

## Sığır Dalak Doku Arginazının Bazı Kinetik Özellikleri \*

Bu çalışmada sığır dalak doku arginazının bazı kinetik özelliklerini incelenmiştir.

Çalışmada kullanılan dalak dokuları Elazığ'daki Elkas kesimeviden temin edilmiştir. Arginaz aktivitesini ölçmede tiyosemikarbazid-diasetilmonoksime üre (TDMU) metodu kullanılmıştır. Protein Lowry ve arkadaşlarının metoduna göre ölçülmüştür.

Preinkübasyon sıcaklığı, preinkübasyon süresi, inkübasyon süresi ve optimal pH'nın sırasıyla 62°C, 15 dakika, 10 dakika ve 9.7 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca sığır dalak doku arginazının çeşitli metal iyonlarına karşı duyarlılığı tespit edilmiş ve metal iyonları ( $Mn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Ag^{+2}$ ,  $Cr^{+3}$ ,  $Sn^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Li^{+1}$ ,  $K^{+1}$ ,  $Al^{+3}$ ,  $Mo^{+6}$ ,  $Na^{+1}$  ve  $Ca^{+2}$ ) içinde enzim aktivitesi üzerine en etkili metalin  $Mn^{+2}$  olduğu bulunmuştur. Enzim 2 mM'lık  $MnCl_2$  konsantrasyonunda en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Enzim aktivasyonu için  $Mn^{+2}$  iyonlarının ve preinkübasyonun gerekli olduğu görülmüştür.  $Pb^{+2}$  ve  $Ag^{+2}$  iyonları varlığında enzim hiç aktivite göstermemiştir.

Enzimin substrata olan ilgisi Michaelis -Menten grafiğine göre değerlendirilmiş ve Km değeri 5 mM olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Arginaz, sığır dalak dokusu, kinetik özellikler.

### Some Kinetic Properties of Arginase in Bovine Spleen Tissue

In this study, some kinetic properties of arginase in bovine spleen tissue were examined.

The spleen tissues used in the present study were obtained from the Elkas slaughterhouse in Elazığ. The thiosemicarbazide- diacetylmonoxime urea (TDMU) method was used to measure arginase activity. Protein was measured by the method of Lowry et al.

Preincubation temperature, preincubation period, incubation period and optimal pH were determined to be 62°C, 15 min, 10 min and 9.7 respectively. Furthermore, it was found that arginase in bovine spleen tissue was sensitive to different metal ions. It was found that the most effective was  $Mn^{+2}$  from among  $Mn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ba^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$ ,  $Ag^{+2}$ ,  $Cr^{+3}$ ,  $Sn^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Li^{+1}$ ,  $K^{+1}$ ,  $Al^{+3}$ ,  $Mo^{+6}$ ,  $Na^{+1}$  and  $Ca^{+2}$  metal ions. Arginase showed the

highest activity in a 2 mM  $MnCl_2$  concentration. Manganese ions and preincubation were necessary for the activation of the enzyme. The enzyme has no activity in presence of Pb and Ag ions.

The relationship with the enzyme substrate was evaluated according to Michaelis- Menten and the Km value was 5 mM.

**Key Words:** Arginase, cattle spleen tissue, kinetic properties.

### Giriş

Arginaz (L-arginine amidinohidrolaz, E.C. 3.5.3.1) üre siklusunun son reaksiyonunda L-argininin, L-ornitin ve üreye hidrolizini katalize eden bir enzimdir (1). Arginaz enziminin esas kaynağı memeli karaciğeri olmasına rağmen daha düşük miktarlarda böbrek, kalp kası, bağırsak, akciğer, dalak, beyin ve iskelet kası gibi ekstrahepatik dokularda da bulunmuştur (2).

Arginazın üre döngüsü olmayan ekstra hepatik dokularda poliamin sentezine katılmak ve protein biyosentezi için gerekli olan prolinin sentezlenmesi olmak üzere özel fonksiyonlara sahip olduğu saptanmıştır (3).

Yapılan literatür taramalarında koyun meme doku arginazı (3), sığır rumen doku arginazı (4), M. Benedeni arginazı (5), insan tiroid arginazı (6), koyun gözü vitreusu (7) ve insan tükürüğü arginazı (8) gibi bir çok türde ve farklı dokularda arginaz enziminin bazı kinetik özellikleri ortaya konmuş ama sığır dalak doku arginazı üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple yapılan çalışmada sığır dalak doku arginazının bazı kinetik özelliklerinin ilk kez ortaya konulması amaçlanmıştır.

Fatih Mehmet KANDEMİR  
Necmi ÖZDEMİR

Fırat Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı  
Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 27.02.2008  
Kabul Tarihi : 01.04.2008

Yazışma Adresi  
Correspondence

Fatih Mehmet KANDEMİR  
Fırat Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı  
23119  
Elazığ-TÜRKİYE

fmk\_03@mynet.com

\* III. Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi 21-23 Haziran 2007 KONYA

## Gereç ve Yöntem

Araştırma materyali olan sığır dalağı Elazığ Elkas tesislerine kesim için getirilen 4-5 yaşlarındaki, yetiştirme şartları ve fiziksel özellikleri aynı olan 20 adet Holştayn ırkı sığırdan temin edilmiştir. Kesimden sonra alınan dalak dokusu üzerindeki kan ve pıhtıdan temizlendikten sonra %0.9' luk soğuk NaCl çözeltisi içerisinde behere aktarılmış ve buz içerisinde hızlı bir şekilde laboratuara ulaştırılmıştır.

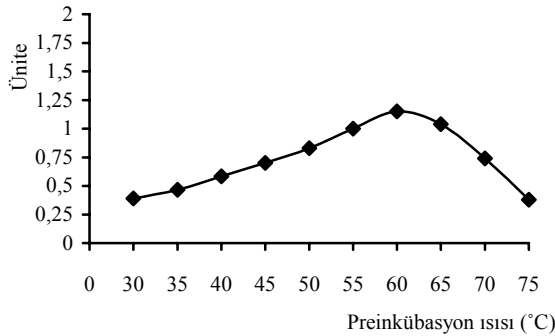
Doku örnekleri iki süzgeç kağıdı arasında kurutulduktan sonra  $MnCl_2$  ile (1/6 w/v) sulandırılarak Potter Elvehjem (cam-cam) homojenizatörde homojenize edilmiştir. Homojenat +4 °C 14000 rpm' de 13 dakika santrifügasyona tabi tutulmuş ve örneklerin süpernatantları enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Tiyosemicarbazid-diasetilmonoksim üre (TDMU) yöntemi (9) kullanılarak sığır dalak doku arginazının preinkübasyon ısı ve zamanı, inkübasyon zamanı,  $Mn^{+2}$  konsantrasyonu, optimal pH' nin tespiti ve arginaz aktivitesinin L-arginin konsantrasyonuna bağlı değişimi incelenmiştir. Protein miktarıda Lowry ve arkadaşlarının metodu ile ölçülmüştür (10).

Sığır dalak doku örneklerinin her ml süpernatantına 3 ünite Jack-Bean üreaz enzimi ilave edildikten sonra 37 °C' de 15 dakika inkübe edilerek endojen ürenin parçalanması sağlanmıştır (11).

Çalışmada, 1 ünite enzim 1 saatte, 37 °C' de L-argininden 1  $\mu$ mol üre oluşturan enzim miktarı olup, spesifik aktivite  $\mu$ mol üre / saat / mg protein olarak ifade edilmiştir.

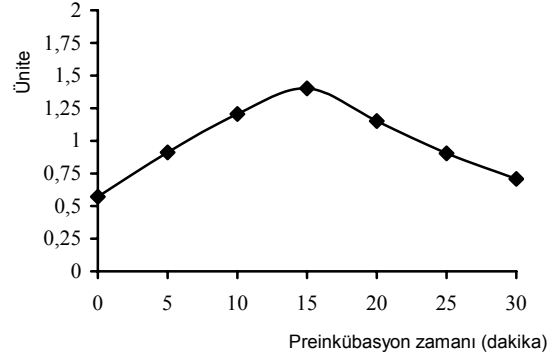
## Bulgular

**1- Preinkübasyon Isısının Tespiti:** Sığır dalak doku arginaz enziminin aktivasyonu için preinkübasyon ısı araştırılmış ve bunun için enzim kaynağı, mangan iyonları varlığında 30-75 °C' lerde preinkübasyon ısısına tutulmuştur. En yüksek enzim aktivitesi 62 °C' de saptanmış ve bundan dolayı enzimin aktivasyonu için preinkübasyon ısı 62 °C olarak kabul edilmiştir (Şekil 1).



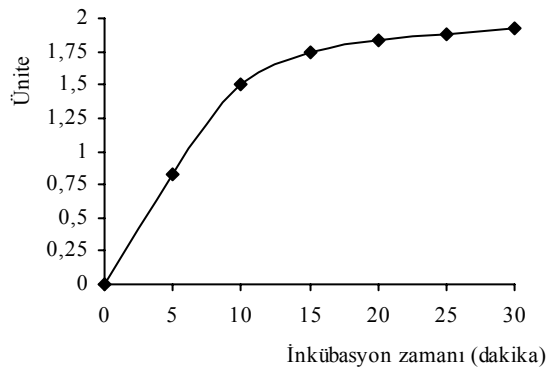
**Şekil 1.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin Preinkübasyon Isısına Bağlı Olarak Değişimi.

**2-Preinkübasyon Zamanının Tespiti:** Sığır dalak doku arginazının preinkübasyon zamanına bağlı olarak değişimi araştırılmış,  $MnCl_2$  varlığında ve 62 °C preinkübasyon ısısında, 0-30 dakikalık zaman aralıklarında enzimin aktivitesi incelenmiştir. Enzimin maksimum aktiviteye 15 dakikada ulaştığı görülmüş ve preinkübasyon süresi 15 dakika olarak kabul edilmiştir (Şekil 2).



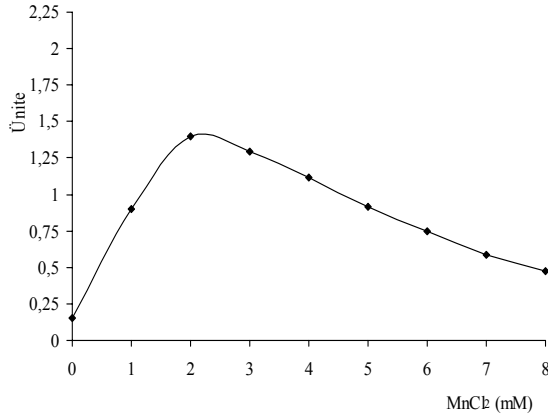
**Şekil 2.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin Preinkübasyon Zamanına Bağlı Olarak Değişimi.

**3- İnkübasyon Zamanının Tespiti:** Sığır dalak doku arginazı için optimum inkübasyon süresinin saptanmasında enzim kaynağı 0-30 dakikalık zaman dilimlerinde inkübasyona tabi tutulmuş ve bunu argininin hidrolizi takip etmiştir. Reaksiyon sonunda meydana gelen ürenin zaman faktörüne bağlı olarak miktarları belirlenmiştir. Şekil 3'de de görüldüğü gibi üre sentezindeki artış zamana bağlı olarak 10. dakikaya kadar doğrusallığını korumuş, bu sürenin sonunda lineerlik yerini hiperbolik bir görünüme bırakmıştır. Bundan dolayı enzim için optimum inkübasyon süresi 10 dakika olarak kabul edilmiştir.



**Şekil 3.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin İnkübasyon Zamanına Bağlı Olarak Değişimi.

**4- MnCl<sub>2</sub>' nin etkisi:** Arginaz enzim aktivitesi üzerine mangan iyonlarının etkisini araştırmak için 0-8 mM konsantrasyonları arasında değişen MnCl<sub>2</sub> preinkübasyon ortamına ilave edilmiş ve enzim aktivitesi incelenmiştir. Preinkübasyon ortamına Mn<sup>++</sup> katılmadığı kontrol grubunda enzim aktivitesi çok düşüktür. Ortama Mn<sup>++</sup> iyonları ilave edildiğinde aktivitenin belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Enzimin en yüksek aktiviteyi 2 mM' lık MnCl<sub>2</sub> konsantrasyonunda göstermesinden dolayı sığır dalak doku arginazı için en uygun MnCl<sub>2</sub> konsantrasyonu 2 mM olarak tespit edilmiştir (Şekil 4).



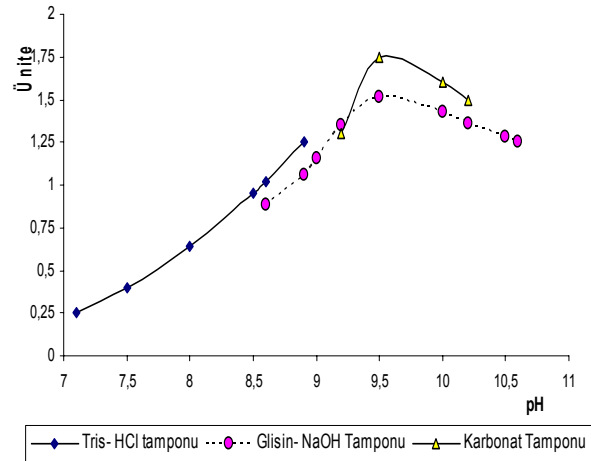
**Şekil 4.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin MnCl<sub>2</sub> Konsantrasyonuna Bağlı Olarak Değişimi.

**5- Metal İyonlarının Etkisi:** Sığır dalak doku arginaz aktivitesi üzerine bazı metal iyonlarının etkisini araştırmak için 2 mM konsantrasyonda Mn<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Ba<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup>, Ag<sup>+2</sup>, Cr<sup>+3</sup>, Sn<sup>+2</sup>, Hg<sup>+2</sup>, Pb<sup>+2</sup>, Co<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup>, Li<sup>+1</sup>, K<sup>+1</sup>, Al<sup>+3</sup>, Mo<sup>+6</sup>, Na<sup>+1</sup> ve Ca<sup>+2</sup> metal iyonları preinkübasyon ortamına eklenerek aktiviteye bakılmış ve kontrole göre değerlendirilmiştir. Enzimin en yüksek katalitik aktiviteyi Mn<sup>+2</sup> varlığında gösterdiği tespit edilmiştir. Ni<sup>+2</sup>, Co<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup>, Li<sup>+1</sup>, K<sup>+1</sup>, Al<sup>+3</sup>, Fe<sup>+3</sup>, Zn<sup>+2</sup>, Ba<sup>+2</sup>, Hg<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup> varlığında enzimin katalitik aktivitesinde artış görülürken Mo<sup>+6</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Cr<sup>+3</sup>, Sn<sup>+2</sup> ve Na<sup>+1</sup> varlığında enzimin katalitik aktivitesinde azalma tespit edilmiştir. Pb<sup>+2</sup> ve Ag<sup>+2</sup> varlığında ise enzim hiç aktivite göstermemiştir (Tablo 1).

**Tablo 1:** Sığır Dalak Doku Arginazı Üzerine Bazı Metal İyonlarının Etkisi

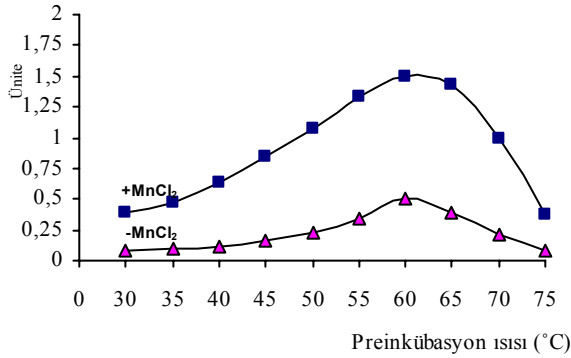
Metal İyonları	% Aktivite
<b>Kontrol</b>	<b>100</b>
MnCl <sub>2</sub>	2080
NiSO <sub>4</sub>	950
CoSO <sub>4</sub>	490
CdCl <sub>2</sub>	280
LiSO <sub>4</sub>	264
KCl	256
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	249
FeCl <sub>3</sub>	200
ZnSO <sub>4</sub>	170
BaCl <sub>2</sub>	156
Hg <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	140
MgCl <sub>2</sub>	128
MoO <sub>3</sub>	85
CaCl <sub>2</sub>	71
CuSO <sub>4</sub>	70
CrO <sub>3</sub>	50
SnCl <sub>2</sub>	20
NaCl	14
AgNO <sub>3</sub>	0
Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0

**6- Optimal pH' nın Tespiti:** Sığır dalak doku arginazının optimal pH' sını tespit etmek için 7.5 ile 11 arasında değişen pH' larda tampon çözeltiler hazırlanmıştır (Glisin-NaOH tamponu, Tris-HCl tamponu, Sodyum bikarbonat- Sodyum karbonat tamponu). Şekil 5' de görüldüğü gibi pH grafiği çan eğrisi şeklinde olup (Bell shape) en yüksek aktiviteyi Sodyum bikarbonat- Sodyum karbonat tamponu pH 9.7' da verdiği için dolayı optimal pH 9.7 olarak kabul edilmiştir.



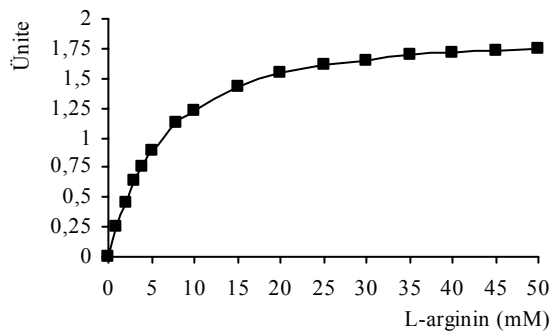
**Şekil 5.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesi İçin Optimal pH' nın Saptanması.

**7-  $Mn^{+2}$  İyonlarının ve Preinkübasyon Isısının Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesine Etkisi:** Preinkübasyon ısısının  $Mn^{+2}$  iyonlarına gereksinimini tespit etmek için enzim kaynağı  $MnCl_2$ ' lü ve  $MnCl_2$ ' süz (distile su ile) preinkübasyona tabi tutulmuştur. Sonuç olarak  $MnCl_2$ ' lü preinkübasyon işlemi uygulanan enzim kaynağının  $MnCl_2$ ' süz preinkübasyona tabi tutulan enzim kaynağından yaklaşık 3 kat daha fazla aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 6).

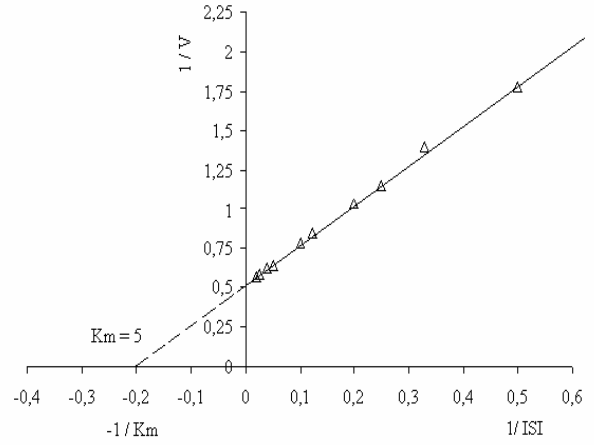


**Şekil 6.** Mangan İyonlarının Ve Preinkübasyon Isısının Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.

**8- Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin L-Arginin Konsantrasyonuna Bağlı Değişimi:** 0-50 mM L- arginin konsantrasyonlarında enzimin substratına olan ilgisi çalışılmış ve Michaelis-Menten grafiği ile incelenmiştir (Şekil 7). Reaksiyon hızı başlangıçta 3 mM' a kadar lineerlik gösterirken (1.mertebe kinetiği), daha sonra hiperbolik bir görünüm kazanmış (karışık mertebeli kinetiği) ve sonunda enzim 25 mM konsantrasyonda doygunluğa ulaşarak reaksiyon sabit hızla devam etmiştir (sıfır mertebeli kinetiği). Sığır dalak doku arginazının substratına bağlı değişimi Lineweaver-Burk grafiği ile değerlendirilmiş ve  $K_m$ ' i 5 mM olarak tespit edilmiştir (Şekil 8).



**Şekil 7.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin Substrat Konsantrasyonuna Göre Değişimi.



**Şekil 8.** Sığır Dalak Doku Arginaz Aktivitesinin L-Arginin Konsantrasyonuna Bağlı Olarak Değişiminin Lineweaver-Burk Eğrisi ile Gösterilmesi

### Tartışma

Enzimlerin genel yapısı protein kaynaklı olması nedeniyle ısıya dayanıklı değildir. Maksimum aktivite gösterdiği ısının üstüne çıktığı zaman enzim aktivitesi düşmektedir. Sığır dalak doku arginazı için preinkübasyon ısısı 62 °C, zamanı ise 15 dakika olarak bulunmuştur. Colombo ve Konarska (12) 55 °C' de 20 dakikalık bir preinkübasyonun karaciğer arginaz aktivitesini 4-5 kat eritrosit arginaz aktivitesinin ise 2-6 kat arttığını saptamışlardır.

Preinkübasyon ısısı ve zamanı değişik hayvan ve dokularda incelenmiş koyun meme doku arginazı için 52 °C' de 12 dakika (3), koyun gözü vitreusu için 40 °C' de 9-10 dakika (7), insan tükürüğü için 55°C' de 20 dakika (8), tiroid dokusu için 55 °C' de 12 dakika (6), sığır rumen doku arginazı için 60 °C' de 5 dakika (4), rat karaciğeri için 68 °C' de 12 dakika (13) olarak tespit edilmiştir.

Sığır dalak doku arginaz aktivitesinin inkübasyona bağlı değişimi incelendiğinde 10 dakikaya kadar lineer bir artış görülürken, 10 dakikadan sonra lineerliğin bozulduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda farklı dokular için değişik inkübasyon süreleri: insan tiroid arginazı için 30 dakika (6), rat karaciğeri için 20 dakika (13), koyun gözü vitreusu için 10 dakika (7), sığır rumen doku arginazı için 13 dakika (4), insan karaciğer ve uterusu için 20 dk (14), koyun meme doku arginazı için 15 dakika (3) olarak tespit edilmiştir.

Metal iyonları bir dokudaki enzimi aktive ederken diğer dokudaki enzimi inhibe edebilmektedir. Spektor ve ark.(15), yetişkin ve fetal insanın karaciğer, eritrosit, böbrek, beyin ve gastrointestinal sistem dokularında  $Mn^{+2} > Co^{+2} > Mg^{+2}$  iyonları arginazı aktive ederken  $Ca^{+2}$  un inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Sığır rumen dokusunda  $Mn^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ , nin enzimi aktive ettiği,  $Hg^{+2}$ ,  $Sn^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,  $Ag^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  iyonları varlığında ise hiç aktivite görülmediği bildirilmiştir (4). Koyun meme dokusunda en yüksek enzim aktivitesi

Mn<sup>+2</sup> varlığında elde edilmiş, Cd<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Ba<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> varlığında enzim aktive olmuş, Sn<sup>+2</sup>, Pb<sup>+2</sup> ve Cr<sup>+3</sup> iyonları varlığında enzim hiç aktivite göstermemiştir (3). Bu çalışmada da sığır dalak doku arginaz aktivitesi üzerine en etkili metal iyonu Mn<sup>+2</sup> olarak tespit edilmiş, daha sonra sırasıyla Ni<sup>+2</sup>, Co<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup>, Li<sup>+1</sup>, K<sup>+1</sup>, Al<sup>+3</sup>, Fe<sup>+3</sup>, Zn<sup>+2</sup>, Ba<sup>+2</sup>, Hg<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup> metal iyonlarının enzim aktivitesini artırdığı saptanmıştır. Mo<sup>+6</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Cr<sup>+3</sup>, Sn<sup>+2</sup> ve Na<sup>+1</sup> metal iyonlarının varlığında enzim aktivitesinde azalma görülürken, Pb<sup>+2</sup> ve Ag<sup>+2</sup> varlığında ise enzim hiç aktivite göstermemiştir.

Arginazın tetramerik bir yapıya sahip olduğu ve tetramerik yapının oluşması için Mn<sup>+2</sup> kationlarının gerekli olduğu Muszynska (16) tarafından belirtilmiştir. Mn<sup>+2</sup> iyonlarının enzime bağlanması ısıya dayanıklılığı artırmakta ve enzimin inaktivasyonlara karşı daha dayanıklı hale gelmesini sağlamaktadır (17). Yapılan çalışmalarda farklı dokular için Mn<sup>+2</sup> konsantrasyonları farklı olup rat karaciğeri için 2 mM (13), M. Benedeni arginazı için 0.5 mM (5), koyun meme doku arginazı için 0.75 mM (3), insan karaciğeri için 2 mM (12), koyun gözü vitreusu (7) ve insan tükürüğü için 5 mM (8), sığır rumen doku arginazı için 2 mM (4), insan karaciğer ve eritrositi için 2.5 mM (14) olarak tespit edilmiştir.

Özçelik ve Özdemir (3) preinkübasyon ortamına Mn<sup>+2</sup> iyonları ilavesinin enzim aktivitesini artırdığı belirtmektedirler. Bu çalışmada da araştırmacıların (3) bulgularına paralel olarak preinkübasyon ortamına Mn<sup>+2</sup> iyonları ilavesinin dalak doku arginaz enzim aktivitesini üç kat artırdığı saptanmıştır.

## Kaynaklar

- Jackson J.M., Beaudet A.L., O'Brien W.E.: Mammalian urea cycle enzymes. *Ann. Rev. Genet.* 1986; 20: 431-464.
- Aminleri M., Vaseghi T.: Arginase Distribution in Tissue of Domestic Animals. *Comp Biochem Physiol* 1992;103: 385-389.
- Özçelik M., Özdemir N.: Koyun Meme Doku Arginazının Bazı Biyokimyasal Özellikleri. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 2003; 27: 719-725.
- Erişir M.: Sığır Rumen Doku Arginazının Bazı Biyokimyasal Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
- Özdemir N., M. Benedeni Arginazının Bazı Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1990.
- İlhan N.: İnsan Tiroid Doku Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1992.
- Gürsu M.F. Çeşitli Türlerin Humor Vitreuslarında Üre ve Kaynaklarının Araştırılması. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1993.
- Konarska L, Tomaszewski L, Colombo JP, Terheggen HG. Human salivary arginase and its deficiency in argininaemia. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1985; 23(6): 337-42.
- Geyer J.W., Dabich D.: Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates. *Anal. Biochem.* 1971; 39: 412-417.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., and Randall R.J.: Protein Measurements with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193:265-275.
- Mohammed S. M., Greenberg D.M.: Liver Arginase I. Preparation of Extracts of High Potency, Chemical Properties, Activation, Inhibition and pH Activity. *Arch. Biochem. Biophys.* 1945; 8: 349-357.
- Colombo J., P., Konarska L.: Arginase; In : Bergmayer Grabl M. (Eds). *Methods of enzymatic analysis.* 3<sup>rd</sup> Ed. Weinheim Vertag Chemie. 1984: 285-294.
- Erisir M., Ercel E., Yılmaz S., Ozan S.: Evaluation of optimal conditions for arginase activity in streptozotocin induced diabetic rats. *Vet. Med. – Czech.* 50, 2005; (2): 69–76.
- Halifeoğlu İ.: İnsan Karaciğer, Eritrosit ve Uterus Doku Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1993.
- Spector E.B., Rice S.C.H., Moedjono S., Bernard B., Cederbaum S.D.: Biochemical Properties of Arginase In Human Adult and Fetal Tissues. *Biochem. Med.* 1982; 28: 165-175.

16. Muszynska G. Immobilization of rat liver arginase. C.I Biospecific Chromatography. Protides of the Biological Fluids 23 RD. Colloquim. Oxford and New York. Pergamon Press, 1976: 633-637.
17. İhan N, Gülen Ş: Tiroid Arginaz Enzim Aktivitesinin Farklı Metal İyonları Varlığında Isıya Karşı Stabilitesi. Biyokimya Dergisi 1993; 18: 59-67.
- 18- Ozan S., Gürsu M.F., Gülen Ş.: Kısmen Artırılmış Moniezia Expensa Arginazının Bazı Özellikleri. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 1993; 17:245-250.