

PM 139

***Saccharomyces cerevisiae*'da Glikolitik Mutasyonların Üremeye ve İnvertaz Aktivitesine Etkileri**

Tülay TURGUT GENÇ, Sezai TÜRKEL², M. Tekin BABAÇ³, Esin KANIK³

¹Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, 17100, Çanakkale

³Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, 14280, Bolu

²Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 16059, Görükle, Bursa
esinkanik@hotmail.com

Ortamda bulunan değişik karbon kaynaklarının alınması ve kullanılması *Saccharomyces cerevisiae*'nin üremesi ile yakından ilişkilidir. İnvertaz (E.C. 3.2.1.26) sukrozun ve rafinozun parçalanmasını sağlayan bir enzimdir. *S. cerevisiae*'da invertaz glikozillenmiş olarak periplazmik alanda ve glikozillenmemiş olarak sitoplazmik alanda olmak üzere iki farklı formda bulunmaktadır. İnvertazın her iki formu da SUC2 geni tarafından kodlanır.

Bu araştırmada *gcr1*, *gcr2*, *gcr3*, *rap1*, *snf4* ve *hxt1-7* mutasyonlarının üreme hızına ve invertaz aktivitesine olan etkileri araştırılmıştır. *Gcr* genlerinden kodlanan transkripsiyon faktörleri olan *Gcr1p* ve *Gcr2p* heterodimer oluşturup glikolitik genlerin transkripsiyonunun aktivasyonu için gereklidir. *Gcr1p* ayrıca *Rap1p* ile de etkileşerek glikolitik genlerin aktivitesini düzenlemektedir. Araştırmamızda önce SUC2 geninin transkripsiyonu için fonksiyonel glikolitik yolun gerekli olup olmadığını incelendi. *Gcr* faktörlerini sentez edemeyen ve dolayısıyla glikolitik yolu %1 seviyesinde işlediği bilinen mutant mayalar ve onların izogenik yaban tipleri zengin ve minimal besi ortamlarında, farklı karbon kaynaklarında (%2 glikoz, %2 gliserol, %2 sukroz ve %2 maltoz) üretilerek üreme hızları belirlendi. Daha sonra aynı üreme şartlarına üretilen mutant ve yaban tip maya suşlarında invertaz aktiviteleri belirlendi. İnvertaz sentezi glukoz baskılaması ile kontrol edildiğinden maya suşları zengin besi ortamında glukoz repres (%2 glikoz) ve derepres (%0.1 glikoz) şartlara geçirilip invertaz aktiviteleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar glikolitik genlerin transkripsiyonunu kontrol eden transkripsiyon faktörlerinin üremeyi ve invertaz aktivitesini pozitif olarak etkilediğini gösterdi.

S. cerevisiae'da glukozun hücre içine alımı da HXT (Hexose Transporter) genleri tarafından kodlanan taşıyıcılar tarafından yapılmaktadır. *S. cerevisiae*'da yaklaşık 20 farklı HXT ve benzeri gen belirlenmiştir. Fakat bu genlerden ilk 7 tanesi (HXT1-HXT7) normal seviyede glukoz alımı için

yeterlidir. Bu nedenle *hxt1-hxt7* mutant suşlarında glukoz alımı çok düşük seviyede olup glukoz içeren ortamda sağlıklı olarak üreyemezler. *S. cerevisiae*'da glukoz alımının invertaz sentezi için gerekli olup olmadığı da mutant suş kullanılarak araştırıldı. *S. cerevisiae*'da *hxt1-hxt7* mutantlarında üreme olumsuz etkilenirken invertaz aktivitesinde değişim görülmedi. Kontrol olarak kullanılan SNF4 geninin sukroz içeren besi ortamında üreme için gerekli olduğu ve repres-derepres ortamlarda invertaz aktivitesini pozitif olarak etkilediği belirlendi. Elde edilen sonuçlar SUC2 geni anlatımının glikolitik iz yolunun işleyişine ve glikozun aktif olarak hücre içine alım hızına göre kontrol edildiğini göstermektedir.

PM 140

***Geobacillus* sp. 7.1 Bakterisinden Termofilik Ksilanaz Geninin Klonlanması, Ekspresyonu ve Karakterizasyonu**

Kadriye İNAN, Murat KAÇAĞAN, Zeliha CEVHER, Fatmagül ALTIN, A. Osman BELDÜZ, Sabriye ÇANAKÇI

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon
inank@ktu.edu.tr

Aydın Ömerbeyli kaplıcasından yapılan çalışmalar neticesinde termofilik bir *Geobacillus* sp. 7.1 bakterisi izole edilmiştir. Daha sonra bu izolat üzerinde yapılan çalışmalarla bu yeni izolatın Ksilanaz enzimine sahip olduğu ortaya çıkarıldı.

Geobacillus sp. 7.1 suşunun ksilanaz geninin belirli bir bölümü iki adet dejenerat primer kullanılarak genomik DNA'dan çoğaltıldı. Elde edilen 669b bp'lik fragment pGEM-T Easy vektörüne klonlanarak sekans ettirildi. Elde edilen bu bölgeden yola çıkılarak genin tüm sırasının elde edilmesi amacıyla invers PCR primerleri dizayn edilerek genin tüm sırası elde edildi. Yapılan sekanslar neticesinde genin 1224 bp'lik bir ORF'ye sahip olduğu ve 407 amino asitten oluştuğu tespit edildi.

Gen, pET-28a vektörünün HindIII ve EcoRI bölgesine His-Taq kuyruk içerecek şekilde klonlanarak E.coli BL21 (DE3) hücrelerine transforme edildi. IPTG ile indüklenerek protein T7 promotörü altında üretildi ve Promega His Taq protein saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırıldı. Saflaştırılan enzim ile bazı karakterizasyon işlemleri gerçekleştirildi. Rekombinant enzimin karakterizasyonunda %1'lik ksilan substrat olarak kullanıldı. Enzimin aktivitesi 50 mM fosfat tamponu içinde hem spektrofotometrik olarak hem de SDS-PAGE'de zimogram olarak gösterildi.

Anahtar Kelimeler: *Geobacillus* sp. 7.1, termofilik alkalin, ksilanaz

PM 141

***Anoxybacillus* sp. 13K Bakterisinden Termofilik rabinofuranosidaz Geninin Klonlanması, Ekspresyonu ve Karakterizasyonu**

Pınar YEŞİLGİL¹, Kadriye İNAN², Murat KAÇAĞAN², Sabriye ÇANAKCI², Ali Osman BELDÜZ²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Rize Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 53100, Rize

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon

Aydın Alangüllü kaplıcasından termofilik yeni bir *Anoxybacillus* sp. 13 k bakterisi izole edildi. Yürütülen çalışmalarla bu yeni izolatin arabinofuranosidaz enzimine sahip olduğu belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışma neticesinde *Anoxybacillus* sp. 13K suşunun arabinofuranosidaz geni dejenere iki adet primer kullanılarak genomik DNA'dan çoğaltıldı ve pGEM-T Easy vektörüne klonlanarak sekans ettirildi. Elde edilen bu bölgeden yola çıkılarak genin tüm sırasının elde edilmesi amacıyla invers PCR primerleri dizayn edilip genin tüm sırası elde edildi.

Gen, pET-28a vektörünün *NdeI* ve *HindIII* bölgesine His-Taç kuyruk içerecek şekilde klonlanarak *E. coli* BL21 (DE3) hücrelerine transforme edildi. Protein T7 promotörü altında IPTG ile indüklenerek üretildi ve Promega His Taç protein saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırıldı. Saf enzim ile tüm karakterizasyon işlemleri gerçekleştirildi. Rekombinant enzimin karakterizasyonunda, p-nitrofenil α -L-arabinofuranoside substrat olarak kullanıldı. Enzimin aktivitesi 50 mM fosfat tamponu içinde hem spektrofotometrik olarak hem de native jelde florojenik olarak gösterildi.

Anahtar Kelimeler: *Anoxybacillus* sp. 13K, Termofilik Abf, p-nitrofenil α -L-arabinofuranoside

PM 142

Bakteriyel Hemoglobin Geni Klonlanmış *Pseudomonas aeruginosa*'nın Aromatik Maddeler Varlığında Üremesinin Araştırılması

Hüseyin KAHRAMAN, Hikmet GEÇKİL
İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,44280, Malatya
hkahraman@inonu.edu.tr

Önemli çevresel kirleticiler olan benzen, CDNB, ksilen ve toluen gibi aromatik maddeler, toksisitelerinden dolayı doğal biyolojik populasyonlar ve çevre için önemli risk oluşturmaktadır. Bu maddelerin bakteriyel yıkımı üzerine yapılan çalışmaların pek çoğunda zengin ortam kullanılmış ve etkin olarak bu tip aromatik maddelerin bütün bileşenlerini yıktığı bilinen herhangi bir bakterinin saf suşunun olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* ve onun *Vitreoscilla* hemoglobin (VHb) geni (vgb) kopyalanmış rekombinant suşu (PaJC) kullanılarak, aromatik maddelerin biyolojik yıkımı ve biyokütle miktarına olan etkisi karşılaştırılmalı olarak çalışılmıştır. Aromatik bileşiklerin mikrobiyal yıkımında oksijenin sınırlayıcı rol oynaması nedeniyle kullandığımız ve oldukça etkili bir oksijen alım sistemi olan VHb'inin bu bakteriye benzoik asit ve ksilen içeren bazı ortamlarda *P. aeruginosa*'ya göre daha hızlı üreme özelliği kazandırdığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel hemoglobin, *Pseudomonas aeruginosa*, aromatik madde yıkımı

PM 143

Karadeniz'den İzole Edilen Antibiyotik Dirençli Koliform Bakterilerde İntegron Gen Kasetleri

Feyza ÇOLAKOĞLU, Osman Birol ÖZGÜMÜŞ,
Cemal SANDALLI, Şengül ALPAY KARAOĞLU
Rize Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Fen-Edebiyat
Fakültesi, 53100 Rize
microbsman@yahoo.com

Bu çalışmada Karadeniz'in kuzeydoğu sahilinden sağlanan deniz suyundan izole edilen 43 koliform bakterinin çeşitli antibiyotik gruplarına karşı hassasiyetleri disk difüzyon yöntemiyle belirlendi. Bir veya daha fazla sayıda antibiyotiğe karşı dirençli 18 izolatta polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile sınıf 1 ve sınıf 2 integron gen kasetleri araştırıldı. Ampisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, streptomisin, trimetoprim ve sulfametoksazole karşı dirençli iki *Escherichia coli* izolatının birinin 2.0-kbp büyüklüğünde sınıf 1 integron gen kaseti ve diğerinin 2.2-kbp