



Derleme (Review)



J. Anim. Prod., 2021, 62 (2): 171-178

<https://doi.org/10.29185/hayuretim.862434>

Aytül UÇAK KOÇ¹  0000-0001-5969-1609
Zehra Burcu BAKIR²  0000-0002-9241-0749

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Zootekni Bölümü, Koçarlı-Aydın

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat
Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Koçarlı-
Aydın

Corresponding author: aucak@adu.edu.tr

Major Arı Sütü Proteinleri

Major Royal Jelly Proteins

Alınış (Received): 16.01.2021

Kabul tarihi (Accepted): 27.05.2021

Anahtar Kelimeler:

Bal arısı, bakıcı işçi arı, hipofaringeal bez,
10-HDA, MASP

Keywords:

Honey bee, nurse worker, hypopharyngeal
gland, 10-HDA, MRJP

ÖZ

Günümüzde fonksiyonel gıdalara olan ilgi giderek artmaktadır. Arı ürünlerinden biri olan arı sütü de fonksiyonel gıdalar arasında yer alır. Arı sütü genç yaştaki (5-15 gün) işçi arılar tarafından salgılanır ve kolonide işçi arı larvasının ana arı larvasına dönüşmesini sağlar, kısaca kast belirleyici gıda olarak da bilinir. Arı sütünün içeriğinde temel olarak, su (%60 -70), protein (%9-18), lipit (%3-8), karbonhidrat (%7-18), kül (%0.8-3), 10-hidroksi-2-dekenoik asit (10-HDA) (>%1.4), az miktarda vitamin, tuz ve serbest amino asit bulunur. Şu anki bilgilere göre, arı sütüne fonksiyonel özellik veren en önemli iki içerik, 10-HDA ve major arı sütü proteinleridir. Arı sütündeki toplam proteinin %82-90'ını major arı sütü proteinleri (MASP) oluşturur. MASP ailesi 10 üyeden oluşur. MASP ailesinde ilk keşfedilen ve en bol olan MASP1 üzerine son yıllarda çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalar, MASP ailesinin genel olarak ömür uzunluğu, anti-tümör ve antioksidan etkisi, bağışıklık düzenleyici etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur. Bu derlemede, arı sütünde bağışıklık proteinleri olarak da adlandırılan MASP ailesi ayrıntılı bir biçimde ele alınacaktır.

ABSTRACT

Today, interest in functional foods is increasing. Royal jelly, one of the bee products, is among the functional foods. Royal jelly (RJ) is secreted by worker bees at a young age (5-15 days) and enables worker bee larvae to turn into queen bee larvae in the colony, it is also known as caste determinant food. The content of RJ mainly includes water (60 -70%), protein (9-18%), lipid (3-8%), carbohydrate (7-18%), ash (0.8-3%), 10-Hydroxy- 2-Decenoic acid (10-HDA) (> 1.4%), contains small amounts of vitamins, salt and free amino acids. According to current knowledge, the two most important ingredients that give RJ functional properties are 10-HDA and major royal jelly proteins. Major royal jelly proteins (MRJP) constitute 82-90% of the total protein in RJ. MRJP family consists of 10 members. In recent years, many studies have been conducted on MRJP1, which is the first and most abundant in the MRJP family. Studies have shown that the MRJP family generally has longevity, anti-tumor and antioxidant effects, and immunomodulatory effects. In this review, the MRJP family, also called immune proteins in RJ, will be discussed in detail.

GİRİŞ

Günümüzde, organizmanın gereksinimlerini karşılayan yeterli miktar ve nitelikte gıda ile beslenme şeklindeki "klasik beslenme" kavramı önemli ölçüde değişmekte, yerini "uygun beslenme" kavramı almaktadır. Besinlerin temel görevlerinin yanı sıra sağlıklı yaşamı destekleyici, genel esenliği geliştirici ve belirli hastalıkların gelişme riskini azaltıcı etkileri de beklenmektedir. Bu nedenle son yıllarda tüketicilerin

bir kısmında ve gıda endüstrisinde fonksiyonel gıda bileşenlerine ilgi artmaktadır. Fonksiyonel gıdalar, aynı zamanda düzenleyici gıdalar, iyileştirici (terapötik) gıdalar, süper gıdalar ya da tıbbi gıdalardır. Bunlar, vitaminler, probiyotikler, yağ asitleri, fitokimyasallar, biyoaktif peptitler ve bitkisel sterollerdir (Nagai ve ark., 2001; Chandrasekara ve Shahidi, 2011). Bunlar arasında sağlık için önemli potansiyele sahip arı

ürünleri; bal, arı sütü ve polen de vardır (Ramadan ve Al Ghamdi, 2012).

Bal arısı kolonisinin en önemli ürünlerinden biri olan arı sütü (AS), 5-15 günlük yaşta genç işçi arıların yutak üstü (hipofaringeal) ve üst çene (mandibula) bezlerinden salgılanır. Kolonide ana arının tüm yaşamı boyunca, işçi ve erkek arıların genç larva dönemi beslenmesinde kullanılır. Ana arı larvasına sunulan AS ile diğer larvalara sunulan AS içeriği farklıdır (Brouwers ve ark., 1987). AS, genç işçi arı larvalarının ana arı larvalarına dönüşmesinin en önemli nedenidir. Bu nedenle bal arılarında kast belirleyici gıdadır.

Genel olarak yapılan çalışmaların sonucu, arı sütünün iç salgı sistemini düzenlediği, bağıışıklığı arttırdığı, strese karşı etkili, kolesterol düşürücü, yaşlanmaya ve iltihaplanmaya karşı, damarlanmayı önleyici, yaraları iyileştirici antibiyotik etkileri olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2002; Kohno ve ark., 2004; Temamoğulları ve ark., 2006; El Nekeety ve ark., 2007; Kanbur ve ark., 2009; Mannoor ve ark., 2009; Ramadan ve Al Ghamdi, 2012; Wytrychowski ve ark., 2013; Wang ve ark., 2015; Xin ve ark., 2016). AS, insan sağlığına büyük potansiyel faydalarından dolayı tıp, diyet takviyeleri ve kozmetik dahil olmak üzere birçok ticari üründe yaygın olarak anahtar bileşen olarak kullanılmaktadır (Kamakura ve ark., 2001). Arı sütü, doğal olarak 10-Hidroksi-2-Dekeoik Asit (10-HDA) içeren tek üründür. Bu nedenle, 10-HDA, arı sütünün en önemli kalite kriteridir ve çoğunlukla arı sütünün hileli olup olmadığını anlamak için kullanılan tek kriterdir (Sabatini ve ark., 2009). Aynı zamanda 10-HDA arı sütünün tazeliğinin göstergesidir (Marconi ve ark., 2002). Ancak, saklama sıcaklığı ne olursa olsun, 10-HDA içeriği ile saklama süresi arasında önemli bir ilişki bulunamamıştır (Antinelli ve ark., 2003). Bu nedenle bazı çalışmalar, örneğin furosin, major arı sütü proteinleri, adenosin trifosfat, amino asit bileşimi gibi AS'nin tazeliğinin farklı belirteçlerini veya göstergelerini belirlemeye odaklanmıştır (Marconi ve ark., 2002; Buttstedt ve ark., 2014).

AS'nin fonksiyonel özelliğine, içerdiği major proteinler ve major yağ asidi 10-HDA'nın katkısı büyüktür. Son yıllarda bu iki içerik hakkında çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu derlemede, major arı sütü protein (MASP) ailesi ayrıntılı olarak anlatılacaktır.

Arı Sütünün İçeriği

Arı sütü, krem renginde, ekşi tada sahip yapışkan bir yapıdadır (Şekil 1). Suda eriyen, pH'sı 3.6 – 4.2 arasında olan arı sütü; su (%60 -70), protein (%9-18), lipit (%3-8), karbonhidrat (%7-18), kül (%0.8-3), 10-Hidroksi-2-Dekeoik asit (HDA) (>%1.4) içermektedir. Aynı zamanda az miktarda vitamin, tuz ve serbest

amino asit içermektedir (Sabatini ve ark., 2009; Bogdanov, 2011; Ramadan ve Al Ghamdi, 2012; Xue ve ark., 2017).



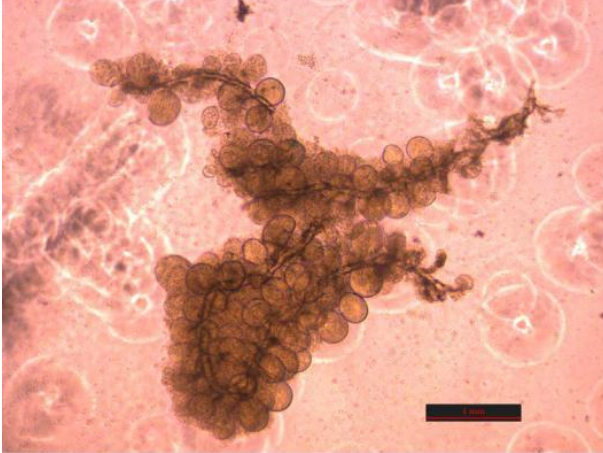
Şekil 1. Arı sütü ve ana arı larvası (Foto: 1. yazar)
Figure 1. Royal jelly and queen larvae (Foto by 1. Author)

Arı sütünün içeriği, mevsime ve bölgesel koşullara, bal arısının ırk ve genotipine, arıların beslenmesine, bakıcı işçi arılar arasındaki fizyolojik ve metabolik farklılıklara, aşılana larvanın yaşına, arı sütü hasat zamanına, arı sütü üretim kolonisine verilen yüksük sayısına ve hasat sonrası arı sütü saklama koşullarına göre değişmektedir (Antinelli ve ark., 2003; Biondi ve ark., 2003; Sano ve ark., 2004; Scarselli ve ark., 2005; Attalla ve ark., 2007; Liu ve ark., 2008; Sabatini ve ark., 2009; Malka ve ark., 2009; Zheng ve ark., 2011; Kösoğlu ve ark., 2013; Karacaoğlu ve ark., 2019).

Arı Sütünün Kaynağı: Hipofaringeal Bez (HPG) ve Mandibular Bez (MBG)

HPG ve MBG, arı sütü üretiminde yer alan organlardır. HPG, işçi arı başının alnına ait bölümünde yerleşmiştir. Salgılayıcı hücrelerden oluşan ve *Acini* (Asini) olarak adlandırılan çok sayıda küçük salgı keseye sahiptir (Huang ve Otis, 1989). Asinilerin her biri süt salgılayan hücrelerden oluşur (Şekil 2, 3) ve kanallar yardımıyla birbirine bağlanırlar. Asiniler, arı sütü bileşenleri üretir ve salgılar. HPG'nin ürettiği salgıların, kovanın ihtiyaçlarına bağlı olarak değiştiği, bu nedenle bu bezin, yavru besleme ihtiyaçları ile ilgili olarak esnek bir salgı aktivitesi sergilediği, bazen kovan içi koşullara göre yaşlı işçi arıların da salgı aktivitesini sürdürdüğü belirlenmiştir (Ohashi ve ark., 2000). Ancak, işçi arıların arı sütü bezleri maksimum gelişimi için, kuluçka feromonu tarafından uyarılır, yani kısaca koloni içerisinde yavru üretiminin sürekli olması bu bezlerin gelişimini de olumlu etkilemektedir. Bu nedenle bu bezlerin tam gelişimi için polen tüketimi zorunludur. Koloni içindeki bir görevin herhangi bir sebeple yerine getirilememesi, işçi arıların bu bezlerinde (HPG) buna karşılık gelen bir dejenerasyonla tarlacı olmaları için bir sinyaldir ve gerileyen HPG'de farklı hücre ölüm modları rapor edilmiştir. İşçi arılarda asini boyutu yaşa bağlı olarak değişmekte 5-6 günde başlamakta ve 8-12. günde pik yapmakta ve 15 günlük yaştan itibaren asininin

boyutunda küçülmeler gerçekleşmektedir. Bu nedenle asininin büyüklüğü bezin aktivitesi ile pozitif yönde ilişkilidir. İşçi arıların yaşları ilerleyip tarlacı arı olduklarında, bu bezler arı sütü yerine α -glukozidaz, glukozidaz oksidaz (Ohashi ve ark., 1999) ve galaktosidaz, esteraz, lipaz ve lösün arilamidaz gibi diğer enzimler üretir (Costa, 2002). MBG, sadece ana arı ve işçi arılarda bulunan bir çift kese benzeri salgı organıdır. Başın her iki tarafında çenenin aşağısında yer alır, HPG'ye benzer, arı sütü salgılar ve işçi arının yaşına bağlı olarak değişir (Huo ve ark., 2016).



Şekil 2. Yavru gıda bezi (Ramanathan ve ark., 2018)
Figure 2. Hypofarengal glandular (Ramanathan et. al., 2018)

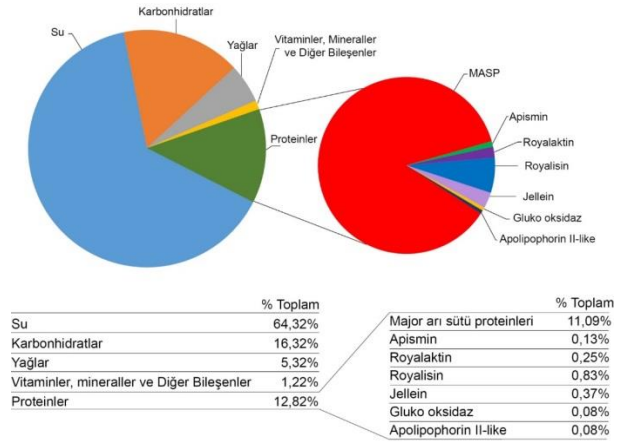


Şekil 3. Yavru gıda bezi (Huang, 2021)
Figure 3. Hypopharyngeal Gland (Huang, 2021)

Arı Sütü Protein ve Peptitleri

Arı sütünde %12-18 arasında olan proteinlerin %82-90'ını majör arı sütü proteinleri (MASP) oluşturmaktadır (Schmitzova ve ark., 1998; Drapeau ve ark., 2006; Santos ve ark., 2005; Shinkhede ve Tembhare, 2009; Mureşan ve a Buttstedt, 2019). Şekil 4'de de sunulduğu gibi, Fratini ve ark., (2016)'a göre

ortalama olarak arı sütündeki protein oranı %12.82 olup bunun %11.09'unu MASP oluşturmaktadır. MASP'ın yanı sıra, diğer proteinlerden en çok bulunan royalisin (%0.83), daha sonra jelleinler (%0.37), apismin (%0.13) ve düşük oranlarda gluko-oksidad ve apolipoforin II-like içermektedir.



Şekil 4. Arı sütü kompozisyonu (Fratini ve ark., 2016)
Figure 4. Composition of royal jelly (Fratini et. al., 2016)

MASP Ailesi

Yapılan çalışmalarda MASP ailesinin önceleri 9 tane, çok yakın zamanda 1 tane daha eklenerek 10 tane (MASP1, MASP2, MASP3, MASP4, MASP5, MASP6, MASP7, MASP8, MASP9, MASP10) olduğu belirtilmiştir (Drapeau ve ark., 2006; Helbing ve ark., 2017; Mureşan ve Buttstedt, 2019). MASP ailesinin, histidin, izölösün, lösün, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valin gibi esansiyel aminoasitler bakımından zengin olduğu, ovalbumin ve kazeine benzediği bildirilmiştir (Santos ve ark., 2005; Tamura ve ark., 2009a). MASP ailesinin, bakıcı işçi arıların hipofaringeal bezlerinde yaklaşık pH 7.0 değerinde salgı hücrelerinin endoplazmik retikulumunda salgı proteinleri olarak sentezlendiği bildirilmiştir (Demaurex, 2002). Daha sonra arı sütü proteinlerinin, 5.5 ile 5.1 pH değerinde salgı keselerinde depolandığı proteinlerin, hipofaringeal bezlerden salgılandıktan sonra yağ asitlerinden oluşan asidik mandibular bez (pH 3.9 ± 0.1) salgılarına maruz kaldığı ve sonuçta larvaya sunulan arı sütünün pH'sı 4.0-4.5 aralığında olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, MASP'lar sentez yerlerinden, larvalara sunuluncaya kadar geniş bir pH aralığına maruz kalmaktadır. Arı sütünün dışında MASP'lara bakıcı ve tarlacı arıların, ana arının (bakire ve çiftleşmiş) ve erkek arıların çeşitli vücut kısımlarında (baş, göğüs ve karın) da rastlanmıştır (Buttstedt ve ark., 2013a).

MASP1

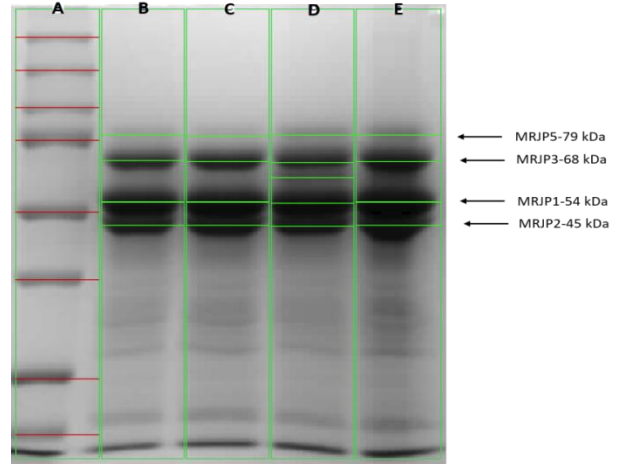
MASP ailesi içinde ilk keşfedilen ve en bol bulunan MASP1 proteini, apalbumin 1, apalbumin α , royalaktin, D III protein, MASP1 oligomer gibi çok sayıda farklı isimlerde adlandırılmıştır (Simuth ve ark., 2004; Bilikova ve Simuth 2010; Kamakura, 2011; Moriyama ve ark., 2015). MASP1'in amino asit oranı %48, molekül ağırlıkları 55-57 kDa, MASP1 oligomer olarak isimlendirilenleri 280 ve 35 kDa olarak bildirilmiştir. MASP1'in HPG'deki varlığına ek olarak, bakıcı işçi arıların ve daha yaşlı işçi arıların anten lobu, beyin mantar odacığı, optik lob sitoplazmasında ayrıca, bal, polen ve arı ekmeğinde düşük miktarlarda tespit edilmiştir (Peixoto ve ark. 2009; Malecova ve ark. 2003).

MASP1'in monomer, oligomer ve suda çözünür formları bulunmakta, MASP1'in monomerik formu, royalaktin olarak adlandırılmakta ve işçi arı larvasının ana arıya dönüşmesine neden olan fizyolojik değişiklikleri tetiklediği, gelişim süresini kısalttığı ve hem vücut hem de yumurtalık boyutunun artmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Foret ve ark., 2012; Kamakura, 2011). Ayrıca diğer MASP bireylerinin de gelişen larvaların kaderini belirlemede önemli roller üstlendiği belirlenmiştir (Schmitzova ve ark., 1998; Buttstedt ve ark. 2016). Xin ve ark. (2016), *Drosophila melanogaster* üzerinde çalışırken, sadece MASP1'in değil, tüm MASP'ların birlikte *D. melanogaster*'in ömrünü etkilediğini ve artırdığını bildirmiştir. Ayrıca aynı çalışmada *D. melanogaster*'in her iki cinsiyetinde yaşam süresini uzatmaya ek olarak, beslenme oranını ve doğurganlığı artırmıştır.

MASP1 için farklı araştırmalarda farklı molekül ağırlıkları belirlenmiştir. Örneğin, HPLC yöntemi kullanan çalışmalar, MASP1 oligomerinin molekül boyutunun 280 kDa (Kamakura, 2011; Ramadan ve Al Ghamdi, 2012), 350 (Simuth, 2001) veya 420 kDa (Tamura ve ark., 2009b) olduğunu, proteininin miktarının arıcılık şartlarına bağlı olarak değiştiğini göstermiştir (Imjongjirak ve ark., 2005; Tamura ve ark., 2009b). Basit PAGE analizi, MASP1 oligomerinin iki küçük proteine, 55 kDa (MASP1 monomer) ve 5 kDa (apisimin) bölünmüş olan bir 290 kDa protein olduğunu göstermiştir. 5 kDa protein apisimin, kovalent olmayan bağlarla MASP1 oligomerini oluşturmak için MASP1 monomeri ile bir alt birim birleştirme proteini görevi görmektedir. Dört MASP1 molekülü ve dört apisimin molekülü, molekül ağırlığı 232 kDa olan MASP1 oligomer kompleksini oluşturmaktadır (Mandacaru ve ark., 2017). Simuth (2001), 420 kDa proteini oligomerik apalbumin olarak tanımlamıştır. Başka bir çalışmada Bilikova ve ark. (2002) apalbuminin, yaklaşık 450 kDa'lık stabil MASP1

protein kompleksi oluşturmak için bir apisimin oligomeriyle (5.5 kDa) birleşen 420 kDa'lık bir protein olduğunu bildirmiştir. Apisimin olarak adlandırılan 350 kDa protein, altı alt birimi olan bir glikoproteindir. Her biri yaklaşık 58 kDa'lık bir molekül kütleye sahip olduğu belirlenmiştir (Furusawa ve ark., 2016; Kamakura ve ark., 2001; Kimura ve ark., 2003).

Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü Arı ve İpekböceği Araştırma ve Uygulama Ünitesinde ve Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yapılan çalışmalarda, taze arı sütünde MASP ailesinden dört tanesinin MASP1(54 kDa), MASP2 (45 kDa), MASP3 (68 kDa) ve MASP5 (79 kDa) molekül ağırlıkları belirlenmiş, Şekil 5'te elektroforez görüntüleri verilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Major arı sütü proteinlerinden MASP1, MASP2, MASP3 ve MASP5 elektroforez görüntüleri

Figure 5. Electrophoresis images of the major royal jelly proteins, MRJ1, MRJP2, MRJP3 and MRJP5.

Calabria ve ark. (2008), MASP1'i bir kalmodulin bağlayıcı protein (CaMBP) olarak tanımlamıştır. Kalmodulin, kalsiyum iyonlarının düzenlediği hedef proteinlerle etkileşime girerek, kalsiyum iyonları MASP1'de konformasyonel değişikliklere neden olmakta ve bu da onu sıcaklığa ve pH'a (6 ve 7) duyarlı hale getirmektedir.

Arı sütünde bir dizi kısa peptit olan jelleinler (I, II, III ve IV) tanımlanmıştır. Bu jelleinlerin çoğu, MASP1'in C-terminalinden ayrılmış antibakteriyel peptidlerdir. Fontana ve ark. (2004), jellein I, II, III'ün gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere ve mayalara karşı etkili olduğunu ama jellein IV'ün anti-mikrobiyal aktivitesi olmadığını bildirmiştir.

Amino asitler açısından zengin olan ve 51 amino asitten oluşan amfipatik bir polipeptit olan royalisinin, arı sütünü gram-pozitif bakterilere karşı koruduğu

bildirilmiştir (Fujiwara ve ark., 1990; Fontana ve ark., 2004). Ayrıca, royalisin, bal arısı yavru hastalığı olan Amerikan yavru çürüklüğüne neden olan *Paenibacillus* bakterisine karşı anti-bakteriyel etkiye sahip *Bacillus subtilis* ve *Sarcina lutea* gibi diğer gram-pozitif bakterilere ve *Botrytis cinerea*'ya karşı anti-fungal aktivite göstermiştir (Fujiwara ve ark., 1990; Bilikova ve ark., 2001; Scarselli ve ark., 2005 Barnuti ve ark., 2011).

MASP'ların bal arısı larva gelişimindeki rollerine ek olarak birden fazla biyolojik işlevi tespit edilmiştir. Arı sütünde MASP ailesi ve royalaktin, özellikle gram pozitif bakterilere karşı anti-bakteriyel aktivite sağlayan ana faktörlerdir (Fratini ve ark., 2016). Farelerde yapılan deneylerde, kültür ortamına MASP1'in dahil edilmesi, hücre çoğalmasını uyardığı bildirilmiştir (Kamakura ve ark., 2001). Yapılan çalışmalar, MASP1'in ömür uzunluğu, anti-tümör, anti-oksidan etkisi, bağışıklık düzenleyici etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur.

MASP2

Bazı araştırmacılar tarafından bu protein, arı sütü glikol protein, apalbumin 2, apalbumin β olarak da isimlendirilmiştir. MASP2'nin moleküler ağırlığının 72 kDa olduğu belirlenmiştir (Imjongjirak ve ark., 2005; Schmitzova ve ark., 1998). Santos ve ark. (2005) Avrupa bal arılarında MASP2'nin moleküler ağırlığını 50.6 ile 59.9 kDa arasında ve izo-elektrik noktasını 4.92 ile 7.02 arasında değişen sekiz farklı formu tanımlarken, Sano ve ark. (2004), Avrupa ve Afrika bal arılarında sırasıyla 12 ve 15 izoform belirlemişlerdir. Ancak, Santos ve ark. (2005) bu yüksek sayıda izoformu, arı sütünün depolanması sırasında meydana gelen glikosilasyona bağlamaktadır. MASP1 gibi, MASP2 de fare makrofajlarında antitümör madde TNF- α 'nın salınmasını uyarmıştır (Simuth ve ark., 2004; Tamura ve ark., 2009b). MASP2'nin anti-tümör ve hücre çoğalması üzerine olumlu etkileri belirtilmiştir.

MASP3

MASP3, moleküler ağırlıkları 80.6 Da ile 87.0 Da arasında ve izoelektrik noktaları 7.05 ile 8.04 arasında değişen beş izoformdan oluşmaktadır. Ancak, Sano ve ark. (2004), Avrupa ve Afrika bal arılarında sırasıyla; yirmi dört ve on farklı izoform rapor etmiştir. Yazarlar, daha fazla sayıda izoform varlığının, kovan içinde arı sütünün depolanma sırasında MASP3'ün bozulması sonucu olduğunu varsaymaktadır. MASP3'ün sağlık yönlerini inceleyen çalışmalarda, Kohno ve ark. (2004), Okamoto ve ark (2003), MASP3'ün etkili bir şekilde anti-alerjik bir ajan olarak işlev gören IgE ve IgG1 üretimini baskıladığını, Kohno ve ark. (2004) ayrıca, MASP3'ün anti-imflamatuar ajan olarak işlev gördüğünü bildirmiştir.

MASP4

MASP4'ün ortalama moleküler ağırlığının yaklaşık olarak 60 kDa olduğu tahmin edilmektedir (Sano ve ark., 2004). HPG'de, MASP4 salgılanarak arı sütüne temel amino asitler gibi besleyici bileşenler sağlamaktadır (Schmitzova ve ark., 1998; Scarselli ve ark., 2005). Bununla birlikte çalışmalar, HPG'de MASP4 ekspresyon seviyesinin, diğer MASP'ların ekspresyonuna kıyasla çok düşük olduğunu göstermektedir.

MASP5

MASP5 proteininin en önemli özelliği, 367 ve 540 amino asit kalıntıları arasında yer alan geniş bir tekrar bölgesinde MASP3'ünkinden daha yukarıda yer alan dinükleotid tekrar motif (DRM) dizisinin baskınlığına sahip 58 kat tekrarlanan bir tri-peptid motifinden oluşmasıdır (Schmitzova ve ark., 1998). MASP5'teki tekrar bölgesinin toplam uzunluğu MASP3'ten 100 amino asit kadar daha uzun olup, 174 amino asittir ve bu bölgedeki tekrar birimleri, MASP3'tekinden daha az korunmaktadır. Her iki tekrar bölgesinin, pozitif yüklü arginin/lizin kalıntılarının yanı sıra negatif yüklü aspartik asit kalıntılarının oluştuğunu (Albert ve ark., 1999), MASP5'in, moleküler ağırlığının 79.0 ile 79.4 Da arasında izoelektrik noktaları 6.34 ile 6.80 arasında değiştiğini bildirmişlerdir (Santos ve ark., 2005). Avrupa ve Afrika bal arılarında MASP5'in protein profili, dört ve yedi farklı izoform göstermiştir (Sano ve ark., 2004).

MASP6, MASP7, MASP8, MASP9 ve MASP10

MASP6, MASP7 ve MASP8'in *Apis cerana*'da beslenme işlevi olmadığı, MASP8 ve MASP9, MASP ailesinin kadim ve ata üyeleri olarak kabul edilmektedir. Arı sütünde yapılan proteomik analizler, MASP6, 7 ve 8'de tekli formlar göstermiştir (Santos ve ark., 2005). MASP6 ve MASP7, hem bakıcı hem de tarlacı arıların HPG'sinde ayrıca MASP7, bakıcı arıların beyinlerinde de tespit edilmiştir. MASP6 ve MASP7'nin aksine, MASP8 sadece *Apis cerana*'da tarlacı arılarda tespit edilmiş (Liu ve ark., 2014), Santos ve ark. (2005), Afrika bal arısının arı sütünde MASP8'in varlığını bildirmişlerdir. MASP8, diğer MASP'lara kıyasla arı sütünde daha az miktarda bulunmaktadır (Buttstedt ve ark., 2013b). Arı sütü dışında MASP8 ve MASP9'un varlığı arı zehrinde de tespit edilmiştir (Blank ve ark., 2012). Bir çalışmada (Albert ve Klaudiny, 2007), Afrika bal arılarının arı sütü içinde bulunan MASP9'un beslenmede hiçbir rolü olmadığını, ancak bağışıklığı uyaran bir ajan olduğunu iddia edilmektedir. Yakın zamanda Helbing ve ark., (2017), bal arısı türlerinden

biri olan *Apis florea*'da MASP ailesine yeni bir üye olan MASP10'u eklemiştir.

SONUÇ

Arı sütü, yüksek pazar talebi ile yaygın olarak kabul gören bir fonksiyonel gıdadır. Arı sütünün içeriği mevsim, nektar ve polen kaynakları, arı sütü üretim biçimi (ana arılı, ana arısız, başlatıcı-bitirici, larva yaşı, hasat zamanı vb.), besleme, depolama koşulları gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Taze arı sütünün kovandan tüketiciye ulaşıncaya kadar geçirdiği süreçte soğuk zincirin korunması en önemli unsurlardan biridir. Uygun olmayan şekilde saklanan arı sütü, faydasını ve etkinliğini kaybetmektedir (Kamakura ve ark., 2001; Shen ve ark., 2015). Bağışıklık proteinleri olan MASP ailesini ve 10-HDA yağ asidi arı sütünün en

önemli bilinen fonksiyonel özellikleridir. Uygun olmayan koşullarda saklanan arı sütündeki 10-HDA'ya göre özellikle MASP1, tripsin benzeri proteinaz aktivitesi nedeniyle 4°C'nin üzerindeki depolama sıcaklıklarında kademeli ve aşamalı bir şekilde denatüre olmaktadır (Funakoshi ve ark., 1993; Kamakura ve ark., 2001). Her ne kadar arı sütünün tazeliğinin ve gerçekliğinin göstergesi şu anki standarda göre 10-HDA değeri olsa da, ilerleyen zamanda MASP ailesinin önemli bir üyesi olan MASP1'in de bu kriterler arasında yer alacağını öngörmekteyiz. Nitekim Shen ve ark. (2015), ELISA testi kullanarak arı sütünde MASP1 miktarındaki düşüşü ölçmüş ve MASP1'in, arı sütünün kalitesini ve tazeliğini değerlendirmek için işaretleyici olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

KAYNAKLAR

- Albert S, Klaudiny J, Simuth, J. 1999. Molecular characterization of MRJP3, highly polymorphic protein of honey bee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29(5): 427-434.
- Antinelli JF, Zeggane S, Davico R, Rognone C, Faucon JP, Lizzani L. 2003. Evaluation of (E)-10-hydroxydec-2-enoic acid as a freshness parameter for royal jelly. *Food Chemistry* 80 (1): 85-89.
- Attalla KM, Owayss AA, Mohanny KM. 2007. Antibacterial activities of bee venom, propolis, and royal jelly produced by three honey bee, *Apis mellifera* L., hybrids reared in the same environmental conditions. *Annals of Agricultural Science* 45 (2): 895-902.
- Barnuti LI, Al Marghitaş L, Dezmierean DS, Mihai CM, Bobiş O. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of royal jelly - Review. *Animal Science and Biotechnologies* 44 (2): 67-72.
- Bogdanov S. 2011. Royal jelly, bee brood: Composition, health, medicine: A review. *Lipids* 3: 8-19.
- Bilikova K, Wu G, Simuth J. 2001. Isolation of a peptide fraction from honeybee royal jelly as a potential antifouling factor. *Apidologie* 32: 275-283.
- Bilikova K, Hanes J, Nordhoff E, Saenger W, Klaudiny J, Simuth J. 2002. Apisimin, a new serine-valine-rich peptide from honeybee (*Apis mellifera* L.) royal jelly: purification and molecular characterization. *FEBS Letters* 528:125-129.
- Bilikova K, Simuth J. 2010. New criterion for evaluation of honey: Quantification of royal jelly protein apalbumin 1 in honey by ELISA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(15): 8776-8781.
- Biondi C, Bedini G, Felicioli A. 2003. Gelatina reale: metodologia proposta per la determinazione dell'origine geografica e della qualità. *Apitalia* 526: 32-37.
- Blank S, Bantleon FI, McIntyre M, Ollert M, Spillner E. 2012. The major royal jelly proteins 8 and 9 (Api m 11) are glycosylated components of *Apis mellifera* venom with allergenic potential beyond carbohydrate - based reactivity. *Clinical & Experimental Allergy* 42: 976-985.
- Brouwers EVM, Ebert R, Beetsma J. 1987. Behavioural and physiological aspects of nurse bees in relation to the composition of larval food during caste differentiation in the honey bee. *Journal of Apicultural Research* 26: 11-23.
- Buttstedt A, Moritz RF, Erler S. 2013a. More than royal food-Major royal jelly protein genes in sexuals and workers of the honey bee *Apis mellifera*. *Frontiers in Zoology* 10(72):1-10.
- Buttstedt A, Moritz RF, Erler S. 2013b. Origin and function of the major royal jelly proteins of the honey bee (*Apis mellifera*) as members of the yellow gene family. *Biological Reviews* 89: 255-269.
- Buttstedt A, Moritz RFA, Erler S. 2014. Origin and function of the major royal jelly proteins of the honeybee (*Apis mellifera*) as members of the yellow gene family. *Biological Reviews* 89(2): 255-269.
- Buttstedt A, Ihling CH, Pietzsch M, Moritz RF. 2016. Royalactin is not a royal making of a queen. *Nature* 537(7621): E10-E12.
- Calabria LK, Hernandez LG, Teixeira RR, de Sousa MV, Espindola FS. 2008. Identification of calmodulin-binding proteins in brain of worker honey bees. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 151: 41-45.
- Chandrasekara A, Shadidi F. 2011. Antiproliferative potential and DNA scission inhibitory activity of phenolics from whole millet grains. *Journal of Functional Foods* 3:159-170.
- Chen Q, Koga T, Uchi H, Hara H, Terao H, Moroi Y, Urabe K, Furue M. 2002. Propionibacterium acnes-induced IL-8 production may be mediated by NF-kappaB activation in human monocytes. *Journal of Dermatological Science* 29: 97-103.
- Costa RAC. 2002. Glandulas Hipofaringeas, in: Cruz-Landim C. da, Abdalla F.C. (Eds.), Glândulas Exocrinas das Abelhas, Funpec, Brasil, pp. 91-110.
- Demaurex N. 2002. pH homeostasis of cellular organelles. *News In Physiological Sciences* 17: 1-5.
- Drapeau MD, Albert S, Kucharski R, Prusko C, Maleszka R. 2006. Evolution of the Yellow/Major Royal Jelly Protein family and the emergence of social behavior in honey bees. *Genome Research* 16:1385-1394.
- El-Nekeety AA, El-Kholy W, Abbas NF, Ebaid A, Amra HA, Mosaad AV. 2007. Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. *Toxicol* 50 (2):256-269.
- Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A. 2016. Royal Jelly: An Ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research* 192: 130-141.

- Fujiwara S, Imai J, Fujiwara M, Yaeshima T, Kawashima T, Kobayashi K. 1990. A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. *Journal of Biological Chemistry* 265:11333-11337.
- Funakoshi T, Shimada H, Kojima S. 1993. Proteolytic activity of royal jelly. *Medicine and Biology* 127: 85-89.
- Furusawa T, Arai Y, Kato K, Ichihara K. 2016. Quantitative Analysis of Apisin, a Major Protein Unique to Royal Jelly. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2016:1-9.
- Fontana R, Mendes MA, De Souza BM, Konno K, Cesar LMM, Malaspina O, Palma MS. 2004. Jelleines: A family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honey bees (*Apis mellifera*). *Peptides* 25: 919-928.
- Foret S, Kucharski R, Pellegrini M, Feng S, Jacobsen SE, Robinson GE, Maleszka R. 2012. DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing, and alternative phenotypes in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 4968-4973.
- Helbing S, Lattorf HMG, Moritz RFA, Buttstedt A. 2017. Comparative analyses of the major royal jelly protein gene cluster in three *Apis* species with long amplicon sequencing. *DNA Research* 24: 279-287.
- Huang ZY, Otis GW. 1989. Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux* 36: 264-276.
- Huang Z. 2021. Honey bee anatomy. <https://bees.msu.edu/honey-bee-anatomy/> (27 Mart 2021).
- Huo X, Wu B, Feng M, Han B, Fang Y, Hao Y, Meng L, Wubie AJ, Fan P, Hu H, Qi Y, Li J. 2016. Proteomic analysis reveals the molecular underpinnings of mandibular gland development and lipid metabolism in two lines of honey bees (*Apis mellifera ligustica*). *Journal of Proteome Research* 15(9): 3342-3357.
- Imjongjirak C, Klinbunga S, Sittipraneed S. 2005. Cloning, expression and genomic organization of genes encoding major royal jelly protein 1 and 2 of the honey bee (*Apis cerana*). *BMB Reports* 38: 49-57.
- Kamakura M, Fukuda, T, Fukushima, M. Yonekura M. 2001. Storage-dependent degradation of 57-kDa protein in royal jelly: a possible marker for freshness. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 65: 277-284.
- Kamakura M. 2011. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature* 473:478-483.
- Kanbur M, Eraslan G, Beyaz L, Silici S, Liman BC, Altınordu Ş, Ataserver A. 2009. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61(2):123-132.
- Karacaoğlu M, Uçak Koç A, Bakır BZ, Metin K, Keser B, Birincioglu B. 2019. The effect of harvest time and number of queen cell on 10-HDA and total protein content in royal jelly. 11. International Animal Science Conference, 20-22 October, Cappadocia, Turkey, p:380-384.
- Kimura M, Kimura Y, Tsumura K, Okihara K, Sugimoto H, Yamada H, Yonekura M. 2003. 350-kDa royal jelly glycoprotein (apisin), which stimulates proliferation of human monocytes, bears the β 1-3galactosylated N-glycan: Analysis of the N-glycosylation site. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 67: 2055-2058.
- Kohno K, Okamoto I, Sano O. 2004. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 68:138-145.
- Kösoglu M, Yücel B, Gökbulut C, Konak R, Bircan C. 2013. The effect of harvesting time on some biochemical and trace element compositions of royal jelly. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 19(2): 233-237.
- Liu JR, Yang YC, Shi LS, Peng CC. 2008. Antioxidant properties of Royal Jelly associates with larval age and time of harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 11447-11452.
- Liu H, Wang ZL, Tian LQ, Qin QH, Wu, XB, Yan, WY, Zeng, ZJ. 2014. Transcriptome differences in the hypopharyngeal gland between Western Honey bees (*Apis mellifera*) and Eastern Honey bees (*Apis cerana*). *BMC Genomics* 15(744):1-12.
- Malka O, Karunker I, Yeheskel A, Morin S, Hefetz A. 2009. The gene road to royalty – differential expression of hydroxylating genes in the mandibular glands of the honeybee. *The FEBS Journal* 276: 5481-5490.
- Malecova B, Ramser J, O'Brien JK, Janitz M, Judova J, Lehrach H, Simuth J. 2003. Honey bee (*Apis mellifera* L.) mrjp gene family: Computational analysis of putative promoters and genomic structure of mrjp1, the gene coding for the most abundant protein of larval food. *Gene* 303: 165-175.
- Mandacaru SC, do Vole LHF, Vahidi S, Xiao Y, Skinner OS, Ricart CAO, Kelleher NL, de Sousa MV, Konermann L. 2017. Characterizing the structure and oligomerization of major royal jelly protein 1 (MRJP1) by mass spectrometry and complementary biophysical tools. *Biochemistry* 56: 1645-1655.
- Mannoor MK, Shimabukuro I, Tsukamoto M, Watanabe H, Yamaguchi K, Sato Y. 2009. Honey bee royal jelly inhibits autoimmunity in SLE-prone NZB×NZW F1 mice. *Lupus* 18: 44-52.
- Marconi E, Caboni MF, Messia MC, Panfili G. 2002. Furosine: a suitable marker for assessing the freshness of royal jelly. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(10): 2825-2829.
- Moriyama T, Ito A, Omote S, Miura, Tsumoto H. 2015. Heat resistant characteristics of major royal jelly protein 1 (MRJP1) oligomer. *Plos one* 10(5):1-17.
- Mureşan CI, Buttstedt A. 2019. pH-dependent stability of honey bee (*Apis mellifera*) major royal jelly proteins. *Nature, Scientific Reports* 9:9014.
- Nagai T, Sakai M, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry* 75:237-240.
- Ohashi K, Sasaki M, Sasagawa H, Nakamura J, Natori S, Kubo T. 2000. Functional flexibility of the honey bee hypopharyngeal gland in a dequeen colony. *Zoological Science* 17(8): 1089-1094.
- Ohashi K, Natori S, Kubo T. 1999. Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *European Journal of Biochemistry* 265:127-133.
- Okamoto I, Taniguchi Y, Kunikata T, Kohno K, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. 2003. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sciences* 73: 2029-2045.
- Peixoto L. G, Calabria LK, Garcia L, Capparelli FE, Goulart LR, de Sousa MV, Espindola FS. 2009. Identification of major royal jelly proteins in the brain of the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* 55: 671-677.
- Ramadan MF, Al-Ghamdi A. 2012. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods* 4: 39-52.
- Ramanathan, ANKG, Nair AJ, Sagunan VS. 2018. A review on Royal Jelly proteins and peptides. *Journal of Functional Foods* 44: 255-264.
- Sabatini AG, Marcazzan GL, Caboni MF, Bogdanov S, Almeida-Muradian L. 2009. Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1: 1-6.

- Sano O, Kunikata T, Kohno K, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. 2004. Characterization of Royal Jelly Proteins in both Africanized and European Honeybees (*Apis mellifera*) by two-dimensional gel electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (1): 15-20.
- Santos KS, dos Santos LD, Mendes MA, de Souza BM, Malaspina O, Palma MS. 2005. Profiling the proteome complement of the secretion from hypopharyngeal gland of Africanized nurse-honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35: 85-91.
- Scarselli R, Donadio E, Giuffrida MG, Fortunato D, Conti A, Balestreri E, Felicioli R, Pinzauti, M, Sabatini AG, Felicioli A. 2005. Toward royal jelly proteome. *Proteomics* 5: 769-776.
- Schmitzova J, Klaudiny J, Albert S, Schroder W, Schreckengost W, Hanes J, Judova J, Simuth J. 1998. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cellular and Molecular Life Sciences* 54: 1020-1030.
- Shinkhede MM, Tembhare DB. 2009. Royal jelly protein and lipid composition in *Apis cerana indica* F. *International Journal of Industrial Entomology*. 18: 139-142.
- Shen LR, Wang YR, Zhai L, Zhou WX, Tan LL, Li ML, Liu DD, Xiao F. 2015. Determination of royal jelly freshness by ELISA with a highly specific anti-apalbumin 1, major royal jelly protein 1 antibody. *Journal of Zhejiang University Science B* 16: 155-166.
- Simuth J. 2001. Some properties of the main protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Apidologie* 32: 69-80.
- Simuth J, Bilikova K, Kovacova E, Kuzmova Z, Schroder, W. 2004. Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: Physiologically active royal jelly protein stimulating TNF-alpha release is a regular component of honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 2154-2158.
- Tamura S, Amano S, Kono T, Kondoh J, Yamaguchi K, Kobayashi S, Ayabe T, Moriyama T. 2009a. Molecular characteristics and physiological functions of major royal jelly protein 1 oligomer. *Proteomics* 9: 5534-5543.
- Tamura S, Kono T, Harada C, Yamaguchi K, Moriyama T. 2009b. Estimation and characterisation of major royal jelly proteins obtained from the honey bee *Apis mellifera*. *Food Chemistry* 114: 1491-1497.
- Temamoğulları KF, Aral F, Demirkol R. 2006. Erkek farelerde arı sütünün uzun süreli uygulanmasının bazı spermatolojik özellikler üzerine etkisi. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 20 (5): 341-344.
- Wang X, Cook LF, Grasso LM, Cao M, Dong Y. 2015. Royal Jelly-Mediated Prolongevity and Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans* Is Possibly Modulated by the Interplays of DAF-16, SIR-2.1, HCF-1, and 14-3-3 Proteins. *Journals Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 70 (7): 827-838.
- Wytrychowski M, Chenavas S, Daniele G, Casabianca H, Batteau M, Guilbert S Brion. 2013. Physicochemical characterisation of French royal jelly: Comparison with commercial royal jellies and royal jellies produced through artificial bee-feeding. *Journal of Food Composition and Analysis* 29 (2):126-133.
- Xin XX, Chen Y, Chen D, Xiao F, Parnell LD, Zhao J, Shen LR. 2016. Supplementation with Major Royal-Jelly Proteins Increases Lifespan, Feeding, and Fecundity in *Drosophila*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64(29): 5803-5812.
- Xue X, Wu L, Wang K. 2017. Chemical Composition of Royal Jelly. In: Alvarez-Suarez JM, ed. *Bee Products-Chemical and Biological Properties*. Cham: Springer International Publishing, pp:181-190.
- Zheng HQ, Hu FL, Dietemann V. 2011. Changes in composition of Royal Jelly harvested at different times: consequences for quality standards. *Apidologie* 42: 39-47.