 3600
 ttaactttttaccgtacgtgtgtaatttaatttctgagctctttttgttcaaaggaaactgt 3720
 tctagaagctttagaacgggacaatttttccacatccagactttaaacacacagcaagc 3780
 cctcctgaaaagctgctacgtttgttctcaatgctgatacgtgaaacattcaacagcctc 3840
 gatgtaaaggtgattttgtatttttcttccatgatgcag**GCGCGTTCGGCTACTTTGAG** 3900
 G--A--F--G--Y--F--E--
GTCACTCACGACATCACCCGCTACTGCAAGGCCAAGGTGTTGAACATGTGGGAAACG 3960
 -V--T--H--D--I--T--R--Y--C--K--A--K--V--F--E--H--V--G--K--T--
ACTCCCATCGCTGTCCGGTTCTCTCTGTGGgtgagagattcactttcatttccaaggaa 4020
 -T--P--I--A--V--R--F--S--S--V--
 cattctcactctttgtcgtcgttaggaatagctgtgcatggtttgtgcgcaataatttaat 4080
 ttacacttgaaaataattttctccaaagtgatccactgatgtaatttttcatctggag 4140
 aaccccccaatgtgttgacacgtctaactgtctgtctagcaggtagctactttagctagcta 4200
 gccgcagtggtgcaatatgtgtattttttatattaacatgatgttcacacgcctctact 4260
 cctgcagcaccatattctgttcttttatgatggcagagggcgctgtttgtgcaactttta 4320
 atatgtggctttgttcttctgttactgctgtagaataataaggctttttagatgatgaa 4380
 gctgcacacaacaaactgaatattataaacgacgattaaaatgcttgtgctcag**CTGG** 4440
 A--G
GGAGTCTGGATCAGCCGACACTGTCCGAGACCCCCGAGGCTTCGCTGTAAAGTTTTACAC 4500
 --E--S--G--S--A--D--T--V--R--D--P--R--G--F--A--V--K--F--Y--T
CGAGGAGGGGAAGTGGGACCTGACGGGCAACAACCCCCATCTTCTTCATCAGGGACGC 4560
 --E--E--G--N--W--D--L--T--G--N--N--T--P--I--F--F--I--R--D--A
AATGCTTgtaagttggcggtttaaaatttggagttcaaccactttattttgttattttatcg 4620
 --M--L--
 gtgctgtttgttttcttcttccgcoctgcag**TTTCCGTCCTTCATTCATCCCAGAAG** 4680
 -F--P--S--F--I--H--S--Q--K--
CGTAACCCTCAAACCCACATGAAGGATCCTGACATGGTGTGGGACTTCTGGAGCCTGAGG 4740
 -R--N--P--Q--T--H--M--K--D--P--D--M--V--W--D--F--W--S--L--R--
CCTGAGAGTCTGCATCAGgtagccgcggtattcaaccttttagcacttccaggaactaaa 4800

-P--E--S--L--H--Q-
 ataaacacatggttctaaaatgatttggtaatggggaacttgcaaaccacagtcgctcccc 4860
 ctgatgaacatTTTTatctgttttatttgcagtatctactttaacacgctctttttcta 4920
 cttctgtctatgaagacaatctgtttgtcacagattgtctgaaaccctccacacatcca 4980
 tgatggagcataaacacgtctagttcctgtttattaagattctcgttagaatcagtagca 5040
 tcagcaattcctcctgggtcagattagattaaaaaaagacagatatcatccacaggaaa 5100
 tcatattataaatgaggtactaaaatgtaaatggtgatttaaggattggtttactttgcc 5160
 ttataaagggctgcaactatt 5220
 tctgacaaatcaagtaaaaaaattggcatattctgcaacattttcattaaactacttcag 5280
 cttttctgtataatattagaattacactcaaagatggacataaacaataatttcgttt 5340
 ctgcttttaaaatagggataataatattttattggctgaaattcaataacagcctttttt 5400
 gtgaatttcaacagattgaatataaaaaatgacacttgaggattttttgttaaaatag 5460
 tgggtggttttatcttaaatgcaaacatgtacattttgtattgttttatctcattgctct 5520
 gaatatggtgggtttttcagcatttttactccagttaatgattgattgattactaaatta 5580
 gttgatgattaatcagatgaattgtttcagccttagtcttgataactaagattctctcat 5640
 atgtagagcacatacagttaccaaaggatcatatcaaaaggactttactgccatcttggtg 5700
 gtcagtgatcaaagctaattttcttactataatcaaattgaagcatctccatttgatttaa 5760
 aatccatttgacagcaataacagtgataaaaacatattttttgtgtaaaataaactcggg 5820
 taaacctttttttttttttttttttcctctcag **GTGTCGTTCTCTCAGGACCCGTGGC** 5880
-V--S--F--L--F--S--D--R--G-
CTGCCTGACGGCCACCGCCACATGAACGGCTACGGTTCCACACCTTCAAGCTGGTCAAC 5940
-L--P--D--G--H--R--H--M--N--G--Y--G--S--H--T--F--K--L--V--N-
GCTGACGGCGAATGCATCTACTGCAAGTTCATTACAAGgtctgtttctgaaactggttt 6000
-A--D--G--E--C--I--Y--C--K--F--H--Y--K-
 gttggtttgacagagctctgcgatggtttttttttttttttttttttctctaaag**ACTG** 6060
-T--
ATCAAGGAATAAAAAACCTGTCTGTGGAGGAGGCGGAGCGCCTCGCAGCCCAACCCAG 6120
D--Q--G--I--K--N--L--S--V--E--E--A--E--R--L--A--A--T--N--P--
ATTACAGCATCGGAGACCTGTTCAACGCCATCGCTAACGGCGACTTTCGGTCTCGGACCT 6180
D--Y--S--I--G--D--L--F--N--A--I--A--N--G--D--F--P--S--W--T--
TTTACATCCAAGTCATGACCTTTGACCAGGCGGAGAGGTTCCAGTTCAACCCCTTTGATG 6240
F--Y--I--Q--V--M--T--F--D--Q--A--E--R--F--Q--F--N--P--F--D--
TCACCAAGgtacgggagtcaccaaaaagtgaacggctgactatcccgcgggtttgaactt 6300
V--T--K-
 ttggtaaaaagctaaactctgggttcttcgatgccagcaaaagtgttactctagtagagga 6360
 gaaccttttaaatcaaacgcctccttcaatatctctcttgaatgcattcgtctcattttc 6420
 aatctgcaatatctaaatctggggctactttttccaacgctcccag**GTGTGGTCGCATAA** 6480
-V--W--S--H--K
GGAGTTCCCTCTGATCCCTGTGGGCAAACCTGGTCTCAACCCGGAACCCGGTCAACTACTT 6540
--E--F--P--L--I--P--V--G--K--L--V--L--N--R--N--P--V--N--Y--F
CGCAGAGGTGGAGCAGCTGGCCTTTGACCCAGCAACATGCCTCCAGGCATCGAGGCCAG 6600
--A--E--V--E--Q--L--A--F--D--P--S--N--M--P--P--G--I--E--A--S
CCCCGACAAGATGCTGCAGgtgacgcagtaaacgcaatcagctgagaaaggagtgttgaa 6660
--P--D--K--M--L--Q-
 atttaccagaggttaacctcgtccggctcggcgcag**GGTCGGCTCTTCTCTACCCAGAC** 6720
-G--R--L--F--S--Y--P--D-
ACGCATCGCCATCGCCTGGGAGCCAACCTACCTGCAGATCCCAGTCAACTGTCCCTTCAGG 6780
-T--H--R--H--R--L--G--A--N--Y--L--Q--I--P--V--N--C--P--F--R-
GCCCGCTGGCCAACCTACCAACGAGACGGCCCCATGTGCATGTCTGATAACCAGGgtgag 6840
-A--R--V--A--N--Y--Q--R--D--G--P--M--C--M--S--D--N--Q--
 ttctttcacctgctgctcagccttaagtctttaagtcttaaatcatgtctaaaattaagg 6900
 ccttaaaagtaatggttaatcgcaggtcttaaatTTTTatcttgacacgtctgtttattc 6960
 atagattatatt 7020
 caaaacggttgaggggtctgcccaccactgctaacaatcagctcgtctaaataactagctagc 7080
 ttttttgcatcctgggttaaatgctcatttatcaccagttggctgggacaaagtttgcaag 7140
 tttttacggagatataggtattaaatttaattcttaacagctcttattaatacttacttt 7200
 gaattggtaaacatgcagaaataattattaattattaattattattattattattattatt 7260
 cacttatgctgtctggttcacgatcagtgagggtcaattaaagctgtaattctacattttg 7320

caaatttghtaacaccttaaaactaaactgtcatcattttataacaaaggtcagtttgctc 7380
ccagaaattgtggcgctaaatccccaggggtatgacagagctgtaagaattaaaagtatg 7440
aacaacaagaataagtacaaataaataaagtttagtctcttattgtattcacaataataaaa 7500
aaattatctttgggttagtccaaggggaaaaaacaacgctcactatacatattggtttatg 7560
gacactatgactttaaaatgaccagaattggacatgtttatgtataataaatgtataaat 7620
catatatttaccatgtgattaaaacatgtttgtgttgatgattaatcaactgatgtgaa 7680
tttcttcacaccttcttctgtctttgtcccttctgatgtttatatgctcaatccaatc 7740
attttttttaaaaatctgcctcttaaaactcaacaagttcttctgcttcgtacgacctctagG 7800
G

TGGCGCTCCAAACTACTACCCCAACAGCTTCAGCGCCCCCTCAGAACCAGCCTCGCTTCGT 7860
--G--A--P--N--Y--Y--P--N--S--F--S--A--P--Q--N--Q--P--R--F--V
GGAGACCAGGTTTCGGCGTTTTTCGCCCGACGTCGCCCGTTTACAACAGCGAAGACGAAGACAA 7920
--E--T--R--F--G--V--S--P--D--V--A--R--Y--N--S--E--D--E--D--N
CGTGACGCAGgtgacgatgacgccgcccgcctctaatagcctctctgtggctgtttgccag 7980
--V--T--Q-

tcgcacacaggaagtcgatgttttcagcctgttgaattcaatgtagaaaatggtctaaat 8040
atateccttcgaaggccacaccagtaaaacaataaacagttacgtggaatcactatcagag 8100
tataacagagttgtcatgcatctaaaaatggttggcacatccgcgctcctttagcttcat 8160
gtacgtttggtaacttgaaactggagcgaactgaaacttaacaattagaccaaatacagc 8220
ttcttctcatcaacaacgctcactccatctctcatgacgacacttttaatgcaaagtgc 8280
atataaagtgtcattatttaccaaatgacactacgtgacatcagtcagcatgaacattcataa 8340
agactctttcatgttcatgacgtcatttttaccttttaataaaaagtgttaccagaataag 8400
tttcaaccctctgtgaaataaacgaccttcccagtaaggttgctgaggtaagtgcagag 8460
aagtgattggttctgttaggactgtgtttaccgtgtctggttctgaccgggtccgtgtgcg 8520
gccggctgcagGTCCGGGCCTTCTACACCCAGGTGCTGAACGAGGACGAGCGCCAGCGG 8580
--V--R--A--F--Y--T--Q--V--L--N--E--D--E--R--Q--R--

TGTGCCAGAACCTTGCCGGGTTCTGAAGGGAGCCAGCTCTTCATCCAGAACGAATGg 8640
L--C--Q--N--L--A--G--F--L--K--G--A--Q--L--F--I--Q--K--R--M-

tgagttcccgtcagactccatgcccagccaaagatgctttctgtcgtgaagatgagtcac 8700
tgccgagggcattttaaagaaggaaaaacattgttccctctctttaatccacttcaaccac 8760
aggggtgctgctgcatgaaactaaacatgcacaccggcctgctttgtggtaaatgtggttc 8820
tacggaaacaaaacatttttaacaaggaagaatgatggtgaacagagcccaacgtttaa 8880
agcaacacaatctgtatttttttttttttttaagtttctgctttcaagttctgtaagg 8940
ctttgactaggacattttaaagtatttttagtaattcaaccacattgtgcaaaaagttaa 9000
tccaaatctttgacattttaaagattcaagctattattccttgtaaatttagataattatg 9060
aagtcacagataatgaaatcctgacattcagtggtcaaaaataaatgagattattacataa 9120
caaccattaaaaaccagcatttttaatgtgtgaatgtgtgtaatgcaccatgtcatcagc 9180
ccgagttgaacaccagaacggatctatgaggaagatgaggaacgtcaacaacgacactt 9240
tcaaaacaactgtgtttcagtttccctctcggctgacagcctccgtgccacgcccgcacg 9300
acgcagttattcatgctaacaagcctcaaccaatcactgagtgactgaaataaattct 9360
cacatttctgttttaaaatatacctttttttttgtaatatatactatatgttctaattgtctg 9420
aaatacagaattgtggcttactgtgctccaatattttggtttatttttaagtcattgtgtg 9480
aaccttcagatgttgcgcagtttagaagaactccctctgaaagtgggaacctttaaagac 9540
atatttttttcttctcagttgttttctgagcgtcttttctcgtttgtctccaccgg 9600
tgtgactcgccaccgcaaagtttaatttttaaacatttgaatgagaaataaaaaggtgatgt 9660
catttatcgatgtcacagcagccacatataaccgctctggtttccctgttttatggaggaaa 9720
aaaaaacaatttccgtttgcaagctgtttgtaaatctgctgccagagttgtaatttgccgca 9780
accttttgactttttgctagctctgcattttttgtgtgcatcgctttaaacaacaggaaac 9840
ctgaatatagatgcatttattcaatgttcttccctgcagGTGGAAAACCTGAAGGCCGTCC 9900
--V--E--N--L--K--A--V--

ATCCAGACTACGGGAACCGGGTCCAGACCTTACTCAACAAGTACAACGCCGAAGCCAAGA 9960
H--P--D--Y--G--N--R--V--Q--T--L--L--N--K--Y--N--A--E--A--K--

AGgtaaccaaacagttggtttggttatcgccggcgtaaaaaagttcagttaacggaaacctg 10020
K-

ctcgtttcctgatgcgctcatttcccgtctgcgtcccagAACACGAACGTCCGCGTCTAC 10080
--N--T--N--V--R--V--Y--

GGCCGTCCAGGAGCCGCCCATCGCCCGTCTCCAAGATGTGAtcagcggatcggtc 10140

-G--R--P--G--A--A--A--I--A--A--S--S--K--M--*-
 acatgaccaccgactggttccaccagcagctggaccagcctcagcggcctaattactgtc 10200
 gccgtagtttgctcgagcttggttttggttcattgcaaacagtcaagccttactttttta 10260
 attaattatcaaaaattaattttattgcaattgaatgctgtaaggtaaacactgttgagatt 10320
 aggctgcagttttattaaattacctttaatacatcgatgccttattactgtttcagttaa 10380
 attcagttaaccaacaaaaactgatgaaccttttctctaatggtgtaataactggaagatg 10440
 tttgtagcgaactcaagcaaagttaattttgaaagaacatctgtttgaaacgatgctgac 10500
 tttgtgcctggctcgtaccgcaacgcaatcgatcgcttggttaaagcttctggttttgctg 10560
 aggacattattaacgtctgggttggttaactcggacttgactgaaatcacttactgttgaa 10620
 tgtaatatagaaaagtattatcctggttttcaaat**AATAAAA**tcattcaaatggt 3' 10680

* Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) katalaz (*cat*) geni. Katalaz genin ekzonları büyük harflerle gösterilmiş olup, nükleotit pozisyonları her satırın sonunda numaralandırılmıştır. Transkripsiyonun başlama noktası +1 ile, 5' upstream dizilimi, 3'downstream dizilimi ve intronlar küçük harfle gösterilmiştir. TATA kutusu ve poli adenilasyon sinyali (AATAAAA) büyük harflerle ve sarı boyanmış olarak gösterilmiştir. Stop kodonu (TGA) asterisk belirtilmiştir. Kullanılan forwad primer sarı ile reverse primer ise kırmızı boyanmış olarak gösterilmiştir.

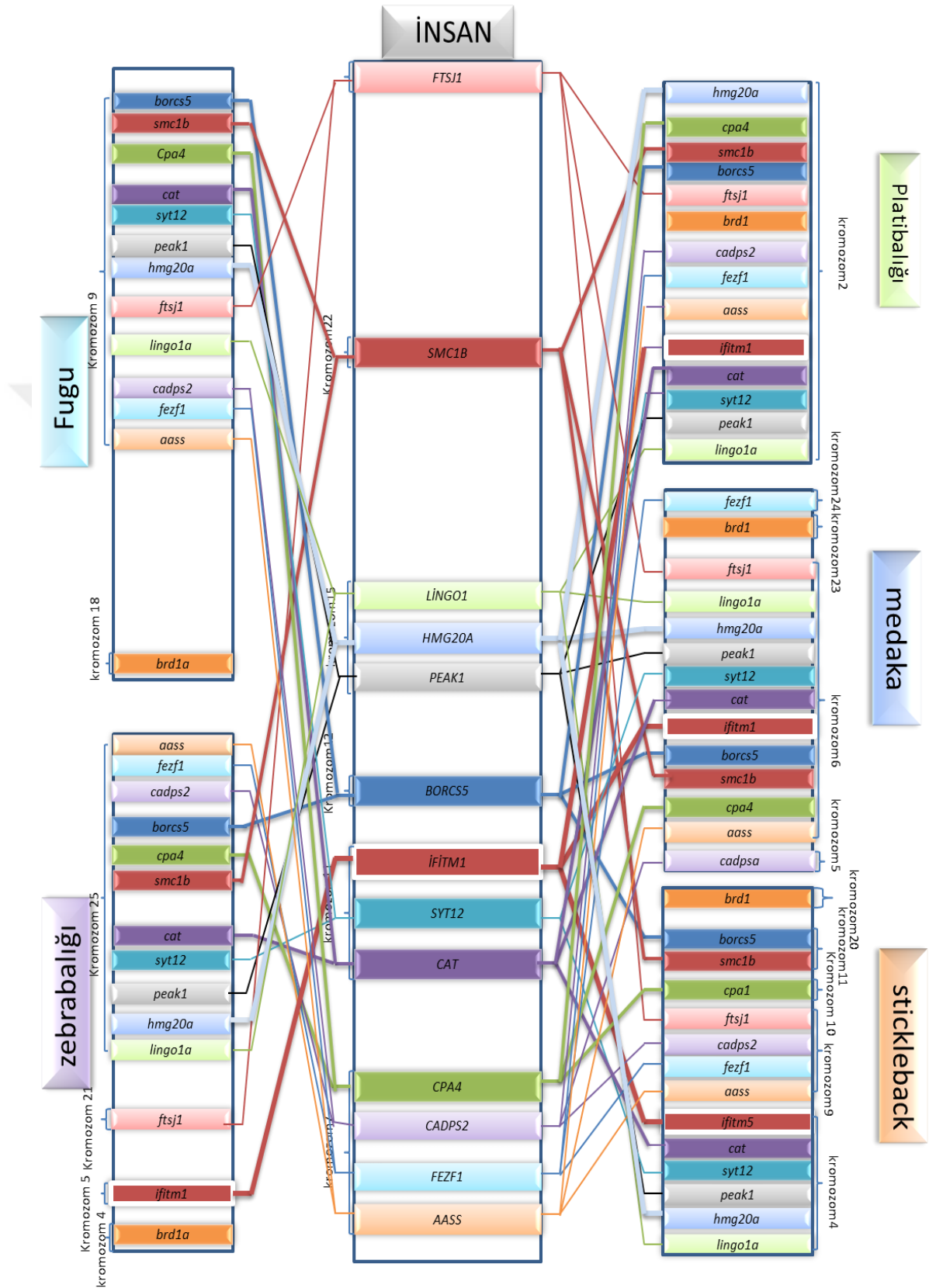
Çizelge 4.2. Plati balığı (Pb) ile diğer omurgalılarından medaka (Me), fugu (Fu), zebra balığı (Zb), fare (Fa), rat (Ra) ve insan (In) katalaz genleri arasındaki benzerlik-özdeşlik yüzde oranları

	10	20	30	40	50	60
Pb Cat 1	MAETRDKTTDQMKIWKENRGSQRPDVLTTGGGHPVGDKLNLTAGPRGPLLQDVVFTDE					
Me Cat 1	...N...T...RK...A...I...					
Fu Cat 1	..DK..A...L...S..Y...I.....I.....K.....					
Zb Cat 1	..DD.E.S...L...G.....A.V.I....AM.....					
Fa Cat 1	..SDS..PAS...Q..Q.A.....N.I....IM...S.....					
Ra Cat 1	..DS..PAS...Q..Q.AP.K.....N.I....IM.....					
In Cat 1	..DS..PAS...QH...Q.AA.KA.....A.N.....VI.V.....					
	70	80	90	100	110	120
Pb Cat 61	MAHFDREIRIPERVVHAKGAGAFGYFEVTHDITRYCKAKVFEHVGKTTPIAVRFSSVAGES					
Me Cat 61I.....T.....					
Fu Cat 61L.....T.G...					
Zb Cat 61S.....I.....T...A					
Fa Cat 61S.....I..R.....T.T...					
Ra Cat 61S.....I..R.....T.....					
In Cat 61K.S.....I..K.....T.....					
	130	140	150	160	170	180
Pb Cat 121	GSADTVRDPRGFAVKFYTEEGNWDLTGNNTPIFFIRDAMLFPSFIHSQKRNPQTHMKDPD					
Me Cat 121D.....V.....L.....V.T.....					
Fu Cat 121L.....T.....					
ZbCat 121	..S.....D.....TL.....L.....					
Fa Cat 121D.....V.....I.....L.....					
Ra Cat 121D.....V.....L.....					
In Cat 121D.....V.....PI.....L.....					
	190	200	210	220	230	240
Pb Cat 181	MVWDFWLSLRPESLHQVSFLFSDRGLPDGHRHMNGYGSHTFKLVNADGECIYCKFHYKTDQ					
Me Cat 181C.....Y.....DRV.....					
Fu Cat 181M.....Y.....K...V...F...					
Zb Cat 181I..Y.....Q.QPV.....N.					
Fa Cat 181I.....AV.....					

4.1.2. Korunmuş gen sentenisi

Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) katalaz geninin kromozom bölgesinin tespit edilerek bu bölgedeki genlerin, balon balığı (*Fugu rupripes*), zebra balığı (*Danio rerio*), medaka (*Oryzias latipes*), stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) ve insan (*Homo sapiens*)’da bulunduğu gen bölgeleri belirlendikten sonra bu veriler kullanılarak manuel olarak korunmuş gen sentenisi oluşturuldu (Şekil 4.1). Plati balığı *cat* geninde bulunan korunmuş genlerin, tanımlanan *fugu*, zebra balığı, medaka, stickleback ve insan *cat* genleri ile fiziksel olarak aynı bölgede bulunması korunmuş gen senteni olarak adlandırılır. *Fugu*, zebra balığı, medaka, stickleback ve insan ile plati balığı *cat* geninin korunmuş gen sentenisi (aynı gen sırasında olan, sıralanmış belirleyiciler), plati balığı *cat* geninin büyük olasılıkla ışın yüzgeçli balık soyundaki tüm genom duplikasyonunun bir sonucu olduğunu ortaya koymuştur.

Korunmuş gen sentenisi, plati balığı katalaz geni ile diğer teleost balıkların ve insanın ortolog *Cat/cat* genleri arasındaki korunmuşluğun bariz bir delilidir (Şekil 4.1). Plati balığında 2. kromozom üzerinde *cat* sentenik geninin, 4, 21 ve 22. kromozomlar üzerinde bulunan zebra balığı *cat* geni; 5, 6, 23, ve 24. kromozomlar üzerinde bulunan medaka *cat* geni; 9. kromozom üzerinde bulunan *fugu cat* geni; 4, 9, 10, 11 ve 20. kromozomlar üzerinde bulunan stickleback *cat* geni ve 7, 11, 12, 15 ve 22. kromozomlar üzerinde bulunan insan *CAT* geni ile korunmuş gen sentenisi sergilediği tespit edilmiştir. Katalaz geninin diğer teleost balıklarda duplike olup olmadığının araştırılması sonucunda ensembl veri tabanında turna balığı (*Esox lucius*) ve bazı çiklit balıkları (*zebra mbuna*, *Maylandia zebra*), *Neolamprologus brichardi*, *Astatotilapia calliptera*) hariç diğer teleost balıklarda kopyasının olmadığı tespit edilmiştir. Sonuçlar açıkça plati balığının *cat* geninin yüksek oranda korunmuş gen yapısı sergilediğini göstermektedir (Şekil 4.1) Bu olay, adı geçen istisnai balıklar hariç diğer kemikli balıklarda, teleost spesifik tam genom duplikasyonunun ardından duplike *cat* genin bir kopyasının kaybına işaret etmektedir.

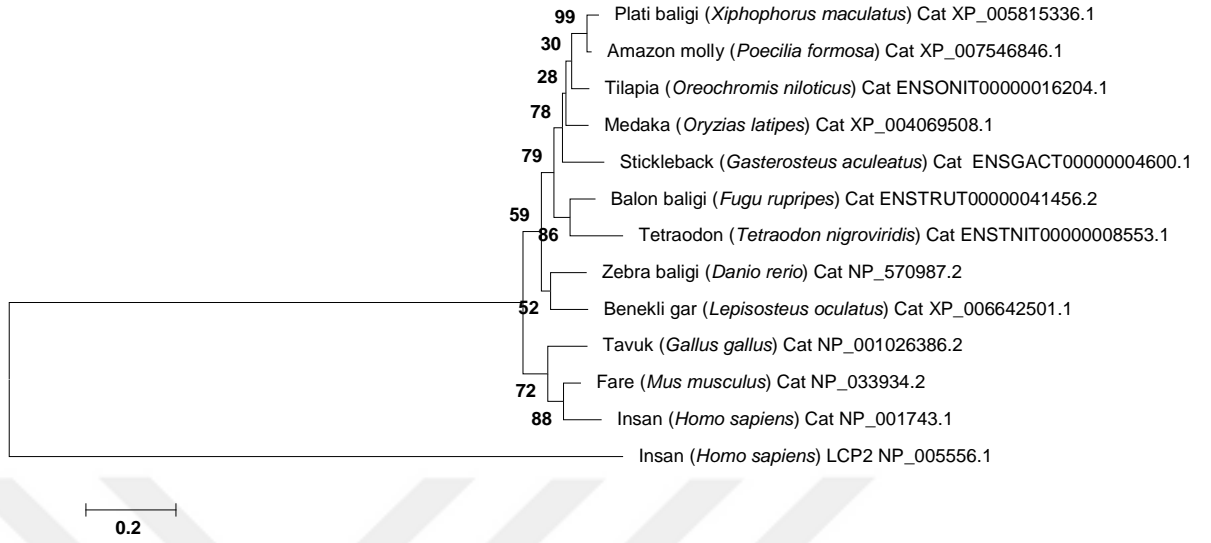


Şekil 4.1. Plati balığı katalaz geni korunmuş gen sentenisi

4.1.3. Filogenetik ilişki

Plati balığı (*Xiphophorus maculatus*) *cat* geni ile diğer sucül model organizma olarak kullanılan zebra balığı (*Danio rerio*), medaka (*Oryzias latipes*), balon balığı (*Fugu rupripes*), ile diğer omurgalılarından fare (*Mus musculus*), stickleback (*Gasterosteus aculeatus*), amazon molly (*Poecilia formosa*), tilapia (*Tilapia*), tetraodon (*Tetraodon*), benekli gar (*Lepisosteus oculatus*), tavuk (*Gallus gallus*) ve insan (*Homo sapiens*) *CAT* genleri arasındaki filogenetik ilişki belirlenmiştir. Ağaç maksimum olasılık metoduna (Felsenstein 1989) göre yapılmış olup, filogenetik ağaçta kullanılan sekansların erişim numaraları (Accession number) plati balığı Cat: XP_005815336, amazon molly Cat XP_007546846, tilapia Cat ENSONIT00000016204, medaka Cat: XP_004069508, stickleback Cat ENSGACT00000004600, balon balığı Cat ENSTRUT000000041456, tetraodon Cat ENSTNIT00000008553, zebra balığı Cat: NP_570987, benekli gar Cat XP_006642501, tavuk Cat NP_001026386, fare Cat: NP_033934, insan Cat: NP_001743 ve dış grup olarak kullanılan insan LCP2: NP_005556 olarak ncbi veri tabanından bulundu.

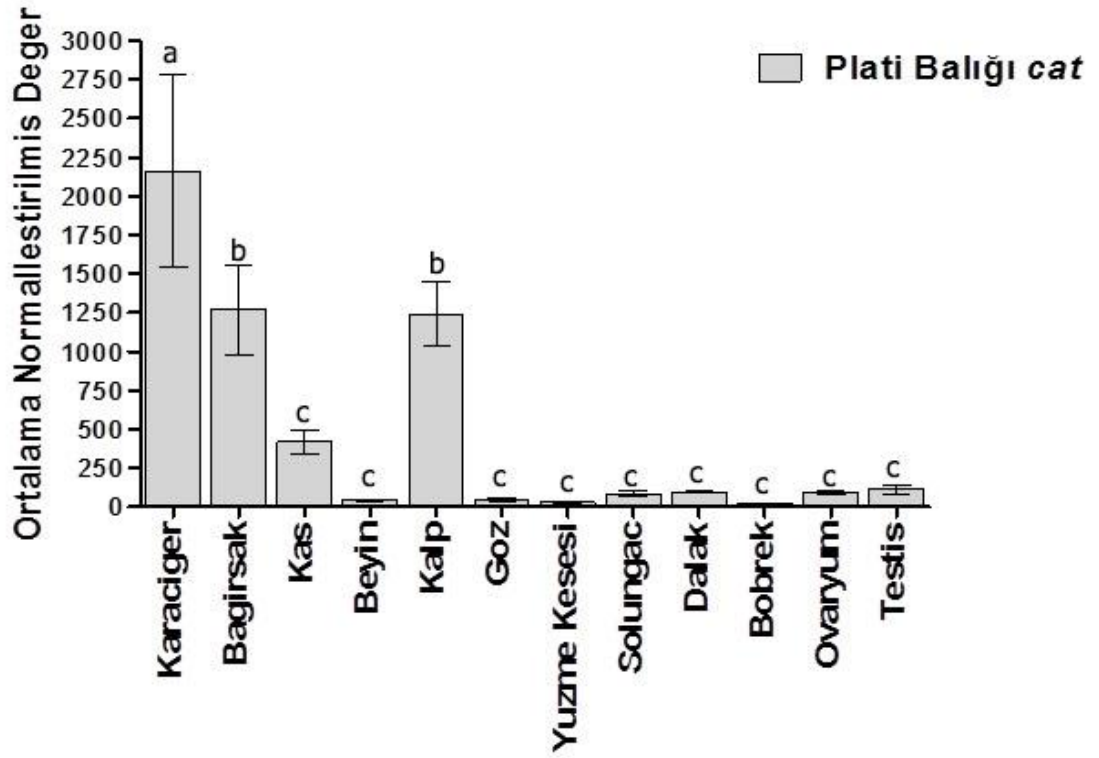
Filogenetik ağacın topolojisine (Şekil 4.2) bakıldığında plati balığı ile diğer teleost balıkların katalaz proteinlerinin, tetrapodların katalaz proteinlerinden ayrı bir kümelenme oluşturduğu görülmüştür. Neighbor-joinin metoduyla yapılan filogenetik ağaçta maksimum olasılık metoduyla yapılan ağaca benzer topoloji göstermiştir.



Şekil 4.2. Plati balığı katalaz geni için maksimum olasılık (maximum likelihood) metoduyla hazırlanmış filogenetik ağaç

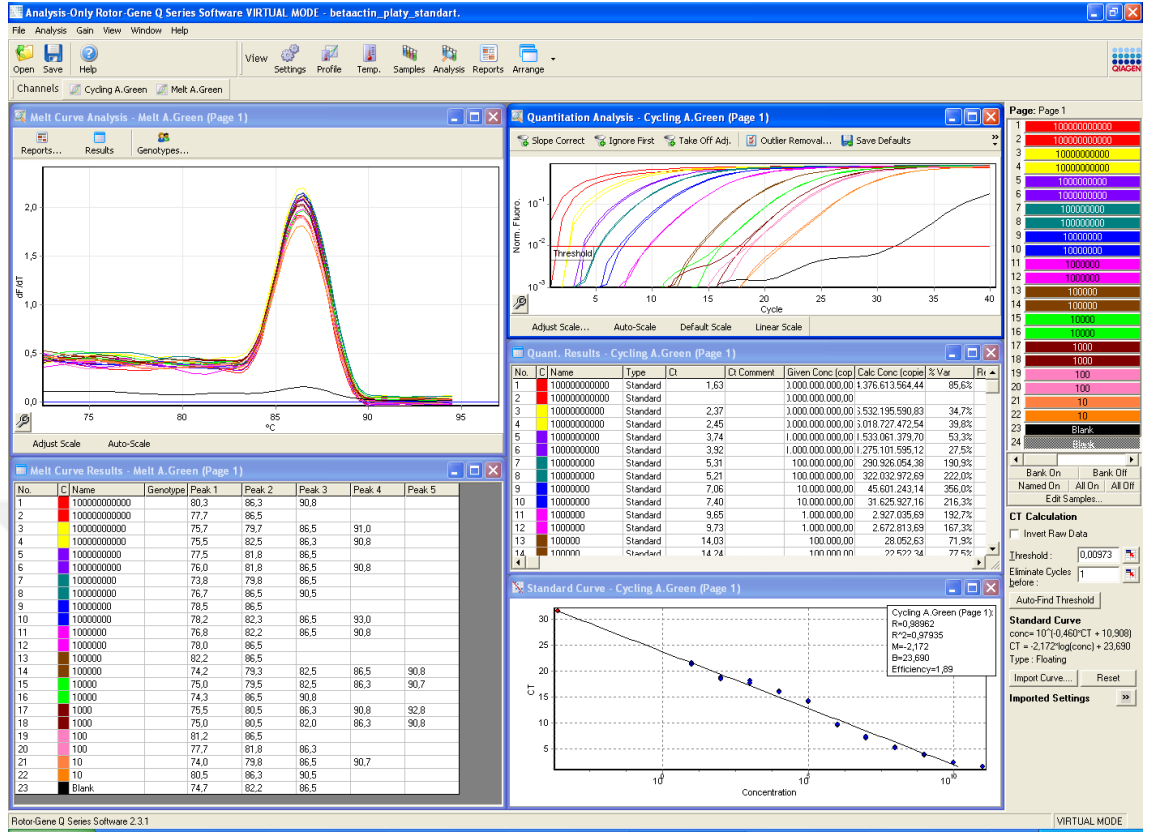
4.1.4. Plati balığı karaciğer, bağırsak, kas, beyin, kalp, göz, yüzme kesesi, solungaçlar, böbrek, dalak, deri, ovaryum ve testis dokularında *cat* mRNA seviyesi

Plati balığının farklı dokularındaki *cat* transkripsiyon seviyeleri RT-qPCR ile belirlendi. Şekil 4.3'de gösterilen verilerden açıkça anlaşıldığı üzere, çeşitli dokulardaki plati balığı *cat* genleri arasında transkripsiyon seviyesinin en yüksek olduğu doku karaciğer (2162,21) olup, istatistiksel olarak diğer dokulardan önemli derece yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bağırsak (1270,94) ve kalp (1241,25) dokularının transkripsiyonun ise istatistiksel olarak karaciğerden önemli derecede düşük, birbirlerinden farksız ve diğer çalışılan tüm dokulardan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kas (419,157), beyin (46,205), göz (47,57), yüzme kesesi (28,99), solungaç (81,18), dalak (95,45), böbrek (20,25), ovaryum (91,16), testis (113,22) dokularının transkripsiyonları arasındaki fark ise istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Bu sonuçlara bakıldığında; plati balığı *cat* gen transkriptlerinin seviyeleri ve doku dağılımı değerlendirilmiş olup, *CAT/Cat* genlerinin omurgalıların dokularında yüksek oranda ve tüm dokularda eksprese edildiği görülmüştür. Sonuçlardan da görüleceği gibi erkek ve dişi plati balığı dokuları arasındaki katalaz geni transkript seviyelerinde farklılık görülememiştir.

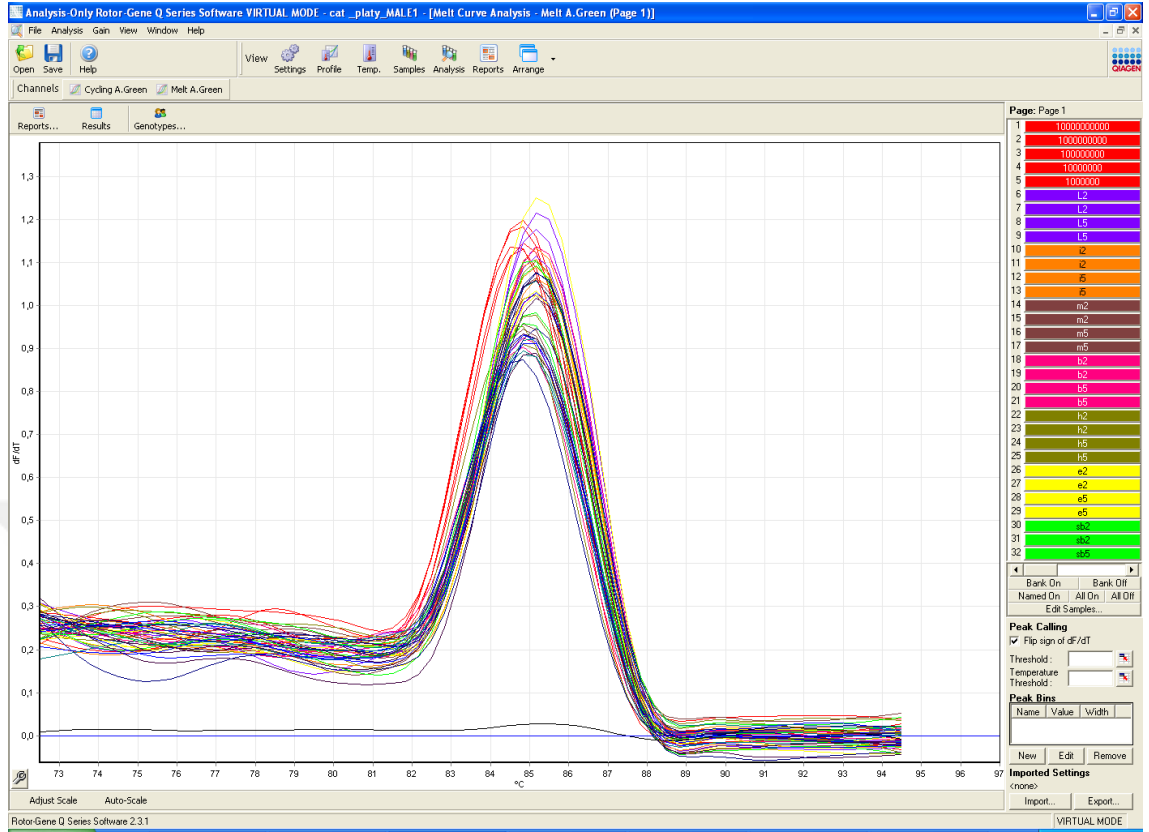


Şekil 4.3. Plati balığı katalaz geni doku spesifik dağılımı

Yukarıdaki şekilde plati balığı katalaz geni doku spesifik dağılımı vermiş olup ayrıca Şekil 4.4a ve 4.4b de real time pcr sonuçlarından örnekler sunulmuştur.



Şekil 4.4a. Real time PCR sonuçlarından kopya numaralarının ve melting eğrisinin birlikte gösterildiği bir örnek



Şekil 4.4b. Real time PCR sonuçlarından melting eğrisinin gösterildiği bir örnek

Teleost balıklar, diğer omurgalıların sadece bir tanesine sahip oldukları birçok genin iki kopyasına sahiptir (Amores *et al.* 1998; Meyer and Schartl 1999; Postlethwait *et al.* 2000; Braasch and Postlethwait 2012). Bu genellikle değiştirilmiş gen ekspresyon paternlerinde veya protein fonksiyonlarında ortaya çıkar. Yani her iki balık paralogunun ekspresyon bölgelerinin veya protein fonksiyonlarının komplemanları, diğer omurgalıdaki tek ortologa eşdeğerdir. Örneğin, bir fare geni karaciğerde ve böbreklerde eksprese edilirse, eşdeğer ayrı bir balık geninin bir kopyası karaciğerde ve ikinci kopya ise böbreklerde ifade edilir. Alt işlev bölünmesi veya alt işlevsellik olarak adlandırılan bu işlem (Force *et al.* 1999), bu tür genlerin fonksiyonel çalışmaları için geniş kapsamlı etkilere sahiptir. Örneğin, faredeki bir mutasyon, yetişkin organına özgü bir fonksiyona ilaveten erken gelişimde rol oynayan bir geni etkisizleştirdiğinde, yetişkin organın fonksiyonunu, bu gibi mutantlarda incelemek imkansız hale gelir. Balıklarda her iki fonksiyon da kopyalar arasında bölünerek her iki fenotipi ayırmayı mümkün kılar. Böylece, teleost tüm genom çoğaltması (WGD), hastalık gelişiminde

yer alan genler üzerinde yapılan çalışmalar için eşsiz fırsatlar sunar (Schartl 2014). Bu çalışmada da önemli bir model organizma olan plati balığında katalaz geninin biyoenformatik çalışması yapılarak gen yapısı, korunmuş gen sentenisi, diğer teleost balıklarla ve insanda dahil olmak üzere diğer bazı omurgalılarla olan filogenetik ilişkisi ve protein sekanslarındaki benzerlik oranları tespit edilmiş, bunun yanısıra dokularındaki mRNA transkripsiyonu belirlenerek, gerek akvakültür çalışmalarında gerekse tıp ve farmokoloji alanlarında model organizmalarla yapılan çalışmalarda kullanılacak öncü veriler sağlanmıştır.



KAYNAKLAR

- Abad A., Macho D., Segura C., Hernando J., Nadeu C., 2005. Effect of head orientation on the speaker localization performance in smart-room environment. *Interspeech* 145-148.
- Akertek E., 1994. Characterization of immobilized catalase and their application in the milk sterilization with H₂O₂, Masters Thesis of DEU, İzmir.
- Aldemir S., 2002. Koyun Karaciğerinden Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Enzimin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. Van.
- Alırız S., Türkoğlu V., 2003. Purification and Characterization of Acetylcholinesterase from the Lake Van Fish (*Chalcalburnus tarichii* Pallas, 1881). *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 33: 137145.
- Amores, A., Force A., Yan Y. L., Joly L., Amemiya C., Fritz A., Ho R. K., Langeland J., Prince V., Wang Y.L., 1998. Zebrafish hox clusters and vertebrate genome evolution. *Science* 282, 1711-1714.
- Anders A., Anders F., 1978. Etiology of cancer as studied in the platyfish-swordtail system. *Biochim Biophys Acta*. Sep 18;516(1):61-95.
- Anonim, 2019a. www.hasanbalik.com/dersler/eem101/10-
- Anonim, 2019b. www.muhendislik.khas.edu.tr/biyoinformatik-ve-genetik/boeluem.-hakkinda-2.html
- Anonymous, 2019. <http://www.xiphophorus.txstate.edu/>
- Antolin I., Rodriguez C., Sainz R.M., 1996. Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J*, 10:882–890.
- Aras N.M., Güneş M., Bayır A., Sirkecioğlu A.N., Haliloğlu H.İ., 2009. Tuzla Çayı ve Tercan Baraj Gölü'ndeki *Capoeta capoeta umbla* HECKEL, 1843'nın Bazı Biyo Ekolojik Özellikleri ile Total Yağ ve Yağ Asitleri Kompozisyonlarının Karşılaştırılması Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, 25240, Erzurum-TÜRKİYE Erzincan Üniversitesi Tercan Meslek Yüksek Okulu Su Ürünleri Bölümü, 24800, Erzincan-TÜRKİYE *Ekoloji* 19, 73, 55-64.
- Arthington A.H., 1989. Diet of *G. affinis holbrooki*, *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus* and *Poecilia reticulata* (Pisces:Poeciliidae) in streams of southeastern Queensland, Australia. *Asian Fish Sci.* 2(2):193-212.
- Astrid B., Qingchun Z., Amandine D., Cornelia S., Manfred S., Delphine G.A., Jean N.V., 2012. Zisupton—A Novel Superfamily of DNA Transposable Elements Recently Active in Fish, *Mol. Biol. Evol.* 29(2):631–645.
- Atalay R.Ç., 2002. Neden Biyoinformatik?, *Avrasya Dosyası, Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel, Sonbahar, Cilt 8, Sayı:3*, 129-141.
- Attwood T.K., 1999. Parry-Smith D.J., *Introduction to Bioinformatics*, Prentice Hall, Harlow, 240.
- Aydemir B., Karadağ-Sarı E., 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2 (2): 56-60.
- Babior, B. M., 1997. Superoxide: a two edged sword. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 30, 141-155.

- Bartosz G., 2003. Total antioxidant capacity. *Advances in Clinical Chemistry*, 219–292. doi:10.1016/s0065-2423(03)37010-6.
- Baxevanis A.D., 2001. Ouellette, B. F. F., *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, 2nd Edition, John Wiley & Sons Inc., New York (NY), 356.
- Bayir A., Sirkecioglu A.N., Bayir M., Haliloglu H.I., Kocaman E.M., Aras N.M., 2011. Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: Oxidative stress and antioxidant defenses. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 159, 191–196.
- Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Clark K., Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W., 2012. GenBank. D48–D53 *Nucleic Acids Research*, Vol. 40, Database issue doi:10.1093/nar/gkr1202.
- Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W., 2010. GenBank. *Nucleic Acids Res*, 38, D46–D51.
- Benson D.A., Mizrachi I.K., Clark K., Lipman D.J., Ostell J., Sayers E.W., 2011. GenBank. National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Building 38A, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD 20894, USA. D48–D53 *Nucleic Acids Research*, Vol. 40, Database issue. doi:10.1093/nar/gkr1202.
- Boswell M.G., Wells M.C., Kirk L.M., Ju Z., Zhang Z., Booth R.E., Walter R.B., 2009. Comparison of gene expression responses to hypoxia in viviparous (*Xiphophorus*) and oviparous (*Oryzias*) fishes using a medaka microarray. *Comparative biochemistry and physiology c-toxicology&pharmacology*. 149 (2): 2558-265.
- Böhne A., Schultheis C., Galiana-Arnoux D., Froschauer A., Zhou Q., Schmidt C., Selz Y., Ozouf-Costaz C., Dettai A., Segurens B., Couloux A., Bernard-Samain S., Barbe V., Chilmonczyk S., Brunet F., Darras A., Marta T., Semon M., Schartl M., Volff J.N., 2009. Molecular analysis of the sex chromosomes of the platyfish *Xiphophorus maculatus*: Towards the identification of a new type of master sexual regulator in vertebrates. *Integrative Zoology* 2009; 4: 277-284 doi: 10.1111/j.1749-4877.00166.x
- Böhne F, Martínez-Llordella M, Lozano J.J., Miquel R., Benítez C., Londoño M.C., Manzia T.M., Angelico R., Swinkels D.W., Tjalsma H., López M., Abrales J.G., Bonaccorsi-Riani E., Jaeckel E., Taubert R., Pirenne J., Rimola A., Tisone G., Sánchez-Fueyo A. 2012. Intra-graft expression of genes involved in iron homeostasis predicts the development of operational tolerance in human liver transplantation. *J Clin Invest*. Jan;122(1):368-82. doi: 10.1172/JCI59411. Epub 2011 Dec 12.
- Braasch, I. and Postlethwait, J. H. I. 2012. Polyploidy in fish and the teleost genome duplication. In *Polyploidy and Genome Evolution* (ed. P. S. Soltis and D. E. Soltis), pp. 341-383: Springer.
- Bryant D.D., Wilson G.N., 1995. Differential evolution and expression of murine peroxisomal membrane protein genes. *Biochem. Mol. Med.* 55,22–30.
- Chance B., Sies H., Boveries A., 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian
- Cheung P.P., 1998. Partial characterization of the active site human platelet cAMP phosphodiesterase, PDE3A, by site-directed mutagenesis. *Arch Biochem Biophys* 360(1):99-104.

- Clerch L.B., 1995. A 3% untranslated region of catalase mRNA composed of a stem-loop and dinucleotide repeat elements binds a 69-kDa redox-sensitive protein. *Arch. Biochem. Biophys.* 317, 267–274.
- Collins F.S., Morgan M., Patrinos A., 2003. The Human Genome Project: Lessons from Large-Scale Biology, *Science*, 300;5617:286-290
- Craig R.S., Gatlin D.M., 1997. Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline. *Aquaculture*. 151, 259-267.
- Craig P.M., Wood C.M., McClelland G.B., 2007. Oxidative stress response and gene expression with acute copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 293: R1882–R1892.
- Denison, M.S. and S. Heath-Pagliuso (1998). The Ah receptor: a regulator of the biochemical and toxicological actions of structurally diverse chemicals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61: 557–568.
- Cutchan T.F., 2008. Use of Malaria Rapid Diagnostic Test to Identify Plasmodium knowlesi Infection. *Emerg Infect Dis.* , Nov; 14(11):, 1750–1752.
- Çimen Ç., Öter Ç., Demir H., Savran A., 2005. Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16 (1):15-20.
- DeDuce C., 1983. Microbodies in the living cells. *Sci. Am.* 248, 42-52.
- Deisseroth A. Dounce A. L., 1970. Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiological Reviews.* 30 (3), 319-375.
- Doğan M., 2002. Sağlıklı yaşamın kimyası. *Popüler Bilim Dergisi.* 32-36 .
- Domenicalli M., Caraceni P., Vendemiale G., Grattagliano I., Nardo B., Agata M.D., Santoni B., Trevisani F., Cavallari A., Altomare E., Bernardi M., 2001. Food deprivation exacerbates mitochondrial oxidative stress in rat liver exposed to ischemia–reperfusion injury. , *J. Nutr.*, 131, pp. 105-110.
- Dougall W.C., 1991. Nick HS. Manganese superoxide dismutase: a hepatic acute phase protein regulated by interleukin-6 and glucocorticoids. *Endocrinology*, 129:2376–2384.
- Dünder Y., Aslan R., 1999. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2 (2): 134-142.
- el-Hage S., Singh S.M., 1989. Regulation of catalase specific mRNA and its processing during development in mice. *Dev. Genet.* 10, 339–344.
- Erginkaya Z., Hammes W.P., 1992. Şalgam Suyu Fermantasyonu Sırasında Mikroorganizmaların Gelişimi Ve İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları Üzerine Bir Araştırma. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Bil. ve Teknik Bölümü Ankara Hohenheim Üniversitesi Stuttgart Almanya Gıda* 17(5)311-314.
- Fan J., PNAS L.R.L., 2013 . Microphysical effects determine macrophysical response for aerosol impacts on deep convective clouds. 110 (48) E4581. E4590; <https://doi.org/10.1073/pnas.1316830110>.
- Felsenstein J., 1989. PHYLIP-Phylogeny inference package. *Cladistics*, 5, 164-166.

- Fernandez A.A., Bowser P.R., 2010. A cancer-causing gene is positively correlated with male aggression in *Xiphophorus cortezi*. *J. Evol. Biol.* 23, 386–396
- Filho W.D., Torres M.A., Marcon J.L., Fraga C.G., Boveris A., 2000. Comparative antioxidant defences in vertebrates-emphasis on fish and mammals. *Trends in Comparative Biochem. & Physiol.* 7, 33-45.
- Force A., Lynch M., Pickett F. B., Amores A., Yan Y.L., Postlethwait J., 1999. Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations. *Genetics* 151, 1531-1545.
- Franck D., Dikomey M., Scharl M., 2001. Selection and the maintenance of a colour pattern polymorphism in the green swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Behaviour* 138, 467-486.
- Franco A.A., 1999. Odom RS, Rando TA. Regulation of antioxidant enzymes gene expression in response to oxidative stress and during differentiation of mouse skeletal muscle. *Free Rad Biol Med*, 50:2093–2098.
- Gebicka L., Metodiewa D., Gebicki J.L., 1989. Pulse radiolysis of catalase in solution. I. Reactions of O₂⁻. With catalase and its Compound I, *Int. J. Radiat. Biol.*, 55(1), 45-50.
- Gerhard G.S., Kauffman E.J., Grundy M., 2000. A Molecular cloning and sequence analysis of the *Danio rerio* catalase gene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 127 447–457.
- Gordon M., 1927. The genetics of a viviparous top-minnow *Platyocilus*: the inheritance of two kinds of melanophores. *Genetics*. 12, 253–283.
- Grant E.M., 1997. Effect of Dietary Probiotic Level on the Reproductive performance of Female Platy *Xiphophorus maculatus*, Hajibeglou Abasali and Sudagar Mohamad, *Journal of Animal and Veterinary Advances*. *Guide to Fishes*, 10(9): 1209- 1213, 2011, ISSN: 1680-5593.
- Gray M.W., 1999. Mitochondrial Evolution. *Science*. Vol. 283 no. 5407, 1476-1481.
- Griffiths H.R., Moller L., Bartosz G., Bast A., Bertoni-Freddari C., Collins A., Cooke M., Coolen S., Haenen G., Hoberg A.M., Loft S., Lunec J., Olinski R., Parry J., Pompella A., Poulsen H., Verhagen H., Astley S.B., 2002. Biomarkers. *Molecular Aspects of Medicine* 23, 101–208.
- Gromiha M.M., 2010. Protein Bioinformatics: From Sequence to Function.
- Gutbrod H., Scharl M., 1999. Genetics Society of America Intragenic Sex-Chromosomal Crossovers of Xmrk Oncogene Alleles Affect Pigment Pattern Formation and the Severity of Melanoma in *Xiphophorus*. *Physiological Chemistry I, Biocenter, University of Würzburg, D-97074 Würzburg, Germany* Manuscript received July 23, Accepted for publication October 21, 1998.
- Gutteridge J.M.C., 1993. “Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence,” *Free Radical Research Communications*, vol. 19, no.3, pp. 141–158.
- Halliwell B., 1991. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *The American Journal of Medicine*, 91(3), S14–S22. doi:10.1016/0002-9343(91)90279-7.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1989. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press.

- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, UK, in edition.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., Cross C.E., 1992. , "Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?". *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 119, no. 6, pp. 598–620.
- Häussler G., 1928. Über Melanombildungen bei Bastarden von *Xiphophorus Helleri* und *Platypoecilus Maculatus* var. *Rubra*. *Cilt 7, Sayı 33* , s 1561–1562.
- Hayashibe H., Asayama K., Dobashi K., Kato K., 1990. Prenatal development of antioxidant enzymes in rat lung, kidney, and heart: marked increase in immunoreactive superoxide dismutases, glutathione peroxidase and catalase in the kidney. *Pediatr Res*, 27:472–475.
- Heston W.E., 1982. *Cancer, a Comprehensive Treatise*. New York, NY: Plenum Press.
- Hogeweg P., 2011. The Roots of Bioinformatics in Theoretical Biology. *PLoS Comput Biol*, 7(3): e1002021.
- Huggett J., Dheda K., Bustin S., Zumla A., 2005. Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes and Immunity* volume 6, pages 279–284.
- Iwama G.K., Vijayan A.M., Forsyth B., Ackerman P.A., 1999. Heat Shock Proteins and Physiological Stress in Fish. *AMER. ZOOL.*, 39:901-909. <https://doi.org/10.1093/icb/39.6.901>.
- Jones P.L., Ping D., Boss J.M., 1997. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-1b regulate the murine manganese superoxide dismutase gene through a complex intronic enhancer involving C/EBP-b and NF- κ B. *Mol Cell Biol*, 17: 6970–6981.
- Kallman K.D., Walter R.B., Morizot D.C., Kazianis S., 2004. " Two new species of *Xiphophorus* (Poeciliidae), from the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca, Mexico, with a Discussion of the Distribution of the *X. clemenciae* Clade." *American Museum Novitates*, 3441:1-34.
- Kallman K.D., 1984. A new look at sex determination in poeciliid fishes. In: Turner BJ, ed. *Evolutionary Genetics of Fishes*. Plenum Publishing, New York, pp. 95–171.
- Kallman K.D., 2001. How the *Xiphophorus* Problem Arrived in San Marcos, Texas. Department of Ichthyology, Division of Vertebrate Zoology, American Museum of Natural History, Central Park West at 79th Street, New York, NY 10024, U.S.A. *Mar. Biotechnol.* 3, S6–S16. DOI: 10.1007/s10126-001-0022-5.
- Kaminuma E., Kosuge T., Kodama Y., Aono H., Mashima J., Gojobori T., Sugawara H., Ogasawara O., Takagi T., Okubo K., 2011. DDBJ progress report. *Nucleic Acids Res.*, 39, D22–D27.
- Kaminuma E., Kosuge T., Kodama Y., Aono H., Mashima J., Gojobori T., Sugawara H., Ogasawara O., Takagi T., Okubo K., Nakamura Y., 2010. DDBJ progress report. Center for Information Biology and DNA Data Bank of Japan, National Institute of Genetics, Research Organization for Information and Systems, Yata, Mishima, 411-8510, Japan. doi:10.1093/nar/gkq1041.
- Kang J.H., Schartl M., Walter R.B., Meyer A., 2013. Comprehensive phylogenetic analysis of all species of swordtails and platies (Pisces: Genus *Xiphophorus*) uncovers a hybrid origin of a swordtail fish, *Xiphophorus monticolus*, and demonstrates that the sexually selected sword originated in the ancestral lineage of the genus, but was lost again secondarily. *BMC Evol Biol.* 2013 Jan 29;13:25. doi: 10.1186/1471-2148-13-25.

- Karabulut E., Karaağaoğlu E., 2010. Biyoinformatik ve Biyoistatistik, Hacettepe Tıp Dergisi,41:162-170.
- Karlin S., Altschul S.F., 1990. Proc. Not. Acad. Sci., U.S.A. 87, 2264-2268.
- Keha E., Küfrevioğlu Ö.İ., 1993. Enzimler, Biyokimya Kitabı, Derya Yayınevi (2),S.89,Trabzon.
- Keha E., Küfrevioğlu Ö.İ., 1997. Enzimler, Biyokimya Kitabı, 2.Baskı, 97-98, Şafak Yayınevi, Erzurum.
- Keha E.E., Küfrevioğlu O.İ., 2000. Biyokimya. 2 Ed. Aktif Yayınevi, İstanbul, Turkey. Vet. Med. – Czech, 47, (10–11): 283–288.
- Kell A.J.E., Yamins D.L.K., Shook E.N., Norman-Haignere S.V., 2018. A Task-Optimized Neural Network Replicates Human Auditory Behavior, Predicts Brain Responses, and Reveals a Cortical Processing Hierarchy. Neron Volume 98, Issue 3, Pages 630-644.e16.
- Ken C.F., Lin C.T., Wu J.L., Shaw J.F., 2000. Zebra balığı kaynaklı (*Danio rerio*) katalaz kodlayan bir cDNA'nın klonlanması ve ifadesi. J Agric Food Chem. Jun, 48 (6): 2092-6.
- Kılıçoğlu S.S., Tabak S., Avcı A., Kılıçoğlu B., Devrim E., Ergüder B.İ., Gürleyik E., Celepli S., Çetin R., Durak İ., 2012. Effects Of Crt Monitor-Emitted Radiation In Rat Tissues: Preventive Effect Of Vitamin C. Nobel Med; 8(3): 81-86.
- Kim H.P., Roe J.H., 1999. Chock PB, Yim MB. Transcriptional activation of the human manganese superoxide dismutase gene mediated by tetradecanoylphorbol acetate. J Biol Chem, 274:37,455–37,460.
- Kim J.H., Rhee J.S., Lee J.S., Dahms H.U., Lee J., Han K.N., Lee J.S., 2010. Takifugu obscurus (Tetraodontiformes): Kadmiyuma maruz kalmanın nehir puffer balıklarında antioksidan gen transkriptlerinin ekspresyonu üzerine etkisi. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. Kasım, 152 (4): 473-9.
- Kim Y.H., Park K.H., Rho H.M., 1996. Transcriptional activation of the Cu,Zn-superoxide dismutase gene through the AP2 site by Ginsenoside Rb2 extracted from a medicinal plant, *Panax ginseng*. J Biol Chem, 271:24,539–24,543.
- Kirkman H.N., Galiano S., Gaetani G.F., 1987. The function of catalase-bound NADPH. Vol. 262, No. 2.
- Kosswig C., 1928. Über Kreuzungen zwischen den Teleostiern *Xiphophorus Helleri* und *Platyopocilus maculatus*. Cilt 47, Sayı 1 , s 150–158
- Kozower B.D., Solomidou M.C., Sweitzer T.D., Muro S., Buerk D.G., Solomides C.C., Albelda S.M., Patterson G.A., Muzykantov V.R., 2003. Immunotargeting of catalase to the pulmonary endothelium alleviates oxidative stress and reduces acute lung transplantation injury. nature biotechnology. Volume 21. www.nature.com/naturebiotechnology. Published online 24 March 2003; doi:10.1038/nbt806.
- Kubrak E., Kubrak J., Rowiński P.M., 2012. Influence of a method of evaluation of the curvature of flexible vegetation elements on vertical distributions of flow velocities. Acta Geophysica vol. 60, no. 4. 1098-1119 DOI: 10.2478/s11600-011-0077-2.
- Kumaresan V., Bhatt P., Palanisamy R., Gnanam A.J., Pasupuleti M., Arockiaraj J., 2014. A Murrel Cysteine Protease, Cathepsin L: Bioinformatics Characterization, Gene Expression and Proteolytic Activity, Biologia, 69 (3): 395-406 .

- Kuonen D., 2003. Challenges in Bioinformatics for Statistical Data Miners, *Bulletin of the Swiss Statistical Society*, 46:10-17 .
- Kurahashi T., Fujii J., 2015. Roles of Antioxidative Enzymes in Wound Healing. *J. Dev. Biol.* 2015,3,57-70; doi:10.3390/jdb3020057 ISSN 2221-3759.
- Leinonen R., Akhtar R., Birney E., Bower L., CerdenoTarraga A., Cheng Y., Cleland I., Faruque N., Goodgame N., Gibson R., 2011. The European Nucleotide Archive. *Nucleic Acids Res.*, 39, D28–D31.
- Leinonen R., Sugawara H., Shumway M., 2010. On behalf of the International Nucleotide Sequence Database Collaboration. The Sequence Read Archive. Published online, *Nucleic Acids Research*, Vol. 39, Database issue D19–D21 doi:10.1093/nar/gkq1019.
- Limon-Pacheco J., Gonsebatt M.E., 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research* 674, 137–147.
- Lindsay D.G., Astley S.B., 2002. European research on the functional effects of dietary antioxidants EUROFEDA. *Molecular Aspects of Medicine* 23, 1–38.
- Lipman D.J., Pearson W.R., 1985. *Science*, 227, 1435-1441.
- Lipman D.J., Wilbur W.J., Smith T.F., Waterman M.S., 1984 . On the statistical significance of nucleic acid similarities. *Nucleic Acids Res.* 1984 Jan 11;12(1 Pt 1):215-26. PMID:6694902 PMCID:PMC320998 N DOI:10.1093/nar/12.1part1.215.
- Lu Y., Boswell M., Boswell W., Kneitz S., Hausmann M., Klotz B., Regneri J., Savage M., Amores A., Postlethwait J., Warren W., Schartl M., Walter R., 2017. Molecular genetic analysis of the melanoma regulatory locus in *Xiphophorus* interspecies hybrids. *Mol Carcinog.* Aug;56 (8):1935-1944. doi: 10.1002/mc.22651.
- Luscombe N.M., 2001. Greenbaum D, Gerstein M, What is Bioinformatics: A Proposed Definition and Overview of the Field, *Method Inform Med*, 4:346-358 .
- Mahdi A.A., Shukla K.K., Ahmad M.K., Rajender S., Shankhwar S.N., Singh V., Dalela D., 2011. *Withania somnifera* Improves Semen Quality in Stress-Related Male Fertility. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 576962, 9 pages doi:10.1093/ecam/nep138.
- Male T.D., Bean M.J., 2005. Measuring progress in US endangered species conservation. *Ecology Letters*, 8: 986–992. doi: 10.1111/j.1461-0248.2005.00806.x.
- Marta P.R., Allen E., Hudock J., Takeda T., Okuyama H., Vinals F., Inoue M., Bergers G., Hanahan D., Casanovas O., 2009. Antiangiogenic Therapy Elicits Malignant Progression of Tumors to Increased Local Invasion and Distant Metastasis. *Cancer Cell* 15, 220–231, DOI 10.1016/j.ccr.2009.01.027.
- Martínez-Álvarez R.M., Morales A., Sanz A., 2005. Antioxidant defense in fish: Biotic and abiotic factors. *Rev. Fish Biol. Fish.* 15, 75–88.
- Master C., Holmes R., 1977. Peroxime: New aspects of cell physiology and biochemistry. *Physiol. Rev.* 57, 866-882.
- Mates J.M., 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153:83–104i.

- McClung C.R., 1997. Regulation of catalases in Arabidopsis. *Free Radic. Biol. Med.* 23, 489–496.
- McCord J.M., 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress, *Am J. Med.*, 108, 652-659.
- Mckenzie F.T., Bischoff W.D., Bishop F.C., Loijens M., Schoonmaker J., Wollast R., 1983. Magnesian calcites: low temperature occurrence, solubility and solid-solution behavior. In: *Carbonates: Mineralogy and Chemistry. Reviews in Mineralogy*, vol. 11 (ed. Reeder, R.J.). Mineralogical Society of America, Washington, DC, pp. 97–143.
- Meierjohann S., Scharl M., 2006. From Mendelian to molecular genetics: the Xiphophorus melanoma model. *Trends Genetics.* 22:654–661
- Meyer, A. and Scharl, M. 1999. Gene and genome duplications in vertebrates: the one-to-four (-to-eight in fish) rule and the evolution of novel gene functions. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11, 699-704.
- Mueller A.C., Keaton M.A., Dutta A., 2011. DNA Replication: Mammalian Treslin–TopBP1 Interaction Mirrors Yeast Sld3–Dpb11. *Current Biology Vol 21 No 16 R638.* DOI: 10.1016/j.cub.2011.06.058.
- Najjar F., Rizk F., Carnac G., Nassar R., Jabak S., Sobolev A.P., Bou Saada Y., El Sabban M., Hamade A., 2017. Protective effect of *Rhus coriaria* fruit extracts against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in muscle progenitors and zebrafish embryos. *PeerJ5:e4144.*
- Nakajima-Iujima S., Hamada H., Reddy P., Kakunaga T., 1985. Molecular structure of the human cytoplasmic fJ-actin gene: Interspecies homology of sequences in the introns. Laboratory of Molecular Carcinogenesis and Mtaboratory of Cellular Biology, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20205. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 82, pp. 6133-6137, *Cell Biology.*
- Necej F., Rizk F., Karnak G., Nassar R., Jabak S., Sobolev A.P., Bou Saada Y., El Sabban M., Hamade A., 2017. Protection against oxidative stress in rhus coriaria fruit extracts, muscle progenitors and zebrafish embryo. PMID:2925047. DOI:10,7717 / peerj.4144
- Nicotera T.M., Notaro J., Notaro S., 1989. Elevated superoxide dismutase in Bloom's syndrome: a genetic condition of oxidative stress. *Cancer Res*, 49:5239–5243. *organs. Physiol. Rev.* 59 (3), 527-605.
- Padmini E., Geetha B.V., 2009. Modulation of ASK1 expression during overexpression of Trx and HSP70 in stressed fish liver mitochondria. *CELL STRESS & CHAPERONES.* Volume: 14 Issue: 5 Pages: 459-467 DOI: 10.1007/s12192-009-0099-8.
- Pahl H.L., Baererle P.A., 1994. Oxygen and the control of gene expression. *BioEssays* ,16:497–502.
- Paravani E.V., Simoniello M.F., Poletta G.L., Casco V.H., 2019. Cypermethrin induction of DNA damage and oxidative stress in zebrafish gill Cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 173, 1–7.
- Patton E.E., Mitchell D.L., Nairn R.S., 2010. Genetic and environmental melanoma models in fish. *Pigment Cell and Melanoma Research.* 23:314–37.
- Paul M.P., Hélène V., 2017. Characterization of appetite-regulating factors in platyfish, *Xiphophorus maculatus* (Cyprinodontiformes Poeciliidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 208; 80–88

- Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*, 4 (2): 89-96.
- Polat M., Karahan A.G, 2009. Multidisipliner Yeni Bir Bilim Dalı: Biyoinformatik ve Tıpta Uygulamaları, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg, 16 (3):41-50 .
- Poljsak B., Šuput D., Milisav I., 2013. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 956792, 11 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/956792>.
- Ponte P., Ng S.Y., Engel J., Gunning P., Kedes L., 1983. Evolutionary conservaton in the untranslated regions of actin mRNAs: DNA sequence of a human beta-actin cDNA. MEDIGEN Project, Department of Medicine, Stanford University School of Medicine and Veterans Administration Medical Center, Palo Alto, CA 94304, USA. *Nucleic Acids Research*. Volume 12 Number 3.
- Postlethwait, J. H., Woods, I. G., Ngo-Hazelett, P., Yan, Y. L., Kelly, P. D., Chu, F., Huang, H., Hill-Force, A. and Talbot, W. S. 2000. Zebrafish comparative genomics and the origins of vertebrate chromosomes. *Genome Res*. 10, 1890-1902.
- Rahman K., 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and cofactors, *ClinicalInterventionsinAging*,vol.2,no.2,pp.219–236.
- Regneri J., Scharl M., 2012. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C Expression regulation triggers oncogenicity of xmrk alleles in the Xiphophorus melanoma system. *Physiological Chemistry I*, University of Würzburg, Biocenter, Am Hubland, 97074 Würzburg, Germany.
- Regneri J., Klotz B., Scharl M., 2016. Genomic and Transcriptomic Approaches to Study Cancer in Small Aquarium Fish Models. *Advances in Genetics*, Volume 95 ISSN 0065-2660.
- Reimer D.L., Bailey J., Singh, S.M., 1994. Complete cDNA and 5% genomic sequences and multilevel regulation of the mouse catalase gene. *Genomics* 21,325–336.
- Reimer D.L., Singh S.M., 1996. Distinct mRNA-binding proteins interacting with short repeat sequencesof the 3% UTR may be involve in the post-transcriptional regulation of the mouse catalase gene, CAS-1. *DNA Cell Biol*. 15, 317–328.
- Rogers R.J., 2000. Chesrown SE, Kuo S *et al*. Cytokine-inducible enhancer with promoter activity in both the rat and human manganese-superoxide dismutase genes. *Biochem J*, 347:233–242.
- Ruas C.B., 2008. Carvalho Cdos S.de Araújo HS, Espíndola EL, Fernandes MN. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. *Ecotoxicol Environ Saf* 71: 86–93.
- Sanchez-Vega F., Mina M., Armenia J., Chatila W.K., Luna A., La K.C., Dimitriadoy S., Liu D.L., Kantheti H.S., Saghafini S., Chakravarty D., Daian F., Gao Q., Bailey M.H., Liang W.W., Foltz S.M., Shmulevich I., Ding L., Heins Z., Ochoa A., Gross B., Gao J., Zhang H., Kundra R., Kandoth C., Bahceci I., Dervishi L., Dogrusoz U., Zhou W., Shen H., Laird P.W., Way G.P., Iavarone A., Berger A.H., Bivona T.G., Lazar A.J., Hammer G.D., Giordano T., Kwong L.N., 2018. Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell* 173, 321–337.
- Santoriello C., Zon L.I., 2012. Hooked! Modeling human disease in zebrafish. *J Clin Invest*. 122(7):2337-2343.

- Sayers E.W., Barrett T., Benson D.A., Bolton E., Bryant S.H., Canese K., Chetvernin V., Church D.M., Dicuccio M., Federhen S., 2012. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res.*, 40, D13–D25.
- Scandalios J.G., *Physiol P.*, 1993. Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. 101(1): 7–12.
- Schartl M., 2014. Beyond the zebrafish: diverse fish species for modeling human Disease. Published by The Company of Biologists Ltd | Disease Models & Mechanisms. 7, 181-192 doi:10.1242/dmm.012245.
- Schartl M., Walter R.B., Shen Y., Garcia T., Catchen J., Amores A., Braasch I., Chalopin D., Volff J.N., Lesch K.P., Bisazza A., Minx P., Hillier L., Wilson R.K., Fuerstenberg S., Boore J., Searle S., Postlethwait J.H., Warren W.C., 2014. The genome of the platyfish, *Xiphophorus maculatus*, provides insights into evolutionary adaptation and several complex traits. *Nat Genet.* 2013 May ; 45 (5): 567–572. doi:10.1038/ng.2604.
- Schreibman M.P., Kallman K. D., 1978. The genetic control of sexual maturation in the teleost, *Xiphophorus maculatus* (Poeciliidae) ; a review. Biology Department, Brooklyn College of the City University of New York, 11210, Osborn Laboratories of Marine Sciences, New York Aquarium, Brooklyn, New York 11203, USA. *Ann.biol. anim.bioch.biophys.* 18(4),957-962.
- Sehonova P., Zikova A., Blahova J., Svobodova Z., Chloupek Petr., 2019. KloasWerne., mRNA expression of antioxidant and biotransformation enzymes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos after exposure to the tricyclic antidepressant amitriptyline. *Chemosphere* 217, 516e521.
- Sen S., 2011. Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy.* Chapter 1: 1-37.
- Sen S., Chakraborty R., Sridhar C., Reddy YSR., 2010. De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (1): 91-100.
- Shimuzu Y., Norte M., Hori A., Genenah A., Ichihara I., 1984. Biosynthesis of saxitoxin analogues: the unexpected pathway. 106: 6433-6434.
- Shinde A., Ganu J., Naik P., 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review. *J Dent Allied Sci*, 1 (2): 6366.
- Smith C.C., Harris R.M., Lampert K.P., Schartl M., Hofmann H.A., Ryan M.J., 2010. Copy number variation in the melanocortin 4 receptor gene and alternative reproductive tactics the swordtail *Xiphophorus multilineatus*. *Environ Biol Fish* DOI 10.1007/s10641-014-0234-y.
- Sohal R.S., Orr W.C., 1992. Relationship between antioxidants, prooxidants, and the aging process. *Ann. NY Acad. Sci.* 663, 74–84.
- Storz G., Tartaglia L.A., 1992. OxyR: a regulator of antioxidant genes. *J. Nutr.* 122, 627–630.
- Sugino N., Hirosawa-Takamori M., Zhong L., 1998. Hormonal regulation of copper-zinc superoxide dismutase and manganese superoxide dismutase messenger ribonucleic acid in the rat corpus luteum: induction by prolactin and placental lactogens. *Biol Rept*, 59:599–605.

- Sun H.J., Wang W.Q., Geng L.L., Chen Y.F., Yang Z., 2013. In situ studies on growth, oxidative stress responses, and gene expression of juvenile bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) to eutrophic lake water dominated by cyanobacterial blooms, *Chemosphere*, 93, 2, 421-427.
- Sun Y., 1990. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Rad. Biol. Med.* 8, 583-599.
- Sykes A.G., Mauk G., 2000. *Advances in Inorganic Chemistry heme-fe proteins. Volume 51.*
- Şener G., Yeğen Berrak Ç., 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22: 5-13.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Sudhir Kumar Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 *Molecular Biology and Evolution*, Volume 30, doi:10.1093/molbev/mst197.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Sudhir Kumar Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 *Molecular Biology and Evolution*, Volume 30, doi:10.1093/molbev/mst197.
- Tandon P., Bhattacharjee P., 2009. *Bioinformatics: An overview, Plant Tissue Culture and Molecular Markers*, I.K. International Publishing House Pvt. Ltd., Green Park Extension Uphaar Cinema Market, New Delhi, India, 29-49.
- Telefoncu A., 1986. *Temel ve Uygulamalı Enzimoloji*. Ege Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak. Yayını (Der.), S. 59, İzmir.
- Terada N., Patel H.R., Takase K., Kohno K., Nairn A.C., Gelfand E.W., 1994. Rapamycin selectively inhibits translation of mRNAs encoding elongation factors and ribosomal proteins. Division of Basic Sciences, Department of Pediatrics, National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine, Denver, CO 80206; Institute for Molecular and Cellular Biology, Osaka University, Osaka, Japan; and IDepartment of Molecular and Cellular Neuroscience, Rockefeller University, New York, NY 10021. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 91, pp. 11477-11481, November 1994 *Cell Biology*.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids Res.*, 22, pp. 4673-4680.
- Tunçmen H., 2004. *Pestisit Kalıntısı Bulunan İçme Sularıyla Beslenen Hayvanlarda Kan Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Düzeyleri*, Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı, İsparta.
- Ünal İ., Üstündağ Ü.V., 2018. Ateş P.S., Eğilmezer G., Alturfan A.A., Yiğitbaşı T., Emekli-Alturfan E. Rotenone Impairs Oxidant/Antioxidant Balance Both in Brain and Intestines in Zebrafish. DOI:10.1080/00207454.2018.1538141.
- Velisek J., Stara A., Kolarova J., Svobodova Z., 2011. Biochemical, physiological and morfological responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after long term exposure to terbutryn in real environmental concentration. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100, 305-313.

- Velki M., Meyer-Alert H., Seiler T.B., Hollert H., 2017. Enzymatic activity and gene expression changes in zebrafish embryos and larvae exposed to pesticides diazinon and diuron, S0166-445X (17)30307-7.
- Volff J.N., Bouneau L., Ozouf-Costaz C., 2003. Fischer C. Diversity of retrotransposable elements in compact pufferfish genomes. Trends in genetics: TIG. 19:674–8.
- Walter RB, 2004. A microsatellite genetic linkage map for *Xiphophorus*. Genetics.; 168:363–72.
- Wei Y.H., Lee H.C., 2002. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. Exp Biol Med, 227:671–682.
- Wittbrodt J., Adam D., Malitschek B., Mäueler W., Raulf F., Telling A., Robertson S.M., Schartl M., 1989. Novel putative receptor tyrosine kinase encoded by the melanoma-inducing Tu locus in *Xiphophorus*. VOL 341 .
- Woo S., Won H., Lee A., Yum S., 2012. Oxidative stress and gene expression in diverse tissues of *Oryzias javanicus* exposed to 17 beta estradiol. Molecular & Cellular Toxicology, Volume: 8 Issue: 3 Pages: 263-269 DOI: 10.1007/s13273-012-0032-6.
- Wu M., Madar B.S., Haron M.H., Wu M., Khan I.A., Dasmahapatra A.K., 2011. Ethanol induced attenuation of oxidative stress is unable to alter mRNA expression pattern of catalase, glutathione reductase, glutathione-S- transferase (GST1A), and superoxide dismutase (SOD3) enzymes in Japanese rice fish (*Oryzias latipes*) Embryogenesis. Published in final edited form as: Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol; 153(1): 159–167.
- Xu H., Shao X.L., Zhang Z., Zou Y.M., Wu X.Y., Yang L.Q., 2013. Oxidative stress and immune related gene expression following exposure to di-n-butyl phthalate and diethyl phthalate in zebrafish embryos, Ecotoxicol. Environ. Saf., 93, 39-44.
- Yingnan H., Liu T., Wang J., Wang J., Zhang C., Zhu L., 2016. Pesticide Biochemistry and Physiology Genotoxicity and oxidative stress induced by the fungicide azoxystrobin in zebrafish (*Danio rerio*) livers, YPEST-03943; No of Pages 7.
- Yoo H.Y., Chang M.S., 1999. Rho HM. The activation of the rat copper/zinc superoxide dismutase gene by hydrogen peroxide through the hydrogen peroxide-responsive element and by paraquat and heat shock through the same heat shock element. J Biol Chem, 274:23,887–23,892.
- Young I.S., Woodside J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol;54:176–186.
- Yüzügüllü Y., Ögel Z.B., 2013. Kocaeli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kocaeli 2 Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 31.10.2012 Gıda (2013) 38 (2): 111-118.
- Zamocky M., Koller F., 1999. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. Progress in Biophysics & Molecular Biology 72 19-66.
- Zaret T.M., 1984. Evolutionary ecology of neotropical freshwater fishes. Proceedings of the 1st international symposium on systematics and evolutionary ecology of neotropical freshwater fishes, held at DeKalb, Illinois, U.S.A., Publisher: 978-90-481-8524-5. Buechter, D. D., 1988. Free radicals and oxygen toxicity. Pharmaceutical Research. (5), 253-260.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılı Erzurum doğumlu ilkokul, lise ve üniversite öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2010-2014 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünü bitirdi. 2015-2016 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Tarımsal Biyoteknoloji Bilim Dalı, Enzim ve Mikrobiyal Biyoteknoloji anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

