



19.  
ULUSLARARASI  
KATILIMLI  
ULUSAL  
BİYOTEKNOLOJİ  
KONGRESİ

1-3 ARALIK 2017  
ESKİŞEHİR



**19.**

**ULUSLARARASI KATILIMLI  
ULUSAL BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ**

**BİLDİRİLER KİTABI**

[www.biyoteknoloji.org.tr](http://www.biyoteknoloji.org.tr)

[www.biyoteknolojikongre.com](http://www.biyoteknolojikongre.com)

**1-3 Aralık 2017, ESKİŞEHİR**

## İÇİNDEKİLER

<b>Düzenleme Kurulu</b>	II
<b>Bilim Kurulu</b>	III
<b>Özet Program</b>	IV
<b>Davetli Konuşmacı Bildirileri</b>	2
<b>Biyomühendislik</b>	
Sözlü Sunumlar.....	4-16
Poster Sunumlar.....	17-34
<b>Çevre Biyoteknolojisi</b>	
Sözlü Sunumlar.....	36-44
Poster Sunumlar.....	45-49
<b>Endüstriyel Biyoteknoloji</b>	
Sözlü Sunumlar.....	52-67
Poster Sunumlar.....	68-74
<b>Gıda Biyoteknolojisi</b>	
Sözlü Sunumlar.....	76-82
Poster Sunumlar.....	83-95
<b>Hayvansal Biyoteknoloji</b>	
Sözlü Sunumlar.....	98-102
Poster Sunumlar.....	103-107
<b>Nanobiyoteknoloji</b>	
Sözlü Sunumlar.....	110-118
Poster Sunumlar.....	119-121
<b>Tarımsal Biyoteknoloji</b>	
Sözlü Sunumlar.....	124-140
Poster Sunumlar.....	141-156
<b>Tıbbi Biyoteknoloji</b>	
Sözlü Sunumlar.....	158-169
Poster Sunumlar.....	170-179

**19.**  
**ULUSLARARASI KATILIMLI**  
**ULUSAL BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ**  
**1-3 Aralık 2017, ESKİŞEHİR**

**Düzenleme Kurulu Başkanı**

Prof. Dr. Hüseyin Avni ÖKTEM

Orta Doğu Teknik Üniversitesi

**Düzenleme Kurulu Üyeleri**

Prof. Dr. Ahmet ÇABUK

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ

Konya Gıda Tarım Üniversitesi

Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ

Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Füsun EYİDOĞAN

Başkent Üniversitesi

Doç. Dr. Figen ÇALIŞKAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Doç. Dr. İlknur DAĞ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Doç. Dr. Pınar AYTAR ÇELİK

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Doç. Dr. Remziye YILMAZ

Hacettepe Üniversitesi

Doç. Dr. Sertaç EROĞLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Doç. Dr. Ümit ŞİRİN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Araş. Gör. Onur BULUT

Konya Gıda Tarım Üniversitesi

Uzm. Bio. Gökhan GÜNGÖRMEDİ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

\* Düzenleme kurulu üyeleri isimlerine göre alfabetik olarak sunulmuştur.

## BİLİM KURULU

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN	Prof. Dr. Meral ÖZGÜÇ
Prof. Dr. Adnan AYHANCI	Prof. Dr. Meral YÜCE
Prof. Dr. Ahmet ÇABUK	Prof. Dr. Mithat BOZDAYI
Prof. Dr. Ahu ALTUNKUT UNCUOĞLU	Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK
Prof. Dr. Aykut ÖZKUL	Prof. Dr. Nazif KOLONKAYA
Prof. Dr. Aysel UĞUR	Prof. Dr. Necdet SAĞLAM
Prof. Dr. Cengizhan ÖZTÜRK	Prof. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN
Prof. Dr. Cesare MONTECUCCO	Prof. Dr. Nermin GÖZÜKIRMIZI
Prof. Dr. Cumhuri ÇÖKMÜŞ	Prof. Dr. Neşe KIRIMER
Prof. Dr. Edgar DANTAN GONZALES	Prof. Dr. Nezh HEKİM
Prof. Dr. Ekrem GÜREL	Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ
Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ	Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA
Prof. Dr. Emir CANSUNAR	Prof. Dr. Sedef TUNCA GEDİK
Prof. Dr. Ayhan PİŞKİN	Prof. Dr. Semra İLHAN
Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ	Prof. Dr. Semra MİRİCİ
Prof. Dr. Fazilet VARDAR SÜKAN	Prof. Dr. Sezen ARAT
Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN	Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU
Prof. Dr. Füsün EYİDOĞAN	Prof. Dr. Şule ARI
Prof. Dr. Gamze TORUN KÖSE	Prof. Dr. Ufuk BAKIR
Prof. Dr. Gerardo CORZO	Prof. Dr. Vasıf Nejat HASIRCI
Prof. Dr. Gülay ÖZÇENĞİZ	Prof. Dr. Yavuz BEYATLI
Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR	Prof. Dr. Zümrüt Begüm ÖGEL
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI	Doç. Dr. Belgin KARABACAKOĞLU
Prof. Dr. Haluk HAMAMCI	Doç. Dr. Bülent İÇGEN
Prof. Dr. Haralambos STAMATIS	Doç. Dr. Didem TURGUT ÇOŞAN
Prof. Dr. Hilal ÖZDAĞ	Doç. Dr. Macit NURBAŞ
Prof. Dr. Hüseyin Avni ÖKTEM	Doç. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Prof. Dr. İhsan GÜRSEL	Doç. Dr. Remziye YILMAZ
Prof. Dr. İsmail KARABOZ	Doç. Dr. Veli Çengiz ÖZALP
Prof. Dr. İsmail TÜRKAN	Doç. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ
Prof. Dr. Kıymet GÜVEN	Yrd. Doç. Dr. Abdullah Tahir BAYRAÇ
Prof. Dr. Mehmet AKAN	Yrd. Doç. Dr. Ceren BAYRAÇ
Prof. Dr. Mehmet Yakup ARICA	Dr. Blanca Ines Garcia GOMEZ
Prof. Dr. Melek ÖZKAN	Dr. Laszlo M. SZABADOS

\*Bilim kurulu üyeleri isimlerine göre alfabetik olarak sunulmuştur.

# Özet Program

## *01 Aralık 2017 Cuma*

08:30 – 10:00	Kayıt
10:00 – 10:30	Açılış
10:30 – 11:35	Davetli Konuşmacı
11:35 – 11:50	Çay – Kahve Arası
11:50 – 12:15	Posterlerin Asılması
12:15 – 13:15	Yemek
13:30 – 14:30	Sözlü Sunumlar
14:30 – 15:00	Çay – Kahve Arası
15:00 – 15:30	Davetli Konuşmacı
15:30 – 17:00	Poster Sunumları ve Tartışma
19:00	Kongre Açılış Yemeği

## *02 Aralık 2017 Cumartesi*

09:00 – 10:15	Sözlü Sunumlar
10:15 – 10:45	Çay – Kahve Arası
10:45 – 11:45	Sözlü Sunumlar
11:45 – 13:30	Yemek
13:30 – 15:00	Poster Sunumları ve Tartışma
15:00 – 16:15	Sözlü Sunumlar
16:15 – 17:00	Davetli Konuşmacı
19:00	Gala Yemeği

## *03 Aralık 2017 Pazar*

10:00 – 11:00	Sözlü Sunumlar
11:00 – 12:00	Kapanış ve Sunum Ödülleri
12:00	Gezi

**DAVETLİ KONUŞMACI  
BİLDİRİLERİ**

# Gene Mining in Model and Halophytic Plants: Functional Identification of Stress Regulatory Genes by Random Gene Transfer and Large-Scale Genetic Screens

László Szabados<sup>1</sup>, Gábor Rigó<sup>1</sup>, Ildikó Valkai<sup>1</sup>, Dóra Faragó<sup>1</sup>, Edina Kiss<sup>1</sup>, Csaba Koncz<sup>2</sup>, Sara Van Houdt<sup>3</sup>, Nancy Van de Steene<sup>3</sup>, Matthew A. Hannah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Biological Research Centre, 6726-Szeged, Hungary*

<sup>2</sup>*Max-Planck-Institute for Plant Breeding, D-50829 Köln, Germany*

<sup>3</sup>*Bayer CropScience, 9052-Ghent, Belgium*

[szabados@brc.hu](mailto:szabados@brc.hu)

## Abstract

Extreme environmental conditions limit plant growth and impose abiotic stress to plants. Adaptation of plants to suboptimal conditions requires extensive molecular reprogramming leading to major changes in metabolic, proteomic and transcript profiles. Research on *Arabidopsis thaliana* has identified a number of regulatory genes, which control the pathways linking stress perception and metabolic or developmental responses. Study of a stress sensitive model has however limitations in understanding tolerance to harsh environments. Extremophile plants, such as xerophytes and halophytes can grow in arid regions or on saline soils, which are otherwise lethal to non-adapted species. Such species are valuable sources of tolerance-related genes, which can help to understand the mechanism of adaptation and subsequently improve stress tolerance of crops.

The Conditional cDNA Overexpression System (COS) was previously developed in our laboratory for functional identification of stress regulatory genes in the model plant *Arabidopsis thaliana*. Using the COS system, several novel stress-related *Arabidopsis* genes were identified, including the Heat Shock Factor A4A, which could enhance salt and oxidative stress tolerance upon overexpression, the Zinc Finger 3 (ZFP3) factor, regulating abscisic acid (ABA) sensitivity and the ERFVII-type transcription factor RAP2.12 which control responses to low oxygen, oxidative and osmotic stresses. To identify novel stress-related genes in an extremophile plant, the COS system was adapted to *Lepidium crassifolium* a halophytic relative of the glycophyte *Arabidopsis*. The modified COS cDNA library was transferred from salt-stressed *L. crassifolium* plants to *Arabidopsis*. By screening for salt, osmotic and oxidative stress tolerance through *in vitro* growth assays and non-destructive chlorophyll fluorescence imaging, 20 *Arabidopsis* lines were identified with superior performance under restrictive conditions. Several cDNA inserts from *L. crassifolium* were cloned and confirmed to be responsible for the enhanced tolerance. Examples include cDNAs encoding proteins with high homologies to GDSL-lipase/esterase or acyl CoA-binding protein or proteins without known function, which could confer tolerance to one or several stress conditions.

Our results demonstrate, that random gene transfer from stress tolerant to sensitive plant species is a valuable tool to discover novel genes with potential for biotechnological applications.

**Acknowledgements:** This research was supported by OTKA grant NN-110962, NKFI grant NN-118089 and Bayer CropScience.



# **BİYOMÜHENDİSLİK**

## Kanser Metastazında Mir-145-3p'nin Biyobelirteç Olarak Kullanım Potansiyelinin Araştırılması

Gizem Örs<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>3</sup>, Sultan Gülce İz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı, İzmir

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir

[gizemors1@gmail.com](mailto:gizemors1@gmail.com)

### Giriş

MikroRNA'lar (miRNA), hedef mRNA'nın yıkımını ya da translasyonunun baskılanmasını gerçekleştirerek post-transkripsiyonel seviyede gen ekspresyonunu düzenleyen, kodlanmayan RNA molekülleridir. miRNA'lar, mRNA'nın 3'UTR bölgesinde hedef transkripti ile baz eşleşmesi yaparak, bağlandığı transkriptlerin translasyonunu farklı mekanizmalar üzerinden baskırlar. Bu baskılama ile miRNA'ların onkogenleri susturma, metastazı inhibisyonu, metastazı indükleme, ilaç direnç mekanizmaları gibi rolleri vardır. Bu çalışmada, miR-145-3p'nin kanser metastazındaki rolünün belirlenmesi, tümör süpresör özelliğinin kanıtlanması ve meme, akciğer ve prostat kanserlerinin teşhis ve tedavisinde öneminin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Meme, akciğer ve prostat kanseri miRNA ekspresyon profillerini içeren 6 adet data seti rank-tabanlı meta analiz yaklaşımı ile incelenmiştir. Meta analiz yöntemi kullanarak ortak eksprese olduğu belirlenen miR-145-3p'nin aynı dokulardan türelenen hücre hatlarının, normoksi ve hipoksi (%1 O<sub>2</sub>, %5 CO<sub>2</sub> ve % 94 N<sub>2</sub>, 48 saat) şartlarında, ayrıca serum yoksunluğunda metastazı indüklenerek, ekspresyon seviyeleri karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve biyobelirteç olarak kullanım potansiyellerinin araştırılmıştır. miR-145-3p'nin kanser metastazında potansiyel rolünün kanıtlanması ve meta-analiz sonuçlarının doğrulanması için, meme (MCF10A, MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-453), akciğer (A549, NCI-H82, MRC5) ve prostat (PC3, LNCAP, DU 145, RWPE-1) hücre hatlarının meta-analiz ile belirlenen miRNA datalarında karşılaştırılması Ct yöntemi olan 2<sup>-ΔΔCt</sup> analiz istatistik yöntemi kullanılmıştır.

### Bulgular

Seçilen 6 data setinde meta analiz yöntemi ile ortak 24 adet miRNA bulunmuş, listede ilk sırada bulunan mir-145-3p seçilmiştir. qRT-PCR sonuçlarında, beklenildiği gibi hipoksi koşulları kanser hücre hatlarında metastazı indüklemiş ve istatistiksel olarak anlamlı Ct değerleri vermiştir. Ancak, serum yoksunluğunda inkübe edilen hücre hatlarında istatistiksel olarak anlamsız Ct değerleri elde edilmiştir. Kanser hücre hatlarının ekspresyon verileri, normal hücre hatları ile karşılaştırıldığında miR-145-3p'nin kanser hücrelerinde ekspresyonu azalmış, normal hücre hatlarında ise ekspresyonu artmıştır. Hem literatür hem de meta analiz sonuçlarında görüldüğü gibi miR-145-3p'in tümör süpresör bir biyobelirteç potansiyeli taşıdığı görülmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

Aynı dokulardan türelenen hücre hatlarında miR-145-3p'nin ekspresyon verileri, istatistiksel olarak elde edilen verilerle doğrulanmıştır. Sonuçlar, miR-145'nin kanser metastazında biyobelirteç olarak kullanım potansiyelini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** mikroRNA, meme kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri, meta-analiz

## Kişiy Özel İmplant Tasarımında 3 Boyutlu Yazıcıların Kullanımı

Ahu Çelebi<sup>1</sup>, Suna Çetin<sup>2</sup>, Halil Tosun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Üretim Metalurjisi Anabilim Dalı, Manisa

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Güzel Sanatlar Fakültesi, Seramik Anabilim Dalı, Adana

<sup>3</sup>Eshot Genel Müdürlüğü, İzmir  
[ahu.celebi@cbu.edu.tr](mailto:ahu.celebi@cbu.edu.tr)

### Giriş

Bu çalışmada 3B (Üç boyutlu) yazıcıların implant tasarım sürecinde nasıl kullanıldığı ve olası bir kullanım yöntemi için 3B lazer tarama ile kontrolü de içeren uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Çalışmada sağ gözaltı bölgesine darbe almış bir hastanın kafatasının, bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüsünün verileri digital ortamda tekrar ele alınarak düzenlenmiştir. Düzenlenen verilerin, Polimerik (PLA) malzeme ile 3B yazıcıyla yazdırma işlemi gerçekleştirilmiştir. 3B yazıcıyla yazdırılan kafatasının ölçüsel olarak güvenilir olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca hasarlı olan bu bölgeye uygun olarak bilgisayar ortamında tasarımı yapılan Ti-6Al-4V biyouyumlu malzemeden protez tasarlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Kafatasında hasar oluşan bir hastanın bilgisayarlı tomografi görüntüsü alınmıştır. Yeniden tasarımda (rekonstrüksiyon) bir tersine mühendislik tasarım programı olan Geomagic Design X (2016) programı kullanılmıştır. Yazıcı tablası ile 45 derece üzeri açı yapan kısımlarda çıktıda eğrilmeler meydana gelmemesi için destek malzemesi atanmıştır. Yazdırma işlemi FDM tipi bir yazıcı olan Leapfrog Creatr HS 3B yazıcıda gerçekleştirilmiştir. Modelin 3B yazıcıdan 1/1 olarak başarılı bir şekilde imalatı yazıcıyla yaklaşık 31 saat sürmüştür. Yazdırma işlemi, 50 mikron katman kalınlığı, % 25 doluluk oranı ile yaklaşık 180 gram beyaz renkli PLA (Polilaktik Asit) malzeme kullanılarak yapılmıştır. Geomagic Design X programında hasarlı bölge için implant tasarımı yapılmıştır. Oluşturulan eskize ölçüler ve kalınlık verilerek implant modeli tamamlanmıştır. Oluşturulan model “.dxf” uzantılı hale getirilip Ti-6Al-4V sac malzemeden lazerle kestirilerek hazırlanmıştır.

### Bulgular

Çalışmada bir hastanın BT görüntülerinden yararlanılarak hasarlı bölgenin 3B yazıcı ile çıktısı alınmış ve yine BT verileri üzerinden tasarımı gerçekleştirilen implantın 3B çıktı üzerine tespiti yapılmıştır. Uygulama sonunda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır: • BT verileri üzerinden BDT programları ile başarılı şekilde yeni dijital modeller üretilebilmektedir. • FDM tipi 3B yazıcıların BT verilerinden elde edilen dijital modellerin 3B lazer tarayıcı ile kontrolünde yeterli hassasiyette üretilmesi gerçekleştirilebilmiştir. • 3B yazıcıların protez, ortez vb. imalatı dışında BT tarama görüntülerinin çıktıları alınarak da cerrahi operasyonlara yardımcı şekilde kullanılabilir.

### Sonuç ve Tartışma

3B çıktılar ile implant tasarımı öncesindeki tetkik amaçlı cerrahi operasyon zorunluluğunu ortadan kaldıracak ve sürecin hasta lehine iyileştirilebileceği, cerrahi operasyon sürecinin daha kısa sürede yapılabileceği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** 3B yazıcı, implant tasarımı, bilgisayarlı tomografi

**Teşekkür:** ESHOT Genel Müdürlüğüne katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## **Poli-l-lizin Kaplı Manyetik Nanokürelere Dna İmmobilizasyonunda Farklı Adsorpsiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması**

Ceren Bayraç<sup>1</sup>, Gülnur Camızcı<sup>1</sup>, Ecem Sarıkaya<sup>1</sup>, Merve Varçin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Karaman*

[camizci.gulnur@gmail.com](mailto:camizci.gulnur@gmail.com)

### **Giriş**

Nanoboyutlu malzemeler üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda büyük bir gelişme göstermektedir. Nanokürelere biyoteknolojide biyosensör ya da saflaştırma yöntemleri gibi alanlarda kullanılmaktadır. Yüzeylerinin çeşitli biyoajanlarla kaplanabilmesi ve manyetik özellik göstermesi nedeniyle bu yapılar biyomolekülleri yakalamak için kullanılan hızlı ve basit ayırma yöntemlerinin temelini olmuştur. Bu çalışmanın amacı, fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon yöntemleri ile DNA moleküllerinin poli-l-lizin kaplı manyetik kürelere immobilizasyonunu sağlamak ve verimleri karşılaştırmaktır. Sonuçta elde edilen veriler bir sonraki çalışma olan DNA kaplı manyetik kürelere ile kontamine gıdalardan bakteri yakalama sistemi için ön bilgi sağlamaktadır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

18-28 nm boyutunda manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> küreler poli-l-lizin solüsyonu ile inkübe edilmiş yüzeyleri NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupları ile kaplanmıştır. İmmobilizasyonu öncesi poli-l-lizin kaplı küreler su ile iki kere yıkanmıştır. İyonik bağ ile DNA immobilizasyonu için modifiyesiz 80 baz uzunluğunda DNA dizisi iki farklı sıcaklıkta küreler ile inkübe edilmiş bağlanmayan DNA molekülleri ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Kovalent bağ ile DNA immobilizasyonu için tiyol grup işaretli 80 baz uzunluğunda DNA çapraz bağlayıcı (N-[ε-maleimidocaproxyloxy] sulfosuccinimide ester) ve indirgeyici madde (tris (2-carboxyethyl) phosphine) ile ön inkübasyondan sonra manyetik kürelerin yüzeyine uygulanmıştır. İki yonteme ait DNA immobilizasyon verimleri verilen formülle hesaplanmıştır. İmmobilizasyon verimi (%)=(Co-Cf)/Co\*100, Co inkübasyon öncesi, Cf inkübasyon sonrası DNA miktarıdır.

### **Bulgular**

Kaplama işleminde 0,5-10 µg/ml aralığında manyetik küreler kullanılarak optimizasyonu yapılmış ve 10 µg/mL küre ile % 87 adsorpsiyon verimi elde edilmiştir. Poli-l-lizin miktarında en yüksek adsorpsiyon verimi % 0,0125 poli-l-lizin içeren çözeltide elde edilmiştir. Fiziksel adsorpsiyon yöntemi ile DNA immobilizasyon deneyleri sonucunda DNA konsantrasyonu için optimum değer olarak 1 µM DNA seçilmiştir. Kovalent bağ ile DNA immobilizasyonunda 0,01 µM DNA ile en yüksek bağlanma verimi % 99 olarak bulunmuştur.

### **Sonuç ve Tartışma**

Proje sonucunda manyetik küreleri poli-l-lizin ile kaplama ve bu yüzeye DNA immobilizasyonu hem iyonik bağ hem de kovalent bağ ile gerçekleştirilmiştir. Kovalent bağ ile kimyasal adsorpsiyon yöntemi yüksek verimde DNA immobilizasyonunu sağlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** manyetik küreler, DNA immobilizasyonu, poli-l-lizin

**Teşekkür:** Bu çalışmada TÜBİTAK'a sağlamış olduğu destekten dolayı teşekkür ederiz (2209-A Destekleme Programı)

## ***Malacosoma neustria* nükleopolihedrovirüs'ünün Komple Genom Analizi**

Dönüş Gençer<sup>1</sup>, Remziye Nalçacıoğlu<sup>1</sup>, Zihni Demirbağ<sup>1</sup>, İsmail Demir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon

[donustoy@hotmail.com](mailto:donustoy@hotmail.com)

### **Giriş**

*Malacosoma neustria* (Linnaeus, 1758) özellikle fındık, kavak, meşe ve söğüt gibi bitkilerde ve gülgiller familyasına ait çeşitli bireylerde büyük ekonomik kayıplara neden olur. Zararlı ile mücadelede daha çok kimyasal insektisitler kullanılmaktadır. Kimyasalların doğaya ve insanlara verdiği zarar nedeniyle, zararlılarla mücadelede biyolojik etmenlerin kullanılması büyük önem arz etmektedir. Doğal koşullarda enfekte olmuş *M. neustria* larvalarından bir nükleopolihedrovirüs (ManeNPV-T2) izole edilmiştir. Bu virüs mikrobiyal mücadele etmeni olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Bu çalışmada, ManeNPV-T2 izolatının komple genom haritası çıkarılmış, daha önce komple genomu belirlenen bakülovirüslerle karşılaştırılması yapılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*M. nesutria* larvalarında çoğaltılan virüsten toplam DNA izolasyonu yapıldı. Yeterli miktarda DNA (40 ng/µl) Illumina Hiseq sekanslama sistemi olan HCS (HiSeq Control Software v2.2) kullanılarak dizilendi ve ham veriler elde edildi. SOAPdenovo metodu ile kısa okunan diziler birleştirildi. Protein uzunluğu 50 aminoasitten büyük olan tahmini açık okuma çerçeveleri (ORF'ler), FGENESV0 (22) (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml>) ve NCBI ORF bulucu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) kullanılarak belirlendi. Homolog tekrar bölgelerinin (hrs) belirlenmesi için Tandem Repeats Finder ve Clustal Omega programları kullanıldı.

### **Bulgular**

ManeNPV-T2 genomu, %38.2 G+C'lik bir nükleotid dağılımı ile 130,202bp boyutunda dairesel çift sarmallı bir DNA molekülüdür. Genom, 130 ORF içermektedir ve diğer lepidoptera nükleopolihedrovirüslerle 115 ORF'si ortaktır. ManeNPV-T2'nin genomunda bakülovirüslere özgü 14, *Malacosoma* NPV türlerine özgü 7 ve ManeNPV-T2'ye özgü 8 fonksiyonu belli olmayan toplam 29 ORF belirlendi. Bazı genler, chaB, IAP-3, nikotinamid ribozid kinaz-1, ac145 ve vp80 ManeNPV-T2 genomunda çoklu kopyalar halinde mevcuttur. ManeNPV-T2 genomunda bakülovirüs türleri için spesifik üç korunmuş gen bölgesi (p6.9, Ac78 ve Ac81) eksiktir. ManeNPV-T2'nin toplam genom dizisi, NCBI GenBank'ta KY968317 erişim numarası ile bulunmaktadır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu çalışma, Türkiye'den izole edilen bir bakülovirüs izolatının komple genomu belirlenen ilk çalışmadır ve komple genomu bilinen bir mikroorganizmanın tıp, genetik, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji alanlarında kullanılma potansiyeli artmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** komple genom, *Malacosoma neustria* NPV izolatı, alfabakülovirüs

**Teşekkür:** Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, 2211-A) tarafından desteklenmektedir.

## Rekombinant Anti Her2 Antikoru Üretimi İçin Ekspresyon Vektörü Geliştirilmesi

Aytül Gül<sup>1</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

aytul.gul.89@gmail.com

### Giriş

Kanserle sıklıkla savaşılan, yaşlanan ve artan Dünya nüfusunun tedavisinde terapötik olarak monoklonal antikoların çok geniş uygulama alanı bulmaları, bu alandaki yeni antikor keşfi ve mevcut antikoların biyobenzerlerinin üretilmeleri konularındaki çalışmalara ağırlık verilmesini sağlamıştır. Yapılan bu çalışma ile insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (Her2) aşırı eksprese eden meme kanserli hastaların tedavisinde, Her2 hücre dışı domainini hedefleyen monoklonal antikor Herceptin (Trastuzumab, Roche) biyobenzerini stabil olarak salgılayan Çin hamster yumurtası (CHO, *Chinese hamster ovary*) hücre hattının geliştirilebilmesi için insanlaştırılmış anti-Her2 genini içeren bisistronik plazmit vektörleri geliştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

NCBI veri tabanından (Genbank numaraları: AHL59344.1 ve AHL59343.1) elde edilen insanlaştırılmış anti-Her2 monoklonal antikorunun ağır (HC) ve hafif zincir (LC) aminoasit dizilerine sinyal peptidi ve özgün restriksiyon enzimi kesim bölgeleri eklenerek CHO hücrelerinin kodon kullanımı için hedef genler optimize edilmiştir. Hizmet alımı ile ara vektör (pMXs) içinde sentetik olarak temin edilen optimize HC ve LC genleri tasarlanan restriksiyon enzimleri kullanılarak pIRES2-EGFP memeli ekspresyon vektörüne klonlanmıştır. Elde edilen ekspresyon vektörlerinin (pIRES2-EGFP/LC, pIRES2/HC ve pIRES2/LC/HC) içerdiği hedef genler restriksiyon enzimi ile kesim, multipleks PCR ve DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır.

### Bulgular

CHO hücrelerinde rekombinant monoklonal antikor üretimini sağlayacağı antikorun hem hafif hem de ağır zincirlerini içeren pIRES2/LC/HC vektörü ve kontrol olarak kullanılacak sadece hafif zincirini içeren pIRES2-EGFP/LC vektörü ve sadece ağır zinciri içeren pIRES2/HC vektörleri elde edilmiştir. Geliştirilen pIRES2/LC/HC vektörü CHO hücrelerinde herceptin biyobenzerinin üretimini gerçekleştirebilecektir.

### Sonuç ve Tartışma

Rekombinant monoklonal antikor teknolojisi, B-hücre dönüşümü, doku kültürü ya da bireyler için bağışıklık kazandırılmasına gerek kalmadan insan antikolarının izolasyonunu ve üretimini kolaylaştırmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** meme kanseri, rekombinant DNA teknolojisi, herceptin biyobenzeri

**Teşekkür:** Bu çalışma Aliye Üster Vakfı tarafından desteklenmiştir.

## Farklı Kavak Klonlarında Kadmiyum Stresi Altında Hsp90 Gen Ailesinin İfade Seviyelerinin İncelenmesi

Esra Nurten Yer<sup>1</sup>, Sezgin Ayan<sup>2</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü, Kastamonu

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü, Kastamonu

<sup>3</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu

[mcbaloglu@kastamonu.edu.tr](mailto:mcbaloglu@kastamonu.edu.tr)

### Giriş

Son yıllarda hiperakümülatör bitkilerin, ağır metallerle kirlenmiş alanların fitoremediasyonu için potansiyel kullanımları önem kazanmıştır. Yeşil İslah yöntemlerinin işlevselliği ağır metallerin bitki aksamalarında birikiminin moleküler düzeyde belirlenmesi sonucunda netlik kazanabilecektir. Kavak türünün kök derinliğinin, metal toplayabilme kapasitesinin yüksek olması, biyokütle üretebilme ve hızlı büyüme yeteneğinde olması bitkisel ıslah sistemlerine avantaj sağlamaktadır. Çalışmada bu amaç ile stres proteinleri olarak bilinen Isı şoku protein genleri üyesi olan Hsp90 proteinlerinin kadmiyum stresi altında ifade seviyeleri belirlenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışma materyali; Kavak (*Populus L.*) cinsine ait farklı tür ve klonlardan oluşmaktadır. Bunlar; Karakavak (*Populus nigra L.*) türüne ait Geyve, N.03.368.A klonları, I-214 (*P. euramericana* Dode. Guinier), Samsun (I-77/51- *P. deltoides* Bartr.) ve Titrek kavak (*P. tremula L.*) türleridir. Stres uygulaması için 200 mM kadmiyum sülfat hidrat ( $CdSO_4 \cdot H_2O$ ) çözeltisi hazırlanmıştır. Stres uygulaması kavak taksonlarında gerçekleşen yaprak dökümüne bağlı olarak bir ay içerisinde tamamlanmıştır. Son stresin verildiği tarihten bir gün sonra üçer biyolojik örnekleme yapılarak yaprak örnekleri toplanmıştır. Kavak genomunda tanımladığımız ve RNA-Seq verilerine bağlı olarak seçimi yapılan bazı *Hsp90* genlerine özgü ilk olarak primerler tasarlanmıştır. Primerlerin bağlanma sıcaklıkları Klasik PZR yöntemi ile belirlenmiştir. Sıcaklık optimizasyonu sonrasında, Hsp90 genlerinin qRT-PZR deney sonuçlarına göre kadmiyum stresinde oluşan moleküler cevap mekanizmaları incelenmiştir.

### Bulgular

Kadmiyum stresi altında SRP018922 transkriptom verisine bağlı kalınarak yüksek ekspresyon gösteren PtHsp90-10-12 genleri deneysel aşama için seçilmiştir. Ayrıca transkriptom verisinde düşük düzeyde ifade olan PtHsp90-07 ve PtHsp90-02 genlerinin de çalışmada belirlenen kavak klonların da gen anlatım düzeyleri tespit edilmiştir. Geyve, Samsun ve Titrek kavak klonların da seçilen PtHsp90 genlerinin ifade seviyelerinin düşük olduğu görülmüştür. Bu klonların kadmiyum stresine karşı duyarlı olabileceği saptanmıştır. N.03.368A klonun da PtHsp90-02-07-10-12 genlerinin diğer klonlara göre kadmiyum stresi koşullarında ifade seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, PtHsp90-02 -10 genlerinin N.03.368A ve I-214 klonlarında ifade düzeyi yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda bu genlerin farklı bitkilerde stres koşullarında gen ifadelerinin arttığını göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** kadmiyum stresi, Hsp90 protein ailesi, stres proteinleri, *Populus*, qRT-PZR

**Teşekkür:** Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi KÜBAP-01/2016-39 kapsamında desteklenmiştir.

## Yeni İmidazo[2,1-b]tiyazolidinon Türevlerinin Sentezi, Antikanser Aktivite ve Moleküler Modelleme Çalışmaları

Faika Başoğlu<sup>1,2</sup>, Abdulilah Ece<sup>3</sup>, Nuray Ulusoy Güzeldemirci<sup>1</sup>, Gülşen Akalın<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul*

<sup>2</sup>*Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Lefkoşa, Mersin*

<sup>3</sup>*Biruni Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul*

<sup>4</sup>*Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir*

[faika.basoglu1990@gmail.com](mailto:faika.basoglu1990@gmail.com)

### Giriş

Azot ve sülfür içeren heterosiklik yapılar, ilaç kimyasında önemli bir bileşik sınıfını oluşturmaktadır. İmidazol halkası içeren bileşikler antiviral [1], antibakteriyel [2], antifungal [3], antitüberküler [4], antikanser [5] gibi farklı birçok biyolojik aktivite göstermekte ve bu nedenle de birçok medisinal kimyacıyı ilgisini çekmektedir. Yapılan çalışmalarda aktif moleküllerin birçoğunda imidazo[2,1-b]tiyazol yapısına rastlanmıştır [6-8]. Bu nedenle imidazo[2,1-b]tiyazoller, polisiklik heterosiklikler ve/veya heterosiklikler ile türevlendirilerek ilaç adayı olabilecek yüksek aktiviteye sahip moleküller tasarlanmaya çalışılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, Fokal adhezyon kinaz (FAK) enzim inhibitörü olabilecek imidazo[2,1-b]tiyazol'un 2/4-süstitue spirotiyazolidinon türevleri hem deneysel hem de Schrödinger programı paketi kullanılarak in silico ortamda incelenmiştir.

Hedef bileşikler sentezlenip in vitro aktivitelerine bakıldıktan sonra, ilgili enzimin yüksek çözünürlükteki protein yapısı bilgisayar ortamına aktarılıp hesaplamalara hazırlanmıştır. Tüm bileşiklerin olası korformasyonları, iyonlaşma halleri de oluşturulduktan sonra, hedef enzimin tespit edilen aktif bölgesine moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmıştır.

### Bulgular

Sonuçlar deneysel veriler ile karşılaştırılmış ve ligandların aktif bölge ile yaptıkları etkileşimleri tek tek inceleyip yorumlanmıştır. Deneysel olarak aktif olduğu tespit edilen bileşiklerin moleküler kenetlenme sonucu yüksek skorlar aldığı ve hedef enzimin aktif bölgesiyle uygun etkileşimler yaptığı görülmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, deneysel ve in silico ortamdan elde edilen sonuçlar olası antikanser ilaç adaylarının sentezi ve keşfi için ışık tutmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** imidazo[2,1-b]tiyazol, antikanser, moleküler modelleme

**Teşekkür:** Proje Adı: Yeni Keton Hidrazon ve Spirotiyazolidinon Türevlerinin Moleküler Modelleme Sentez Yapı Tayini ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları Proje İÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmektedir.



## Monoklonal Antikor Üreten Rekombinant Çin Hamster Yumurtalık Hücreleri İçin Serumsuz Ortam Tasarımı

İlgin Kımız<sup>1</sup>, Öznur Özasan<sup>1,2</sup>, Duygu Ayyıldız Tamiş<sup>1,3</sup>, Saime İsmet Deliloğlu Gürhan<sup>4</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Koçak Farma, Biyoteknoloji Bölümü, Tekirdağ

<sup>3</sup>Turgut İlaçları A. Ş., Biyoteknoloji Grubu, Proses Geliştirme, İstanbul

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>5</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı, İzmir

[ilgin.kimiz@gmail.com](mailto:ilgin.kimiz@gmail.com)

### Giriş

Serum, hücrelerin büyümesi için doğal ortamı sağlarken, hayvansal kaynaklı olduğundan ve içeriği tam olarak bilinemediğinden uluslararası düzenleyici kuruluşlarca biyofarmasötiklerin üretimde serumun kullanımına izin verilmemektedir. Aynı zamanda, hücre kültürü ortamı serum yokluğunda her hücre hattı ve klon için spesifik ve serum yerine geçecek bileşenlerin optimizasyonu ürün verimini iki ile beş kat arttırmaktadır. Bu çalışmanın amacı, özellikle biyobenzer monoklonal antikor (mAb) üretiminde sıklıkla kullanılan rekombinant Çin hamster yumurtalık (rCHO) hücreleri için serumsuz ortam (SFM) geliştirmektir.

### Gereçler ve Yöntemler

Serumun yerini alabilecek ortam bileşiklerinin kültürün üremesi ve mAb üretimine etkisi sırasıyla *Plackett-Burman* ve faktöriyel tasarım istatistiksel optimizasyon programları kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, DMEM/F12 bazal ortamına rekombinant insan insülini, bitki peptonu, linoleik asit-albümini, dekstran sülfat, Pluronic F68, maya ekstraktı, L-glutamin, esansiyel olmayan aminoasit karışımı (NEAA), transferrin, sığır serum albümini (BSA) ve hipoksantin-timidin (HT) eklenerek bu maddelerin hücrelerin spesifik büyüme hızı ve mAb üretimi üzerine etkileri belirlenmiştir. En uygun kompozisyonun belirlenmesinin ardından başlangıç hücre konsantrasyonunun ve geliştirilen ortama adaptasyonun hücrelerin üreme ve mAb üretimine etkisi erlenlerde incelenmiştir. Sonuçlar ürün verimi/verimliliği açısından referans ticari ortamlar ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca üretilen mAb'ın orjinator olan HUMIRA® ile yapısal benzerliği karakterize edilmiştir.

### Bulgular

Tasarlanan ortamın bazal ortama eklenen %1 HT supplement, %0,05 MSX, 0,5 mg/L insan insülini, 5 mg/ml bitki peptonu, 0,1 mg/mL dekstran sülfat, 1 mg/mL linoleik-asit albümini, 10 mM NEAA karışımı ve 0,05 mg/mL transferinden oluştuğu belirlenmiştir. İkenleme süresini kısaltıp mAb verimliliğini artırmak için başlangıç hücre konsantrasyonunun  $3 \times 10^5$  hücre/mL olması ve hücrelerin erlene aktarılmasından önce statik kültürde 2-3 pasaj geliştirilen ortama adapte edilmesi gerektiği saptanmıştır. Geliştirilen ortam ile statik kültürdeki mAb üretiminin 271,203 mg/L; erlen üretiminde ise 388,055 mg/L olduğu hesaplanmıştır. Tasarlanan SFM ile erlenlerde üretilen mAb'ın, orjinator HUMIRA® ile yüksek yapısal benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Geliştirilen ortam "hayvansal içerik içermeyen serumsuz ortam" sınıfına dahildir. Bu çalışma sonucunda elde edilen modellerden yararlanılarak başka hücre hatlarına özel serumsuz ortam tasarımı da yapılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** serumsuz ortam tasarımı, rCHO, biyobenzer üretimi, optimizasyon

**Teşekkür:** Bu çalışma, TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı, 112M685 proje numarası ile TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı ve 2014/BIL/017 proje numarası ile Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji ve Araştırma Merkezi (EBILTEM) tarafından desteklenmiştir.

## Nanoteknolojik Adjuvan Sistemlerinin Geliştirilmesi ve Etkinliğinin Her2 Meme Kanseri Dna Aşısı Modelinde Gösterilmesi

Pelin Sağlam Metiner<sup>1</sup>, Aytül Gül<sup>1</sup>, Selami Bağlamış<sup>2</sup>, Sinan Akgöl<sup>2</sup>, Rükân Genç<sup>3</sup>, Aylin Şendemir Ürkmez<sup>4,5</sup>, Mert Döşkaya<sup>6</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>4,7</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, İzmir

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İzmir

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>5</sup>Ege Üniversitesi, Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarları, Araştırma ve Uygulama Merkezi, İzmir

<sup>6</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>7</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı, İzmir

[peлин.metiner@gmail.com](mailto:peлин.metiner@gmail.com)

**Giriş:** DNA aşıları farklı türdeki enfeksiyöz ajanlara ve çeşitli kanser türlerine karşı aşı olarak kullanılmaktadır. Fakat, daha güvenilir ve tanımlanabilir immun yanıtı uyarmalarına rağmen tek başına kullanıldıklarında, serum nükleazlar tarafından hızlı degradasyonu ve buna bağlı olarak da kısa yarı ömürleri nedeniyle istenilen seviyede yüksek immun yanıtı uyaramamaları, çeşitli stratejilerle bu immun yanıtın artırılması gerekliliğini doğurmuştur. Özellikle, yeni nanoteknolojik yaklaşımlar ile oluşturulan yüksek katyonik özellik gösteren katyonik lipid ve polimer bazlı adjuvanlar, plazmit DNAsı'nın negatif yüklü fosfat grubu ile lipopleksler ve polipeksler oluşturmakta ve bu şekilde DNA'nın hücre içine taşınımını kolaylaştırmaktadırlar.

**Gereçler ve Yöntemler:** Piyasa değeri yüksek olan adjuvan sistemlerine alternatif *in vitro/vivo* transfeksiyon çalışmaları için daha kolay ve ucuza mal edilebilecek pHEMA temelli yeni adjuvan sistemlerinin geliştirilmesi adına pHEMA-His/PEG, pHEMA-Kitosan/PEG, pHEMA-PEI/PEG ve pHEMA-DOTAP/PEG partikülleri oluşturulmuştur. Şekilsel ve boyutsal analizi, zeta potansiyeli ve partikül boyutu ölçümü yapılan adjuvanların DNA yükleme kapasiteleri de belirlenerek karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ardından, CHO-K1, MCF-7 ve TUBO hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerine bakılarak *in vitro* transfeksiyon çalışmalarında kullanılacak konsantrasyon değerleri belirlenmiştir. Çıplak DNA ve ticari satın alınan transfeksiyon ajanı kontrolünde pIRES2EGFP empty ve Her2 pozitif meme kanserine karşı yeni geliştirilen pIRES2-EGFP/DEC205ScFvMEHer2 DNA aşısı vektörü kullanılarak, pDNA/adjuvan formülasyonlarının *in vitro* transfeksiyon etkinlikleri floresan mikroskopi ve akış sitometrisi analizleri ile ölçülmüştür.

**Bulgular:** Nano boyutlarda üretilebilen pHEMA temelli adjuvan sistemlerinin, farklı pDNA/adjuvan formülasyonları oranlarında kullanılması ile çıplak DNA'ya oranla *in vitro* transfeksiyon etkinliğini arttırdığı görülmüştür. Ticari Lipofektamin 2000 ajanı ile kıyaslandığında ise; CHO-K1 ve MCF-7 hücreleri için pDNA/pHEMA-PEI polipeksinin 2:4, TUBO hücreleri için ise pDNA/pHEMA-DOTAP kompleksinin 2:6 oranının daha etkili transfeksiyon sağladığı saptanmıştır. Ayrıca, Her2 ve DEC205 hedeflemesi ile yeni geliştirilmiş DNA aşısı vektörünün transfeksiyon çalışmalarında kullanılması; % transfeksiyon etkinliği bakımından CHO-K1 hücrelerinde fark yaratmazken, Her2 ve DEC205 reseptörü açısından pozitif olan MCF-7 ve TUBO hücrelerinde etkinliği arttırmıştır.

**Sonuç ve Tartışma:** Geliştirilen pHEMA-PEI ve pHEMA-DOTAP adjuvanlarının *in vitro* laboratuvar ve büyük ölçekte gerçekleştirilecek transfeksiyon çalışmalarında ve de *in vivo* çalışmalarda gen taşınımı ajanı olarak etkili bir şekilde kullanılacakları saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** DNA aşısı, adjuvan, nanopartikül, pHEMA, kitosan, DOTAP, PEI, histidin, PEG

**Teşekkür:** Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Protokolü tarafından desteklenmiştir (BAP Protokol No: 2016MÜH018 ve 2016TIP082).

## **Ebf-ebf Alıcısı Ekseninde Kanser Hücreleri ve Makrofajların Etkileşimleri: Kemotaksis, Haptotaksis ya da Doğrudan Temas**

Sevgi Önal<sup>1</sup>, Merve Türker<sup>1</sup>, Gizem Batı Ayaz<sup>1</sup>, Devrim Pesen Okvur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü*

[sevgional1@gmail.com](mailto:sevgional1@gmail.com)

### **Giriş**

Meme kanseri hücreleri (MKH) ve makrofajların, makrofajlar tarafından üretilen epidermal büyüme faktörü (EBF) ve MKH tarafından üretilen koloni uyarıcı faktör-1 (KUF-1) aracılığıyla etkileşime girdiği bilinmektedir. Çelişkili bulgulara rağmen, bu etkileşim parakrin döngü olarak algılanır. Bununla birlikte, etkileşimin altında yatan mekanizma belirsizliğini koruyor.

### **Gereçler ve Yöntemler**

MKH ve makrofajların etkileşimlerini daha iyi anlayabilmek için, kemotaktik göç, 3B kültüre olanak veren minyatür laboratuvar aygıtları kullanılarak, büyüme etkenlerinin salgılanmaları, ELISA kullanılarak, hücre şekli, hareketi ve yapışması ile EBF alıcısı dinamikleri, canlı hücre görüntülemeleri kullanılarak incelendi.

### **Bulgular**

MKH'nin makrofajlarla etkileşimlerini 2 boyutta (2B) ve 3 boyutta (3B) araştırdık. MKH, 3B minyatür laboratuvar aygıtlarında makrofajlara kemotaksis göstermedi. İressa varlığında ve yokluğunda MKH'nin canlı hücre görüntülemesi, makrofajların MKH'nin adezyon ve motilitesini modüle ettiğini, makrofaj türevli matriksin ise etmediğini gösterdi. Matrigel ve kollajendeki 3B ortak kültür deneyleri, makrofajların varlığında, MKH'nin çok hücreli organizasyonunu değiştirdiğini gösterdi. 3B minyatür laboratuvar aygıtlarında eşli kültürde, makrofajlar sırasıyla matrigel ve kollajendeki MKH'nin migrasyonunu azalttı ve yükseltti. Ayrıca, makrofajlarla temas halinde, asılı MKH NİN aksine yapışık MKH, EBF reseptörünü endositize etti.

### **Sonuç ve Tartışma**

Kanser hücreleri ile makrofajlar arasındaki etkileşimin sırasıyla KUF-1 ve EBF'nin bir parakrin-jukstakrin halkası olduğunu önermekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** epidermal büyüme faktörü, parakrin, junkstakrin, minyatür laboratuvar

**Teşekkür:** Bu çalışma FP7 Marie Curie Grant PIRG08-GA-2010-27697 ve IYTE BAP 2011IYTE25 ile desteklenmiştir.

## Panel Fotobiyoreaktörde Fukoksantin Üretimi

Bahar Aslanbay<sup>1</sup>, İrem Deniz<sup>2</sup>, Zeliha Demirel<sup>1</sup>, Esra İmamoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>2</sup>Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Manisa

[baharaslanbay@gmail.com](mailto:baharaslanbay@gmail.com)

### Giriş

Kahverengi renkli fukoksantin molekülü ilaç, kozmetik ve gıda sektörlerinde yaygın olarak kullanılan bir karotenoiddir. Denizel ortamda yaşayan *Phaeodactylum tricornutum* mikroalgi yüksek miktarda fukoksantin taşıyan bir diatom olup hızlı üreme potansiyeli ile ticari kullanım açısından büyük avantaja sahiptir. Fukoksantin molekülünün eldesinde ilk aşama *P. tricornutum* suşunun uygun koşullarda kültivasyonudur. Fukoksantin gibi katma değeri yüksek ve değerli ürünlerin üretimi için kontaminasyon riskinden uzak ve yüksek verim elde edilebilen kapalı fotobiyoreaktör sistemlerinin kullanımı idealdir. Bu çalışmada temel amaç, *P. tricornutum* mikroalginden fukoksantin üretimi için 2 L'lik panel tipteki fotobiyoreaktörün kullanımınıdır.

### Gereçler ve Yöntemler

*Phaeodactylum tricornutum* (EGEMACC 70) suşu Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonunun (EGEMACC)'dan temin edilmiştir. İnokulasyon için hücreler 2 L'lik steril şişelerde F/2 besin ortamında kültive edilen stok kültürden santrifugasyon (1160 g, 5dk) ile toplanıp 100 ml F/2 ortamı içeren 250 mL'lik erlenlere alınmıştır. 5 gün boyunca aynı koşullarda kültivasyona devam edildikten sonra bu hücreler toplam hacmin 10%'u oranında inokulasyon için kullanılmıştır. Fotobiyoreaktör üretimi 1,6 L çalışma hacminde panel fotobiyoreaktörde gerçekleştirilmiştir. Üretim, 18 °C sıcaklıkta, 4 L.dk<sup>-1</sup> havalandırma hızıyla 55 µE m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> ışık şiddeti uygulanarak 7 gün boyunca sürdürülmüştür. Kültürden günlük alınan örneklerle hücre sayımı, kuru ağırlık, türbidimetri ve HPLC ile pigment analizleri iki paralel olacak şekilde yürütülmüştür. Ayrıca spesifik büyüme hızı, ikilenme süresi, biyokütle verimliliği gibi kinetik parametreler de hesaplanmıştır.

### Bulgular

Hücrelerin büyüme profili incelendiğinde inokulasyon sonrası kültürde hücre sayısı 0,2\*10<sup>7</sup> hücre/ml iken 7.günün sonunda bu değer 4,62±0,34\*10<sup>7</sup> hücre/ml'ye ulaşmıştır. Türbidimetrik ölçümlerde de hücre sayımıyla paralel sonuçlar görülmüştür. Üretimin asıl amacı olan fukoksantin miktarı analiz edildiğinde, kültürün ilk 5 günü boyunca artış gösteren fukoksantin miktarının hücre büyüme profili ile paralel olarak 5. günden sonra stabil hale geldiği gözlenmiştir. Maksimum fukoksantin miktarı ise 9,27±0,16 mgL<sup>-1</sup> olarak kaydedilmiştir. Kinetik parametreler hesaplandığında, spesifik büyüme hızı 0,37 gün<sup>-1</sup>, buna bağlı olarak ikilenme süresi 1,87 gün ve kuru ağırlık başına fukoksantin miktarı 1,668 mg/g hücre olarak bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, *P. tricornutum*'dan fukoksantin üretimi için panel fotobiyoreaktör son derece uygundur ancak verimin artırılması ve buharlaşma sorununun çözülmesi amacıyla ışıklandırma ve havalandırma konularında optimizasyon çalışmaları yürütülmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** fukoksantin, *Phaeodactylum tricornutum*, panel fotobiyoreaktör

**Teşekkür:** Bu çalışma, ES1408 COST aksiyonu kapsamında olup TÜBİTAK 115M014 proje kapsamında desteklenmektedir.

## ***Streptococcus pneumoniae* Anti-biyofilm Aptamerlerinin Seçilimi ve Karakterizasyonu**

Abdullah Tahir Bayrac<sup>1</sup>, Sultan İlayda Dönmez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Karaman*

[bayrac@kmu.edu.tr](mailto:bayrac@kmu.edu.tr)

### **Giriş**

*Streptococcus pneumoniae*, bakterilerin *Diplococci* sınıfının, *Lactobacillales* takımının, *Streptococcaceae* ailesine ait *Streptococcus* cinsine üye bir türdür. *S. pneumoniae* genizde kolonize olan normal flora bakterilerinden birisidir. Pnömoni kaynaklı ölümler, ABD’de ölüm nedenleri arasında 6. sırayı alırken enfeksiyonlara bağlı ölümler arasında ise 1. sırada bulunmaktadır. Aptamerler *in vitro* geliştirilen, belirli hedeflere özgü olarak seçilebilen ve hedeflerine yüksek afinite ile bağlanan genellikle deoksiribonükleik asit (DNA) veya ribonükleik asit (RNA) oligonükleotid zincirleridir. Günümüzde aptamerler yüksek seçicilik, *in vitro* üretilebilme, ucuz olma gibi taşıdıkları birçok avantajdan dolayı antikörlere alternatif oluşturmaktadır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada *S. pneumoniae*’ya karşı bakteriyel SELEX yöntemi kullanılarak aptamerler geliştirilmiştir. SELEX esnasında *S. pneumoniae* (ATCC® 49619™) hedef hücre olarak kullanılırken, *Streptococcus pyogenes* (ATCC® 19615™) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC® 19433™) negatif seçimde kullanılarak aptamerlerin özgünlüğü artırılmıştır. Yapılan 20 turluk SELEX sonrasında belirlenen farklı SELEX turları farklı barkodlarla işaretlenerek MiSeq ile dizilenmiştir. Dizileme için 150 döngülük bir kit kullanılmış 1x150 bç tek taraflı okuma ve 16 turluk indeks okuması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen aptamer dizilerinin bağlanma afinitileri ( $K_d$ ) floresans modifiye aptamerler kullanılarak belirlenmiştir. Bununla birlikte aptamerlerin hedef bakteri ve diğer bakteriler olan bağlanma etkinlikleri floresans spektroskopisi, floresans mikroskopisi ve akım sitometrisi kullanılarak da gösterilmiştir. Son olarak geliştirilen aptamerlerin *S. pneumoniae*’nın biyofilm oluşumu üstündeki etkileri belirlenmiştir.

### **Bulgular**

Aptamer seçilimi sonrasında 10 milyon 282 bin 819 farklı dizi elde edilmiştir. Aptamerlerin 3 boyutlu şekilleri, oluşturulan filogenetik ağaçta farklı kollarda yer alması ve alignment dataları değerlendirilerek 10\_1, 20\_4 ve 20\_7 isimli adaylar sentezlenmiştir. Yapılan ölçümlerde 10\_1 aptameri  $K_d=844,7\pm 123,6$  nM, 20\_4 aptameri  $K_d=1984,8\pm 347,5$  nM, 20\_7 aptameri ise  $K_d=661,8\pm 111,3$  nM’lık bir çözülüm katsayısıyla hedefi olan *S.pneumoniae*’ya bağlandığı görülmüştür. Floresans spektroskopisi, mikroskopisi ve akım sitometrisi sonucunda seçilen aptamerlerin hedef *S.pneumoniae*’ye yüksek etkinlikte ve seçicilikle bağlandığı gözlemlenmiştir. Anti-biyofilm deneyleri sonucunda 1µM Aptamer 20\_7’nin biyofilm oluşumunu %60 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu çalışmada *S.pneumoniae*’ye karşı bir SELEX yapılmış sonucunda hedef bakteriyi diğer bakterilerden ayırt edebilen özgün 3 aptamer elde edilmiştir. Elde edilen aptamerler nM aralıkta bağlanma afinitesine sahiptir ve antibiyofilm etki göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Streptococcus pneumoniae*, aptamer, SELEX, biyofilm

**Teşekkür:** Bu çalışmayı 114S856 no’lu araştırma projesi kapsamında destekleyen TÜBİTAK’a teşekkür ederiz.

## Biyokonjugasyonda Kullanılabilecek Tetrazin Fonksiyonlu Polimerlerin Sentezi

Sinem Sipahioğlu<sup>1,3</sup>, Mustafa Yasin Ateş<sup>1</sup>, Gözde Devceci<sup>1</sup>, Muhammet Übeydullah Kahveci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya - Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

<sup>3</sup>Beykent Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, Optisyenlik Programı, İstanbul

[sinemsipahioglu@beykent.edu.tr](mailto:sinemsipahioglu@beykent.edu.tr)

### Giriş

Son yıllardaki biyoteknolojik uygulamalarda gerekli olan fonksiyonel malzemelerin hazırlanmasında, yeni bir biyoortogonal konjugasyon olan tetrazin ligasyonu çok hızlı kinetiğe sahip olması ve seçici özelliği ile dikkat çekmiştir. Özellikle tetrazin reaksiyonları, bilinen en hızlı biyokonjugasyon yöntemi olması nedeniyle canlı hücre ve doku görüntüleme, PET tekniklerinde, proteomikte ve bunlara benzer etkin, hızlı bağlanmanın gerektiği uygulamalarda oldukça fazla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, tetrazin ligasyonunda kullanılabilecek polimerlerin sentezi, polimer zincirleri üzerini tetrazinle fonksiyonlandırılmaları ve elde edilen fonksiyonlandırılmış polimer tetrazinin *trans*-siklookten(TCO) ile konjugasyonu gösterilmesi amaçlanmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Tetrazin sentezinde yaygın olarak kullanılan Lewis asit katalizörlü sentetik yaklaşım kullanılmıştır. Burada iki farklı nitril grubu hidrazin ve Lewis asidi varlığında reaksiyona sokularak önce dihidrotetrazin molekülü sonra bu molekülün oksidasyonu ile tetrazin molekülü elde edilir(1).Bu çalışmada akrilonitril(AN) ile *N*-izopropilakrilamidin (NIPAAm) serbest radikal polimerizasyonu sonucu elde edilen nitril grupları direkt tetrazin sentezinde kullanılmıştır. Elde edilen tetrazin fonksiyonlu polimerlerin etkinliği en iyi partner molekül olan TCO'nun bir türeviyle reaksiyona sokularak gösterilmiştir. Bu reaksiyon tetrazinin fotokimyasal özellikleri nedeniyle UV-Vis spektroskopisi ile takip edilmiştir.Ayrıca reaksiyonun etkinliği için diğer TCO türevleri denenecektir. Elde edilecek polimerik yapılar GPC ve NMR spektroskopisi gibi tekniklerle karakterize edilmiştir.1) Yang, J., ve diğer. 2012. , *Angewandte Chemie-International Edition*,51(21),5222-5225.

### Bulgular

Poli(NIPAAm-co-AN) kopolimerindeki komonomerlerin oranı H-NMR spektrumunda 3,9 ppm ve 4,1 ppm'deki piklerin oranında 3,3 olarak belirlendi. Tetrazin fonksiyonlu polimerinin H-NMR spektrumunda tetrazin grubuna ait aromatik bölgede yeni piklerin oluştuğu gözlemlenmiştir. TCO-tetrazin IEDDA reaksiyonu UV-Vis ölçümleri 250-600 nm dalgaboyu aralığında kaydedildi ve tetrazin fonksiyonlu polimerin 450-550 nm aralığında gözlemlenmediği belirlendi. Elde edilen fonksiyonel polimer ile TCO molekülünün reaksiyonu sonucunda polimer üzerindeki tetrazin grubuna ait ışık absorpsiyonu UV-Vis spektroskopisi ile takip edilmiş ve artan TCO konsantrasyonu ile absorpsiyon şiddetinin sistematik bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

İhtiyaç duyulan etiketleme ve görüntüleme sistemlerinde kullanılabilecek polimerlerin sentezi, tetrazinle fonksiyonlandırılmaları ve elde edilen polimer tetrazin konjugasyonları örneklerinin bazı biyomoleküller üzerinde gösterilmesi amaçlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** tetrazin, *trans*-siklookten, biyoortogonal konjugasyon, fonksiyonel polimer

**Teşekkür:** Bu çalışma finansal olarak TÜBİTAK 1001 programı tarafından desteklenmiştir. (Proje # 214M175)

## Minyatür Laboratuvar Aygıtında 3 Boyutlu Hücre Kültürünün En İyileştirilmesi

Begüm Gökçe<sup>1</sup>, Devrim Pesen Okvur<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Programı, Biyoteknoloji Bölümü, İzmir*

<sup>2</sup>*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir*

[begumgokce35@gmail.com](mailto:begumgokce35@gmail.com)

### Giriş

3B hücre kültürleri in vivo hücre sel cevapları 2B hücre kültürlerine kıyasla daha iyi yansıtmaktadır. Minyatür laboratuvar (lab-on-a-chip, LOC), yarı iletken sanayisinde kullanılan nano ve mikro-fabrikasyon yöntemleri ile üretilen mikroelektromekanik sistem uygulamalarından başlayıp, kimya, biyoloji ve tıp alanlarına da uyarlanmaya başlanmıştır. LOC, örnek toplanması, işlenmesi ve analizini içeren bütün biyolojik deneme protokollerinin bir çip üzerinde gerçekleşmesini sağlayan bir platformdur. 10-100 mikrolitre boyutlarında düşük miktarlarda örnek ve ajanları işleyen mikroakışkan kanallardan oluşmaktadır. Daha az malzeme ve örneklerle zaman ve maliyet kazancı sağlayarak kullanıp atılabilir olması en önemli kullanım özelliklerindedir.

### Gereçler ve Yöntemler

UV litografi ile SU-8 kalıplar hazırlanarak üretilmiştir. Bu kalıplar PDMS yapıların oluşturulması için kullanılmış, PDMS yapılar cam yüzeylere birleştirilerek, LOC üretimi tamamlanmıştır. Kullanılan LOC paralel üç kanallıdır. Orta kanala hücreler matrigel ile birlikte yüklenerek 3B ortam oluşturulmuştur. Yan kanallar ise kültür ortamı yüklemeleri için kullanılmıştır. Çalışmada MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri kullanılmıştır. Hücre sayısının optimizasyonu amacıyla 1, 2, 4, 5,  $6 \times 10^6$  hücre/ml matrigel ile 1:1 oranda karıştırılarak çipe yüklenmiştir. Difüzyon ile ilaç ve diğer moleküllerin dağılımını ön görmek amacıyla kültür ortamı haznelere farklı renklerde floresan 3,7,10 kDa dekstran molekülleri yüklenmiştir. Ölü hücre boyamasının en iyileştirilmesi amacıyla 6-kuyucuklu petride doksorubisin(Dox) veya EtOH uygulanarak ve canlı kontrol grubu ile NucRed 647dead boyası denenmiştir. İncelemeler epi ve konfokal floresan mikroskoplarda 2B ve 3B görüntüler alınarak gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

Çalışmada hücre yoğunluğu optimizasyonu denemesi sonucunda en iyi yoğunluk değerinin  $6 \times 10^6$  hücre/ml olduğu gösterilmiştir. Dekstran deneyi sonucunda çip içinde ilaç ve diğer moleküllerin difüzyonunun gerçekleşebileceği gösterilmiştir. Uygulanan NucRed 647 dead boyası, beklenildiği gibi Dox ve EtOH uygulaması sonucu hücre ölümünün gerçekleştiği örneklerde sinyal vermiştir. Canlı kontrol gruplarında herhangi bir sinyal gözlenmemiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, minyatür laboratuvar aygıtında 3B hücre kültürünün optimizasyonu gerçekleştirilmiş olup daha sonra bu platformun ilaç deneme çalışmaları için kullanılması planlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** minyatür laboratuvar (lab-on-a-chip), meme kanseri, canlılık, difüzyon

**Teşekkür:** Devrim Pesen Okvur'un çalışmaları TÜBA GEBİP 2016 ve BAGEP GEBİP 2016 ile desteklenmektedir.

## Manyetik Alan Uygulamasının Bakteriyel Selüloz Üretimine Etkisi

Berrak Günes<sup>1</sup>, Hakan Epik<sup>2</sup>, Elif Esin Hameş<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, İzmir

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

[g.berrakgunes@gmail.com](mailto:g.berrakgunes@gmail.com)

### Giriş

Selüloz, bitki, alg ve bakteriler tarafından üretilebilen ve yeryüzünde en fazla bulunan polimerdir. Bakteriyel selüloz ise bitkisel selüloza kıyasla yüksek polimerizasyon, kristalinite ve saflık gibi özelliklerinin yanında yüksek çekme dayanımı ve su tutma kapasitesi ile son yıllarda özellikle medikal alanda önemli olmaya başlayan bir biyomalzemedir. Manyetik alan, üretim verimini arttırmak veya çeşitli modifikasyonları sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Çalışmada manyetik alan altında bakteriyel selüloz üretiminin artırılması ve ürün özelliklerindeki değişikliklerin belirlenmesi hedeflenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmanın gerçekleştirilmesi için neodimyum (NdFeB) mıknatıslar içeren deney düzeneği kurgulanarak yaptırılmış ve testleri yapılarak standardize edilmiştir. Uygulanacak manyetik alan şiddetleri 16.98, 6.52 ve 2.93 mT olarak belirlenmiştir. Bakteriyel selüloz üretiminde *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 700178 suşu, üretimlerde ise Hestrin & Schramm besiyeri kullanılmıştır. Aşı kültürü için, *G. xylinus* belirtilen besiyerinde 27°C 150 rpm'de 24-36 saat inkübe edilmiş ve %2 v/v oranında besiyerine inoküle edilerek 27°C'de statik kültürde ve manyetik alan uygulaması altında 7 gün üretimler gerçekleştirilmiştir. Üretim sonrası besin ortamı ve mikrobiyal hücre kalıntılarından temizlenen örneklerin kuru ve yaş ağırlıkları ile su tutma kapasiteleri belirlenmiştir. Örneklerin kristal yapı analizi için XRD (X Işınları Kırınım Yöntemi) ve DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) testleri yapılmıştır.

### Bulgular

Manyetik alanda gerçekleştirilen bakteriyel selülozların üretim verimlerinin kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. En yüksek manyetik alan uygulamasında kontrol grubuna göre yaş ağırlık %54, kuru ağırlık %43, su tutma kapasitesi %55 artarken, XRD sonucuna göre kristal yapıda bir değişiklik gözlenmemiştir. DSC sonuçlarına göre ise kontrol grubuna göre termal özelliklerde değişiklik gözlenmemiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışmada kullanılan manyetik alan uygulama aralığının bakteriyel selüloz üretim verimini arttırdığı ancak ürün yapısında bir değişikliğe sebep olmadığı belirlenmiştir. Farklı manyetik alan uygulamaları kullanılarak farklı sonuçlar elde edilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** bakteriyel selüloz, manyetik alan, *Gluconabacter xylinus*



## Pea3 Proteininin Akson Uzamasındaki Rolü ve Nörorejenerasyondaki Uygulamaları

Başak Kandemir<sup>1,2</sup>, Bayram Yılmaz<sup>4</sup>, Işıl Kurnaz<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli

<sup>2</sup>Yeditepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli

<sup>4</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

[bskkndmr@gmail.com](mailto:bskkndmr@gmail.com)

### Giriş

ETS bölgesi transkripsiyon faktörü süper ailesine ait bir alt grup olan Pea3 ailesi, Pea3, Erm ve Er81'den oluşmaktadır. Branşlaşma gösteren farklı dokularda anlatımı görülen bu proteinler, sinir sisteminde motor nöron devrelerin oluşturulması, retina farklılaşması, akson uzaması gibi çok çeşitli olaylarda rol oynamaktadırlar.

### Gereçler ve Yöntemler

Pea3 aracılı akson uzama mekanizmalarını aydınlatılabilmek ve bu olayı hangi genler üzerinden kontrol ettiklerini tanımlamak ve bu bilgileri nörorejeneratif yaklaşımlarda kullanmak, bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Bunun için farklı nöral hücre hatlarında Pea3, Erm ve Er81 proteinlerinin aşırı anlatımları sağlanmış ve de mikrodizin analizi ile gen anlatım seviyeleri incelenmiş ve de QPCR yöntemi ile validasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. KEGG analizi ile sınıflandırılan genler arasında nöronlarla bağlantılı olan yolaklar (nörotrofin sinyal yolağı, akson dinamiği gibi) seçilmiş olup, bu yolaklardaki genler arasındaki ilişki ise informatik analizlerle incelenerek haritalandırılmıştır.

### Bulgular

Elde edilen sonuçlar, Pea3 ailesi üyelerinin nöron spesifik yolaklarda hem ortak hem de birbirinden farklı genlerin anlatımlarını benzer ve/veya farklı düzeyde regüle ettikleri tanımlanmıştır. Ayrıca incelenen genlerin kendi aralarında da bir dinamik oluşturdukları informatik analizler sonucunda oluşturulan haritada belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Tanımlanan genlerden hangisi veya hangilerinin, Pea3 anlatımlı nöral devrelerdeki seçiciliğini belirlemek için kokültür sisteminde farklı Pea3 ailelerinin ilişkileri incelenerek Pea3'nin nörorejenerasyon uygulamaları açısından önemi belirlenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** nöral devre, nörorejenerasyon, mikrodizin, Pea3

**Teşekkür:** Mikrodizin çalışmaları, 214Z278 nolu TÜBİTAK 1002 projesi çerçevesinde yapılmıştır.

## 2-boyutlu ve 3 Boyutlu Ko-kültür *In vitro* Deri Melanoma Modeli Oluşturulması, B-karoten'in Antikanser Etkisinin Test Edilmesi

Elif Çelik<sup>1</sup>, Gizem Örs<sup>1</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

[ms.elifcelik@gmail.com](mailto:ms.elifcelik@gmail.com)

### Giriş

Hücre oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi olan , oksidatif bozulmayı önleyen bileşiklere bileşikler antioksidanlar, oksijen reaksiyonları engelleyen maddelerdir. Bazı kimyasallar, oksijen reaksiyonlarını artırarak, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu arttırmakta, ROS oluşumunun artması ise dış derimizin kolajen yapısında hasarlar meydana getirmektedir. Bu hasar cilt kanserinin (melanoma) nedeni olarak gösterilmektedir. Günümüzde β-karoten kozmetikte antioksidan ve yaşlanma karşıtı etkisiyle ROS karşıtı olarak kullanılmaktadır. İnsana temas eden ürünlerin toksik açıdan test edilmesi gerekmektedir ve kozmetik çalışmalar için yürütülen hayvan deneylerinin sayısını azaltmak için 3 boyutlu deri modelleri önem kazanmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Deri modeli için; Detroit 551 (insan kaynaklı deri fibroblast hücreleri) ve HS2 (insan kaynaklı deri keratinosit hücreleri), melanoma kanser modeli için ayrıca SK-MEL30 (insan melanoma hücre hattı) ve iki boyutlu yapının elde edilmesi için ThinCert üç boyutlu hücre yapısı oluşturulması için 3D “Petri Dish® ” kalıpları kullanılmıştır. Hücrelerin görüntülenmesi için CellTracker Red CMTPX Dye (Life Technologies) ve CellTracker Green CMFDA dye (Life Technologies) boyaları kullanılarak floresan görüntüler elde edilmiş ve hücre lokalizasyonu belirlenmiştir. Elde edilen modellere Ultraviyole Işınlardan UV-B (280-320 nm) uygulanan hücrelerdeki reaktif oksijen türevleri (ROS) oranı artırılması amaçlanmıştır. Bu modellere β-karotenin ve Pollufence'in farklı dozları denenerek MTT 3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] ile canlılık ve ROS Assay - CH2DCFDA (Dichlorodihydrofluorescein diacetate) kullanılarak floresan ölçüm alınmıştır. Veriler değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Başarılı deri ve deri melanoma modelleri oluşturulmuş ve sfreoid ve ko-kültür yapıları floeran boyalar ile gözlemlenmiştir. Oluşan mikrodokulardan 3. Günün sonunda MTT ve ROS Assay yapılmak için bunlara farklı konsantrasyonlarda ürün verilmiştir. Bu nedenle 1 saatlik UV uygulanan ve UV uygulanmayan hücrelere farklı konsantrasyonlarda ürünler verilerek β-Karoten ve ticari ürün Pollufence'in canlılık üzerindeki etkisi gözlemlendi. 3 Boyutlu kültürlerin katmanlı yapısından dolayı UV ışınlarından daha az etkilendiği tespit edildi. Ticari ürün ve β-Karoten'in %2,5 konstaryonda ROS seviyesinde düşüşe neden olduğu tespit edildi.

### Sonuç ve Tartışma

β-Karoten ve Pollefen'in anti kanser etkinliğinin olduğu ve reaktif oksijen türevlerine karşı koruyucu özelliği olduğu bu nedenler kozmetik ürün geliştirilmesinde AR-GE çalışmalarında oluşturulan 3B kültür ile kullanılabileceği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** B-Karoten, deri melanoma, 3 boyutlu hücre kültürü, anti-kanser, ROS

**Teşekkür:** TÜBİTAK 1139B411602376 tarafından desteklenmiştir. Ayrıca Bio-Norm Doğal Ürünler'e teşekkür ederiz.

## ***Bos Taurus* Kas Enolazını Kodlayan Genin Klonlanması, Ekspresyonu ve Karakterizasyonu**

Emrah Sarıyer<sup>1</sup>, Özkan Danış<sup>2</sup>, Dilek Balık<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Davutpaşa Kampüsü, 34210 Esenler, İstanbul, Türkiye*

<sup>2</sup>*Marmara Üniversitesi, Fen - Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Göztepe Kampüsü, 34722 Kadıköy, İstanbul, Türkiye*  
[esarver@yahoo.com](mailto:esarver@yahoo.com)

### **Giriş**

Tropikal theileriosis özellik sığırlarda (*Bos taurus*) ciddi maddi kayıplara sebep olan *Hyalomma spp.* kene türlerinin ara konaklık yaptığı *Theileria annulata*'nın sebep olduğu yaygın bir hastalıktır. Önceki çalışmalarda metabolik bir enzim olan glikolitik yolaktaki enolaz hedef alınmış ve enolazın inhibe edilmesiyle parazitin gelişimini durdurulabileceği önerilmiştir. İlaç hedefine yönelik olarak, deneysel uygulamaların bütünlük sağlaması adına, konak organizma ve parazit enzimlerinin birlikte analiz edilmesini gerekmektedir. Bu çalışmada konak organizma olan *Bos taurus* enolaz enzimini kodlayan genin klonlanması, ifade edilmesi, proteinin saflaştırılması, yabancı tip enzimin yapısal, moleküler ve kinetik olarak analiz edilmesi amaçlanmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Ticari olarak pcDNA3.1 ekspresyon vektörü içinde 1305 bp'lik satın alınan *Bos taurus* kas enolaz geni (*BtENO3*) iki aşamalı olarak amplifiye edilerek aLICator LIC Klonlama ve Ekspresyon Kit 3 (C-terminal His-tag) sistemi ile pLATE31 ekspresyon vektörüne klonlanmıştır. Rekombinant vektör, *E. coli* BL21(DE3) hücrelerine transforme edildikten sonra 1 mM IPTG indüklemesi ile genin ekspresyonu gerçekleştirilmiştir. Eksprese edilen hücreler 14.000 rpm'de 20 dk sanrifüj edilerek toplanıp ticari TALON kolonu kullanılarak yapılan afinite kromatografisi protokolü ile %95 saflıkta izole edilmiştir. Enzimin optimum pH (25 °C'de pH 5.5-8.5) ve optimum sıcaklık (20-60 °C pH 6,5) değerleri hesaplanmıştır. *Bos taurus* kas enolazının (*BtENO3*) farklı substrat konsantrasyonlarında (3 mM, 2 mM, 1.5 mM, 0.5 mM, 0.25 mM, 0.15 mM, 0.1 mM, 0.05 mM 2pg substrat konsantrasyonu) aktivite değerleri hesaplanarak kinetik parametreleri tanımlanmıştır.

### **Bulgular**

Yapılan çalışmalar ile *Bos taurus* enolazı başarılı bir şekilde pLATE31 ekspresyon vektörüne klonlanmış, ekspresyon sonrasında protein affinite kromatografisi ile %95 saflıkta izole edilebilmiştir. Saflaştırılan enzimi SDS-PAGE analizi sonrası 48 kDa bant hizasında enzimin üretildiği gözlemlenmiştir. Enzimin optimum pH'ı 6,5 ve optimum sıcaklığı 40 °C olarak belirlenmiştir. *Bos taurus* enolazının kinetik parametreleri tanımlanmış ve Michaelis-Menten kinetiğine göre reaksiyonun  $V_{max}$  ve  $K_m$  parametreleri sırasıyla 0.1141 mM/dk ve 0,514 mM olarak hesaplanmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Yapıya dayalı ilaç kapsamında elde edilen %95 saflıktaki enzim ile tropikal theileriosis için aday ilaç belirlemede *in vitro* ilaç taramasının yapılmasının önü açılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** theileriosis, enolaz, *Bos taurus*, ekspresyon, saflaştırma, karakterizasyon

**Teşekkür:** Bu çalışma Yıldız Teknik Üniversitesi BAPK Birimince Desteklenmiştir. Proje No: 2015-07-04-KAP07

## Microgravity Prensibi ile Çalışan Biyoreaktör Tasarımı, Akış Simülasyonu ve 3 Boyutlu Yazıcı ile Prototiplenmesi

Emre Taylan Duman<sup>1</sup>, Ayşe Köse<sup>1</sup>, Suphi Surişvan Öncel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü

[emretaylanduman@yahoo.com](mailto:emretaylanduman@yahoo.com)

### Giriş

*Microgravity*, Dünya alt yörüngesinde cisimlere etki eden düşük yerçekimi anlamına gelmektedir. Özellikle düşük yerçekiminin hücre kültürlerinde denenmesi için uzay istasyonunda setler kurulmuştur. Fakat uygulamanın yüksek maliyeti bu araştırmaların yeryüzünde denenmesini gerekli kılmıştır. NASA bünyesinde yapılan çalışmalarda tasarlanan biyoreaktör ile düşük yerçekimi etkisini yeryüzünde uygulamak mümkündür. Bu tasarım sürekli dönen gövdesi ile kültür ortamında düşük kayma gerilimi sağlamak ve hücre morfolojilerinin doğala uygun bir şekilde gelişmelerini sağlamaktadır. Tasarımın dezavantajı reaktör gövdesinin sürekli rotasyon hareketi yapmasıyla üretim kontrolün sağlanmasını ve sürekli üretim için gerekli ekipmanlar ile desteklenememektir.

### Gereçler ve Yöntemler

Yapılan tasarımın 3 boyutlu modellenmesi, modelin ANSYS FLUENT ile farklı karıştırıcı hızlarında simülasyonu yapılmıştır. Sistemin çalışma hacmi ve kullanılan kültür ortamının özkütlesi bilgisayar programına fiziksel parametreler olarak aktarılmıştır. Denemeler çift fazlı (hücre ve kültür sıvısı) karışma süreci ile uygun hesaplama adımı sayısında simüle edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ile her karışma hızı için ortalama kayma gerilimi değeri hesaplanmıştır. Yapılan simülasyon sonuçlarının hedeflenen fiziksel şartları sağlaması ile 3 boyutlu yazıcı kullanılarak prototip oluşturulmuştur.

### Bulgular

Yapılan yeni tasarım ile döner gövdeli biyoreaktörlerde oluşan dezavantajlar sabit biyoreaktör gövdesi ve ters rotasyon yapan karşılıklı karıştırıcılarla aşılmıştır. Düşük kayma gerilimi koşullarının biyoreaktör merkezinde sağlandığı simülasyon çalışmaları sonucunda gösterilmiştir. Aynı anda yapılan prototiple düşük kayma gerilimi sağlanmış ve biyoreaktöre fiziksel olarak kontrol elamanlarının yerleştirilmesi için uygun bir tasarım elde edilmiştir. Ayrıca hücre-kayma gerilim haritaları bu biyoreaktör ile ölçülme potansiyeline sahiptir.

### Sonuç ve Tartışma

Patentlenen bu tasarımın biyoreaktör içi fiziksel şartların önemli olduğu kültürlerde (bitki ve hayvan hücreleri gibi) kullanılabilirliği bilgisayar destekli simülasyonlar ile gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** kayma gerilimi, hücre kültürü, CFD, 3D hızlı prototipleme, microgravity

## ***Geobacillus stearothermophilus*'dan L-arabinoz İzomerazın Saflaştırılması ve Karakterizasyonu**

Zehra Nazlı Kızılcay<sup>1,3</sup>, Sevil Yücel<sup>3</sup>, Monika Van Holsbeeck<sup>2</sup>, Ilse Van De Voorde<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı, İstanbul

<sup>2</sup>Leuven Üniversitesi, Mühendislik Teknolojileri Fakültesi, Mikrobiyal ve Moleküler Sistemler Bölümü, Enzim, Fermantasyon ve Mayalama Laboratuvarı, Gent, Belçika

<sup>3</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul  
[znkizilcay@gmail.com](mailto:znkizilcay@gmail.com)

### **Giriş**

Düşük kalorili bir tatlandırıcı olan D-tagatoz endüstriyel olarak kimyasal yöntemlerle üretilmekte ancak üretim esnasında pek çok yan ürün meydana gelmektedir. Endüstriyel biyolojik yoldan D-tagatoz'un üretimi ticari açıdan henüz mümkün olabilmiş değildir. Bu çalışmada D-galaktozdan D-tagatozun enzimatik sentezinde görev alan *Geobacillus stearothermophilus* mikroorganizmasından L-arabinoz izomeraz enziminin üretimi incelenmiştir. İlk olarak L-arabinoz izomeraz hücresel olarak E.Coli'ye iletilmiştir. Ardından enzimin izolasyonu ve saflaştırılması gerçekleştirilmiş, buradan da üç farklı L-arabinoz izomeraz fraksiyonu elde edilmiş. Bu fraksiyonlar intrasellüler enzim, ham ekstrakt ve saflaştırılmış enzim şeklinde adlandırılmışlardır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Enzimin saflaştırılması ve izolasyonu sırasında elde edilen üç farklı enzim fraksiyonu için l-arabinoz izomeraz'ın aktivitesi hesaplanmıştır. İntrasellüler enzim, ham ekstrakt ve saflaştırılmış enzim için aktiviteler sırasıyla  $8.55 \pm 0.13$  U/ml,  $7.95 \pm 0.03$  U/ml ve  $6.75 \pm 0.06$  U/ml olarak bulunmuştur. İmmobilizasyondan önce, intrasellüler enzim ve ham ekstrakt, saflaştırılmış enzim ile aynı protein konsantrasyonuna seyreltilmişlerdir. Tüm fraksiyonlar 60°C ve pH 7.0 de bir deneye tabi tutulmuşlardır. 48 saatlik bir eldesi 2.2 g/l şeklinde bulunmuştur. Ardından, enzim fraksiyonları aljinat boncukları içerisine hapsedilmiş ve D-galaktoz'un D-tagatoz'a olan dönüşümü için gerekli olan optimum sıcaklık ve pH değerleri tespit edilmiştir. Bu deneyler serisi 50°C ile 90°C arası sıcaklık değerlerinde ve pH 7.0 'de gerçekleştirilmiştir. Optimum pH hesaplanmasında da, pH 5.0 ile pH 9.0 arasındaki değerlerle çalışılmıştır. D-tagatoz konsantrasyonu da sistein – karbazol metodu ile tayin edilmiştir.

### **Bulgular**

Üç farklı immobilize edilmiş olan enzim fraksiyonlarının optimum sıcaklık değeri 80°C olarak belirlenmiştir. 80°C ve pH 7.0 de gerçekleştirilen inkübasyon sonunda D-tagatoz konsantrasyonları  $54.2 \pm 0.5$  g/l,  $27.9 \pm 1.2$  g/l ve  $36.1 \pm 1.0$  g/l olarak sırasıyla seyreltilmiş intrasellüler enzim, seyreltilmiş ham ekstrakt ve saflaştırılmış enzim için elde edilmiştir. Fraksiyon boncukları için de optimum pH 6.5 olacak şekilde elde edilmiştir. 60°C ve pH 6.5 de gerçekleştirilen 5 saatlik inkübasyonun ardından da D-tagatoz konsantrasyonları  $23.2 \pm 0.3$  g/l,  $10.5 \pm 0.3$  g/l and  $13.2 \pm 0.3$  g/l olarak sırasıyla seyreltilmiş intrasellüler enzim, seyreltilmiş ham ekstrakt ve saflaştırılmış enzim için hesaplanmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Tüm fraksiyonlar için optimum sıcaklık ve pH değerleri 80°C ve 6.5 olarak bulunmuştur. Bu fraksiyonlar, immobilize edilip aljinat boncuklarına hapsedildikten sonra D-galaktoz'un D-tagatoz'a dönüşümü için aynı optimum şartlara sahip olmuşlardır.

**Anahtar Kelimeler:** D-tagatoz, L-arabinoz izomeraz, *G. stearothermophilus*, kumarin, immobilizasyon

## **Tescoba: Zamansal, Konumsal, Kısıt Tabanlı ve Çok Ölçekli Matematiksel Modelleme Platformu**

Furkan Kurtoglu<sup>1</sup>, Pınar Pir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Gebze, Kocaeli

[fkurtoglu@gtu.edu.tr](mailto:fkurtoglu@gtu.edu.tr)

### **Giriş**

Biyolojik sistemlerin matematiksel olarak modellenmesi, sistemlerin matematiksel bir tanımını sağlamanın yanı sıra; sistemi tanımlayan çözüm kümesini daraltıp, deneysel olarak test edilecek durumların sayılarını azaltmaktadır. Fakat bu modellerin karmaşıklığını ele alabilecek bir bilgisayar ve yazılımsal altyapıya ihtiyaç vardır. Bu sistemlerin biyologlar tarafından, kolayca in siliko olarak modellenmesi için kullanıcı ara yüzü platformlara olan ihtiyaç artmaktadır. Bu sorunu çözmek amacıyla, dinamik akı denge analizine dayanan ve hücrel tüm genom ölçekli metabolik ağyapılarını 2 veya 3 boyutlu olarak modelleyebilecek ve kullanıcı ara yüzü bulunan "TESCOBA" adını verdiğimiz bir platform geliştirmekteyiz.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Biyolojik sistemleri matematiksel olarak modelleme amacıyla birçok yaklaşım önerilmiştir. Bu yaklaşımların biri de son yıllarda literatürde çokça rastladığımız durgun hali modellemek amacıyla kısıt bazlı olarak gerçekleştirilen akı denge analizidir (FBA). Bu analiz, reaksiyonların stokiyometrik matrisler cinsinden yazılıp, bu reaksiyonların akı değerlerinin biyolojik kısıtlara uygun şekilde optimize edilmesi ile gerçekleştirilir. FBA, durgun hali modellemektedir, örneğin, biyokütlenin azami oluşum miktarını durağan şartlarda hesaplamamızı sağlar. Ancak, dinamik akı denge analizi (dFBA), sistemi zamana bağlı olarak ayrık zaman dilimlerinin durgun hal olduğunu kabulünü yaparak tekrarlayan şekilde matematiksel olarak ifade edebilir. Konumsal modelleme metodu örü-tabanlı olup, her bir örünün içerisindeki metabolitlerin ve biyokütlenin difüzyon ve kemotaksi kaynaklı değişimlerini ifade edecektir. Genom ölçekli metabolik model ise bu kimyasal dağılıma göre şekillenecektir.

### **Bulgular**

Şu anda geliştirdiğimiz örü-tabanlı dFBA metoduyla, kronik yaralarda iki çeşit bakteriden oluşan biyofilmin genom ölçekli metabolik ağyapı ve çevreyi algılama (quorum sensing, QS) ile modelleyen bir model üzerinde çalışmaktayız. Bu model 3 ölçekli olup, her bir ölçeklerden elde edilen sonuçlar bir sonraki ölçeğin başlangıç noktası olmaktadır ve birbirini tekrarlayan şekilde devam etmektedir. Öncelikle hücrenin içerisindeki bütün kimyasal reaksiyonları modelleyen FBA ölçeği metabolitleri üretir ve konumsal model bu sonuçları alıp difüzyon, kemotaksi vb. birçok olayı örü tabanlı olarak modeller. En son olarak, QS metabolitleri genom-ölçekli metabolik ağyapının kısıtlarını belirlemede kullanılır ve böylelikle döngü tamamlanmış olur.

### **Sonuç ve Tartışma**

TESCOBA, dFBA ve örü-tabanlı çok ölçekli matematiksel modelleme için kullanılacak bir platform olacaktır. Bu platform kullanıcı arayüzü olup, herhangi bir yazılım becerisine gerek kalmadan kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** TESCOBA, çok ölçekli modelleme, dFBA, biyofilm, çevreyi algılama

**Teşekkür:** Gebze Teknik Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

## **Kan Damarını Taklit Eden 3 Boyutlu Minyatür Laboratuvar Aygıtı (lab-on-a Chip) Geliştirilmesi**

Gizem Batı Ayaz<sup>1</sup>, Müge Bilgen<sup>2</sup>, İsmail Tahmaz<sup>2</sup>, Devrim Pesen Okvur<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Bölümü, İzmir*

<sup>2</sup>*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Programı, Biyoteknoloji Bölümü, İzmir*

<sup>3</sup>*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir*

[batigizem@hotmail.com](mailto:batigizem@hotmail.com)

### **Giriş**

Kanser dünya çapında birçok insanı etkileyen, ölümlerin %90'ının sebebi metastaz olan bir hastalıktır. Metastaz kanserli hücrelerin kontrolsüz çoğalmaları sonucunda primer bölgeden kan damarına girerek hedef organlara taşınması, kan damarından çıkması ve yeni tümör oluşturması basamaklarından oluşur. Metastazın işleyiş mekanizmasının çözülmesi, metastazı engelleyebilecek ya da öngörebilecek platformlar geliştirilmesi kanser tanı ve tedavisi için önem taşımaktadır. Mikro akışkan teknolojisi ise uzaysal ve zamansal kontrol sunarak, canlıdaki ortamın taklit edilebileceği aygıtların oluşturulmasını sağlamaktadır. Bu teknoloji ile oluşturulan minyatür laboratuvarlar (Lab-on-a-chip, LOC) disiplinler arası metastaz çalışmaları için kullanılabilir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

LOC oluşturmak için temiz odada UV litografi tekniği ile kullanılacak çip deseni master kalıba basılmıştır. Kullanılan LOC; kan damarı, hücre dışı/doku matriksi ve besi yeri kanallarından oluşmaktadır. Hazırlanan kalıba PDMS (Polidimetilsiloksan) dökülüp sonrasında kalıptan çıkarılan LOC'lar kesme, delme ve temizlik işlemlerini takiben UV ile sterilize edilmiştir. Kullanıma hazır LOC'lar 3-aminopropiltriethoksisilan ardından Laminin proteini ile kaplanmıştır. Ardından LOC'ların matriks kanalına kolajen:matrijel:doku hücresi (9:10:1) karışımı yüklenmiş, polimerizasyonun ardından HUVEC-C/b.End3 endotel hücreleri akış kanalına yüklenmiştir. Besi yeri kanalına kültür ortamı yüklenmiştir. Sızdırmazlık testi için 70 kDa floresan dekstran kullanılmıştır. İncelemeler LOC'ların konfokal mikroskopta üç boyutlu görüntüleri çekilerek gerçekleştirilmiştir.

### **Bulgular**

APTES-Laminin kaplı LOC'larda tek katman oluşumu için endotel hücre sayısı 19.736/μm olarak optimize edilmiştir. Ayrıca hücrelerin %8' lik 450-600 kDa dekstran içeren besi yeri ortamında kanala yüklenmeleri sayesinde hücrelerin kanal içerisinde daha iyi yayılmaları ve kümelenme oluşturmalarının önüne geçilerek tek katman oluşumu sağlanmıştır. 70 kDa floresan dekstranın akış kanalından matriks kanalına geçmemesi endotel katmanının beklenen bariyer özelliğine sahip olduğunu göstermiştir. Akış kanalına eklenen kırmızı floresan canlı hücre boyalı meme kanseri hücrelerinin yeşil floresan boyalı endotel hücreler ile etkileşime girdikleri ve endotel bariyerini geçerek matriks kanalına ulaştıkları gözlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu çalışmada canlıdaki kan damarını taklit edebilen bir minyatür laboratuvar (LOC) aygıtı ve kanser hücrelerinin damardan çıkışlarının sayısal olarak incelenmesini sağlayan bir yöntem geliştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** metastaz, endotel hücreler, minyatür laboratuvar (Lab-on-a-chip)

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK 115E057 ve 115Z428 nolu projeleri ile desteklenmiştir.

## Nefes Figürü Metoduyla Gözenekli Poliüretan Biyomalzeme Geliştirilmesi

Gizem Daban<sup>1</sup>, Cem Bayram<sup>2</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biyomühendislik Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Biyokimya Anabilim Dalı, Kimya Bölümü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

[dabangizem@gmail.com](mailto:dabangizem@gmail.com)

### Giriş

Nefes figürü (BF) metodu, ilk kez Francois ve arkadaşları tarafından 1994 yılında bulunmuştur. Biyomalzemeler dokularla sürekli bir temas içerisindedirler. Bu yüzden hücre dışı matrisin özelliklerini karşılamaları gerekmektedir. BF metodu, doğada her türlü yüzeyde karşılaşılabildiğimiz çığ fenomeninin biyo-taklit yöntemiyle kendi kendine düzenlenen bir uygulamasıdır. BF metoduyla biyomalzeme üretmenin diğer litografik metodların sahip olduğu zararlı etkileri minimize etmek gibi bir avantajı vardır. BF metodunda hiçbir karmaşık teknolojiye ihtiyaç duyulmaz ve üretim maliyeti düşüktür. Literatürde BF metodunun polistren biyomalzeme uygulamaları mevcut olmakla birlikte bu çalışmada FDA onaylı biyo-uygulanabilir poliüretan (PU) kullanılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

PU kloroformun içinde derişimi %1-5 (w/v) olacak şekilde çözüldü. Sistemin nem yüzdesi stabilize edildikten sonra polimer solüsyonu yüzey üzerine uygulandı ve istenilen maruz bırakma süresince beklendi. Nem yüzdesi %55 ile %85 arasında uygulanmıştır. Sonuçları karakterize etmek için optik mikroskop, kontak açısı ve SEM görüntüleme kullanılmıştır. Ayrıca human umbilical vein endothelial hücre (HUVEC) hattı ile sitotoksite testi, ürünlerin biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini görmek için uygulanmıştır.

### Bulgular

Optik mikroskop sonuçları gösteriyor ki en uygun nem aralığı %65 ile 85 arasındadır. Nem oranı %65 in altında olduğunda çok az sayıda gözenek oluşumu gözlenmiştir ve %80 in üzerinde yüzey üzerindeki su taneciklerinde birleşme gözlemlenmiştir. Kontak açısı sonuçlarına göre yüzeyin gözenekli yapıda olması hidrofobik özellik göstermiştir, açılar 120-130° arasında değişmiştir. Hidrofobiklik, gözeneklerin çapının azalmasıyla artmaktadır. Gözenek boyutu dağılımı, Image J programı ile hesaplanmış olup nem oranının artmasıyla gözenek boyutunun yukarı yönde bir trende sahip olduğu tespit edilmiştir. SEM fotoğrafları alınan sonuçlarla uyumlu olup, %70 nem oranından düşük değerlerde yüzeyde oluşan gözenekler düzensizdir ve istenilen düzeyde değildir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada üretilen PU kaplamalar düşük maliyet ve toksik olmayan etki gibi avantajlar sunmaktadır. Elde edilen örnekler elastik yapıları sebebiyle vasküler doku mühendisliğinde uygulamalar için ümit vadetmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** nefes figürü, poliüretan



## Prostat Adenokarsinomda Diferansiyel Protein Etkileşim Ağının Haritalanması

Gizem Gülfidan<sup>1</sup>, Beste Turanlı<sup>1,2</sup>, Kazım Yalçın Arğa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

[gizemgulfidn@gmail.com](mailto:gizemgulfidn@gmail.com)

### Giriş

Protein-protein etkileşimleri, insan hastalıklarının altında yatan moleküler mekanizmayı aydınlatılabilen ana biyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, protein-protein etkileşimleri ağı analizi yeni biyobelirteçler ve ilaç hedefleri keşfetmek için sıklıkla gerçekleştirilmektedir. Ağ entropisindeki artış kanser hücrelerinin karakteristiğini belirlemekte ve minimum entropi gösteren protein-protein etkileşimleri diferansiyel interaktom olarak saptanmaktadır. Bu çalışmada, prostat adenokarsinomda diferansiyel interaktomun belirlenmesiyle tümörigenezde önemli derecede işlevsellik gösteren protein-protein etkileşim mekanizmalarının bulunması ve haritalanması hedeflenmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas-TCGA) veri setlerinden 36 farklı kanser türü için gen ekspresyon verileri elde edilmiştir. İnsanda tanımlı 102,693 protein-protein etkileşiminden oluşan yüksek güvenilirlikli protein etkileşim ağı kullanılmıştır. Anlamlı protein-protein etkileşimlerini bulmak için bu veri setlerine diferansiyel interaktom algoritması uygulanmıştır. Bu protein-protein etkileşimleriyle ilişkili biyolojik süreçleri ve moleküler yolları tespit etmek için gen kümesi zenginleştirme analizi (GSEA) gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

36 kanser içinde prostat adenokarsinom türüne baktığımızda, 396 tümör barındırmayan, 94 tümör barındıran olmak üzere toplam 490 örneğin gen ekspresyon verilerine diferansiyel interaktom algoritması uygulanmıştır. Bunun sonucunda, insanda tanımlı 102,693 adet yüksek güvenilirlikli protein-protein etkileşimleri arasından 5,008 protein-protein etkileşiminin hastalık durumunda farklılaşmış olduğu tespit edilmiştir. Bu etkileşimlerin, belirli proteinler etrafında kümelenerek protein etkileşim modülleri oluşturdukları gözlemlenmiştir. Bu modülleri oluşturan protein kümelerine GSEA uygulanması sonucunda, prostat adenokarsinom hastalığında önemli işlevsel değişikliklerin gözlemlendiği biyolojik süreçler ve moleküler yollar tespit edilebilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Elde edilen bulguların görselleştirilmesi; potansiyel biyobelirteçler ve tedavi için ilaç hedefleri olarak düşünülebilen proteinler ile fiziksel etkileşimlerini, kanserlerde dinamik olarak değişen süreçleri ve yolları gözleme imkanı sunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** diferansiyel interaktom, kanser, protein-protein etkileşimi, transkriptom

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK/MAG/116M014 projesi kapsamında desteklenmiştir.

## **Diferansiyel Eş-anlatım Analizi ile Kansere Yönelik Teşhis ve Tedavi Amaçlı Sistem Biyobelirteçlerinin Tayini**

Meltem Nur Erdöl<sup>1</sup>, Kazım Yalçın Arğa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul*

[meltemnurerdol@hotmail.com](mailto:meltemnurerdol@hotmail.com)

### **Giriş**

Sistem biyolojisinde yeni bir yaklaşım olan diferansiyel eş-anlatım analizi, geleneksel diferansiyel gen anlatım analizinin bir tamamlayıcısı olarak ortaya çıkmıştır. Hastalıkların genetik altyapısını anlamak için genlerin hastalık ve sağlık durumlarındaki etkileşimlerini çözmek önemlidir. Bu çalışmada, bazı kanser türleri (pankreas kanseri, akciğer kanseri ve mide kanseri) histolojik farklılıklarına göre incelendi ve bu sonuçların, kanserin teşhis ve tedavi amaçlı uygulamalarına yönelik araştırmalar için nasıl kullanılabilceği araştırıldı.

### **Gereçler ve Yöntemler**

İlgili gen ekspresyon verileri, NCBI-GEO, ArrayExpress ve TCGA veri tabanları dahil olmak üzere kamuya açık veri tabanlarından elde edildi. Farklı ifade edilen genleri karakterize etmek için, her veri seti “R / Bioconductor” platformu altında Robust Multi-Array Average (RMA) ifade ölçütü ile normalize edildi ve LIMMA yöntemi ile istatistiksel değerlendirmeleri yapıldı.

### **Bulgular**

İncelenen her kanser türünde anlatımı farklılık gösteren gen kümeleri arasında eş-anlatım profilleri çıkarıldı ve hastalıklı ve sağlıklı bireylerde farklı ifade edilip edilmediğini gösteren genetik ağlar kuruldu.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu ağların yüksek etkileşim gösteren alt-kümeleri modül olarak atandı ve bu modüllerin kanser türlerinin teşhis ve tedavisi için anlamlı olup olmadığı araştırıldı.

**Anahtar Kelimeler:** diferansiyel eş-anlatım analizi, biyobelirteç, kanser

## Memeli Hücrelerinde Yabani Tip ve Mutant Pea3 Proteinin Üretimi

Merve Üstün<sup>1</sup>, Işıl Aksan Kurnaz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Gebze, Kocaeli

<sup>2</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Gebze, Kocaeli

m.ustun12@gmail.com

### Giriş

ETS transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesi olan Pea3/Etv4, sinir hücresi gelişiminde MAPK yolağı boyunca çeşitli büyüme faktörleri tarafından regüle edilen bir transkripsiyon faktörüdür. Akson uzamasında rolü olduğu bilinen Pea3 nöronların yeniden oluşması veya tamirinin (nörorejenerasyon mekanizmasının) anlaşılmasında önemli bir yeri vardır. Çalışmalarımızda amacımız proteinlerin büyük ölçekli üretimini sağlamaktır.

### Gereçler ve Yöntemler

Öncelikle site-directed mutagenesis ile Pea3 geninin öngörülen fosforlanma bölgeleri mutasyona uğratıldı. Bunun yanı sıra bu gen sekansları pcDNA3.1/myc-His plasmidine klonlandı.

### Bulgular

Pea3-pCMV-FLAG plasmidlerinin ve Pea3 geninin öngörülen fosforlanma bölgelerinin mutasyona uğratılması ile elde edilen mutant Pea3-pCMV-FLAG plasmidlerinin, insan nöroblastoma hücrelerindeki (SH-SY5Y) protein ifadelerinin analizleri yapıldı. Aynı şekilde bu proteinlerin pcDNA3.1/myc-His plasmidine klonlaması ile HEK ve CHO hücrelerinde geçici ve stabil ifadeleri analiz edilmektedir.

### Sonuç ve Tartışma

Bütün bu veriler doğrultusunda çalışmalarımız büyük ölçekli protein üretimine uygun olarak uyarlanacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** protein ifadesi, Pea3, transkripsiyon faktörü

**Teşekkür:** Bitirme projesi kapsamında çalışmanın yapılmasına katkıda bulunan Esra Özaltın'a teşekkür ederiz.

## **Tek Nükleotit Farklılıklarına Dayalı Bir *Mycoplasma* Tanı Paneli Çalışması**

Osman Mutluhan Uğurel<sup>1</sup>, Oğuz Ata<sup>2</sup>, Dilek Turgut Balık<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul*

<sup>2</sup>*İstanbul Altınbaş Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Yazılım Mühendisliği Bölümü, İstanbul*

[osmanugurel@gmail.com](mailto:osmanugurel@gmail.com)

### **Giriş**

Çiftlik hayvanlarında karşılaşılan solunum sistemi enfeksiyonları sık rastlanan hastalıklardır ve tüm cins ve yaş grubundan hayvanları etkilemekte, sıklıkla tekrar ederek koruyucu ve tedavi edici yöntemlere karşı yeterli cevap verememekte, böylelikle ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların bakteriyel etkenleri içinde *Mycoplasma* türleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu türlerin tanısını gerçekleştirmek üzere yazılım teknolojileri kullanılarak farklı gen bölgelerinde türler arası ayrımı sağlayacak SNP temelli bir panel geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bir diğer hedef ise, çok sayıda patojenin kısa süre içerisinde, çok sayıda örnekte ve diğer yöntemlere göre daha düşük maliyet ve işgücü ile tanısının önünü açmaktır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada solunum yolu enfeksiyonlarına sebep oldukları bildirilen *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar*, *Mycoplasma bovirhinis*, *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* ve *Mycoplasma arginini* türlerine ait GENBANK verileri kullanılmıştır. Bu türlere iki farklı gen bölgesi EMBL-EBI tarafından geliştirilen açık erişimli MUSCLE çakıştırma aracı kullanılarak analiz edilmiştir. JAVA platformunda girilen dizilerde belirtilen türler arasındaki tek nokta poliformizmlerini tespit eden bir program yazılmıştır. Çakıştırma işleminden sonra bu program kullanılarak bir gen bölgesindeki potansiyel ayırım noktaları incelenerek en uygun 4 tanesi seçilmiştir. Diğer gen bölgesindeki potansiyel ayırım noktaları ise Jalview masaüstü biyoinformatik görüntüleme aracı kullanılarak göz ile seçilmiştir.

### **Bulgular**

Birçok kuruluş tarafından açık erişimli veya ticari olarak kullanıcıya sunulan biyoinformatik analiz araçları, araştırmacılar tarafından DNA analizlerinin rahatlıkla ve başarılı bir şekilde kullanılabilmesine imkan vermektedir. Ancak bazı durumlarda ise disiplinler arası işbirliği kurularak yazılım mühendisliği gibi farklı bakış açıları ile DNA dizilerinin ve diğer biyolojik verilerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışma ile DNA dizi analizi çalışmalarında kullanılmak üzere, yazılım mühendisliği bakış açısı ile yeni bir yaklaşım geliştirilmiştir. Bu yaklaşım temel alınarak, tanısı hedeflenen 5 türe ait 2 gen bölgesinde bulunan 40 SNP ilk kez bu çalışmada tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Günümüzde dizileme ve genotiplleme teknolojileri ile ortaya çıkan yüksek miktardaki verinin işlenmesi, depolanması ve analizi başa çıkılması gereken önemli bir sorundur. Bu çalışma ile bu ihtiyaçlara yönelik farklı bir bakış açısı geliştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** biyoinformatik, dizi analizi, pnömoni, *Mycoplasma*, SNP, tanı paneli

**Teşekkür:** Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi BAPK 2014-07-04-YL04 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## Kdn Molekülüne Karşı Poliklonal Antikor Üretilmesi

Pelin Sağlam Metiner<sup>1</sup>, Ilgın Kımız<sup>1</sup>, Çağlar Kayalı<sup>2</sup>, Saime İsmet Deliloğlu Gürhan<sup>2</sup>, Sultan Gülçe İz<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Teknolojiler Anabilim Dalı, İzmir

[peлин.metiner@gmail.com](mailto:peлин.metiner@gmail.com)

### Giriş

KDN (2-keto-3-deoksi-D-gliserol-D-galaktol-nononic asit), sialik asit ailesine özel hücre membranında bulunan ve düşük molekül ağırlığına sahip haptent yapıdaki bir monosakkarittir. Haptent yapıdaki moleküller, antijeniteye sahip fakat büyük molekül yapıdaki bir taşıyıcı protein kullanılmaksızın immunojeniteye sahip olamayan maddelerdir. Yumurtalık kanseri olan bir insanda serbest KDN molekül seviyesinin yüksek olması ile ilk defa keşfedilmiş, kanser gelişimini teşvik eden bir antijen olabileceği düşünülmüş ve yapılan birçok araştırmada KDN'nin kanserli hücrelerde ekspresyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı KDN molekülünün kanser için hedef bir molekül olabileceği gün yüzüne çıkmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışma kapsamında bilimsel çalışmalarda en sık kullanılan Freund's adjuvanına kıyasla Montanide ISA 61 VG, Montanide ISA 201 VG ve Montanide IMS 1313 VG NPR adjuvanları KDN taşıyıcısı olarak kullanılmıştır. İmmünizasyon işlemlerinde her bir adjuvan grubu ve hiçbir immunizasyon yapılmayan kontrol grubu için 4'er adet Balb/c ırkı fare kullanılarak, toplamda 8 farklı zamanda immünizasyon gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın 0., 41., 69., 83. ve en son 125. günlerinde kuyruk altı veninden ve en son ötenazi ile beraber kalp punksiyonu ile alınan kanların serumları ayrılarak serum örneklerine indirekt ELISA uygulanmıştır. Çıkan sonuçlar ışığında kontrol grubuna kıyasla farklı adjuvan sistemler ile uygulanan KDN'ye karşı oluşan antikor yanıtın seviyesi belirlenmiştir.

### Bulgular

İndirekt ELISA ile analiz edilen antikor miktarları kıyaslandığında en yüksek antikor miktarına yağ içinde su yapısında bulunan Montanide ISA 61 VG adjuvanı ile ulaşılmıştır. Normal yaşam sürecinde bünyedeki KDN varlığı sebebiyle 0. günde tüm gruplarda benzer antikor titresi gözlenmiş, Montanide ISA 61 VG adjuvanı ile taşınan KDN molekülünün antikor titresi 83. günde maksimuma ulaşmıştır. Yaşlanmaya bağlı bağışıklık yanıtın düşmesi sonucunda ise 125. gün antikor titresinde azalma gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

KDN gibi karbonhidrat yapıda haptent bir molekülün BSA gibi herhangi bir taşıyıcı proteine konjugasyonu yapılmaksızın, literatür bilgilerinin tersine uygun adjuvan kullanımı ile istenilen antikor titresinin elde edilebileceği saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** KDN, poliklonal antikor, yağ adjuvanları, Freund's adjuvanı, ELISA

**Teşekkür:** Bu çalışma 2241-A (2209-B) Sanayi Odaklı Lisans Bitirme Tezi Destekleme Programıyla TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Başvuru No: 1139B411502819). Ayrıca, Montanide adjuvanların tedarigi için Seppic firmasına, ve değerli katkıları için Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Gülperi Öktem'e teşekkür ediyorum.

## ***Eubacterium limosum* KIST612 ve ATCC8486 Soylarının Karbon Asimilasyonu Yol İzlerinin Matematiksel Modellenmesi**

Gülben Avşar<sup>1,3</sup>, Nurettin Tokay<sup>2</sup>, Pınar Pir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Kocaeli

<sup>2</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

[pinarpir@gtu.edu.tr](mailto:pinarpir@gtu.edu.tr)

### **Giriş**

Biyoyakıtlar, çevre dostu ve yenilenebilir enerji kaynakları olarak büyük öneme sahiptirler. Bu çalışmada, karbon asimilasyonu yetisine sahip olması sebebiyle endüstriyel potansiyeli olan *Eubacterium limosum* bakterisinin metabolizması biyoinformatik yöntemlerle analiz edilerek biyoyakıt üretiminde verimliliği incelenmiştir. Bu amaçla, iki farklı *E.limosum* soyunun genom dizilimleri kullanılarak iki soy arasındaki enzim kopya sayıları arasındaki benzerlikler ve farklar ortaya konmuştur. İki soyun karbon asimilasyonu yollarının kinetik modelleri oluşturulmuştur. Bu sonuçlar ışığında, *E.limosum* bakterisinin biyoyakıt üretim veriminin artırılmasına yönelik stratejiler belirlenmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Kinetik modellerin oluşturulmasında öncelikle her tepkimenin hızını belirleyen kinetik denklemlerin ve bu denklemlerdeki parametrelerin belirlenmesi gerekmektedir. İki *E.limosum* soyu olan KIST612 ve ATCC8486'nın karbon asimilasyonu yollarında görev yapan enzimlerin kullandığı moleküler mekanizmalar literatürden araştırılmış ve bu mekanizmalar matematiksel olarak ifade edilmesiyle her tepkime için bir kinetik denklem oluşturulmuştur. Modelde yer alan her metabolitin zamana bağlı değişiminin hesaplanmasını sağlayan adi differensiyel denklemler oluşturulmuş ve bu denklemler COPASI yazılımına aktararak model oluşturulmuştur. Enzimlerin kinetik sabitlerinin yaklaşık değer aralıkları veri tabanlarından ve literatürden araştırılmıştır. Yine literatürden elde edilen zamana bağlı ürün miktarı verileri ve COPASI yazılımındaki genetik algoritma kullanılarak kinetik sabitlerin verilen aralıklar içerisindeki optimal değerleri hesaplanmıştır.

### **Bulgular**

COPASI yazılımında oluşturulan model ve optimal sabit değerleri, *E. Limosum* soylarının büyüme ve ürün oluşturma hızlarının hesaplanmasına olanak vermiştir. KIST612 ve ATCC8486 soylarının genomlarının incelenmesi ise, karbon asimilasyonu yolakında yer alan enzimlerin farklı gen kopya sayısına sahip olduklarını ortaya koymuştur. İki soy arasında gözlemlenen farkların gen kopya sayılarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Model yardımıyla gen kopya sayılarının farklı olduğu durumların simülasyonları yapılmış ve karbon asimilasyonunda rol oynayan enzimlerin ve kofaktörlerin farklı seviyelerde olmaları durumunda hücre büyümesinin ve ürün üretiminin hızları hesaplanmış ve verimlilikleri değerlendirilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

*E. limosum* KIST612 ve ATCC8486 soylarının büyüme ve ürün oluşum hızlarının maksimize edilmesi için genetik modifikasyonlarla enzim kopya sayılarının optimal seviyeye getirilmesi gerektiği ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** biyoyakıt, *Eubacterium limosum*, karbon asimilasyonu, kinetik model

**Teşekkür:** Bu proje TÜBİTAK BİDEB 2232 Yurda Dönüş Programı tarafından desteklenmiştir (Proje No: 116C062)

## ***Trichomonas vaginalis* Tedavisinde *In silico* Analizlerle Yeni Aday İlaçların Belirlenmesi İçin 14-3-3 Proteininin Modellenmesi**

Sinem Yakarsönmez<sup>1</sup>, Özal Mutlu<sup>2</sup>, Dilek Turgut Balık<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya- Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, 34210, İstanbul*

<sup>2</sup>*Marmara Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 34722, İstanbul*

[sinem.ykrsnmz@gmail.com](mailto:sinem.ykrsnmz@gmail.com)

### **Giriş**

Trichomoniasis, kamçılı protozoan parazit *Trichomonas vaginalis* enfeksiyonunun neden olduğu cinsel yolla bulaşan en yaygın hastalıktır. Bu hastalığın tedavisinde nitroimidazoller kullanılmaktadır ancak uzun yıllardan beri bu ilaçlara karşı *T. vaginalis*'in direnç geliştirdiği rapor edilmektedir. İlaç direnci gelişimi göz önüne alındığında bu enfeksiyona karşı alternatif ilaçların geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Fosfoserin/fosfotreoinin bağlayıcı protein 14-3-3, aktin filamentlerini regüle etmesinin yanı sıra çeşitli sinyal yollarındaki alıcı proteinlerin aktivitesini de düzenlemekte olup birçok hastalığın gelişmesinde rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle yapılan çalışmada ilaç hedefi olarak *T. vaginalis* 14-3-3 proteini seçilmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*T. vaginalis* 14-3-3 proteinin 3-boyutlu yapısına en uygun modelin belirlenmesi için iki farklı program kullanılarak modelleme yapılmıştır. Modeller 9.15 programında yapılan modelleme için öncelikle hedef proteinin aminoasit dizisi PSI-BLAST programına girilmiş ve Protein Data Bank (PDB)'teki diğer proteinlerle eşleştirilerek kalıp protein belirlenmiştir. Protein aminoasit dizisi ve kalıp proteinin üç boyutlu yapısı kullanılarak 100 farklı model oluşturulmuştur. En iyi model Discrete Optimized Protein Energy (DOPE) skoruna göre belirlenmiştir. SWISS-MODEL programı ile yapılan modelleme çalışmasında ise girdi olarak aminoasit dizisi FASTA formatında girilmiştir ve programın belirlediği kalıplardan % benzerliği en yüksek ve homo-dimer yapıda olan kalıp seçilerek protein modeli oluşturulmuştur. Protein modellerinin UCSF Chimera v1.10rc'de enerji minimizasyonu yapılmıştır ve elde edilen tüm modellerin ERRAT, RAMPAGE, ProSA, ProQ, QMEAN, VERIFY3D yazılımları ile validasyonu yapılmıştır.

### **Bulgular**

*T. vaginalis* 14-3-3 proteini için Modeller 9.15 ve SWISS-MODEL kullanılarak yapılan modelleme analizleri sonucunda minimizasyon öncesi ve sonrası 4 farklı model öngörülmüştür. İleri analizler için kullanılacak olan *T. vaginalis* 14-3-3 protein modeli, SWISS MODEL ile oluşturulan ve minimizasyon sonrası elde edilen dimer yapıdaki model olarak belirlenmiştir. Belirlenen en iyi model için validasyon sonuçları incelendiğinde RMSD değerinin 0,387, ERRAT skorunun 100, Z-skorunun -7,31 ve NMR ile belirlenen proteinler arasında, Ramachandran plota göre asıl bölge, kabul edilebilir bölge ve dış bölgedeki rezidülerin yüzdelерinin sırasıyla; %96.3, %3.2, %0.5, LGscore'un 4.656, VERIFY3D sonucunun %78.18, QMEAN skorunun -3.21 olduğu tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

*T. vaginalis* 14-3-3 proteininin elde edilen 3-boyutlu modeli ile ileri moleküler yanıştırma analizleri yapılarak ilaç kütüphanelerinin taranabilmesinin ve belirlenen aday ilaçlar ile yapılacak *in vitro* analizlerin önü açılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Trichomonas vaginalis*, 14-3-3 proteini, homoloji modelleme

## **Karaciğer Kanseri Teşhis ve Tedavisi İçin Aljinat Bazlı Manyetik Alana Duyarlı Kemoembolik Ajanların Geliştirilmesi**

Sükran Alpdemir<sup>1</sup>, Göknur Kara<sup>2</sup>, Cem Bayram<sup>3</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Beytepe, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Beytepe, Ankar

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi, İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (hünitek), Beytepe, Ankara

[shukranalpdemir@gmail.com](mailto:shukranalpdemir@gmail.com)

### **Giriş**

Karaciğer kanserlerinde kanser hücreleri ya doğrudan karaciğer hücreleri aracılığı ile ya da diğer organlardan metastazla karaciğere ulaşıp karaciğer kanserine dönüşebilmektedir. Karaciğer kanserleri başlangıç, orta ve ileri evre olarak üç evreye sahiptir. Başlangıç evresinde cerrahi müdahale ve ablasyon tedavileri yüksek oranda başarı sağlarken orta evrelerde transarteriyel katerizasyon ile kemoembolizasyon, TAKE uygulamaları başarılı tedavi ve yaşam süresini uzatma şansı sağlar. Sunulan çalışmada TAKE uygulamalarında kullanılmak üzere yeni nesil ilaç ve görüntüleme ajanı taşıyan (aljinat bazlı, manyetik nanopartikül içeren) manyetik rezonans, MR görüntüleme ve kemoembolizasyon ajanı geliştirilmektedir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Yapılan çalışmalarda farklı derişimlerde (% 1-5 arası) aljinat çözeltileri hazırlanmış ve yine farklı derişimlerde (% 1-10 arası) kalsiyum klorür, CaCl<sub>2</sub> içeren ortama bir enkapsülator (Buchi Encapsulator B-395 Pro) cihazı yardımıyla damlatılmıştır. Bu esnada enkapsülatorün frekansı 1400 ile 1800 aralığında değiştirilmiş ve en uygun sonuçlar 1600 Hz değerinde elde edilmiştir. Kapsüllerin hazırlanmasında aljinat ve kalsiyum klorür derişimleri ile enkapsülator frekansı değiştirilmiş olup, oluşan kapsüllerin boy-boy dağılımları incelenmiştir. Öte yandan aljinat kapsülleri manyetik alana duyarlı hale getirmek üzere kullanılacak olan manyetik demir oksit nanopartiküller, demir klorür tuzları kullanılarak çöktürme yoluyla hazırlanmıştır. Manyetik nanopartiküller aljinat kapsüllerin içerisine proses esnasında yüklenmiştir.

### **Bulgular**

Yapılan çalışmalarda elde edilen mikrokapsüller düzgün küresel geometride olup kurutmaya bağlı olarak büzüşmektedir. Elde edilen aljinat bazlı mikrokapsüllerin çapları ortalama 120 um dolayında belirlenmiştir. Manyetik demir oksit nanopartiküllerin ortalama çaplarının ise 60 nm dolayında olduğu belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Hazırlanan mükroürelerin hedeflenen boy-boy dağılımları TAKE uygulamaları için uygun olarak değerlendirilmiştir. Manyetik nanopartiküllerin mikrokapsüller içerisine yerleştirilmesiyle MR görüntüleme için gerekli opasite sağlanmış olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** karaciğer kanseri, TAKE, mikroküre, kemoembolizasyon, manyetik nanopartikül



**ÇEVRE**  
**BİYOTEKNOLOJİSİ**

## Bor Maden Drenaj Suyunun Toksisitesi ve Potansiyel Risk Değerlendirmesi

Ferhan Korkmaz<sup>1</sup>, Pınar Aytaç Çelik<sup>2</sup>, Görkem Deniz Sönmez<sup>3</sup>, Mehmet Burçin Mutlu<sup>4</sup>, Ahmet Çabuk<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir*

<sup>2</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı,*

*Eskişehir*

<sup>3</sup>*Adıyaman Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Adıyaman*

<sup>4</sup>*Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir*

[ferhanka@ogu.edu.tr](mailto:ferhanka@ogu.edu.tr)

### Giriş

Bor, tüm bitkiler ve azot fikse eden siyanobakterilerin büyümesi ve gelişmesi için önemli bir mikronütrienttir. Bununla birlikte, Türkiye gibi yarı kurak bölgelerdeki bor birikimi, hem organizmaları hem de çevreyi olumsuz etkilemektedir. Yüksek bor konsantrasyonu; hücre duvarı gelişimini ve hücre bölünmesini engellemek, ATP, NADH, NADPH sentezini durdurmak gibi olumsuz etkilere sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü ve Çevre Koruma Ajansı tarafından belirlenen bor cinsinden içme suyu limit değeri sırasıyla 0,5 mg/L ve 0,6 mg/L'dir. Bor kontaminasyonu antropojenik faaliyetlerden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Dünya'da en önemli bor rezerv bölgelerinden biri olan Kırka alanındaki bor maden drenajının toksisitesini değerlendirmektir.

### Gereçler ve Yöntemler

Su örneği, Eskişehir ili Seyitgazi ilçesi Kırka beldesinde faaliyet gösteren Bor tesislerinden alınmıştır. Bor maden bölgelerinden toplanan su örneklerinde Ames/Salmonella mutajenite testi, Muta-ChromoPlate™ kitinde metabolik aktivasyonlu ve aktivasyonsuz TA98 ve TA100 bakteriyel suşların kullanıldığı bir diğer mutajenite testi ve *A. cepa* bitkilerinde polimorfik DNA'nın rastgele amplifikasyonu (RAPD) gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

Kök büyüme inhibisyon testleri, bor maden drenajı su örneğinin EC50 değerinin yaklaşık %3.85 olduğunu göstermektedir. *A. cepa*'daki RAPD-PCR yöntemi, polimorfizm yüzdesinin bor maden drenajı suyunun DNA üzerinde bir etkiye sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Kök büyüme inhibisyon test sonuçlarına göre, artan bor konsantrasyonu, fitotoksisite etkisi ile *A. cepa* köklerinde büyümeyi engellemiştir. Metabolik aktivasyonun yokluğunda en yüksek konsantrasyon için *Salmonella typhimurium* TA 98 suşunun mutajenik aktiviteyi uyardığı ve revertant koloni sayısını arttırdığını göstermektedir.

### Sonuç ve Tartışma

Endüstriyel olarak üretilen bor maden drenajı sularının toksisitesi ve mutajeniteleri birbirinden bağımsız ve tamamlayıcı yöntemlerle değerlendirilmiştir

**Anahtar Kelimeler:** bor, RAPD/PCR, bor maden drenaj suyu, toksisite

**Teşekkür:** Bu çalışma ESOGÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu 201419108 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

## **Arıtma Çamurlarından Elektrik Enerjisi Eldesi: Mikrobiyal Yakıt Hücresi (myh) Uygulaması**

**İdris Biryo<sup>1</sup>, Azize Ayol<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*

<sup>2</sup>*Dokuz Eylül Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü*

[azize.ayol@deu.edu.tr](mailto:azize.ayol@deu.edu.tr)

### **Giriş**

2000' li yılların başından itibaren özellikle biyolojik olarak bozunabilir organik atıklardan enerji eldesine yönelik stratejiler tüm dünyada önem kazanmıştır. Mikrobiyal yakıt hücreleri, glukoz, asetat, butirat, laktat, etanol, sistein ve sığır serum albümin gibi çeşitli substratlardan elektrik üretimi için bakteriler kullanılarak geliştirilmektedir. Bununla birlikte, özellikle Çevre Biyoteknolojisi alanında analizleme teknikleri konusundaki gelişmeler, sucul ortamlarda elektrot yüzeylerinde etkin yarılanma reaksiyonları oluşturabilme kapasitesine sahip bazı spesifik mikroorganizmaların varlığının tespit edilmesine imkan sağlamıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu araştırma çalışması kapsamında bir et işleme endüstrisi atıksu arıtma tesisinden alınan aktif çamurlarından çift odacıklı MYH kullanılarak, anodik ve katodik koşullar altında doğrudan elektrik üretimi ve çamur stabilizasyonu araştırılmıştır. H tipi çift odacıklı MYH reaktörleri laboratuvar ölçekli tasarlanmış olup, Pt/C kaplamalı karbon kumaş ve karbon kağıt elektrot olarak kullanılmıştır. Anot bölgesine 80 mL anaerobik çamur aşılacaktır. Her bir bölme toplam 300 mL aktif hacme sahiptir. Aktif çamur ve anaerobik çamur örneklerinde reaktörlere beslenmeden önce karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Reaktörlerde pH, ORP, sıcaklık, elektriksel iletkenlik değerleri izlenmiştir. Reaktörlerden alınan çamur örneklerinde stabilizasyon derecesini belirlemek üzere katı madde ve organik madde analizleri yapılmıştır. Reaktörlerde elektrik üretimi sürekli olarak izlenmiş olup, maksimum güç, maksimum akım, güç ve akım yoğunlukları tüm deneysel seriler için hesaplanmıştır.

### **Bulgular**

MHY-Pt/C reaktöründe 33.8 mW/m<sup>2</sup> maksimum güç yoğunluğu ve 13.0 µA/cm<sup>2</sup> maksimum akım yoğunluğu hesaplanırken; bu değerler MHY-karbon reaktöründe 60.3 mW/m<sup>2</sup> ve 17.4 µA/cm<sup>2</sup> olarak elde edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Deneysel çalışmaların sonuçları arıtma çamurlarından MHY ile elektrik üretiminin mümkün olduğunu göstermektedir. Bildiri kapsamında deneysel sonuçlar detaylı olarak tartışılmaktadır. Bu çalışma DEÜ2011KB.FEN.046 nolu projeden üretilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** arıtma çamuru, mikrobiyal yakıt hücresi, elektrik üretimi

**Teşekkür:** DEUKB.FEN046-2011101Arıtma Çamurlarından MYH Kullanılarak Elektrik Üretimi projesinden üretilmiştir.

## Asidofilik Bakterilerin Kömür Biyodesülfürizasyonunda Kullanımı

Yağmur Toptaş<sup>1</sup>, Ahmet Çabuk<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü- Biyoloji Ad, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi-biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Abd, Eskişehir

yagmurtoptas@gmail.com

### Giriş

Asidik habitatlar, genellikle pH 3 ya da daha düşük pH değerlerine sahip, doğal olarak meydana gelebilen ya da insan aktiviteleri ile oluşan; aşırı asidofil organizmaların yaşadığı ortamlar olarak tanımlanmaktadır. Kükürtçe zengin bölgeler, bu tip habitatların önemli bir kısmını oluşturur. Kömür madenlerinin asit drenajından ya da kömürün yüzeyinden izole edilen yerli suşların, kömürün piritik kısımlarını zenginleştirmede ya da piritik kükürdü gidermede yüksek etkinliğe sahip olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu çalışmada Çayırhan bölgesi linyitinin kükürt giderimi, asit maden drenajından izole edilen asidofilik izolatlar ile çalışılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

İzmir Beydağ-Halıköy bölgesinde bulunan bakır madeninin, maden çıkış suları ve oksidasyon havuzlarındaki AMD sularından izole edilen üç asidofilik bakterinin (YT-5, YT-14, YT-22) izole edildikleri besi ortamlarında (inorganik demir, demir-sülfür, demir-TSB) 30°C'de 15 gün süre ile aşı kültürleri hazırlanmıştır. -0,106+ 0,038 mm partikül boyutundaki kömür numunelerine %1 pulp yoğunluğu, pH 2,5, %2 inokulum miktarı ile 30°C'de 14 gün desülfürizasyon deneyi yapılmıştır. Her bir deney üç tekrarlı çalışılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kömür numuneleri kültür süpernantlarından ayrılarak %10 HCl asit ile jarositlerden uzaklaştırılarak sıcak deiyonize su ile yıkanmıştır. Daha sonra 40°C etüvde kurutulan kömür numunelerinin toplam kükürt miktarları belirlenmiştir. Kontrol olarak desülfürizasyona tabi tutulmamış ancak diğer yıkama işlemlerine maruz bırakılmış kömür numuneleri kullanılmıştır. Kömür ve kontrol numunesinin kül miktarı tayinleri ASTM D 3174 kodlu test yöntemi ile yapılmıştır.

### Bulgular

Biyodesülfürizasyon deneylerinde kullanılan Çayırhan bölgesi linyitlerinin, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi bünyesinde yapılan B-2013-206 kodlu BAP komisyonu destekli çalışmada tüvenan kömürün belirlenen özellikleri; kül %66,71, uçucu madde % 29,31, toplam kükürt % 3,98, alt ısı değer 1653 kcal/kg, üst ısı değer 1752 kcal/kg şeklindedir. YT-5, YT-14, YT-22 kodlu asidofilik bakteri izolatları ile yapılan biyodesülfürizasyon çalışması sonrasında elde edilen toplam kükürt giderimler sırasıyla %11,9, %4,9, %6,3' tür. Biyodesülfürizasyon uygulaması sonrasında elde edilen kül miktarlarına göre YT-22 kodlu izolat ile yapılan çalışmada kül oranında %10 yakın bir azalma meydana geldiği gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

YT-5 kodlu izolatin diğer izolatlardan daha fazla (yaklaşık %12) kükürt giderdiği belirlenmiştir. Elde edilen düşük kükürt giderim yüzdeleri, çalışma koşullarının yeni çalışmalarla iyileştirilmesi gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** AMD, asidofiller, kömür biyodesülfürizasyonu

**Teşekkür:** Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi BAPK'nun 2016/19A223 nolu projesi ile desteklenmiştir.

## Hidrodinamik Kaviteyle Destekli Yöntemlerle İşlem Gören Atık Aktif Çamurun Mikrobiyal Kalitesinde Meydana Gelen Değişimler

Fatma Olcay Topaç Sağban<sup>1</sup>, Habibe Gözde Taşdemir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Görükle, Bursa

[olcaytopac@uludag.edu.tr](mailto:olcaytopac@uludag.edu.tr)

### Giriş

Aritma çamurlarına uygulanan mekanik dezentegrasyon yöntemlerinden olan hidrodinamik kaviteyle yönteminin etkinliğinin araştırılması son yıllarda üzerinde çalışılan bir konu olmuştur. Hidrodinamik kaviteyle, şok dalgaları, mikro jetler, türbülans, kesme kuvvetleri gibi çeşitli fiziksel etkilerin, çok yüksek sıcaklığın ve OH• radikallerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Yapılmış çalışmalar, yöntemin uygulanmasıyla ortaya çıkan bu etkilerin çamurun parçalanmasını kolaylaştırdığını ve kavite edilen çamurlardan daha yüksek gaz üretimi sağlanabildiğini göstermektedir. Bu çalışmanın amacı hidrodinamik kaviteyle destekli yöntemlerle işlem gören atık aktif çamurun mikrobiyal kalitesinde meydana gelen değişimleri belirlemektir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada kullanılan atık aktif çamur, Bursa'da bulunan, konserve gıda üretimi yapılan bir işletmenin atıksu arıtma tesisinden alınmıştır. Hidrodinamik kaviteyle denemeleri orifis plakalı kaviteyle cihazı ile yürütülmüştür. Kullanılan sistem 20lt hacminde paslanmaz çelikten yapılmış bir reaktör, 1,5 kw motor gücüne sahip dikey millerli santrifüj pompa ve kaviteyle gerçekte olduğu orifis kısmından oluşmaktadır. Çalışma kapsamında dört farklı dezentegrasyon yöntemi uygulanmıştır: hidrodinamik kaviteyle, hidrodinamik kaviteyle+NaOH ilavesi (pH:11), hidrodinamik kaviteyle+Ca(OH)<sub>2</sub> ilavesi (pH:11) ve hidrodinamik kaviteyle+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilavesi (20 mg/l). Herbir uygulama için kaviteyle 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarında örnekler alınarak fekal koliform ve e-coli analizleri yapılmıştır.

### Bulgular

Çalışma sonuçlarına göre uygulanan tüm dezentegrasyon yöntemlerinde bakteri sayıları kaviteyle zamanına bağlı olarak belirgin bir azalma eğilimi göstermiştir. Kimyasal ilavesiz hidrodinamik kaviteyle yöntemi ile 150 dakika sonunda yaklaşık 3 logluk bir azalma meydana gelirken, kimyasal ilaveli kaviteyle denemelerinde daha fazla fekal koliform giderimi (4 ila 5 log) gerçekte olmuştur. Çalışma kapsamında belirlenen e-coli değişimleri de fekal koliform değişimleriyle benzerlik göstermektedir. Kaviteyle zamanına bağlı belirgin bir azalma sözkonusudur. Ham çamurlarda 4-5 log seviyelerinde olan e-coli sayıları, 150 dakikalık dezentegrasyonun ardından 2 log seviyelerine düşmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, hidrodinamik kaviteyle yönteminin çamur dezenfeksiyonu yönünden pozitif etkilerde bulunduğu ve kimyasal madde ilaveli yöntemlerde bakteri gideriminin daha fazla olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** atık aktif çamur, dezentegrasyon, dezenfeksiyon, hidrodinamik kaviteyle

**Teşekkür:** Bu çalışma 114Y523 nolu TÜBİTAK Projesi kapsamında yapılmıştır. TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

## Bor İçeriği Yüksek Toprak Örneğinin Fitotoksik, Genotoksik ve Sitogenetik Etkileri

Serhan Karakas<sup>1</sup>, Ferhan Korkmaz<sup>2</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>3</sup>, Ahmet Çabuk<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

[serhankarakas@gmail.com](mailto:serhankarakas@gmail.com)

### Giriş

Yaşadığımız yüzyılda artan sanayileşme sonucu ham maddeye olan ihtiyaç giderek artmış, ham madde kaynakları olan madenlerdeki madencilik faaliyetlerinin yoğunlaşmasına sebep olmuştur. Ancak maden cevherlerinin çıkarılması sonucu biyosferdeki element konsantrasyonları sınır değerlerin üzerine çıkmakta ve canlılar üzerinde toksik etki riskini artırmaktadır. Toksik etkinin ölçümünde sadece element konsantrasyonlarının ölçümü toksik etkiyi ve iç maruziyeti belirleyememektedir. Bunun için biyolojik izleme önem kazanmaktadır. Bu amaçla ülkemiz için stratejik bir maden olan Borun (B) madencilik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan bor içeriği yüksek olan toprakların, fitotoksik, genotoksik ve sitogenetik etkileri araştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Toprak örnekleri, Eskişehir ili Seyitgazi ilçesi Kırka beldesinde faaliyet gösteren Bor tesislerinden alınmış ağır metal konsantrasyonları ICP-AES ile belirlenmiştir. Gupta yöntemine göre bor miktarları da belirlenmiş olup en yüksek bor konsantrasyonuna sahip toprak örneğinin fitotoksik etkileri EPA tarafından önerilen *Pisum sativum*, *Zea mays*, *Triticum aestivum* ve *Sorghum bicolor* test organizmaları kullanılarak araştırılmıştır. Fitotoksik etkinin belirlenmesinde çimlenme, kök büyümesi inhibisyonu ve biyokütle parametreleri incelenmiştir. Genotoksik ve sitogenetik etkinin belirlenmesi için *Allium cepa*'da kromozom aberasyon testi kullanılmıştır. Sitotoksik etki için mitotik indeks, genotoksik etkinin belirlenmesi için kromozom aberasyon indeksi parametreleri incelenmiştir. Tüm sonuçlar SPSS paket programı kullanılarak istatistiksel anlamlılıkları test edilmiştir.

### Bulgular

Artan bor konsantrasyonlarının test organizmaları üzerinde fitotoksik etki oluşturduğu, çimlenme ve biyokütle miktarında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Kök büyümesi açısından EC50 konsantrasyonları *Z. mays* EC50: %0.43 -*S. bicolor* EC50: %0,92 -*T. aestivum* EC50: %1,79 -*P. sativum* EC50: %2.65 -*A. cepa* EC50: %17.22 olarak belirlenmiştir. *A. cepa*'da %3.52'nin üzerindeki test konsantrasyonlarında mitotik aktiviteye rastlanılmamıştır. Ayrıca 24 ve 48 saat sonunda negatif kontrole göre mitotik indeksin düştüğü, kromozom hasarlarının arttığı belirlenmiştir. Sitogenetik açıdan artan bor konsantrasyonları protoplazma bütünlüğünün bozulmasına sebep olmuş ve aberasyon tipleri açısından farklı kromozom anormalliklerine rastlanılmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Bor içeriği yüksek toprak örneğinin bitkisel organizmalarda fitotoksik ve genotoksik etkilere neden olduğu ve her test organizmasının bor elementine karşı farklı duyarlılıkta olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** bor madenciliği, fitotoksikite, genotoksikite, biyolojik izleme

## Tam Hücre Bakteriyel Biyosensörleri Kullanılarak Sudaki Ağır Metallerin Tespit Edilmesi

Evrin Elçin<sup>1</sup>, Hüseyin Avni Öktem<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

[eelcin@metu.edu.tr](mailto:eelcin@metu.edu.tr)

### Giriş

Günümüzde insan odaklı ağır metal kullanımı ve ağır metal içeren atıkların arıtılmadan çevreye salımı giderek artmaktadır. Ağır metaller suda yüksek çözünürlüğe sahip oldukları için su sistemlerine kolayca karışabilmekte ve canlılarda toksik ölçüde birikebilmektedir. Sudaki ağır metal kirliliğini izlemek için fizikokimyasal analizlere dayanan konvansiyonel metotların yanında biyolojik metotların kullanımı giderek önem kazanmaktadır. Bu çalışma, rekombinant floresan tam hücre bakteriyel biyosensörleri geliştirilerek çevresel toksisitesi yüksek ağır metallerin sudaki konsantrasyonlarının belirlenmesine yönelik araştırmaları kapsamaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Raportör gen olarak yeşil floresan proteini sentezletilmiş ve bakteriyel plazmite klonlanmıştır. Bu raportör genin ağır metal varlığında ifade edilebilmesi için *Escherichia coli* genomundan gümüş ve bakıra özgü gen promotörü (copA) ve kadmiyum, cıva ve çinkoya özgü gen promotörü (zntA) çoğaltılıp ve plazmitteki raportör genin başına klonlanmıştır. Oluşturulan ve doğrulanan promotör-raportör plazmitler *Escherichia coli*'ye aktarılmıştır. Elde edilen 2 farklı bakteriyel biyosensör hücreleri minimal ortamda değişik metal konsantrasyonlarında 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon boyunca her kültürün bakteriyel hücre konsantrasyonu ve relatif floresan değeri spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

### Bulgular

Tam hücre bakteriyel biyosensör hücrelerin değişik konsantrasyonlarda ağır metal içeren kültür ortamındaki floresan protein artışı takip edilmiş, floresan sinyalin arttığı minimum metal konsantrasyonları ve artışın görüldüğü zaman dilimi tespit edilmiştir. Gümüş ve bakırı rapor eden bakteriyel biyosensörün ortamdaki gümüşü en az 1 mg/L'ye kadar 2 saat içinde, bakırı ise en az 6 mg/L'ye kadar 4 saat içinde; kadmiyum, cıva ve çinkoyu rapor eden bakteriyel biyosensörün ortamdaki kadmiyumu en az 0,1 mg/ml'ye kadar 3 saat içinde, cıvayı en az 0,2 mg/ml'ye kadar 3 saat içinde, çinkoyu ise en az 0,65 mg/ml'ye kadar 4 saat içinde tespit edebildiği belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Geliştirilen tam hücre floresan bakteriyel biyosensörler sudaki bazı ağır metalleri maksimum çevresel kalite standartlarına yakın değerlerde kısa sürede tespit edebilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** ağır metal, bakteriyel biyosensör

## ***Chlorella variabilis* Türü Mikroalgin Maya Endüstrisi Atık Suyunu Arıtma Potansiyelinin ve Yağ İçeriğinin İncelenmesi**

Togayhan Kutluk<sup>1,3</sup>, Kadriye Oktor<sup>2</sup>, Nurcan Kapucu<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Kocaeli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Kocaeli*

<sup>2</sup>*Kocaeli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Kocaeli*

<sup>3</sup>*Kocaeli Üniversitesi, Alternatif Yakıtlar Araştırma ve Geliştirme Merkezi, Kocaeli*

togay71@gmail.com

### **Giriş**

İşletme verimliliği, atıkların giderilmesi ve enerji kazanımı sürdürülebilir temiz enerji üretimi süreçlerinin ayrılmaz bir parçasıdır. Çeşitli endüstriyel atık sular organik elementlerce zengindir. Mikroalgler, atık sularda bulunan organik besinleri tüketebilmeleri ve fotosentez yapmaları nedeniyle atık suların arıtılmasında ekonomik bir öneme sahiptir. Aynı zamanda bu teknoloji, alternatif bir enerji kaynağı olarak biyoyakıt (biyodizel, biyoetanol ve biyogaz) üretebilme yeterliliğine de sahiptir. Bu çalışmada, maya endüstrisi atık su arıtımında mikroalglerin kullanılabilirliği ve arıtmadan sonra üretilen mikroalgal yağın biyodizel üretiminde hammadde olarak kullanılabilme potansiyeli incelenmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*Chlorella variabilis* türü mikroalg 250 mL erlenlerde, 200 rpm çalkalama hızında ve 27 °C'de bir ay süre ile kültür edilmiştir. Besi ortamı olarak Pakmaya İzmit tesislerinde maya üretimi sonucunda oluşan atık su kullanılmıştır. Atık su öncelikle 4000 rpm de santrifüj edilerek içerisindeki katı partiküllerden ayrılmıştır. Besi ortamı atık su karakterizasyonu (COD 2500 mg/L, TKN 250 mg/L, Toplam P 5 mg/L) atık su laboratuvarımızda yapılmıştır. Örneklerin KOI değerleri 400-880 nm dalga boyuna sahip HACH DR 2400 spektrofotometrede ölçülmüştür. Atık su farklı oranlarda (% 0-50) şebeke suyu ile seyreltilerek besi ortamı olarak kullanılmıştır. UV-VIS spektrofotometre ile 680nm'de absorbans ölçümü yapılarak büyüme izlenmiştir. Kültür sonunda mikroalgler santrifüj ile ayrılmış; yağ içerikleri Bligh ve Dyer yöntemine göre belirlenmiş, yağ asidi bileşimi ise GC ile tayin edilmiştir

### **Bulgular**

Maksimum hücre derişimine (1.24g/L) atık suda seyreltme olmadığında (büyüme hızı  $\mu_{max} = 0,0038h^{-1}$  olarak, yağ içeriği ise %11 ulaşılmış, %40 seyreltme oranına kadar yağ içerikleri %10-14 aralığında değişim göstermiş, en yüksek yağ içeriği ise %50 seyreltmede %26 olarak elde edilmiştir. Bu oranda seyreltilen atık sudan elde edilen *C.variabilis* yağ asidi bileşimi C14:0 %7.7; C15:0 %6.7; C16:0 %28.2; C17:0 %4.2; C18:1 %9.4; C18:2 %26.1; C18:3 %17.8 olarak belirlenmiştir. İnkübasyon sonucunda seyrelme yapılmadan arıtılan atık su değerleri (COD 172 mg/L, TKN 20.2 mg/L, Toplam P 0.225 mg/L) önemli ölçüde azalmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Arıtmada mikroalg kullanımı atık su değerlerinde önemli düşüşler sağlamış, oluşan alg yağı biyodizel üretimi için hammadde kaynağı olarak kullanılacak potansiyele sahiptir.

**Anahtar Kelimeler:** atık su, alg yağı, biyodizel, *Chlorella variabilis*

**Teşekkür:** Kocaeli Üniversitesi Bilisel Araştırmalar Birimi'ne desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.



# İnsektisit Direncinin Ev Sineği (*Musca domestica* L. diptera: muscidae) Popülasyonlarında İncelenmesi

Hakan Eligül<sup>1</sup>, Oner Koçak<sup>1</sup>, Cumhur Çökmüş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Stratejik Ürünler Araştırma ve Geliştirme Merkezi, Konya

[hakan.eligul@gidatarim.edu.tr](mailto:hakan.eligul@gidatarim.edu.tr)

## Giriş

Ev sineği (*Musca domestica*) mekanik olarak taşıdığı birçok hastalık sebebiyle Dünya’da ve Türkiye’de mücadele edilmesi gereken başlıca zararlılardan biridir. Ergin ev sineği mücadelesinde organik klorlu ve organik fosforlu insektisitlerin yasaklanması ile sentetik piretroit grubu insektisitlerin kullanımı yaygın olarak devam etmektedir.

## Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada sentetik piretroit grubu insektisitlerden Deltamethrin’in Konya ili ev sineği (*Musca domestica* L. Diptera: Muscidae) popülasyonlarındaki etkinliği incelenmiştir. Deltamethrin’in %5’lik SC tipi formülasyonu ile Aslım Çöplüğü, Konya Atıksu Arıtma Tesisi, Konya Şeker Fabrikası, Konya merkez lokalitelerinden toplanan popülasyonlarla, Dünya Sağlık Örgütü’nün duyarlı popülasyonu kullanılmıştır. Deltamethrin’in alt ve üst dozları (0.0075-0.015 aktif içerik /m<sup>2</sup>) kalıcı uygulama yöntemiyle denenmiştir. Alt ve üst dozdaki 30. dk knock down(KD) sonuçları ve 24 saat sonunda % ölüm sonuçları(%dx) Probit analiz programında değerlendirilmiştir.

## Bulgular

0,0075 gai/m<sup>2</sup> uygulama dozunda 30. dk KT50 sonuçları Aslım Çöplüğü 2788 dk, Şeker Fabrikası 57,8 dk, merkez 847,3 dk, duyarlı popülasyon 8,5 dk. 0,015 gai/m<sup>2</sup> uygulama dozunda 30. dk KT50 sonuçları Aslım Çöplüğü 56,2 dk, Atıksu Arıtma Tesisi 101,3 dk, Şeker Fabrikası 55,3 dk, merkez 152,9 dk, duyarlı popülasyon 6,1 dk. 0,0075 gai/m<sup>2</sup> uygulama dozunda 24 saat sonunda %dx sonuçları Aslım Çöplüğü %9,4, Atıksu Arıtma Tesisi %8,8, Şeker Fabrikası %30,2, merkez %7, duyarlı popülasyon %100. 0,015 gai/m<sup>2</sup> uygulama dozunda 24 saat sonunda %dx sonuçları Aslım Çöplüğü %35,2, Atıksu Arıtma Tesisi %20, Şeker Fabrikası %19, merkez %13,2, duyarlı popülasyon %100.

## Sonuç ve Tartışma

Elde edilen veriler ışığında KT<sub>50</sub> değerleri duyarlı popülasyona göre karşılaştırıldığında en yüksek değer 0,0075 gai/m<sup>2</sup> uygulama dozunda Aslım çöplüğü popülasyonunda, 0,015 gai/m<sup>2</sup> uygulama dozunda Konya merkez popülasyonunda olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ev sineği, *Musca domestica*, deltamethrin, direnç

## Kömür Kükürt Gideriminde Döner Tambur Tipi Biyoreaktör Uygulamaları

Büşra Şener<sup>1</sup>, Derya Öz Aksoy<sup>2</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>1</sup>, Yağmur Toptaş<sup>3</sup>, Sabiha Koca<sup>2</sup>, Hüseyin Koca<sup>4</sup>, Ahmet Çabuk<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü-biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi-mühendislik Fakültesi-maden Mühendisliği Bölümü, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü- Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>4</sup>Anadolu Üniversitesi, Porsuk Meslek Yüksekokulu, Eskişehir

<sup>5</sup>Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi-biyoloji Bölümü, Eskişehir  
[busrasener26@gmail.com](mailto:busrasener26@gmail.com)

### Giriş

Kömür ülkemiz için, en önemli birincil enerji kaynaklarından birisidir. Özellikle linyit rezervlerinin yaklaşık 14,2 milyar tonu ülkemizde bulunmaktadır. Ancak linyit rezervlerimizin büyük kısmının düşük ranklı, yüksek kül ve kükürt içerikli olması kullanımlarında önemli bir sorundur. Kömür kalitesinde, kül yapıcı inorganik maddeler ve özellikle SO<sub>2</sub> emisyonu ile büyük ölçüde hava kirliliğine neden olan kükürt, önemli etkenlerdir. Günümüzde temiz kömür teknolojileriyle bu sorunlara çözüm aranmaktadır. Bu çalışmada, merkezi kompozit tasarımı kullanılarak kül ve kükürt içeriği yüksek olan düşük ranklı Türk linyitlerinin *Alternaria sp.* Cfl fungusu ile döner tamburlu biyoreaktörde biyodesülfürizasyon süreci ve optimizasyonu incelenmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, *Alternaria sp.* Cfl fungusu (Genbank no: KF564051), Çayırhan bölgesi linyit numuneleri (-106 µm) ve iç hacmi 2,5 l olan silindirik kaplar kullanılmıştır. Karıştırma, bir tanesi tahrikli iki döner rulo üzerinde kabın döndürülmesi ile gerçekleştirilmiştir. Deneysel 4 parametrenin (katı oranı, inkübasyon süresi, inokulum miktarı, çalkalama hızı) etkisi merkezi kompozit tasarım ile belirlenen deney setleriyle incelenmiştir. Söz konusu parametreler kükürt (ASTM D4239) giderimi yanında kül (ASTM D7582/ASTM D3174) ve kükürt emisyon değerinde de iyileşme açısından da değerlendirilmiş ve yorumlanmıştır. Her üç parametre için de süreç matematiksel olarak modellenmiştir. Linyit numunelerine sürecin etkisini net olarak ortaya koymak amacı ile optimum koşullarda elde edilen numunelerde ileri analizler (FTIR, SEM, TGA-DTA, ısı değer, major-minör element vb) de yapılmıştır.

### Bulgular

Yapılan çalışmada, linyitin biyolojik iyileştirme sürecinde etkili olabilecek kül giderimi, kükürt giderimi ve kükürt emisyonunda giderim açısından incelenmiştir. Verilen yanıt değişkenlerinin her birisi için yapılan deneysel çalışmalar sonucunda yaklaşık %20 kükürt giderimi, yaklaşık %21 kül giderimi ve kükürt emisyon değerinde ise yaklaşık %42'lik azalma elde edilmiştir. Yapılan analizler, piritik (%17 giderim) ve organik kükürtün (yaklaşık %19 giderim) her ikisinde de azalma gerçekleştiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra optimum koşullarda elde edilen numunelerde yapılan ileri analizler (FTIR, SEM, TGA-DTA, ısı değer, major-minör element, uçucu madde vb) de biyolojik işlemin linyitin kalitesinin artırdığını kanıtlar niteliktedir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmanın, kömürde oldukça kapsamlı bir iyileştirme sağladığı görülmektedir. Ayrıca daha yüksek katı oranlarında kabul edilebilir giderimler elde edebilmek için bir basamak olarak dikkate değer bir sonuç sunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** kömür, biyodesülfürizasyon, döner tambur biyoreaktör

**Teşekkür:** Bu çalışma ESOGÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu 201719A107 no'lu projesi ile desteklenmiştir. Bu çalışmanın patent başvurusu "Yüksek Kül ve Kükürt İçerikli Linyitlerde Kül ve Kükürt Azaltma Yöntemi ve Bu Yöntemle İyileştirilmiş Kömür Özellikleri" başlığı ve 2017/18967 başvuru numarası ile Türk Patent ofisine yapılmıştır.

## Boya Giderimi İçin *Crataegus szovitsii* Pojark ile Demir Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

Demet Erdönmez<sup>1</sup>, Nihal Kenar<sup>1</sup>, Ömür Acet<sup>2</sup>, Mehmet Odabaşı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye

<sup>2</sup>Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye

[demet.erdonmez@gmail.com](mailto:demet.erdonmez@gmail.com)

### Giriş

Endüstriyel atık suların sucul ortamlara bilinçsiz deşarjı sınırlı olan tatlı su kaynaklarımızın kirlenmesine ve kullanılamaz hale gelmesine yol açar. Atık suların verildiği alıcı ortamlardaki suda ışık geçirgenliğinin sağlanması, artımın önemli adımları içerisindedir. Atık sulardaki boyar madde kullanımı tekstil endüstrisinin etkin çalışması ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Dolayısıyla boya içeren tekstil atık sularının giderimi maliyetli ve çaba gerektiren bir süreçtir. Kimyasal metodlar yardımıyla bu giderim süreçleri ortamda bazı kimyasalların birikimine neden olmaktadır. Bu nedenle boyaların giderimi için çevre dostu yaklaşımlar son zamanlarda oldukça rağbet görmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada polifenolik bileşikler açısından zengin olan *Crataegus szovitsii* Pojark.' in su ekstraktı yardımıyla demir nanopartiküller elde edildi. Bu nanopartiküllerin karakterizasyonu SEM ve FTIR analizleriyle gerçekleştirildi.

### Bulgular

Elde edilen 42 nm ile 99 nm arasında değişen boyutlardaki demir nanopartikül kompleksleri; Reactive Red 3, Acid Orange 74, Reactive Yellow 42 boyalarını 40-45 dk içerisinde %90-95 oranında gidermiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Atık su giderimi için fiziksel ve kimyasal metodlar yerine bitki bazlı üretilen demir nanopartiküllerinin kullanımı ekonomik ve çevreye dost alternatif bir süreç içermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Crataegus szovitsii* Pojark., boya giderimi, demir nanopartikülü

## Krom Dirençli *Pseudomonas sp.* Türlerinde Siderofor Üretiminin Araştırılması

Kübra Erkan Türkmen<sup>1</sup>, Demet Erdönmez<sup>2</sup>, Ege Doruk Ulusman<sup>3</sup>, Nilüfer Aksöz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Aksaray Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aksaray

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

[kerkan87@gmail.com](mailto:kerkan87@gmail.com)

### Giriş

Metaller, yeryüzünün doğal bileşenleridir. Bu metaller canlı organizmalar için temel bileşenlerdir, ancak mikro ve makro organizmalar için yüksek konsantrasyonlarda toksik olduğu ispatlanmıştır. Ancak ağır metal olarak sınıflandırılan bir grup metal (kurşun, kadmiyum ve Krom) gibi canlılar için düşük konsantrasyonlarda bile toksik etki gösterirler. Hızlı endüstrileşme ile büyük miktarlarda ağır metal içerikli endüstriyel atıklar birikmektedir. Ağır metallerin giderimi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında biyolojik temelli yöntemler oldukça sık kullanılmaktadır. Bu bağlamda, yapılan bu çalışmada krom dirençli bakteri izolasyonu ve direncin ilişkili olduğu düşünülen siderofor üretiminin araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Kroma dirençli *Pseudomonas sp.* türleri endüstriyel sanayi bölgelerinden alınan topraklardan izole edilmiştir. Saf koloni halinde elde edilen bakteriler *Pseudomonas* türleri için seçici ayırt edici bir besiyeri olan Cetrimide agara ekildi. İzolatların Luria Bertani Broth (LB) ortamında 20-4000 µg/l aralığında krom toleransları mikro plate titer yöntemi ile belirlendi. Çeşitli direnç aralığı gösteren izolatların siderofor üretiminin tespiti için Krom Azurol S agar kullanıldı. Siderofor üretimi tespit edilen izolatların tür tayini 16s rRNA analizi ile gerçekleştirildi.

### Bulgular

3 farklı bölgeden alınan toprak örneklerinden elde edilen izolatların bir kısmı cetrimide agarda *Pseudomonas aeruginosa* 'ya özgü üreme göstermiştir. Ardından metal direnç aralığına göre seçilen türler Krom Azurol S agarda değerlendirildi. Turuncu zon oluşumu gözlenen izolatlar siderofor üretimi için pozitif olarak tanımlandı. Yapılan 16s rRNA analizi sonucunda *Pseudomonas aeruginosa* olduğu düşünülen türlerin doğrulaması yapıldı.

### Sonuç ve Tartışma

Sideroforlar, demir eksikliği durumunda minerallerdeki veya organik bileşiklerdeki demir için çözünmeye sağlayan bir aracı olarak görev yapar. Ayrıca sideroforlar krom gibi çevreye zararlı diğer metaller ile kararlı kompleksler oluşturabilirler.

**Anahtar Kelimeler:** krom direnci, siderofor, *Pseudomonas sp.*

## Evaluation Of Pretreatment Processes For Methane Production From Microalgae

Mona Fardinpoor<sup>1</sup>, Murat Şahan<sup>1</sup>, Altunay Perendeci<sup>2</sup>, Vedat Yılmaz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Antalya

<sup>3</sup>Artvin Çoruh Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Artvin

[mfardinpoor@yahoo.com](mailto:mfardinpoor@yahoo.com)

### Giriş

Biomass is an attractive source of renewable energy and has been drawing attention because of its constant renewal feature. Microalgae as biomass are one of the newest generations of bio-energy sources with features of high production rate, the ability to survive in sweet and salty waters, the consumption of nutrients from wastewater leading to the reduction in its production costs and difficulties. Microalgae can be used for methane production and the amount of biogas obtained from microalgae varies depending on the algal species and applied pretreatment process. In this study, it was aimed to identify the most efficient microalgal species and the most appropriate pretreatment processes for methane production.

### Gereçler ve Yöntemler

In this study, 60 studies published between 2000 and 2017 that have used different microalgae species and different pretreatment process for methane production through anaerobic digestion were investigated in the literature. The most efficient algal species, most effective pretreatment process in terms of maximum methane production and pretreatment conditions were taken into consideration. Furthermore, countries and companies focus on production of methane from microalgae, research areas (cultivation of microalgae, harvesting processes, pretreatment processes, CO<sub>2</sub> mitigation and etc.) and strategic partnerships were also evaluated

### Bulgular

The most widely used algal species are *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus sp.*, *Nannochloropsis salina* and *Spirulina maxima*. The most prevalent pretreatment processes are thermal, ultrasound and enzymatic. In the case of using thermal pretreatment process, methane production enhanced around 38-90%, especially at 110-130 °C reaction temperature and 40-60 minutes reaction time. By using ultrasound pretreatment, 0.35-35 Mj/kg.TS and 50 seconds-10 minutes, methane production has increased up to %90.

### Sonuç ve Tartışma

This literature review showed that the most effective algal species have been *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus sp.* Besides, the most appropriate pretreatment processes are thermal and ultrasound application to enhance methane production.

**Anahtar Kelimeler:** methane production, microalgae, pretreatment processes

**Teşekkür:** 115Y334 Nolu TÜBİTAK 1001-COST Projesi

## Triazin Grubu Pestisitlerin Mantarların Gelişimine Etkisinin Belirlenmesi

Ülküye Dudu Gül<sup>1</sup>, Hülya Silah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Myo, Tıbbi Hiz. ve Tek. Bölümü, Bilecik

<sup>2</sup>Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fak., Kimya Bölümü, Bilecik

[ulkuyedudugul@gmail.com](mailto:ulkuyedudugul@gmail.com)

### Giriş

Tarımsal üretimde zirai zararlılarla mücadele etmek için yaygın olarak kullanılan pestisitler toprakta kalıntı oluşturmakta ve bu kalıntılar yıkanmak suretiyle yer üstü ve yer altı sularına karışmaktadır. Çevreye yayılan ve kalıntı oluşturan pestisitlerin çevre kirliliğine neden olmasının yanı sıra canlı organizmalar için olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı ülkemizde yaygın kullanılan triazin grubu pestisitlerin filamentli mantar türlerinin gelişimine etkisini belirlemektir.

### Gereçler ve Yöntemler

Triazin grubu pestisitler olan Atrazin ve Siyromazin bulunan ve bulunmayan besiyerinde inkübasyona bırakılan mantar türlerinin gelişimi incelenmiştir. Filamentli mantar türleri olarak Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *Aspergillus versicolor* ve *Rhizopus arrhizus* türleri kullanılmıştır. Besiyeri içeriğinde maliyeti düşürmek amacıyla karbon kaynağı olarak melas kullanılmıştır. Pestisitlerin mikrobiyal gelişimine etkisini belirlemek için besiyerine 5 mg/L Atrazin ve Siyromazin eklenmiş olup, pestisit içermeyen besiyeri kontrol olarak kullanılmıştır. Sucul ortamdaki pestisit konsantrasyonlarındaki değişim elektrokimyasal metodlarla belirlenmiştir. Ayrıca Atrazin ve Siyromazin pestisitlerinin etkileştiği *A. versicolor* ve *R. arrhizus* yüzeylerindeki fonksiyonel grupların tanımlanabilmesi ve pestisit bulunan ortamdaki değişimin gözlemlenebilmesi için FT-IR tekniği kullanılmıştır.

### Bulgular

Mantar türlerinin 7 günlük inkübasyon süresi sonunda kuru ağırlıkları incelendiğinde, pestisit bulunmayan besiyerinde gelişen mantar türlerinin kuru ağırlığının aynı koşullardaki pestisit içeren besiyerinde gelişen mantar türlerinin kuru ağırlığından fazla olduğu belirlenmiştir. FT-IR spektrumundaki temel piklerin pozisyonundaki kaymalar ve bantların şiddetindeki değişimler mantar yüzeyinin pestisitlerle etkileştiğini göstermiştir. Mantarların geliştiği sucul ortamdaki pestisit miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma sonuçlarına göre hem Atrazin hem de Siyromazin iki mantar türünün de gelişimi olumsuz etkilemiştir. Her iki mantar türünün de sucul ortamdaki başarılı bir şekilde pestisit giderimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** atrazin, mantar, siyromazin

**Teşekkür:** Bu çalışmaya 113Y590 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

## Alkanolaminlerin Mikroalg Biyoreaktörlerinde İnorganik Karbon Kaynağı Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması

Ünal Şen<sup>1</sup>, Mirat D. Gürol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Kocaeli  
[usen@gtu.edu.tr](mailto:usen@gtu.edu.tr)

### Giriş

Mikroalg biyoreaktörlerinde inorganik karbonun ihtiyaç duyduğu zamanda ve miktarda sağlanamaması büyük ölçekli mikroalg üretiminin önündeki başlıca engellerden biridir. Bu engeli aşmak için mikroalglerin ihtiyaç duyduğu inorganik karbonun gaz halindeki karbondioksit (CO<sub>2</sub>) yerine suda çözülmüş haldeki bikarbonat formunda karşılanması fikri doğmuştur. Literatürde baca gazındaki CO<sub>2</sub>'yi tutma fonksiyonuna sahip olan çeşitli kimyasalların fotobiyoreaktörlerde inorganik karbon kaynağı olarak kullanıldığı ve mikroalg büyümesine etkisinin araştırıldığı az sayıda araştırma mevcuttur. Bu nedenle bu çalışmada baca gazından CO<sub>2</sub> yakalamada yaygın olarak kullanılan amin bazlı alkollerin (alkanolaminlerin) mikroalg büyümesine olan etkisi incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışma için 3 farklı alkanolamin seçilmiştir. Bunlar, birincil (monoetanolamin), üçüncül (trietanolamin) ve aromatik (piperazin) bir alkanolamindir. Çalışmada BG11 besi ortamına aklime edilmiş *Chlorophyceae* sınıfına bağlı *Scenedesmus* ve *Chlorococcum* cinsi mikroalglerin baskın olduğu karışık bir kültür kullanılmıştır. Deneylerde 50 mg/L başlangıç mikroalg konsantrasyonuna, 500 mL hacme sahip mikroalg biyoreaktörleri kullanılmış ve reaktörler 1 L/dk debide sürekli havalandırılmıştır. Reaktörler 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunda ve 150 µmol foton/m<sup>2</sup>·sn PAR ışık yoğunluğunda aydınlatılmıştır. Alkanolaminler farklı konsantrasyonlarda (1, 2, 5, 10, 20 mM) mikroalg biyoreaktörlerine eklenmiş ve reaktörlerde mikroalg büyümesi izlenmiştir. Biyokütle takibi için standart askıda katı madde metoduyla kalibre edilmiş optik yoğunluk ölçümü kullanılmıştır. Reaktörlerdeki nitrat ve fosfat tüketimi iyon kromatografi cihazıyla, alkanolamin tüketimi gaz kromatografi cihazıyla ölçülmüştür.

### Bulgular

Farklı konsantrasyonlarda üç farklı alkanolamin için yapılan denemelerde, sadece trietanolamin (TEA) mikroalg büyüme hızını etkilemeyen en yüksek konsantrasyona (20 mM) ulaşabilmiştir. Bu nedenle TEA için daha yüksek konsantrasyonlar (40, 80, 120 ve 160 mM) denenmiş, ancak 20 mM'ın üzerinde büyüme hızının düştüğü görülmüştür. 20 mM TEA konsantrasyonunda nitrat ve fosfat tüketiminin normal şartlara göre değişmediği gözlemlenmiştir. 20 mM TEA konsantrasyonu için TEA tüketimi takip edilmiş, TEA tüketiminin büyümenin ilk 5 gününden sonra başladığı gözlemlenmiştir. Kontrol reaktörleriyle karşılaştırılınca 6. günde mikroalglerden kaynaklanan TEA tüketimi sadece %5,5 iken, bu oranın 12. günde %39'a yükseldiği görülmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışmada TEA'nın mikroalglerle beraber yüksek konsantrasyonlarda, büyümeyi etkilemeden kullanılabileceği ve belirli oranda tüketildiği görülmüştür. Gelecek çalışmada TEA'nın sistemdeki biyosorpsiyonu, rejenerasyonu ve geri kazanımı incelenecektir.

**Anahtar Kelimeler:** mikroalg, karbondioksit, alkanolamin, biyokütle, trietanolamin

**Teşekkür:** Çalışma, Gebze Teknik Üniversitesi tarafından 2017A10225 nolu araştırma projesiyle desteklenmiştir.





**ENDÜSTRİYEL  
BİYOTEKNOLOJİ**

## Gıda İşleme Sanayinde Biyofilm Oluşumunda Sitrik Asit Uygulamalarının Etkisi

Taner Şar<sup>1</sup>, Meltem Yeşilçimen Akbaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, 41400, Kocaeli/türkiye

[tsar@gtu.edu.tr](mailto:tsar@gtu.edu.tr)

### Giriş

*Bacillus cereus* gıda ürünleri işleme sanayinde sıklıkla izole edilebilen bir bakteridir. *B. cereus* gıda işleme sanayinde çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşumuna neden olarak ürün kontaminasyonlarına ve yüzeylerin korozyonuna neden olmaktadır. Gıda işleme sanayinde kontaminasyonların önlenmesi ve biyofilm oluşumlarının kontrolü üzerine yapılan çalışmalarda sıklıkla başta klor olmak üzere farklı kimyasal dezenfektanlar kullanılmaktadır. Ancak bu kimyasalların kalıntı bırakmaları insan ve çevre sağlığı açısından önemlidir. Bu nedenle doğal, temini kolay ve ucuz, kalıntı bırakmayan, çevreyle dost yeni dezenfektanlarla biyofilmlerin kontrolüne ihtiyaç vardır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, gıda sanayinde sitrik asit uygulamasının biyofilm kontrolünde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bunun için, *B. cereus* ATCC 11778 suşunun polistiren yüzeyler üzerinde biyofilm oluşumu incelenmiş ve oluşan biyofilm tabakasının engellenmesi ve ortadan kaldırılması için aktif klor (200ppm) ve sitrik asit (%2) uygulamaları karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir.

### Bulgular

Klor ve sitrik asit uygulamaları ile *B. cereus* ile biyofilm oluşumunun sırasıyla %65 ve %57 oranında engellendiği belirlenmiştir. *B. cereus* biyofilm oluşumunun ise klor ve sitrik asit uygulamaları ile sırasıyla %55 ve %63 oranında ortadan kaldırıldığı tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Elde edilen sonuçlar, sitrik asit uygulamalarının *B. cereus* biyofilm oluşumunun kontrolünde kimyasal dezenfektanlara alternatif olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bacillus cereus*, klor, sitrik asit, biyofilm, polistiren yüzey

## Makrofungus İzolatları Tarafından Aflatoksin B1 Yıkımı

Tuncay Söylemez<sup>1</sup>, Mustafa Yamaç<sup>2</sup>, Zeki Yıldız<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Savaş Kubaş Anadolu Lisesi, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, İstatistik Bölümü, Eskişehir

[myamac@ogu.edu.tr](mailto:myamac@ogu.edu.tr)

### Giriş

Alındıkları dozlara ve kişisel dirence bağlı olarak mikotoksinlerin canlılar üzerinde kanserojen, teratojenik, hemorajik, dermatitik, hepatotoksik, nefrotoksik ve neurotoksik etkileri söz konusudur. Aflatoksin B1 gıdalarda en yaygın bulunan mikotoksinlerden birisidir.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada; 92 adet makrofungus izolatı arasından aflatoksin B1 biyoyıkımında en başarılı olan on adet izolat HPTLC ile seçilmiş, seçilen izolatların aflatoksin B1 biyoyıkım oranları HPLC ile belirlenmiş, yıkım koşulları Plackett Burman ve cevap yüzey yöntemleri ile optimize edilmiş, Artemia testi ile detoksifikasyon oranları belirlenmiş ve biyoyıkımdan sorumlu olan izolat ve enzimler tanımlanmaya çalışılmıştır.

### Bulgular

Elde edilen veriler ışığında OBCC 5004 kodlu *Lentinus strigosus* izolatı aflatoksin B1 biyoyıkımı için seçilmiştir. İstatistiksel yöntemler besiyerindeki buğday kepeği, sukroz, yeast ekstrakt konsantrasyonu ve inkübasyon süresi ile yıkım arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Optimize koşullarda aflatoksin B1 yıkımı % 49, detoksifikasyon ise % 25 kadar gerçekleşmiştir. Bu çalışma ile *Lentinus strigosus* türünün aflatoksin B1 biyoyıkımı ilk kez olarak rapor edilmektedir. İzolata ait ITS 1 dizisi MF616402 erişim numarası ile Genbank' ta depolanmıştır. Biyoyıkımdan sorumlu olan enzimin lakkaz ya da mangan peroksidaz olmadığı belirlenmiş olup, gelecekteki çalışmalar ile karakterize edilecektir.

### Sonuç ve Tartışma

*Lentinus strigosus* tarafından aflatoksin B1 yıkımından sorumlu enzimin belirlenmesi, karakterize ve optimize edilmesinden sonra, kontamine gıda ve ortamlarda toksin giderimine yönelik araştırmalar tasarlanacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** aflatoksin B1 , biyoyıkım, makrofungus

## Ramnoflipid Üretiminde Farklı Solvent Ekstraksiyon Stratejileri

Hakan Çakmak<sup>1</sup>, Gökhan Güngörmedi<sup>1</sup>, Gökhan Dikmen<sup>2</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>1</sup>, Ahmet Çabuk<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı,  
Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi- Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi-biyoloji Bölümü, Eskişehir

[hkncakmakk@gmail.com](mailto:hkncakmakk@gmail.com)

### Giriş

Biyosüpfektanlar, doğaya zarar vermeden biyolojik olarak parçalanabilen, birçok bakteri ve bazı mantarlar tarafından üretilen, yapısında peptit, glikolipid, lipopeptid, yağ asidi ve fosfolipid bulunduran, yüzey gerilimini azaltan moleküllerdir. Biyosüpfektanlar arasında yer alan ramnoflipidler, L-ramnoz ve β-hidroksi yağ asidi içeren glikolipid yapıya sahiptir. Bu moleküller, deterjan sanayisinde, medikal sektörde, biyoremediyasyon çalışmalarında, kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Literatürde ramnoflipid ekstraksiyonunda birçok yöntem kullanılmaktadır. Ancak bunların kıyaslamalı analizleri şimdiye dek yapılmamıştır, dolayısıyla ne kadar gerçeği yansıttığı belirsizdir.

### Gereçler ve Yöntemler

*P. aeruginosa*, 24 saat, 35 °C, 150 rpm'de nutrient broth besiyerinde geliştirildikten sonra, mineral salt medium besisi ortamına aseptik şartlar altında %2 v/v oranında transfer edilerek 35 °C, 150 rpm'de, 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyeri 10000 rpm, +4 °C'de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Süpernatanttan literatürde en çok yer alan 4 farklı solvent ve ekstraksiyon yöntemi kullanılarak ramnoflipid elde edilmiştir. Bu yöntemler etil asetat ekstraksiyonu (RE), dietil eter ekstraksiyonu (RD), glisin ekstraksiyonu (RG), hidroklorik asit ekstraksiyonu (RH) olup, her ekstraksiyon sonucu elde edilen ramnoflipidlere NMR ve FTIR analizlerinin yanısıra viskozite, yoğunluk ve kuru ağırlık ölçümleri de yapılmıştır.

### Bulgular

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, farklı ekstraksiyon yöntemleri birbiriyle standart ramnoflipid dikkate alınarak kıyaslandığında; RE yöntemi diğerlerine göre ön plana çıkmaktadır. NMR analizinde; standart ramnoflipid referans titreşimleri CH<sub>3</sub>-0.875, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-1.343, CH<sub>2</sub>COO-2.515, OCH-4.012, COOCH-5.290 olup, RE yöntemi ile elde edilen ramnoflipidin analizinde CH<sub>3</sub>-0.84, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-1.30, CH<sub>2</sub>COO-2.50, OCH-4.92, COOCH-5.28 titreşimleri elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre RE yöntemi ile elde edilen ramnoflipidin referans ramnoflipide benzerliği göze çarpmaktadır. FTIR analizinde ise; RD yöntemi dışında diğer yöntemler ile elde edilen ramnoflipidler standart ramnoflipide yakınlık göstermektedir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada standart ramnoflipide en yakın ramnoflipidin, etil asetat (RE) solventi kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon yöntemi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca literatürde mevcut olan bu yöntemlerin avantajları/dezavantajları belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ramnoflipid, biyosüpfektan, ekstraksiyon

**Teşekkür:** Bu çalışma ESOĞÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu 201738A120 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

## Bor Tolerant Mikroorganizmalardan Proteaz Üretimi

Esma Yiğit<sup>1</sup>, Belma Nural Yaman<sup>1</sup>, Serap Gedikli<sup>2</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>1</sup>, Ahmet Çabuk<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü-biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü- Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi-biyoloji Bölümü, Eskişehir

[esmayigit@yahoo.com.tr](mailto:esmayigit@yahoo.com.tr)

### Giriş

Proteinlerin peptid bağlarının hidrolizinden sorumlu olan proteazlar, gıda, tekstil ve deterjan ürünleri başta olmak üzere birçok endüstriyel uygulamada geniş bir kullanım alanına sahiptir. Proteazların kaynağını hayvansal dokular, bitkiler ve mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Günümüzde bu kaynaklar arasında, elde edilen proteazların katalitik aktivitelerinin yüksek olması, daha stabil ve ekonomik olmaları, büyük ölçekte yüksek saflıkta üretilebilmeleri ve ekstrem koşullara daha dayanıklı olmalarından dolayı ekstremofil mikroorganizmalar tercih edilmeye başlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada yüksek miktarda bor içeren ortamlardan izole edilen 23 bakteriyel izolatın proteaz aktiviteleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. Çalışmaya en yüksek proteaz aktivitesi gösteren, Eskişehir Kırka bölgesindeki cevher üstü örtü tabakasından izole edilen boronotolerant karakterde *Bacillus sp.* DB14 (Genbank no: KY110868) ile devam edilmiştir. Yapılan tarama çalışması sonucunda söz konusu izolatın proteaz aktivitesi 346,15 U/mg olarak bulunmuştur. İzolatın proteaz üretim yeteneği üzerinde etkili olan başlangıç pH (6,5-7,5-8,5), inokulum miktarı (%1-3-5) ve inokulum süresinin (1-3-5 gün) optimizasyonu, 20 deney ile parametrelerin bir model ile tanımlanabilmesine ve model tasarımı denemesi yapılmamış kombinasyonlara ait tahmin yapılabilmesine olanak sağlayan istatistiksel yöntemlerden birisi olan ve cevap yüzey yöntemleri arasında yer alan merkezi kompozit deneysel tasarımı ile yapılmıştır.

### Bulgular

Bu çalışmanın sonucunda, *Bacillus sp.* DB14 izolatından elde edilen proteaz üretiminin merkezi kompozit deneysel tasarım yöntemi ile oluşturulan modelde, pH 6,5'ta, %5 inokulum miktarı ile 1 günlük inkübasyon süresi sonunda en iyi spesifik aktivite değeri; 478,87 U/mg tahminsel olarak elde edilmiştir. Bu koşullarda doğrulama deneyi yapılmış ve aktivite değeri 480,543 U/mg olarak bulunmuştur. Modelden elde edilen değerlerle gerçek değerlerin ilişkisi gözönünde bulundurulduğunda, modelin; yapılan deneyleri yaklaşık %90 oranında temsil ettiği görülmektedir. Ayrıca pH ile inkübasyon süresi ve pH ile inokulum miktarı arasında ikili etkileşim söz konusudur.

### Sonuç ve Tartışma

Doğrulama deney sonucunun %95 güven aralığında kalması ve özellikle tahmin edilen 478,817 U/mg değerine yakınlığı, deneylerin tekrarlanabilirliğini ve modelin tahmin gücünü dolayısıyla modelin başarısını ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** proteaz, merkezi kompozit tasarım, boronotolerant

**Teşekkür:** Belma NURAL YAMAN, TUBITAK 2228-B Burs Programı ile desteklenmektedir.

## Yerel *Micractinium sp.* ME05 Suşunun Şilempe Kullanılarak Büyütülmesi ve Biyodizel Üretimi

Işkın Engin<sup>1</sup>, Deniz Çekmecelioglu<sup>2</sup>, Ayşe Meral Yücel<sup>1,3</sup>, Hüseyin Avni Öktem<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Ankara  
<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara  
<sup>3</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

[iskinkose@gmail.com](mailto:iskinkose@gmail.com)

### Giriş

Mikroalgler fosil yakıtlara alternatif olabilecek önemli enerji kaynakları olarak görülmektedir. Mikroalgler yüksek fotosentez verimleri ve yüksek biyokütle üretimlerinden dolayı biyodizel üretimi için ilgi görmektedirler. Buna karşın, mikroalglerden biyodizel üretiminde, karbon kaynağının maliyeti aşılması gereken bir engeldir. Bu nedenle alternatif karbon kaynakları göz önünde bulundurulmaktadır. Öte yandan, şeker fabrikalarının atık maddesi olan şilempenin yüksek organik madde içeriğinden dolayı, mikroalg kültürasyonunda iyi bir karbon kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, şilempe kullanılarak *Micractinium sp.* ME05 suşunun büyütülmesi ve biyodizel açısından uygunluğu araştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Haymana'dan izole edilen ve daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarla ısıya dayanıklı suş olarak tanımlanan *Micractinium sp.* ME05 suşu kullanılmıştır. Tris-asetat-fosfat (TAP) agarda muhafaza edilen hücrelerden, TAP sıvı ortamına inokülasyon yapılmış ve hücreler 25±1 °C de inkübe edilmiştir. Logaritmik artış fazına gelen hücreler, 500-mL ve 2-L erlenmayer içerisine, farklı oranlarda şilempe (%2-%5-%10 ve %20) içeren Bold bazal büyüme ortamına %10 (hacim/hacim) oranında inoküle edilmiştir. İnkübasyon tamamen karanlık ve 16 saat ışık-8 saat karanlık ortamda, 25±1°C de 0.5L/dk. hava verilerek gerçekleştirilmiştir. 5-L reaktör deneyleri %10 şilempe kullanılarak, 16 saat ışık- 8 saat karanlık altında gerçekleştirilmiştir. Reaktörde kültüre alınan hücrelerden Bligh-Dyer metodu ile lipid ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen lipidlerin yağ asidi kompozisyonları biyodizel elverişliliği açısından değerlendirilmiştir.

### Bulgular

500-mL erlenmayer deneylerinde, ışıklı ortamda elde edilen biyokütle verimi (0.16±0.01 g.L-1.gün-1), tamamen karanlık ortamda elde edilen biyokütle veriminden (0.13±0.01 g.L-1.gün-1) daha fazla olduğu gözlenmiştir. 2-L erlenmayer deneylerinde, en yüksek biyokütle verimi (0.27±0.019 g.L-1.gün-1) %10 şilempe kullanıldığında elde edilmiştir. 5-L reaktör deneylerinde elde edilen biyokütle verimi 0.32±0.2 g.L-1. gün-1, lipid verimi ise 3.4±0.20 g.L-1.gün-1 olarak gözlenmiştir. Elde edilen lipidlerin yağ asidi kompozisyonları incelendiğinde linoleik asit (C18:2) (% 49.98±1.07) ve palmitik asidin (C16:0) (% 21.03±0.62) yüksek oranda bulunduğu gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Şilempe büyüme ortamında kültüre alınan *Micractinium sp.* ME05 hücrelerinin yüksek lipid içeriği ve zengin yağ asidi profili, bu endüstriyel yan ürünlerin *Micractinium sp.* ME05 hücrelerinden biyodizel üretiminde kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** şilempe, *Micractinium sp.*, reaktör

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No:114Z487) tarafından desteklenmiştir.

## ***Bacillus pumilus* Katalaz (katX2) Geninin Klonlanması**

Günce Göç<sup>1</sup>, Yonca Yüzügüllü Karakuş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kocaeli

[ecnugoc@gmail.com](mailto:ecnugoc@gmail.com)

### **Giriş**

Son yıllarda, rekombinant DNA teknolojisinde birçok alternatif yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri “ligasyondan bağımsız klonlama” olup, geleneksel tekniklere göre çok daha ucuz ve güvenilir olmakla birlikte zamandan da tasarruf sağlamaktadır. Bu çalışmada, mezofilik bir bakteri olan *Bacillus pumilus*’un hem/demir içeren katalaz enziminin peroksidaz/oksidaz özelliğinin ayrıntılı olarak irdelenebilmesi için katalaz enziminin rekombinant üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. β–laktam oksidaz aktivitesi gösterdiğinin bulunması *B. pumilus* katalazını endüstriyel açıdan önemli kılmakta; dolayısıyla yüksek saflıkta ve miktarda enzim üretimi için rekombinant ekspresyon yöntemi kaçınılmaz duruma gelmektedir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Kit (Peqlab) aracılığı ile *B. pumilus* Y7 izolatından genomik DNA saflaştırılmıştır. Temeli iki aşamalı polimeraz zincir reaksiyonu olan klonlama tekniğinde, ilk reaksiyon için katX2 genine uygun hibrit primerler tasarlanmıştır. Genin çoğaltımı ile “megaprimer” elde edilmiştir. İlk reaksiyonun optimizasyonu üç farklı koşul denenerek gerçekleştirilmiştir. İkinci reaksiyon ise, saflaştırılan megaprimerin, laboratuvarımızda bulunan pET28TEVaCATPO vektöründeki gen bölgesiyle yer değiştirerek, plazmitte “çentik” oluşturması hedeflenmiş olup; farklı vektör:insert oranı, döngü sayısı ve koşulu, üç farklı polimeraz enzimi (*KOD*, *MyFi*, *Phusion*) denenerek optimize edilmiştir. Oluşan yeni rekombinant plazmitteki çentik, *E. coli*’nin kompetan XL-1 Blue hücrelerine transformasyonu ile düzelmiştir. Kolonilerin plazmit DNA’ları kit (Qiagen) ile saflaştırılmıştır. Klonlamanın gerçekleştiği, “Koloni PZR” ve plazmitlerin uygun restriksiyon enzimleri ile muamelesinden sonra sekans analizi ile onaylanmıştır.

### **Bulgular**

*B. pumilus* Y7 izolatından 28.1 ng/ul genomik DNA elde edildi. Birinci polimeraz zincir reaksiyonunda, genomik DNA’daki katX2 geni ile megaprimeri oluşturacak hibrit primerler için bağlanma sıcaklık aralığı 55-60°C olarak belirlendi. Reaksiyonda oluşturulan megaprimer, hem jel ekstraksiyon kiti hem de cam yünü tekniği ile saflaştırılarak verimleri karşılaştırıldı. İkinci reaksiyonda vektör:megaprimer oranı 1:6 olarak belirlendi. Ayrıca ikinci reaksiyonda bağlanma sıcaklığı olmadan döngü sayısı 15’e düşürüldüğünde, transformasyon sonrası koloni sayısında azalma gözlemlense de pozitif koloniler elde edildi. Ek olarak, ikinci reaksiyon sonuçlarına göre, Phusion ve KOD Hotstart DNA polimerazın daha başarılı sonuçlar verdiği gözlemlendi.

### **Sonuç ve Tartışma**

*B. pumilus* katX2 geninin, güvenilir, ucuz ve zamandan tasarruf sağlayan bir yöntemle klonlanması; genin ifadesi ile sentezlenecek olan rekombinant katalaz enziminin birçok endüstriyel alanda daha yüksek verimle eldesine olanak sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** katalaz, katX2, *Bacillus pumilus*, rekombinant plazmit, klonlama

**Teşekkür:** Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi, BAP birimi tarafından BAP-2016/H04 no’lu proje ile desteklenmiştir.

## Termal Kararlılığa Sahip Biyopolimer Üretimi

Serap Gedikli<sup>1</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>2</sup>, Murat Demirbilek<sup>3</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>4</sup>, Mehmet Burçin Mutlu<sup>5</sup>, Vural Bütün<sup>6</sup>, Ahmet Çabuk<sup>2,7</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi-mühendislik Fakültesi- İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Beytepe, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi-fen Fakültesi- Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

<sup>5</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>6</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Eskişehir

<sup>7</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

[serapedikli@gmail.com](mailto:serapedikli@gmail.com)

### Giriş

Günümüzde kimya endüstrisine dayalı plastik üretim yöntemlerinin gerek üretim süreçlerinde açığa çıkan çevre ve insan sağlığı açısından zararlı atıkları ve gerekse oluşan ürünlerin doğada uzun süre kalıcı olması, alternatif çözümler için zemin oluşturmaktadır. Ancak mikrobiyal kökenli üretilen polimerlerin tüm gereksinimleri karşılayacak özelliklere sahip olmadığı bilinen bir durumdur. Bu nedenle son yıllarda araştırmacılar alternatif biyopolimer üreticisi türleri belirlemek üzere çalışmalar yapmaktadırlar. Yapılan bu çalışma kapsamında sıcak su kaynaklarından izole edilen mikroorganizmaların PHB (Poli-β-hidroksibütirat) üretim yetenekleri araştırılmış ve karakterize edilerek termal kararlılığa sahip PHB üretilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

İzolatların PHB (Poli-β-hidroksibütirat) üretim yeteneklerinin değerlendirilmesi amacı ile Nutrient broth besiyeri 250 ml'lik erlenlerde 100 ml hacimde olmak üzere hazırlanarak ekim yapılmış ve 48 saat 55 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürler 6000 rpm'de 20 dk santrifüj edilerek PHB ekstraksiyonu yapılmıştır. 235 nm dalga boyunda spektrofotometrede H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> körüne karşı absorbans değerleri okunmuştur. Yapılan tarama çalışması sonunda seçilen Ç2-4 izolatu ile optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak karbon kaynağı miktarı (10-30-50 g/L), inkübasyon sıcaklığı (35-55-75 °C) ve inkübasyon süresi (2-4-6 gün) olmak üzere 3 faktörün 3 düzeyi çalışılmıştır. Optimizasyon sonunda üretilen PHB'nin karakterizasyonu için FTIR, NMR, vizkozite ve TGA analizleri yapılmıştır.

### Bulgular

Ç4-2 izolatu ile yapılan optimizasyon çalışmaları sonunda 35 °C' de 10 g/L karbon kaynağı kullanılarak yaklaşık olarak 4 gün sonunda % 8,66 verime ulaşılabileceği hesaplanmıştır ve yapılan doğrulama deneyi ile tahmin edilen PHB üretim verimine ulaşılmıştır. Üretilen PHB'nin proton NMR spektrumu ve FTIR analizleri incelendiğinde standart ile aynı bölgede piklerin mevcut olduğu görülmüştür. Ç4-2 izolatu ile üretilen PHB'nin TG analizinde 193 °C' de polimerin % 93.4'ü bozunmadan kalırken sırasıyla 216 °C'de %28'i, 631 °C'de ise hala ortamda %14.3'ü bozunmadan kalabilmektedir. Üretilen polimerin DTA grafiği incelendiğinde birden fazla erime sıcaklığı (154,5; 157,8; 173,9 °C) olduğu görülmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışmada Ç4-2 kodlu *Geobacillus kaustophilus* ile kuru biyokütleyle oranla % 8,66 verime ulaşılmıştır. Termal stabiliteye sahip polimer üretimi gerçekleştirilmiş olup yaklaşık 600 °C'de ortamda %14 oranında bozunmadan kalan bir PHB elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** poli-β-hidroksibütirat, termal kararlılık, *Geobacillus kaustophilus*

**Teşekkür:** ESOGÜ BAPK 2013-123 no'lu projesi ile desteklenip, S. Gedikli' nin doktora tezinden üretilmiştir.



## Yeni İzole Edilmiş *Funalia trogii* ile Katı Faz Fermentasyonu Sürecinde Lakkaz Üretimi

Filiz Boran<sup>1</sup>, Özfer Yeşilada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Malatya

[filiz.kuru@inonu.edu.tr](mailto:filiz.kuru@inonu.edu.tr)

### Giriş

Katı faz fermentasyonu (KFF), lignoselülozik hammaddenin biyolojik dönüşümünü ifade eder. Lignoselülozlu atıklar ve ham maddeler, ucuz besinsel kaynaklardır. KFF, bu nedenle oldukça dikkat çekmektedir. KFF, endüstriyel uygulamalarda istenilen ürünün üretiminde kullanılabilir. Aynı zamanda, bu yöntemde lignoselülozlu hammaddeler/atıklar katı substrat olarak kullanılabilirliğinden uygulamanın maliyeti açısından ve bu tip substratların oluşturabileceği çevre kirliliğinin azaltılması açısından da önemlidir. Az miktarda su kullanımı ve sonucunda da daha az atık su çıkışı önemli bir avantajdır.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada Basidiomycetes sınıfına dahil olan beyaz çürükçül funguslardan yeni izole edilmiş *Funalia trogii* kullanıldı. Bu fungus Dr. Özfer Yeşilada tarafından toplanıp saf kültür olarak izole edildikten sonra Dr. Hakan Allı tarafından tanımlanmıştır. Çalışmada çeşitli lignoselülozlu ham maddeler; fungus ve buna bağlı olarak lakkaz üretim amacıyla kullanıldı ve lakkaz üretiminin optimizasyonu çalışıldı. Bu amaçla farklı nemlendirme sınıfları ve farklı indükleycilerin lakkaz üretimine etkisi test edildi. Çalışmada ayrıca tava tipi fermentör modelinde de üretim araştırıldı. Elde edilen ham lakkaz enzimlerinin aktivitesi ve kararlılığına, sıcaklık ve pH'nın etkisi de test edildi.

### Bulgular

Buğday kepeği, en iyi substrat olarak belirlendi. Optimum koşullar %75 nem, 30°C ve pH 5-6 olarak saptandı. 10mM bakır eklenmiş 1:1 buğday kepeği:soya unu ortamında en yüksek aktiviteye ulaşıldı (32085±4044 U/L). Tava tipi fermentör ile 22469±2622 U/L elde edildi. Ham lakkazın aktivite ve kararlılığı üzerine pH ve sıcaklığın etkisi test edildi. Yüksek asidik pH'larda yüksek lakkaz aktiviteleri saptanırken pH 4.5'tan sonra aktivitenin düştüğü gözlemlendi. Aktivite 20°C'de 27132±3004 U/L iken 70°C'de 156570±5131 U/L'ye yükseldi. Enzimin yüksek sıcaklıkta kararlı olduğu, 80°C'de dahi 2 saat inkübasyon sonucunda aktivitenin %48'inin kaldığı gözlemlendi. pH 5 ve üzerindeki pH'larda ise aktivitenin 24 saatte oldukça kararlı kaldığı saptandı.

### Sonuç ve Tartışma

Erlen ve tava tipi fermentör çalışmalarında yüksek miktarda enzim üretilebilmesi, bu suşun KFF sürecinde kullanılabilme potansiyelini göstermektedir. Ham lakkaz enziminin yüksek sıcaklıklarda dahi kararlı olması da ayrı bir avantajdır.

**Anahtar Kelimeler:** katı faz fermentasyonu, *Funalia trogii*, lakkaz, buğday kepeği, ham lakkaz

## Bazı Endofitik Fungusların Uçucu Bileşikleri ve Biyoaktif Metabolitleri

Gökalp İşcan<sup>1</sup>, Ceren Elmacı<sup>2</sup>, Ceyda Serin Akın<sup>2</sup>, Yavuz Bülent Köse<sup>3</sup>, Mehmet Burçin Mutlu<sup>4</sup>, Betül Demirci<sup>1</sup>, Luis Henrique Rosa<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Biyoteknoloji Bilim Dalı, Eskişehir

<sup>3</sup>Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>4</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>5</sup>Federal Minas Gerais Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Enstitüsü, Mikrobiyoloji Bölümü, Belo Horizonte, Brezilya

[gokalpiscan@gmail.com](mailto:gokalpiscan@gmail.com)

### Giriş

Endofitik funguslar, yüksek bitkilerin dokular arası boşluklarında asemptomatik olarak yaşayan, sentezledikleri sekonder metabolitlerle konuk olduğu bitkiye çoğunlukla biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanma kabiliyeti kazandıran canlılardır. Günümüzde ilaç, ziraat ve çeşitli endüstriyel alanlarda yenilenebilir, doğaya dost ve kolay elde edilebilir doğal biyoaktif hammadde arayışı büyük bir hızla sürmektedir. Endofitik funguslar sahip oldukları çeşitli biyoaktif doğal bileşikler ile bu ihtiyaca cevap verecek önemli mikroorganizmalardır.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda ülkemizde doğal olarak yetişen *Betula pendula* (Huş ağacı), *Salvia verticillata*, *Origanum onites*, *Origanum saccatum* ve *Thymus longicaulis* ile Brezilya'da doğal olarak yetişen ve geleneksel halk tıbbında kullanımı olan *Stryphodendron astringens* gibi bitkilerden uygun koşullarda endofitik funguslar izole edilmiştir. Funguslar kültüre alınarak tepeboşluğu katı faz mikro-ekstraksiyon yöntemi ile uçucu bileşikleri izole edilerek Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi sisteminde tanımlanmıştır.

### Bulgular

Yapılan analizler sonunda *Betula pendula* ve *Stryphodendron astringens* izolatlarının değişen miktarlarda olmak üzere farklı yapılarda hidrokarbonlar, monoterpen ve seskiterpen yapısında maddeler ürettiği görülmüştür. Ayrıca sıvı kültürlerden elde edilen total ekstraktların *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* ile *Candida albicans* ve *Candida glabrata*'ya karşı antibakteriyal ve antikandidal etkileri ortaya konmuştur. Biyoaktivite gösteren ekstraktların elde edildiği funguslar moleküler taksonomik yöntemler ile tayin edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Sahip oldukları işlevler, sentezledikleri sekonder metabolitler dikkate alındığında, yeryüzünde yaşayan sayısız bitkiden yeni endofitik funguslar keşfetmek büyük önem arz etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** endofitik funguslar, uçucu bileşikler, biyoaktivite, SPME

## ***Streptomyces clavuligerus*'ta *LysA* ve *CcaR* Genlerinin Sefamisin C Biyosentezi Üzerindeki Etkileri**

Ciğdem Otur<sup>1</sup>, Aslıhan Kurt Kızıldoğan<sup>1</sup>, Gülay Özcengiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 55139 Samsun

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, 06800 Ankara

[cigdem.tbt@gmail.com](mailto:cigdem.tbt@gmail.com)

### **Giriş**

*Streptomyces clavuligerus* tarafından üretilen sefamisin C penisiline dirençli bakterilere karşı etkili olan geniş spektrumlu ve endüstriyel açıdan oldukça önemli bir antibiyotiktir. Bu çalışmada amaç, *S. clavuligerus*'ta sefamisin C biyosentezinde hız sınırlayıcı olan ve aspartat yolağında yer alan *lysA* ile sefamisin C gen kümesindeki yolağa konumlanmış *ccaR* regülatör genlerinin hücrede çoklu ifadelerinin sefamisin C biyosentez genlerinin ifadeleri ve sefamisin C üretimi üzerindeki etkilerini belirlemektir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*S. clavuligerus*'a ait *lysA* ve *ccaR* genleri PCR ile çoğaltılıp gliserolle indüklenen güçlü bir promotora ( $P_{glpF}$ ) sahip pSPG çoklu klonlama vektörüne klonlanmışlar ve devamında konjugasyonla *S. clavuligerus* hücrelerine aktarılmışlardır. Bu genlerin çoklu kopyalarını taşıyan rekombinant *S. clavuligerus* pAK23 (*ccaR* geni klonlanmış pSPG plazmidini taşıyan suş) ve *S. clavuligerus* pCOlysA2 (*lysA* geni klonlanmış pSPG plazmidini taşıyan suş) ile kontrol suşları TSB besiyerinde 220 rpm ve 28 °C'de üretilmişlerdir. Kültürlerden elde edilen süpernatantlar sefamisin C üretimini belirlemek amacıyla biyoassay çalışmalarında kullanılırken pelletlerden RNA izolasyonu yapılarak qRT-PCR deneyleri gerçekleştirilmiştir. Gen ifade farklılıkları  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  formülü ile rölatif ifade değeri olarak belirlenmiştir. Her bir deney seti için üç biyolojik ve 2 teknik replika kullanılmıştır.

### **Bulgular**

Rekombinant *S. clavuligerus* pAK23 ve pCOlysA2 suşlarının fermentasyonları spesifik sefamisin C üretiminde yabancıl suşa kıyasla sırası ile 6.1- ve 1.3-katlık artışlarla sonuçlanmıştır. qRT-PCR analizleri ile sefamisin C biyosentez genlerinin ifadeleri incelendiğinde pAK23 suşunda *ccaR* ifadesinde 5.1-katlık artış olduğu ve sefamisin C kümesinde önemli biyosentez genlerinden olan *lat* ve *cmcI* ifadelerinde de benzer artışlar elde edildiği belirlenmiştir. *S. clavuligerus* pCOlysA2 suşunda ise gerek *lysA* geninin gerekse de sefamisin C biyosentez genlerinin (*lat*, *pcbAB*, *cefD*, *cmcI*) ifadelerinde 1.2-ila 5.7-katlık artışlar tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

*S. clavuligerus*'ta *ccaR* geninin çoklu ifadesi ile literatürde şüana kadar rapor edilen en yüksek sefamisin C üretimine ulaşılırken ilk kez bu çalışmada *lysA* geninin çoklu ifadesinin sefamisin C biyosentezinde artış sağladığı gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Streptomyces clavuligerus*, sefamisin C, *lysA*, *ccaR*

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK-TBAG 109T962 ve OMÜ PYO.ZRT.1902-A.15.001 kodlu projeler ile desteklenmiştir.

## ***Bacillus vallismortis* Keratinazının Na-aljinat Boncukları ile Tutuklanması**

Yonca Duman<sup>2</sup>, Yasemin Bayer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Kocaeli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kocaeli*

<sup>2</sup>*Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kocaeli*

*bayer\_yasemin@hotmail.com*

### **Giriş**

Keratinazlar (EC 3.4.4.25), keratinin yıkımını katalizleyen hidrolazlar sınıfına ait hidrolitik enzimler olup tavuk ve deri endüstrilerinden gelen keratin içeren atıkların biyoteknolojik dönüşümünün yanı sıra ilaç ve kozmetik uygulamalarında da önem taşımaktadır.[1,2]. Aljinat; önemli bir immobilizasyon materyali olup; kahverengi deniz alginden elde edilir. Bu çalışmada ticari *Bacillus vallismortis* keratinazının sodyum aljinat boncukları ile immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Immobilizasyon verimini arttırmak amacıyla % aljinat, %gluteraldehit, enzim miktarı, boncuk miktarı, gluteraldehit ve enzim muamele süreleri üzerine optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Yapılan çalışmada kullanılan bakteri izolatı Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarında stoklanmış durumdadır. Keratinaz üreticisi bakteri suşu *Bacillus vallismortis* DSM11031 ile sağlanmıştır. Keratinaz üretici suşun çoğaltılması için steril Nutrient broth besiyeri kullanılmıştır. Keratinaz Aktivitesi; çalışılan deneysel koşullar altında 1 dakikada 1µg ürün oluşumunu katalizleyen enzim miktarı olarak belirlenmiştir. Immobilizasyon Desteğin 0,2 M kalsiyum klorür çözeltisi ile hazırlanmıştır.

### **Bulgular**

Çalışmamızda; boncuk oluşumu için kullanılacak Na-aljinat çözeltisinin yüzdelere karar verilmiştir. Belirlenen aljinat konsantrasyonları denenmiş ve en iyi aljinat konsantrasyonunu %2 de % 90.4 verimle bulunmuştur. Gluteraldehit konsantrasyonu üzerine yapılan optimizasyon çalışmasında çeşitli konsantrasyonlar denenmiş ve en iyi sonuç % 5 (%91,5 verimle) bulunmuştur. Immobilizasyon verimini arttırmak amacıyla enzim-aljinat / aljinat-enzim oranları denenmiş ve en iyi sonucu 1:1 (enzim-aljinat / aljinat-enzim) (verim %90) tespit edilmiştir. Son olarak immobilizasyon verimini arttırmak amacıyla belirlenen dakikalarda gluteraldehit muamele süresi ve enzim muamele süresi denenmiş ve en iyi sonuçların 1:1 oranda 60 dk olduğu tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Yapılan çalışma sonucunda en iyi immobilizasyon verimi %91.5 olarak tespit edilmiştir. Bu oran için en iyi sonuçlar: %2 alginat, %5 gluteraldehit, 1:1 enzim-alginat, 60 dk gluteraldehit ve 60 dk enzim muamele süresi olacak şekilde bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** keratinaz, aljinat, immobilizasyon, tutuklama

## Farklı Sıcaklıklarda Karbonize Edilen Bakteriyel Selülozun Li-iyon Bataryalarda Kullanımı

Taner Şar<sup>1</sup>, Burcu Dursun<sup>2</sup>, Gamze Şeker<sup>1</sup>, Rezan Demir Çakan<sup>3</sup>, Meltem Yeşilçimen Akbaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

<sup>2</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü

<sup>3</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

[st.taner@hotmail.com](mailto:st.taner@hotmail.com)

### Giriş

Bakteriyel selüloz *Gluconacetobacter xylinus* bakterisi tarafından üretilen ve hücre dışı polisakkarit olan bir biyopolimerdir. Günümüzde, bakteriyel selüloz gıda, kağıt ve tekstil endüstrisi gibi uygulama alanlarında hammadde kaynağı olarak veya biyomateryal olarak medikal uygulamalarda da kullanılmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada *Gluconacetobacter xylinus* (BCRC12334) suşu tarafından HS (Hestrin ve Schramm) besi ortamında üretilen bakteriyel selüloz 500 ve 1000°C’de karbonize (Karbonize Bakteriyel Selüloz, KBS) edilerek şarj edilebilir lityum bataryalarda anot materyal olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

### Bulgular

Çalışmada, 100 çevrim sonunda KBS-500 ve KBS-1000 deşarj kapasiteleri sırasıyla 165 mAh/g ve 243 mAh/g olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu koşullarda, karbonize bakteriyel selülozun oldukça karalı kapasite değerleri sergilediği görülmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

Elde edilen sonuçlar bakteriyel selülozun farklı sıcaklıklarda karbonize edilerek (500 ve 1000°C’de) şarj edilebilir bataryalarda anot materyali olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** bakteriyel selüloz, karbonizasyon, şarj edilebilir batarya

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK 115M390 numaralı araştırma projesi tarafından desteklenmiştir.

## Fenazin-1 Karboksilik Asit Spesifik Damgalı Polimerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Kübra Aslan<sup>1</sup>, Burcu Okutucu<sup>1</sup>, Emre Erden<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, İzmir

[cansukubra0735@gmail.com](mailto:cansukubra0735@gmail.com)

### Giriş

Fenazin türevleri, azot içeren heterosiklik yapıda geniş spektrumlu anti-mikrobiyal ve anti-tümör aktivite gösteren redoks ajanlarıdır. Fenazin türevli bileşiklerin önemlerinin günden güne artması araştırmacıları, bu molekülleri kimyasal sentezlerine kıyasla daha avantajlı olan fermentatif üretimlerine ve bu üretim veriminin artırılmasına yönelik birtakım çalışmalar yapmaya yönlendirmektedir. Bu çalışmalarda, fenazinin üretim veriminde artış gözlenmesine rağmen alt akım işlerinde karşılaşılan ve saflaştırma verimini büyük ölçüde düşüren çok adımlı ve zaman alıcı işlemlerin varlığı nedeniyle henüz ticari boyuta ulaşamamaktadır. Bu eksiklik, bu eşsiz moleküllerin endüstriyel, zirai ve medikal kullanımını kısıtlayıcı bir etken olmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, fenazin-1 karboksilik asit (PCA)'nın fermentasyon ortamından izolasyonu için kullanılan klasik saflaştırma yöntemlerine alternatif, daha etkin ve spesifik, bunun yanı sıra kullanışlı ve ucuz bir metot geliştirilmesi amaçlandı. Bu amaçla, doğal üretici suş *P. aureofaciens* kullanılarak çalkalamalı kültürlerde PCA üretildi. Üretilen PCA, fermentasyon ortamından organik çözügen ekstraksiyonu ve kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Saflaştırılan PCA, NMR ve FTIR ile karakterize edildi. PCA damgalı polimerin hazırlanması için öncelikle uygun porojen varlığında onunla spesifik etkileşimler kuran fonksiyonel monomer/ler belirlendi. Termal polimerizasyon için çarpaz bağlayıcı ve insiyatör seçiminden sonra PCA damgalı yığın polimerler sentezlendi ve sentezlenen polimer FTIR ile karakterize edildi. Kalıp molekülün damgalı polimerden uzaklaştırılması için yıkama çalışmaları yapıldı. Ayrıca, bu spesifik etkileşimin PCA'nın antibakteriyel aktivitesine olan etkisi de incelendi.

### Bulgular

Yapılan çalışmalar sonucunda PCA'a spesifik damgalı polimerler sentezlendi. Ayrıca, PCA ile damgalı polimeri arasında gerçekleşen non-kovalent etkileşimlerin, PCA'nın antibakteriyel etkinliğini değiştirmediği gözlemlendi.

### Sonuç ve Tartışma

Sentezlenen PCA spesifik damgalı polimerle, PCA'yı saflaştırmada kullanılacak alternatif bir materyal geliştirilmiştir. Bu materyal, PCA'nın endüstriyel ölçekli fermentatif üretimine imkan sağlayacak ve kullanım alanlarını da genişletecektir.

**Anahtar Kelimeler:** moleküler damgalı polimer, fenazin-1 karboksilik asit, saflaştırma

## **Biyotanol Üretiminde Peynir Altı Suyu Tozunun Kullanım Potansiyelinin Araştırılması**

Taner Şar<sup>1</sup>, Gamze Şeker<sup>1</sup>, Meltem Yeşilçimen Akbaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, 41400, Kocaeli/türkiye*

[tsar@gtu.edu.tr](mailto:tsar@gtu.edu.tr)

### **Giriş**

Günümüzde enerji kaynağı olarak petrol, kömür ve doğal gaz gibi çeşitli fosil kökenli yakıtlar kullanılmaktadır. Bu enerji kaynaklarının tüketilmesi çevre kirliliğinin ve sera gaz emisyonunun artması ile ilişkilidir. Biyotanol ise fosil kökenli yakıtlara alternatif ve çevre dostu olarak kabul edilen bir biyoyakıt türüdür. Biyotanol üretiminde karbonhidrat kaynağı olarak çeşitli tarımsal ve gıda işleme atıkları kullanılmaktadır. Süt sanayi yan ürünü olan peynir altı suyu tozu zengin mineral ve organik materyal içeriğinden dolayı biyotanol üretimi için potansiyel bir karbon kaynağı olarak değerlendirilebilir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda peynir altı tozu içeren (%3-5) fermentasyon ortamları hazırlandı. Biyotanol üretimi için etanolojenik *E.coli* FBR5 suşu kullanılarak 48-96 saat süre boyunca 37°C'de 180 rpm çalkalamalı inkübasyon koşullarında inkübe edildi. Üretilen etanol miktarı ile besi ortamında kalan şeker miktarı ise HPLC yöntemi ile belirlendi.

### **Bulgular**

%3 ve %5 laktoz içerecek şekilde hazırlanan fermentasyon ortamlarında etanol üretim miktarının sırasıyla 14.99 g/L ve 23.36 g/L olduğu belirlendi. Etanol üretim veriminin ise sırasıyla 0.50 ve 0.47 olduğu belirlendi.

### **Sonuç ve Tartışma**

Elde edilen sonuçlar, biyotanol üretiminde peynir altı suyu tozunun alternatif bir karbon kaynağı olabileceği ve etkin olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** biyotanol, peynir altı suyu tozu, *E.coli*

## ***Bacillus pumilus* Y7 Katalazının Üretimi ve Sulu İkili Faz Sistemi ile Saflaştırılması**

Semih Işık<sup>1</sup>, Yonca Yüzüğüllü Karakuş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kocaeli

[isikssemih@gmail.com](mailto:isikssemih@gmail.com)

### **Giriş**

Katalazlar antioksidan metalloenzimler sınıfına dahil olup başlıca işlevleri hidrojen peroksidin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) su ve moleküler oksijene parçalanmasıdır. Katalazlarla yaklaşık yüzyıldır çalışılmasına rağmen bu enzimlerle ilgili günümüzde yeni bulgular elde edilmektedir. Bu bulgulardan en çarpıcı olanı farklı kaynaklardan izole edilen bazı katalazların temel fonksiyonlarının yanında düşük seviyede oksidaz ve(ya) peroksidaz aktivitesi göstermelerinin keşfedilmesidir. Bu çalışmada hem peroksidaz hem de β-laktam oksidaz aktivite gösterdiği iddia edilen katalaz enziminin *Bacillus pumilus* Y7 izolatından üretimi ve Sulu İkili Faz (ATPS) sistemi ile kısmi olarak saflaştırılması gerçekleştirilmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*B. pumilus* Y7 izolatından hücre içi katalaz üretiminin optimum koşullarda üretimi için farklı besiyortamı, sıcaklık, çalkalama hızı ve inkübasyon süresi gibi parametreler test edilmiştir. Katalaz saflaştırılmasında ise son zamanlarda enzimlerin kültür ortamından yüksek verimle kısa zamanda ayırımında yaygın olarak kullanılan ATPS sistemi tercih edilmiştir. Bu sistemde proteinlerin sulu çözeltisine uygun konsantrasyonlarda hazırlanmış tuz ve PEG (polietilen glikol) eklenerek iki faz oluşturulur. Tuz tipi olarak MgSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Na<sub>3</sub>; PEG için ise 1000,3000,4000,6000 ve 8000 molekül ağırlıklarına sahip polimerler çalışılmıştır. Ayrıca nötral tuzların (KCl ve NaCl) ve sistem pH'sının katalaz ayırımına etkisi incelenmiştir. Denemeler sırasında katalaz aktivite ve protein miktar tayinleri gerçekleştirilerek en yüksek saflaştırma katsayısına ve verime sahip koşullar belirlenmiştir. Protein saflığının kontrolü ise poliakrilamid jel elektroforezi ile gerçekleştirilmiştir.

### **Bulgular**

Ham enzim ekstratında en yüksek katalaz aktivite *B. pumilus* Y7'nin Luria Broth besiyerinde 37 °C, 21 saat ve 200 RPM çalkalama hızında büyütülmesi ile elde edilmiştir. Ardından 25 dakikalık sonikasyon yapılarak hücre içi katalaz açığa çıkarılmış ve santrifüj sonrası ham ekstrat (12 g/L ve 7990 U katalaz içeren) elde edilmiştir. Katalazın ATPS ile saflaştırılmasında proteinler yüksek PEG ağırlığı ve yüksek tuz konsantrasyonlarında uygun bir şekilde dağılım gösterememiş ve polimerlerden bağımsız bir ara faz meydana gelmiştir. En uygun dağılım %10 (w/w) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - %15 (w/w) PEG4000 - %3 (w/v) NaCl içeren ve pH:7.0 da hazırlanmış sistemde elde edilmiş olup katalaz enzimi %108 geri kazanım, %96.65 verim ile 3.53 kat saflaştırılmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

*Bu çalışmada B. pumilus Y7 izolatının literatürde adı geçen diğer katalaz üreticilerine göre yüksek miktarda enzim ürettiği bulunmuştur. Bu enzimin ATPS ile yüksek verimde ve geri kazanımda alt fazda saflaştırıldığı tespit edilmiştir.*

**Anahtar Kelimeler:** katalaz, *Bacillus pumilus*, ikili sulu faz (ATPS)

**Teşekkür:** Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi BAP birimi tarafından BAP-2017/H08 nolu proje ile desteklenmiştir.



## Deneyisel Tasarım ile Mikrobiyal Hyaluronik Asit Üretim Koşullarının Optimizasyonu

Gökhan Güngörmedi<sup>1</sup>, Serap Gedikli<sup>2</sup>, Murat Demirebilek<sup>3</sup>, Yağmur Toptaş<sup>2</sup>, Dilber Ece Sezgin<sup>1</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>1</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>4</sup>, Vural Bütün<sup>5</sup>, Ahmet Çabuk<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Ad, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ad, Eskişehir

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Müh. Fakültesi, İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Beytepe, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

<sup>5</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Eskişehir

<sup>6</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir  
[gokhangungormedi@gmail.com](mailto:gokhangungormedi@gmail.com)

### Giriş

Hyaluronik asit (HA) molekül ağırlığı değişkenlik gösterebilen bir glikozaminoglikan polimeridir, molekül ağırlığını fizyolojik rolü, reolojik özellikleri ve uygulamaları belirlemektedir. N-asetil-D glikozamin ve D-glukoronik asit'in β-1,4 glikozidik bağıyla bağlanmasıyla meydana gelen disakkaritin tekrarlarından oluşmaktadır. Bu çalışma kapsamında öncelikle HA'nın kültür şartlarının merkezi kompozit deneyisel tasarımına dayanan yöntem ile optimize edilerek üretiminin artırılması, uygun yöntemle saflaştırılması ve molekül ağırlığının belirlenmesi, viskozitesinin ölçülmesi vb. yöntemlerle karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca elde edilen HA'nın immünojenik yanıtı değerlendirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Hyaluronik asit (HA) üreticisi olarak, *Streptococcus equi*, Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonu'ndan (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. HA üretimi için kesikli kültürde üretim açısından kritik olduğu düşünülen bazı çevresel parametrelerin içinde yer aldığı bir deney tasarımı planlanmış ve 4 değişken (pH, inkübasyon süresi, çalkalama hızı ve sıcaklık) 5 düzeyde çalışılmıştır. Tasarım matrisinde yer alan her bir deney, ayrı ekstraksiyona tabi tutulmuş ve HA miktarları karbozol yöntemi ile belirlenmiştir. Üretilen HA'nın sitotoksitesite fare abdominal bağ doku hücresi (L929), insan vasküler endotel hücresi (HUVEC) ve insan deri keratinosit hücresi (HaCaT) kullanılarak belirlenmiştir. HA'nın molekül ağırlığının belirlenmesi, refraktif indeks ve ışık saçılması ölçümüne dayalı olarak Viscotek GPC sisteminde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen HA'nın karakterizasyonu için proton NMR yöntemi kullanılmıştır. HA'nın kimyasal karakterizasyonu ATR-FTIR'da, gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

Deneyisel tasarım sonucu elde edilen modelin; yapılan deneyleri %90,73 oranında temsil ettiği görülmekte, bu da modelin başarısını ortaya koymaktadır. %95 güven aralığında, HA üretimi için 7,87 pH'da, 33,54 °C'de, 187 rpm çalkalama hızında, 24,67 saatlik inkübasyon süresi sonunda en iyi HA üretim değeri ortalama 11,77 g/L tahminsel olarak elde edilmiştir. Sitotoksitesite çalışmaları sonucunda farklı konsantrasyonlarda hyaluronik asidin hücrelere toksik olmadığı, bununla birlikte hücrelerin proliferasyonunu uyardığı görülmüştür. HA'in ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı (Mw) 79416 dalton bulunmuş, FTIR ve NMR analizlerinde de standart HA'da görülen karakteristik pikler, bu çalışma sonucu elde edilen HA'da da gözlemlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada elde edilen HA verimi optimizasyon sonucunda yaklaşık 12 g/L'ye kadar çıkabilmiştir. Elde edilen bu değer, literatürde yayımlanan çalışmalarla rekabet edebilir düzeyde, üst seviyelerde yer almaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** hyaluronik asit, karakterizasyon, immünojenik yanıt

**Teşekkür:** Bu çalışma ESOGÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu 2014-427 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

## Melas Kullanılarak Yerel *Micractinium sp.* ME05 Suşunun Büyütülmesi ve Yağ Üretimi

İşkın Engin<sup>1</sup>, Deniz Çekmecelioğlu<sup>2</sup>, Ayşe Meral Yücel<sup>1,3</sup>, Hüseyin Avni Öktem<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Ankara

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

<sup>3</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

[iskinkose@gmail.com](mailto:iskinkose@gmail.com)

### Giriş

Mikroalgler sahip oldukları tek hücreli veya çok hücreli yapıları sayesinde farklı koşullarda çoğalabilen mikroorganizmalardır. Mikroalglerin yüksek fotosentetik aktivite ve yüksek çoğalma hızı gibi avantajları bulunmaktadır. Ancak hücre yoğunluğunda ışığın kısıtlanmasından dolayı fotosentetik aktiviteleri yavaşlamaktadır. Bunun karşın, heterotrofik çoğalma mikroalglerin ışık gereksinimini ortadan kaldırdığı için daha avantajlı hale gelmektedir. Heterotrofik kültürlerde karbon kaynağının maliyeti oldukça fazladır ve bu nedenle ucuz karbon kaynaklarının alg kültürlerinde kullanılması son yıllarda hız kazanmıştır. Bu çalışmada, karbon kaynağı olarak melas kullanılarak yerel *Micractinium sp.* ME05 suşunun büyütülmesi ve yağ üretimi araştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Haymana'dan izole edilen ve daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarla ısıya dayanıklı suş olarak tanımlanan *Micractinium sp.* ME05 suşu kullanılmıştır. Tris-asetat-fosfat (TAP) agarda muhafaza edilen hücrelerden, TAP sıvı ortamına inokülasyon yapılmış ve hücreler 25±1 °C de inkübe edilmiştir. TAP sıvı büyüme ortamında logaritmik artış fazına gelen hücreler, melas içeren Bold Bazal Büyüme ortamına %10 (hacim/hacim) oranında inoküle edilmişlerdir. Hücreler 30.7±1 °C de karanlıkta hava verilerek 120 saat inkübe edilmiştir. 500-mL Erlenmayer deneyleri ve 2-L reaktör deneyleri farklı hava miktarları (0.25L/dk., 0.5L/dk.) ve karıştırma hızlarında (50-75-100-200 rpm) gerçekleştirilmiştir. Reaktörde büyütülen hücrelerden Blich-Dyer metodu ile lipid ekstraksiyonları yapılmış ve yağ asidi kompozisyonları biyodizel üretimine elverişlilikleri açısından değerlendirilmiştir.

### Bulgular

500-mL erlenmayer deneylerinde 0.5L/dk. hava verilerek elde edilen biyokütle değeri 3.73±0.1g/L olarak gözlenmiştir. 2-L erlenmayer deneylerinde 0.25L/dk. ve 0.5L/dk. hava verilerek büyütülen hücrelerden elde edilen biyokütle değeri sırasıyla 2.35±0.50 g/L ve 3.06±0.06 g/L olarak gözlenmiştir. Biyoreaktör deneylerinde en yüksek biyokütle verimi (0.53± 0.038 g.L-1.gün-1) ve lipid verimi (7.7±1.03g.L-1.gün-1), 50 rpm karıştırma hızında ve %5 hücre ekimi yapılan deneylerde elde edilmiştir. Elde edilen lipidlerin yağ asidi kompozisyonlarının temel olarak % 30.2±0.3 oranında palmitik asit (C16:0) ve % 45.2±0.8 oranında linoleik asit (C18:2) içerdiği gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

*Micractinium sp.* ME05 hücrelerinin melas kullanılarak büyütülmesi ile yüksek miktarda biyokütle elde edilebileceği ve bu biyokütleden elde edilen lipidlerin yağ asidi kompozisyonlarının biyodizel üretimi için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** melas, heterotrofik, biyodizel, mikroalg

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No:114Z487) tarafından desteklenmiştir.

## Enzim Katkılı Bir Ürün Özelinde Mikrobiyal Kontaminasyon ve Sonuçları

Mertcan Esti<sup>1</sup>, Mesut Cihan Aydemir<sup>2</sup>, Mehmet Akif Kılıç<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya

[mertcanesti@gmail.com](mailto:mertcanesti@gmail.com)

### Giriş

Mikrobiyal kontaminasyonu kolaylıkla teşvik edebilecek organik madde içeren ürünlerin üretimi, ticari kuruluşlarda ciddi ürün ve ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Klasik mikrobiyoloji kurallarının göz ardı edildiği ve/veya üretim tesisinin amaca yönelik olarak kurgulanmadığı durumlarda mikrobiyal kontaminasyon kaçınılmaz bir son olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada, enzim katkılı bir leke çıkarıcı ürün üreten tesiste yaşanan problemin kaynakları gerçek bir vaka üzerinden ele alınarak belirlenmiştir. Bu amaca yönelik olarak, söz konusu tesise hızla ulaşılmış; tesisin genel yapısı, olası kontaminant ürünler, kontaminasyon kaynakları ve kontaminant mikroorganizmaların tespitine yönelik bir dizi çalışma gerçekleştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Hangi ürünlerde ve üretim sürecinde mikrobiyal kontaminasyon gerçekleştiğini ortaya koymaya yönelik olarak farklı ürün (ham enzim karışımı gibi) ve ortamlardan (ürün karıştırma ve depolama tankı gibi) aseptik şartlar altında örnekler alınmıştır. Alınan örneklerin ekimi üretim tesisinin laboratuvar imkanları da kullanılarak hızla gerçekleştirilmiş ve bu örnekler bir gece boyunca 37 °C'de inkübasyona tabi tutulmuştur. Mikrobiyal kontaminasyon olduğu tespit edilen örneklerin mikrobiyal yükü, seyreltme plak yöntemi ile belirlenmiştir. Bu petriyelerden seçilen 40 izolat EMB agara ekilmiş, bunlardan da 20 izolatin saf kültürü elde edilmiştir. Saf kültürleri elde edilen bu izolatların ön karakterizasyonu morfolojik (koloni ve bakteri hücre morfolojisi gibi) ve biyokimyasal testler (katalaz, sitrat ve üre) ile gerçekleştirilmiştir. Bu testler sonucunda en az bir özellik ile diğerlerinden ayrılabilen 10 izolat ileri moleküler karakterizasyon için muhafaza altına alınmıştır.

### Bulgular

Üretim tesisinin nicel incelenmesi, tesisin mikrobiyal kontaminasyonu ve çoğalmayı en aza indirecek şekilde tasarlanmadığını göstermiştir. Örneğin, üretim tankının diğer alanlardan izole edilmediği gibi, içeride çeşitli kuşların da bulunduğu dış ortam ile doğrudan temasın gerçekleştiği görülmüştür. Üretim tesisinden alınan örneklerin iki tanesinde mikrobiyal kontaminasyon tespit edilmiş ve bir örnekte (koku şikayetine de olduğu 15 tonluk enzim katkılı ürünün) mikroorganizma sayısının yaklaşık 9.000 cfu/ml olduğu belirlenmiştir. Kontaminant üründen elde edilen 20 saf kültür izolatının morfolojik ve biyokimyasal testleri, bu bakterilerin çoğunlukla gram negatif, kok ve basiller olduğu ve tamamının da katalaz pozitif olduğunu göstermiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Tüm veriler değerlendirildiğinde, kontaminasyonun bir kereye mahsus özel bir durum değil, uzun süredir devam eden bir olay olduğu sonucuna varılmıştır. Kısa, orta ve uzun vadede yapılması gerekenler bir rapor halinde firmaya sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** enzim katkılı ürün, leke çıkarıcı, mikrobiyal kontaminasyon

**Teşekkür:** Bu çalışma Akd. Üni. BAP ve Fen Fak. Biy. Böl. imkanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## Genetiği Değiştirilmiş Aspergillus Suşundan Pilot Ölçekte Termofilik Amilaz Enzimi Üretiminin Optimizasyonu

Mehmet Gazaloglu<sup>1,3</sup>, Haluk Hamamcı<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>H2biyotek Ltd şti , Ankara

[mehmet.gazaloglu@gmail.com](mailto:mehmet.gazaloglu@gmail.com)

### Giriş

Alfa amilaz enzimi, nişata gibi doğal kaynaklı ham maddelerin parçalanmasında kullanılır. Endüstride geniş tüketim olanakları bulan bu enzimin modern yöntemlerle üretilmesi özellikle fermente olabilir tarım artığı bol olan Türkiye gibi bir ülkede ekonomik açıdan caziptir. Mikrobiyal üretimin sunduğu avantajlar nedeniyle, günümüz endüstrisinde daha çok mikroorganizmalardan üretilen  $\alpha$ -amilaz tercih edilmektedir. Filamentli şekilde büyüeyebilen Aspergillus türü funguslar ,asidik ortamlara olan yüksek toleransından ve yüksek verimde enzim üretebilme kapasitesinden dolayı alfa amilaz enziminin ticari üretiminde en çok tercih edilen mikroorganizmalardan biridir.

### Gereçler ve Yöntemler

Fermantasyon flask deneylerinde 30°C , 5.5 pH'da, 200 rpm hızda 10<sup>5</sup>/ml spor sayısıyla gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 1,5L hacimde Sartorius Biostat B Blus reaktöre geçilmiş ve aynı fermantasyon koşulları korunmuş yalnızca spor sayısı değiştirilerek en yüksek amilaz aktivitesi araştırılmıştır. 10<sup>4</sup> -10<sup>8</sup>/ml spor sayısı ile fermentasyonlar yapılmış ve en uygun spor sayısı belirlenmiştir. 1,5L hacimde yapılan amilaz aktivitesinde elde edilen sonuçlardan sonra, 60L hacimde enzim üretimine sonra 80L hacimde enzim üretimine geçilmiş ve bu hacim koşullarında enzim üretimi izlenmiştir.

Fermantasyon süresince alfa amilaz aktivitesi nişastanın quantatif hidrolizini ölçerek (Starch Disappearing Test) (Xiao, Storms, & Tsang, 2007) incelenmiş ve aktivite belirlenmiştir. Aktivite testi belirli miktarda nişastanın 1 saatte hidrolizinden sonra kalan nişasta miktarının iyodin ve spektrofotometre ile tespit edilmesi şeklinde ölçülmüştür. 1 Unit=mg nişasta/ml enzim/saat

### Bulgular

Flask deneylerinde en yüksek aktivite 180 U bulunmuştur. Bunu takip eden Biostat 1,5L hacimdeki reaktörde yapılan çeşitli spor sayılı deneylerden en yüksek aktivite 10<sup>7</sup>/ml spor sayısı ile denenen reaktörde 100 U olarak tespit edilmiş ve hacim büyötmeye bu parametre sonucu ile gidilmiştir. Aynı sonucu 60L ve 80L reaktörde de ulaşılmış elde edilen enzim sonraki proseslerde kullanılmak üzere biyokütlesinden süzölerek ayrılmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Üretilen 60L ve 80L hacimdeki 100U aktiviteye sahip alfa amilaz enzimi ile pilot ölçekte 80°C de 5.0 pH'da hidroliz gerçekleştirilmiş ve %10luk nişasta ile yapılan bu hidroliz işlemi sonucunda %10luk indirgen şeker üretilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** termofilik alfa amilaz , *Aspergillus* , pilot ölçek

**Teşekkür:** H2Biyotek LTD şTİ ve Era-net IB'ye ve ODTU'ye teşekkürler

## Atık Portakal Posasının Enzimatik Hidrolizi ile Basit Şeker Eldesi

Saadet Fatma Baltacı<sup>1,2</sup>, Haluk Hamamcı<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Odtü Gıda Mühendisliği*

<sup>2</sup>*H2biyotek Ltd. Şti.*

[saadetbaltaci@gmail.com](mailto:saadetbaltaci@gmail.com)

### Giriş

Organik asitlerin veya biyoetanolan fermentasyon ya da kimyasal işlemlerle üretilmesinde gittikçe artan üretim maliyetinden dolayı düşük maliyetli alternatif karbon kaynakları kullanılarak yapılan biyodönüşüm çalışmaları dünyada önem kazanmıştır. Bu amaçla özellikle lignoselülozik karaktere sahip atık malzemeler ile fermente edilebilir şeker üretilmektedir. Bu çalışmada fermente edilebilir basit şekerler, selüloz, hemiselüloz ve pektin içeriği yüksek olan portakal kabuğu posasının (PKP) enzimatik hidrolizi ile üretilmesi amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Belso A.Ş.'den temin edilen taze portakal kabuğu posası (PKP) selüloolitik ve pektinolitik enzimler ile hidrolize tabi tutulmadan önce 80 °C inkübatörde %10 nem miktarına kadar kurutulmuştur ve sonrasında öğütme makinesinde 1mm parçacık boyutuna gelecek şekilde öğütülmüştür. Taze PKP ise 1-2 mm parçacık boyutuna gelecek şekilde öğütülerek önileme tabi tutulmuştur. Önileme görmüş PKP'nin enzimatik hidrolizi 55 °C, 4.8 pH'da ve 150 rpm'de, toplam hacim 100 ml olacak şekilde çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Farklı enzim (%0,005-%2,5) ve biyokütle (%2, %5, %10, %20) konsantrasyonlarının, pektinaz enziminin ve geri dönüşümlü enzimatik hidrolizin elde edilen basit şeker konsantrasyonuna etkisi incelenmiştir. İşlem sonunda elde edilen hidrolizat 10 dakika 100 °C'de ısı işleme tabi tutulup, 22780 g'de 5 dakika sentrifüjlenmiştir.

### Bulgular

%10 (gram/hacim) katı madde %0,5(gram/hacim) selülaz ve %0,5 (hacim/hacim) pektinaz karışımı ile 24 saat hidroliz edildiğinde 12,1 g/L glikoz ve 19,3 g/L toplam şeker dönüşümü elde edilmiştir. Selülaz enzimi ile aynı miktarda pektinaz (%0,5) eklendiğinde glikoz konsantrasyonu 6,7 g/L'den 13,2 g/L'ye, toplam şeker konsantrasyonu 7,6 g/L'den 19,7 g/L'ye artmıştır. 3 aşamalı yapılan geri kullanımlı hidrolizde her aşama başında sadece PKP (%10) eklenince 3. aşama sonunda yaklaşık 2 kat daha fazla glikoz elde edilirken, her aşama başında hem enzim (%0,5) hem PKP eklenince 3. aşama sonunda yaklaşık olarak 2,5 kat daha fazla glikoz elde edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Enzimatik hidroliz için optimum süre glikoz çevirim oranına göre 24 saat olarak belirlenmiştir. Pektinazın önemli ölçüde sakarifikasyonu arttırdığı gözlenmiştir. Geri kullanımlı hidroliz ile daha fazla miktarda basit şeker elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** lignoselülozik biyokütle, portakal kabuğu posası, enzimatik hidroliz

**Teşekkür:** 9120050 numaralı Era-Net projesi kapsamında desteklerinden ötürü TÜBİTAK'a teşekkürlerimizle.

## Hyaluronik Asitin Fiziksel Koşullardaki Kararlılığı

Serap Gedikli<sup>1</sup>, Gökhan Güngörmedi<sup>2</sup>, Murat Demirbilek<sup>3</sup>, Yağmur Toptaş<sup>1</sup>, Dilber Ece Sezgin<sup>2</sup>, Pınar Aytar Çelik<sup>2</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>4</sup>, Vural Bütün<sup>5</sup>, Ahmet Çabuk<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü- Biyoloji Ad, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, FBE-Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi-Müh. Fakültesi- İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Beytepe, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi-fen Fakültesi- Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

<sup>5</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi-kimya Bölümü, Eskişehir

<sup>6</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi-biyoloji Bölümü, Eskişehir  
[serapedikli@gmail.com](mailto:serapedikli@gmail.com)

### Giriş

Hyaluronik asit (HA), biyoyumlu olması, özellikle yüksek moleküler ağırlıklı olanların non-immünojenik olması, biyolojik olarak parçalanabilir olması, hyaluronidaz ile parçalanabilmesi ve vizkoelastik özelliklerinden dolayı, kozmetik, medikal ve farmasötik uygulamalarda ideal bir biyomalzeme olarak yer almaktadır. Bu özelliklerinin yanında vücuda haricen uygulanacak hyaluronik asitin, uygulanacağı doku ve uygulama amacına göre hyaluronidaz ile yıkım profilinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Ülkemizde hyaluronik asitin biyoteknolojik olarak üretimi ciddi bir öneme sahiptir. Bu nedenle HA'nın enzimatik yıkımı ve çeşitli fiziksel koşullardaki kararlılığının belirlenmesi de oldukça önemlidir.

### Gereçler ve Yöntemler

Hyaluronik asit üreticisi olarak, *Streptococcus equi*, Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü Kültür Koleksiyonu'ndan (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. Deneysel esnasında kullanılacak aşı kültürü için tripton soy broth besiyeri hazırlanıp 24 saat, 37 °C'de inkübe edilmiş ve polimer üretim ortamına alınarak 24 saat inkübe edilmiştir. Polimer ortamından ekstraksiyon sonucu elde edilen hyaluronik asit polimerinin konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Hyaluronik asit polimeri, in vitro ortamda maruz kalacağı çevresel koşullara (sabit UV ışığında 5, 15, 30 ve 60 dakika/118 °C, 32 dk; 121 °C, 16 dk; 124 °C, 8 dk otoklav sterilizasyonu ve enzimatik degradasyon) olan dayanıklılığı Nükleer Manyetik Resonans (NMR) profilleri ve Carbozol-Morgan-Elson yöntemi değerlendirilerek belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen polimerin immünojenik yanıtı değerlendirilmiş ve FTIR analizi yapılmıştır.

### Bulgular

NMR analizi ile HA'nın farklı çevresel koşullara maruz bırakılması durumunda farklı profiller elde edilememiş, bir ayırım sağlanamamıştır. Bu amaçla alternatif olarak modifiye Carbozol-Morgan-Elson yöntemi uygulanmıştır. Bunun sonucunda farklı maruziyetlerde degrade olan hyaluronik asitin monomerlerinden olan D- glukuronik asitin ne oranda açığa çıktığı analiz edilmiştir. Buna göre kontrol grubu olarak kullanılan hyaluronik asitte açığa çıkan D-glukuronik asit; 23,14 µg/mL olup; 121 °C-16 dakikada 41,37 µg/mL; 124 °C-8 dakikada 43,35 µg/mL; 118 °C-32 dakikada otoklav sonrası 63,09 µg/mL; 5 dakika UV sonrası 50,86 µg/mL; 15 dakika UV sonrası 53,18 µg/mL; 60 dakika UV sonrası 54,03 µg/mL miktarlarında olmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışmada, üretilen HA'nın enzimatik ya da değişen çevre şartlarında degradasyonu araştırılmıştır. Çalışılan parametreler, üretilen biyopolimerin ürüne dönüştürülmesi aşamasında oldukça önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** hyaluronik asit, karakterizasyon, degradasyon

**Teşekkür:** Bu çalışma ESOĞÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu 2014-605 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

## Kocaeli'ndeki Bazı Tıbbi Bitkilerde Fenol Oksidaz Enziminin Taranması ve Enzimin Üçlü Faz Ayırma Yöntemi ile Saflaştırılması

Yonca Yüzügüllü Karakuş<sup>1</sup>, Büşra Kahveci<sup>2</sup>, Arda Acemi<sup>1</sup>, Fazıl Özen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 41380 Kocaeli

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, 41380 Kocaeli

[busra.kahveci@hotmail.com](mailto:busra.kahveci@hotmail.com)

### Giriş

Antioksidan enzimler arasında yer alan fenol oksidazlar bir çok hücre gruplarında bulunan yüksek oranda fenolik ve fenolik olmayan aromatik bileşikler oksitleyici özelliğe sahip enzimlerdir. Endüstrinin çeşitli alanlarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Bu çalışmada, Kocaeli ilinde doğal ve yaygın olarak yetişen yabancı bitkilerden biberiye, Trabzon hurması, incir, tönge, böğürtlen, koyunkıran, dağ çileği, ebeğümeci, adaçayı ve kıvrıcık nanenin toplanarak her birinin taze yapraklarından elde edilen özütte fenol oksidaz enzimlerin varlığı araştırılmış ve içerdiği enzim miktarı en yüksek olan bitki belirlenerek bu bitkiden fenol oksidaz enziminin Üçlü Faz Ayırma (ÜFA) yöntemiyle saflaştırılması gerçekleştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Bitki örnekleri bahar ve yaz aylarını kapsayan vejetasyon dönemlerinde Kocaeli İli flora listesinde belirtilen lokalitelerden toplanmışlardır. 30 gram bitki yaprağı, 200 ml 100 mM (pH 7) sodyum fosfat tampon çözeltide 4°C'de havanda dövülerek homojenize edilmiştir. Solüsyon 14.000xg de 30 dk 4°C'de santrifüj edilerek elde edilen süpernatant enzim ham ekstrakt olarak kullanılmıştır. Homojenizasyon optimizasyonu için pH (6-8) etkisi çalışılmıştır. Enzimin üçlü faz ayırma yöntemi ile saflaştırılmasında 2 ml enzim ekstraktı, farklı amonyum sülfat doygunluklarına (%20, %30, %40, %50 ve %60) getirilmiş ve farklı enzim/t-bütanol oranları (1.0:1.5, 1.0:1.0, 1.0:1.5 ve 1.0:2.0) sağlanacak şekilde t-bütanol eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra 4,000 rpm' de 5 dk santrifüjlenerek faz ayrımı gözlenmiştir.

### Bulgular

Yapılan çalışmada test edilen bitkilerde en yüksek fenol oksidaz aktivite Biberiye'de (*Rosmarinus officinalis*) gözlenmiştir. Bu bitkiden pH 6.5'da gerçekleştirilen homojenizasyon ile 936 U/ml aktiviteye sahip ham ekstrakt elde edilmiştir. Fenol oksidaz saflaştırılmasında kullanılan üçlü faz ayırma yönteminde ise optimum koşullar %20 (w/w) Amonyum sülfat ve t-Bütanol:ham ekstrakt oranının 1:1 olduğu ortam olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda fenol oksidaz enzimi ara fazda %24 verimle 7.9 kat saflaştırılmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Biberiyede bulunan fenol oksidaz enziminin en iyi oksidaz üreticisi olarak tanımlanan mantara oranla üç kat daha fazla miktarda olduğu keşfedilmiştir. Bu durum, biberiye bitkisinin antioksidan olarak alternatif bir kaynak olduğuna işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** antioksidan, fenol oksidaz, aktivite, tıbbi bitki

**Teşekkür:** Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi-BAP birimi-2017/057 no'lu proje ile desteklenmektedir.

## Beyaz Çürükçül Fungus Katalizörlüğünde Fındık Çotanağı Kullanarak Lignoselülitik Enzim Üretimi

Zeynep Yılmaz Serçinoğlu<sup>1</sup>, Nihat Alpugu Sayar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kadıköy, İstanbul

[zynpylmz@gmail.com](mailto:zynpylmz@gmail.com)

### Giriş

Lignoselüloz, doğada en fazla bulunan makromoleküldür. Selüloz içeriğinden dolayı ikinci nesil biyoyakıt üretimlerinde hammadde olarak kullanılır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün 2017'de yayınladığı rapora göre, ülkemiz fındık üretiminde dünyada birinci sıradadır. Fındık hasadından sonra tarlada kalan fındık çotanağı ya tarlada çürümeye bırakılmakta, ya da yakılarak yok edilmeye çalışılmaktadır. Bu durum hava kirliliğine neden olduğu gibi, toprağın veriminin düşmesine de neden olur. En büyük fındık üreticisi olan ülkemizde hasattan sonra ortaya çıkan çotanak miktarı göz önüne alındığında, değerli bir hammaddenin yok edildiğini anlamak zor olmayacaktır. Bu çalışmadaki amacımız, beyaz çürükçül bir fungus olan *Pycnoporus sanguineus*'u biyokatalizör olarak kullanarak fındık çotanağından katma değeri yüksek enzim kokteyli üretmektir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda biyokatalizör olarak *Pycnoporus sanguineus* kullanılmıştır. Fındık çotanağının tek karbon kaynağı olarak bulunduğu ve azot kaynakları ile desteklenmiş ortamda üretilen olan lignoselülitik enzimlerin aktiviteleri incelenmiştir. Fungus, malt özütü agarında 37°C'de 3 gün boyunca inkübe edildikten sonra, oluşan koloniler toplanmıştır. Çotanak içeren besiyerine, kolonilerden elde edilen spor süspansiyonu aşılanmıştır. Üretim, 30°C'de 7 gün sürdürülmüş ve günlük olarak örnek alınmıştır. Alınan örnekler +4°C 4000g'de 15 dk santrifüj edildikten sonra, elde edilen üst fazlar enzim aktivite tayinleri için +4°C'de saklanmıştır. Tayini yapılan enzimler, lakkaz, b-glukosidaz ve karboksimetilselülazdır. Bu tayinlerde sırasıyla, ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)], pNPG (4-Nitrophenyl  $\beta$ -glucopyranoside) ve karboksimetilselüloz substrat olarak kullanılmıştır.

### Bulgular

Elde ettiğimiz sonuçlar, fındık çotanağını kullanarak lakkaz, b-glukosidaz ve karboksimetilselülaz enzimlerini üretildiğini göstermektedir.

### Sonuç ve Tartışma

Dünyanın en büyük fındık üreticisi olan ülkemizde, hasattan sonra açığa çıkan çotanak kullanılarak, lignoselülitik enzimler üretilmiştir. Piyasadaki enzim fiyatlarına bakıldığında, fındık çotanağının biyoteknolojik hammadde olarak önemli bir potansiyeli olduğu gözükmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** biyokütle, lignoselülitik enzim, biyokataliz, biyoyakıt, optimizasyon

**Teşekkür:** Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi FEN-C-DRP-120917-0548 tarafından desteklenmektedir.



**GIDA**  
**BİYOTEKNOLOJİSİ**

## ***Pichia pastoris* Mayasında Rekombinant Protein Üretimi**

Mehmet İnan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*

*bskndmr@gmail.com*

*Pichia pastoris* (*Komagatella phaffii*) rekombinant protein üretiminde konukçu organizma olarak yaygın ve başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. *P. pastoris*, tek hücreli metilotrofik bir mayadır ve bakteriler gibi ucuz üreme ortamlarında hızlı bir şekilde çoğalabilirler. Bununla birlikte ökaryotik olduğu için, bakterilerin yapamadıkları ökaryotik proteinler için elzem olan translasyon sonrası değişiklikleri yapabilirler. Bu da *Pichia* ekspresyon sistemini ökaryotik proteinlerin rekombinant üretimi için bakterilere göre daha avantajlı hale getirir.

*P. pastoris* mayası ile rekombinant protein üretiminde tercih edilmesinde etken olan avantajlarının başında fermentör ortamında yüksek hücre yoğunluklarına ulaşabilmesi ve rekombinant proteinleri yüksek seviyede hücre dışına salgıyabilmesi gelmektedir. *P. pastoris* ile rekombinant protein üretiminde en yaygın kullanılan promotor metanol ile indüklenebilen AOX1 promotorudur. *P. pastoris* ekspresyon sistemini daha etkin ve verimli şekilde kullanmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalar arasında mevcut promotorların geliştirilmesi ve alternatif promotor arayışları da yer almaktadır. Bu sunumda *P. pastoris* mayasında rekombinant protein üretiminde önemli unsurlar olan: üretim vektör kopya sayısı, sekresyon sinyalleri, promotor ve konukçu suşların etkisi tartışılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Pichia pastoris*, rekombinant protein üretimi, AOX1 promotoru

## İklim Değişikliği ile Gıda Güvenesi Hakkında Farkındalığın Ölçümü, Geliştirilmesi ve Çözüm Önerileri

Remziye Yılmaz<sup>1</sup>, Taha Turgut Ünal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi

[remziye@hacettepe.edu.tr](mailto:remziye@hacettepe.edu.tr)

### Giriş

İklimi, oldukça geniş bir bölge içinde uzun yıllar değişmeyen ortalama hava koşulları olarak tanımlanabilirken, iklim değişikliğinin uluslararası düzeyde kabul görmüş tanımı bulunmamaktadır. Dünya Meteoroloji Örgütü, iklim değişikliğini ortama hava koşullarının uzun dönemli değişiklikleri olarak ve Küresel İklim Gözetim Sistemi *iklim sistemi içindeki bütün değişiklikler* olarak tanımlamaktadır. BM İklim Değişikliği Çevre Sözleşmesi'nde ise *iklim sistemindeki sadece insan kaynaklı değişiklikler* olarak tanımlamaktadır. Gıda güvenesi ise, insanların aktif ve sağlıklı yaşaması için gereken besin ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla yeterli, güvenilir ve besleyici gıdaya fiziksel ve ekonomik bakımdan sürekli erişebilmesi durumudur.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmanın amacı, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğrencilerinin iklim değişikliği, gıda güvenesi ve aralarındaki etkileşime ilişkin farkındalığının belirlenmesi ve geliştirilmesidir. Farkındalığın ölçümü ve geliştirilmesi için düzenlenen anket çalışmaları Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği'nde öğrenim gören öğrencilere uygulanmıştır. Burada "Hedef kitle konu hakkında yeterli bilgi düzeyine sahip midir?"; "Hedef kitledeki gruplar arasında farkındalık düzeyinde bir farklılık var mıdır?" ve "İklim değişikliği ve gıda güvenesi başlığı altında daha çok hangi konularda gelişime ihtiyaç duyulmaktadır?" gibi temel sorulara verilen yanıtlar yorumlanmıştır.

### Bulgular

Anket çalışması ile Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğrencilerinin farkındalık düzeyinin saptanması amaçlanmıştır. Öğrencilerin farkındalık düzeyi, 5 tane demografik ve 17 tane konu bazlı sorularla hazırlanmış anketten alınan yanıtlarla ölçülmüştür. Araştırma, HÜ Gıda Mühendisliği'ni temsil eden, geneli 3. ve 4. sınıf öğrencilerinden oluşan katılımcılarla gerçekleştirilmiştir. Ankete toplam 96 kişi katılmıştır. Katılan öğrencilerin % 47'si 3. sınıflardan, % 42'si 4. sınıflardan, % 4,2'si 2. sınıflardan ve % 7,3'ü diğer sınıfta okuyanlardan oluşmaktadır. Araştırmaya katılanların % 89,6'sı kadın, % 10,4'ü erkektir.

### Sonuç ve Tartışma

Anket sonucuna göre, öğrencilerin iklim değişikliğini çevre sorunu olarak görmekte birlikte diğer sorunlara göre daha az önemsedikleri anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** iklim değişikliği, gıda, biyoteknoloji

**Teşekkür:** Z. Okumuş, E. Gündoğdu, A. Avaroğlu, D. Ömeroğlu'na çalışmaya katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## **Weissella Cinsine Ait Strainlerin Antimikrobiyal Aktivitesi ve Karakterizasyonu**

Emine Dinçer<sup>1</sup>, Merih Kıvanç<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sivas

<sup>2</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

[edincer@cumhuriyet.edu.tr](mailto:edincer@cumhuriyet.edu.tr)

### **Giriş**

Gram pozitif laktik asit bakterileri Firmicutes filumuna ait çeşitli bakteri cinslerinden oluşmaktadır. Biyoteknolojik öneme sahip olan ve gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan bu grubun önemli cinsleri arasında *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* gibi cinsler yer almakla birlikte *Weissella* gibi daha az bilinen cinsler de yer almaktadır. Günümüzde *Weissella* cinsine ait 19 tür olduğu kabul edilmektedir. Bunlar arasında özellikle probiyotik ve prebiyotik olarak endüstriyel boyutta kullanılabilme potansiyeli olan strainlerin bildirilmesi, cins üzerine dikkatlerin toplanmasına yol açmış ve konu ile ilgili çalışmalar günümüzde hız kazanmıştır. Bu çalışmada 8 *Weissella* straininin antimikrobiyal aktivite özellikleri araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışmada, ülkemizde tüketime sunulan çeşitli pastırma örneklerinden, daha önce izole edilmiş ve tanımlanmış olan, 3 farklı *Weissella* türüne ait (*W. confusa*, *W. hellenica*, *W. viridescens*) 8 strain kullanılmıştır. Strainlerin antimikrobiyal aktiviteleri gıda kökenli patojen mikroorganizmalardan seçilmiş olan 11 indikatör test mikroorganizmasına ve 5 standart laktik asit bakteri kültürüne karşı ilk kez Tagg ve McGiven (1971) tarafından önerilen agar kuyu difüzyon metodu modifiye edilerek ve strainlere ait hücresiz filtratlar kullanılarak belirlenmiştir. Ardından antimikrobiyal aktivitenin karakterizasyon çalışmaları için, seçilen 6 indikatör mikroorganizmaya karşı test katalaz, proteinaz K, tripsin,  $\alpha$ -kimotripsin,  $\alpha$ -amilaz, lizozim ve pronaz enzimlerinin varlığını tekrar edilmiştir. Sıcaklığın antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisinin belirlenmesi için 60°C ve 121°C sıcaklıklarında muameleden sonra strainlerin kalan antimikrobiyal aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

### **Bulgular**

Çalışma sonucunda, 8 strainin de çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, özellikle *W. viridescens* türüne ait olan 3 strainin dikkate değer ölçüde yüksek aktivite sergilediği, en düşük aktiviteninse *W. hellenica* türüne ait olan 2 strain tarafından sergilendiği bulunmuştur. Aktivitenin katalaz enzimi ile muameleden hemen hemen hiç etkilenmezken, proteinaz K enzimi varlığında tamamen ortadan kalktığı belirlenmiştir. Ayrıca, hücresiz filtratların gerek diğer enzimlerle, gerekse sıcaklık muamelesi ile yüksek oranda aktivite kaybettiği tespit edilmiştir. Enzim ilavesi ile aktivite kaybına rağmen *W. viridescens* türüne ait olan izolatların *Enterococcus faecalis* üzerindeki etkisinin devam ettiği gözlemlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Strainlerin antimikrobiyal aktivitesinin biyoteknolojik açıdan önemli bileşikler olan bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri metabolit üretiminden kaynaklandığı ve ileriki çalışmalarla bileşiklerin gıda sektöründe kullanılabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Weissella*, laktik asit bakterileri, bakteriyosin, antimikrobiyal aktivite

**Teşekkür:** Çalışma, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu (Proje NO: 41020) tarafından desteklenmiştir.

## Geleneksel Türk Peynirlerinden *Lactobacillus sp.* İzolasyonu ve Ekzopolisakkarit Üretiminin Belirlenmesi

Sema Yiyit Doğan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara

[sema.yiyit@gmail.com](mailto:sema.yiyit@gmail.com)

### Giriş

Ekzopolisakkaritler (EPS) mikroorganizmalar tarafından sentezlenen hücrel polisakkaritlerdir. EPS'lerin bağışıklık sistemini düzenleme, kolestrolü düşürme, antialerjen ve antitümör aktivitesi olduğu bilinmektedir. Bununla beraber raf ömrü uzatıcı, stabilize edici, kıvam artııcı özelliklerinden dolayı süt ürünlerinin kalitesini geliştirmek için gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılır. Starter ve probiyotik özellikler taşıyan *Lactobacillus sp.* kültürlerinin EPS üretebildikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'nin 10 farklı şehirden temin edilen geleneksel peynirlerden *Lactobacillus sp.* izolasyonu yapılarak, izolatların EPS sentezleme yetenekleri belirlenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

25 gr peynir örneği, 125 ml PBS içinde homojenize edilerek MRS agar besiyerine ekim yapılmıştır. 37 ° C'de 48 saat inkübasyon sonunda morfolojik koloniler seçilerek ön eleme için biyokimyasal testler (gram boyama, katalaz, oksidaz, arjinin, esculin vb) uygulanmıştır. Biyokimyasal analiz sonunda seçilen suşların moleküler tanımlanması 16S rRNA ile yapılmıştır. Suşların EPS üretiminin belirlenmesi için Dubois ve ark. (1956) yöntemi kullanılmıştır. Toplam EPS miktarı fenol-sülfirik asit metodu ile hesaplanmıştır, standart olarak glikoz (0-200 mg / L) kullanılmıştır.

### Bulgular

10 farklı şehirden temin edilen peynirlerdeki *Lactobacillus sp.* miktarları  $3,77 \pm 0,16$  -  $8,23 \pm 0,34$  (cfu / g) arasında bulunmuştur. Toplam 19 bakteri izole edilmiştir. Moleküler tanımlama sonucunda 7 farklı tür; *L. fermentum* (7), *L. rhamnosus* (4), *L. helveticus* (2), *L. acidophilus* (2), *L. paracasei ssp. paracasei* (1), *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* (1) ve *L. plantarum* (1) bulunmuş olup peynirlerdeki en baskın türün *L. fermentum* olduğu belirlenmiştir. EPS üretimi 66-156 mg / L olarak gözlemlendi.

### Sonuç ve Tartışma

Türk geleneksel peynirlerinden izole edilen *Lactobacillus* suşlarının EPS üretim kabiliyetinde olduğu gösterilmiştir. Bu izolatların probiyotik ve/veya starter kültür etkinliğinin araştırılması ile bu izolatlar gıda sektöründe kullanılabilir olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** laktik asit bakterisi, *Lactobacillus sp.*, peynir, ekzopolisakkarit (EPS)

## Gıda Kaynaklı Psikrofilik *Pseudomonas* Türlerinde Ekstrasellüler Lipaz Üretiminin Araştırılması

Ali Aydın<sup>1</sup>, Mert Sudağdan<sup>2</sup>, Ayşen Çoban<sup>1</sup>, Alparslan Kadir Devrim<sup>3</sup>, Orhan Yavuz<sup>4</sup>, Nermin Sarıgül<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul*

<sup>2</sup>*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Stratejik Ürünler Ar-ge Merkezi (sargem), Meram, Konya*

<sup>3</sup>*Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Yahşihan, Kırıkkale*

<sup>4</sup>*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Burdur*

<sup>5</sup>*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Burdur*  
[aliaydin@istanbul.edu.tr](mailto:aliaydin@istanbul.edu.tr)

### Giriş

Tavuk eti Türkiye’de en çok tüketilen ve soğukta muhafaza edilen beyaz et türüdür. Uygun olmayan ve uzun süreli soğukta saklanan bütün tavuk ve tavuk eti ürünlerinde bozulma yapıcı ve lipolitik aktivite gösteren psikrofilik bakteriler özellikle de *Pseudomonas* türleri gelişebilmektedir. Çalışmamız kapsamında İstanbul ilinde satışı sunulan (n:121) ve Bolu ile Bandırma’daki kesimhanelerden temin edilen (n:64) tüm tavuk etlerinde, bozulmaya neden olan psikrofilik lipolitik *Pseudomonas* türlerinin kültürel yöntemler ile izolasyonu ve moleküler yöntemler (PCR ve DNA dizi analizi) ile doğrulanması, suşlarda *lipA* geninin araştırılması ve ekstrasellüler lipaz enziminin aktivite tayini gerçekleştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

İstanbul, Bolu ve Bandırma’dan toplanan tavuk numuneleri soğuk muhafaza koşullarında son kullanma tarihine kadar muhafaza edilmiştir. Süre sonunda, 10 g örnek homojenize edilmiş ve desimal dilüsyonlar ile ekimler gerçekleştirilmiştir. İzolasyonda, lipolitik bakteriler için lesitin agar kullanılarak örnekler +4°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda lipolitik psikrofilik bakteri kolonileri seçilerek triptik soy agar’da saflaştırılmış (+4°C’de 7 gün) ve biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur. Lipolitik aktivite tespiti için tributyrin agara inoküle edilmiş ve zon oluşturan koloniler seçilmiştir. Genomik DNA ekstraksiyonu ardından 16S rRNA gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. 1500 bazlık PCR ürünleri DNA dizi analizine tabi tutulmuş, elde edilen dizilerin GenBank karşılaştırılması ile suşların tanımlanması sağlanmıştır. Lipaz üretiminden sorumlu (*lipA*) geni PCR ile araştırılmış, gen içeren suşlarda lipaz aktivitesi lipase assay kit (ABCAM 102524) ile belirlenmiştir.

### Bulgular

Kültürel analizler ve DNA dizi sonuçlarında toplam 196 *Pseudomonas* suşu tanımlanmıştır. *Pseudomonas* suşlarında *lipA* geni varlığı, suşların %4.6’sında (9/196) tespit edilmiştir. Lipolitik olarak tanımlanan 9 suşa (9 numaralı *Pseudomonas cedrina* suşu, 16, 30, 33, 85 ve 301 numaralı *P. fluorescens* suşları, 127 numaralı *P. brenneri* suşu, 615 numaralı *P. fragi* suşu ve 695 numaralı *Pseudomonas* spp. suşları) lipaz aktivite testi uygulanmış ve en yüksek aktivite *P. brenneri* 127 nolu suşta tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışmamızda biyoteknolojik enzim üretimi açısından önemli olan düşük sıcaklıkta gelişebilen bakterilerden yüksek aktivite gösterebilen ekstrasellüler lipaz üretiminin tespit edilmesi, bu enzimin endüstriyel kullanım potansiyelini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** lipaz, *Pseudomonas*, Psikrofilik bakteri

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK TOVAG (Proje No: 113O396) tarafından desteklenmiştir.

## Genetik Modifiye Organizmaların Saptanması İçin Gdo Analiz Temel Bilgi Sisteminin Oluşturulması

Remziye Yılmaz<sup>1</sup>, Ceren Cansın Gazel <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe Kampüsü, 06800, Ankara

[remziye@hacettepe.edu.tr](mailto:remziye@hacettepe.edu.tr)

### Giriş

GD ürünlerin moleküler karakterizasyonun içinde değerlendirilebilecek olan ürünün hangi oranda GD içerdiğini saptamak, ilgili gen bölgesini tanımlamak ve miktar tayini gerçekleştirmek ve bu analizleri gerçekleştiren laboratuvarların optimum bir analiz stratejisi belirleyebilmesi için, izleme ve denetim süreci açısından önemlidir. Gıda numuneleri bileşenleri birden fazla ve yalnızca bitkisel ya da hayvansal kaynaklı olmayan geniş ve zor materyallerdir. Bugün GDO analizleri için; yoğun bir şekilde kullanılan ve ulusal ve uluslararası düzeyde kabul edilmiş DNA analizlerine dayalı; eş zamanlı polimeraz zincir tekniği (Real Time PCR, RT-PCR) nicel sonuçlar elde edilmesini sağlaması nedeniyle esastır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu projede genetik modifiye organizma analiz stratejisinin belirlenebilmesi için GDO Analiz Temel Bilgi Sistemi'nin oluşturulması amaçlanmaktadır. Bu amaçla 1. Ülkemizde onaylanan GDO tipleri, 2. Avrupa Birliği tarafından onaylanan GDO tipleri, 3. Ülkemizde analizi yapılabilen GDO tipleri ve genler 4. İlgili laboratuvarlar ile statüleri, analiz içerikleri ve konumları 5. GDO analizi için önerilen uluslar arası kabul edilebilirliği olan en az bir yöntem belirlenerek GDO Temel Bilgi Sistemi'ne yerleştirilmiştir. GDO Bilgi Sistemi sayesinde analiz yapmak isteyen laboratuvar, analiz yaptırmak isteyen tarafların tamamı GDO analiz stratejisini kolaylıkla oluşturabileceklerdir. GDO Temel Bilgi Sistemi kullanımı analiz gerçekleştirilmesinde laboratuvarlar arasında bir yöntem birliği ve sonuçların değerlendirilmesinde de optimizasyon sağlayacaktır.

### Bulgular

GDO Analiz Temel Bilgi Sistemi verifikasyonu için belli sayıda örnek seçilerek GDO analizleri gerçekleştirilmiştir. 6 adet örnekten, 1 nolu örnek kontrol olarak kullanılmak üzere RR GM soya ile karıştırılmış, denemeler süresince *Pozitif Kontrol* olarak kullanılmıştır. 3 nolu örnek sonuçları ise 35S , NOS ve FMV gen bölgelerinin varlığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre Karışık Kümes Hayvanı Yeminde (3) tip belirleme analizi için hedef olarak üç gen bölgesi için de pozitif olan MON89034 Mısır'ın hedef alınması gerektiği tespit edilmiştir. 2, 4, 5, 6 nolu örneklerde ise ileri analize gerek olmadığı saptanmıştır

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada GDO Analiz Temel Bilgi Sistemi oluşturulmuştur. Oluşturulan sistemde onaylı ve onaysız olan GD bitkiler ele alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** genetik modifiye organizma, analiz stratejisi, GDO Temel Bilgi Sistemi

**Teşekkür:** M.T. ŞAHİN ve N.G. UYGUN'a çalışmaya katkıları nedeni ile teşekkür ederiz.

## Kolorimetrik ve Mikrobiyolojik Yöntemler ile Biyofilm Analizi

Bükay Yenice Gürsu<sup>1</sup>, İlknur Dağ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Eskişehir

bgursu@ogu.edu.tr

### Giriş

*Salmonella spp.* ve *Listeria monocytogenes*, gıda kaynaklı önemli patojen bakterilerden olup canlı ve cansız yüzeylerde biyofilm oluşturabilirler. Doğal ilaçların antibiyofilm etkileri hakkındaki veriler oldukça sınırlıdır. Günümüzde bitki materyalleri ve uçucu yağların bu doğrultuda kullanımıyla ilgili araştırmalar oldukça ilgi çekicidir. Çalışmamızda güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen ve kekiğin fenolik bileşenlerinden biri olan karvakrolün [2-metil-5- (1-metiletil) fenol], biyofilm üzerine etkileri farklı konsantrasyonlarda ve Kristal viyole testi kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca karvakrolün biyofilme maruziyeti sonrasında bakteriyal canlılık üzerine gösterdiği etkiler de mikrobiyolojik olarak değerlendirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Kristal viyole testi için belirli konsantrasyonlarda (%0.03, %0.015 ve %0.008 ( vol/vol)) etken madde içeren mikropklara bakteri süspansiyonları inoküle edilmiş ve 37°C de 24 saat inkübasyon sonrası PBS ile üç kez yıkanmıştır. Kristal viyole ile 5 dk bekletilen plakların boya fazlası yıkanmış ve sonrasında biyofilme bağlı kristal viyole, glasiyal asetik asit ile çözündürülmüştür. 490, 630 ve 490-630 nm'lerdeki optik yoğunluklar (OD), bir mikropklara okuyucu yardımıyla ölçülmüştür. Deneyler üç kez tekrarlanmıştır. Yapışan hücrelerin bakteriyal canlılığının ölçülebilmesi için de bakteri süspansiyonları aynı şekilde mikropklara inoküle edilmiş ve yıkanmış daha sonra kuyucuklar kazınarak biyofilm kaldırılmış ve 2 kez PBS ile yıkandıktan sonra PBS içerisinde süspanse edilmiştir. Gerekli dilüsyonlar yapılarak Trypticase Soy Agar besiyerinde 37 ° C'de 24 saat inoküle edilmiş ve oluşan koloniler sayılmıştır.

### Bulgular

Farklı karvakrol konsantrasyonlarında ve önceden oluşturulmuş (48 saat) biyofilm biyokütlesindeki değişimin kristal viyole sonuçları, karvakrolün konsantrasyon bağımlı etkisini ortaya koymuştur. En güçlü etki, en yüksek konsantrasyonda gözlenmiştir (%0.03). 0.015% konsantrasyon değerinde karvakrolün etkisi kontrol grubuna yakın gözlenirken 0.008% konsantrasyonlarında biyofilm oluşumunda artışa sebep olmuştur. Bakteriyal canlılık sayımı sonuçları da kristal viyole sonuçlarıyla paralellik göstermiştir. Karvakrol %0.03 ve 0.015% konsantrasyonlarda biyofilm oluşumunu azaltmış görünmesine rağmen bu etki dramatik değildir. Seçilen en düşük konsantrasyonda ise biyofilm oluşumunu ilginç bir biçimde artırmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Çok güçlü antimikrobiyal ajan olan Karvakrolün hücrelere etki mekanizması henüz tam olarak çözülmemiştir ancak sonuçlarımız oluşan biyofilmin sağaltımında çok etkili olmadığını ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** biyofilm, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, karvakrol

**Teşekkür:** Bu çalışma 2015910 nolu proje kapsamında ESOĞÜ-BAP Komisyonu tarafından desteklenmiştir.



## **Ekşi Ekmek Hamurundan İzole Edilen Mayaların Teknolojik Özellikleri**

Derya Yılmaz<sup>1</sup>, Muhammet Arıcı<sup>2</sup>, Ruşen Metin Yıldırım<sup>2</sup>, Görkem Özülkü<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

[deria\\_ylmz@hotmail.com](mailto:deria_ylmz@hotmail.com)

### **Giriş**

Ülkemizde fırınların büyük çoğunluğu ticari ekmekek mayası kullanmakta, az bir kısmı da standart olmayan, mikrobiyolojik çeşitliliği bilinmeyen ekşi hamurdan ekmekek üretmektedirler. Ekşi hamur ekmekeği tat ve aroma bakımından tüketicileri tatmin etmekle birlikte fermentasyon süresinin çok uzun olmasından dolayı yaygınlaşmamaktadır. Dolayısıyla ticari olarak kullanımı sınırlı kalmaktadır. Ticari ekmekek üretiminde, ekmekek hamuru fermentasyonunda kullanılan maya kültürleri *Saccharomyces cerevisiae* suşlarıdır. Geleneksel olarak üretilen ekmekek fermentasyonuna iştirak eden mayalar çeşitli cinslere ait türlerden oluşmaktadırlar ve teknolojik özellikleri farklılık göstermektedir.≤

### **Gereçler ve Yöntemler**

Ekşi ekmekek hamurundan izole edilen ve tanımlanan mayaların MEB (Malt Ekstrakt broth) kontrol örneğine göre ekim yapılan örneklerin pH'ları, ilk, 6., 12., 18., 24. ve 48. saatlerde ölçülmesiyle izolatların asit geliştirme özellikleri belirlenmiştir. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında canlılığını test etmek için; 0%,2%,4% ve 6% konsantrasyonlarda tuz ilave edilen MEB besiyerlerine ekimleri yapılarak sayıları belirlenmiştir. İzolatların antifungal duyarlılıkları farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat ilave edilen MEB besiyerlerine ekimleri yapılarak sayıları belirlenmiştir

### **Bulgular**

İzolatların başlangıçtaki pH değerlerinin 24 saat sonunda düştüğü, örneklerin daha asidik olduğu tespit edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarında ve farklı potasyum sorbat konsantrasyonlarında gelişimleri incelenen izolatlardan, *Torulaspota delbrueckii* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayasının tuza dirençli ve antifungal duyarlılığının daha az olduğu belirlenmiştir

### **Sonuç ve Tartışma**

Ekşi ekmekekten izole edilen mayalardan *Torulaspota delbrueckii* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayasının asitliğinin yüksek, tuza dirençli ve antifungal duyarlılığının daha az olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ekşi hamur, mayaların teknolojik özellikleri, ticari maya, geleneksel ekmekek

**Teşekkür:** Prof. Dr. Muhammet ARICI, Arş. Gör. Ruşen METİN YILDIRIM, Arş. Gör. Görkem ÖZÜLKÜ

## Okaliptus Yağı İçeren Nanoemülsiyonların *Escherichia coli* O157:h7 ve *Listeria monocytogenes* Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Emin Burçin Özvural<sup>1</sup>, Osman Kadir Topuz<sup>2</sup>, Qin Zhao<sup>3</sup>, Qingrong Huang<sup>3</sup>, Michael L. Chikindas<sup>3,4</sup>, Muharrem Gölükçü<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Çankırı Karatekin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Uluyazı Kampüsü, Çankırı

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Antalya

<sup>3</sup>Rutgers Üniversitesi, Gıda Bilimi Bölümü, 65 Dudley Rd., New Brunswick, Nj 08901, Abd

<sup>4</sup>Sindirim Sağlığı Merkezi, New Jersey Gıda, Beslenme ve Sağlık Enstitüsü, New Brunswick, Nj 08901, Abd

<sup>5</sup>Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Demircikara Mahallesi Paşa Kavakları Caddesi No: 11, 07100, Muratpaşa, Antalya  
[bozvural@gmail.com](mailto:bozvural@gmail.com)

### Giriş

Esansiyel yağların gıdalarda patojen veya bozulmaya yol açan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ancak, bu tip doğal bitkisel yağlar çoğu zaman yüksek uçuculuk, keskin koku, düşük su çözünürlüğü ve mikroorganizmalarla sınırlı seviyede etkileşim gibi olumsuz özellikler de göstermektedir. Nanoemülsiyonlar fiziksel stabiliteyi yüksek, esansiyel yağları enkapsüle edebilen ve genellikle bu yağların patojen mikroorganizmalar üzerine olan antimikrobiyal etkisini artırdığı düşünülen sistemlerdir. Bu çalışmada okaliptus yağı (OY) katılarak hazırlanmış kaba ve nano emülsiyonların gıda kaynaklı *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* patojenleri üzerine antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada OY piyasadan temin edilmiş ve içerdiği uçucu bileşenler Gaz Kromatografisiyle belirlenmiştir. Kaba ve nano emülsiyonlar %10 OY ile orta zincirli triaçilgliserol (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 ve 0:100, w:w), %85 destile su (w:w) ve %5 soya lesitini (emülgatör, w:w) kullanılarak hazırlanmıştır. Nanoemülsiyonlar yüksek basınçlı homojenizatörden 150 MPa basıçta 6 kez geçirilerek elde edilmiştir. Nanoemülsiyonların ortalama partikül boyutları dinamik ışık saçılması yöntemiyle belirlenmiştir. Emülsiyonların antimikrobiyal aktiviteleri en düşük partikül boyutuna ve en yüksek OY içeriğine sahip olmasından dolayı %10'luk yağ fazında %100 OY içeren deneme kullanılarak analiz edilmiştir. Saf OY, kaba emülsiyon ve nanoemülsiyonun minimum inhibitör konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu konsantrasyonda saf OY ile OY'nin kaba ve nanoemülsiyonları kullanılarak time-kill yöntemiyle *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gelişimleri 37°C'de 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24 ve 36. saatlerde belirlenmiştir.

### Bulgular

Minimum inhibitör konsantrasyonunun tespit edilmesinde ve time-kill analizlerinde kullanılan nanoemülsiyonun ortalama partikül boyutu 115.7 nm olarak belirlenmiştir. Saf OY, kaba emülsiyon ve nanoemülsiyonun minimum inhibitör konsantrasyonları benzer olarak (%0.50, v:v) bulunmuştur. Time-kill yöntemine göre hem *E. coli* O157:H7 hem de *L. monocytogenes* üzerine olan en yüksek antimikrobiyal etkiyi saf OY'nin gösterdiği belirlenmiştir. OY'nin nanoemülsiyonu ikinci en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterirken, kaba emülsiyonun en düşük seviyede etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmanın sonucunda OY içeren nanoemülsiyon test edilen mikroorganizmalar üzerinde güçlü bir inhibisyon etki gösterse de, ilginçtir ki literatürde pek çok çalışmanın aksine saf OY daha yüksek bir etki sergilemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** okaliptus yağı, nanoemülsiyon, esansiyel yağ, patojen mikroorganizma

**Teşekkür:** Dr. Emin Burçin Özvural Yurt Dışı Doktora Sonrası Bursu (2219) için TÜBİTAK'a teşekkür eder.

## Kefirden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Takviyesi Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması

Gamze Gültekin<sup>1</sup>, Merih Kıvanç<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü*

[gamzegultekin@anadolu.edu.tr](mailto:gamzegultekin@anadolu.edu.tr)

### Giriş

Kefir tanelerinin süte ilave edilmesiyle elde edilen kefir, asidik ve alkolik fermentasyonların bir arada olduğu süt ürünüdür. Laktik asit bakterileri, fermente et, süt, sebze, meyve ve tahıl ürünlerinin üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda probiyotiklere olan ilgi hızla artmaktadır. Buna paralel olarak pazar değeri de hızla artmaktadır. Bu çalışmada kefirde izole edilen laktik asit bakterilerinin bazı probiyotik özellikleri belirlenerek bu bakterilerden probiyotik ürünler hazırlanması planlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Laktik asit bakteri izolatları MRS ve M17 agar besiyerinde saflaştırılıp biyokimyasal ve moleküler olarak tanımlanmıştır. İzolatların patojen özelliklerinin olup olmadığını belirlemek amacı ile kanlı agarda hemoliz testi uygulanmıştır. İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri kuyucuk açma methodu, biyofilm özellikleri mikrotitrasyon plak yöntemi araştırılmıştır. İzolatların otoagregasyon kapasiteleri, laktik asit miktarları, antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlilikleri, enzimatik aktiviteleri belirlenmiştir.

### Bulgular

İzolatların patojen özellik olarak kanlı agarda hemoliz oluşturma yeteneklerinin olmadığı gram pozitif katalaz ve oksidaz negatif olduğu belirlenmiştir. Tanılanan izolatlar *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis* olarak bulunmuştur. İzolatlar yedi farklı şekerli besiyerinde yüksek biyofilm yeteneğine sahip olup aynı zamanda akne ve ağız florasından izole edilmiş patojen *Staphylococcus* ve *Streptococcus* spp. üzerine antimikrobiyal etkiye sahiptir. Elde edilen bulgular sonucunda izolatların otoagregasyon kapasitelerinin yüksek olduğu fazla miktarda laktik asit içerdiği, antimikrobiyal ajanlara dirençli oldukları bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

İzole edilen laktik asit bakterileri hem probiyotik olarak deri ve ağız üzerine uygulanabilecek preparat hazırlanmasında kullanılabilmesi gibi gastrointestinal sistemi düzenlemede alınabilecek preparatlar da hazırlamaya aday bakterilerdir.

**Anahtar Kelimeler:** antimikrobiyal, biyofilm, kefir, laktik asit bakterisi, probiyotik

## ***Viburnum opulus* L. Meyvesinde Bulunan Klorojenik Asitin *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 Fermantasyon Kinetiğine Etkisi**

Gizem Özan<sup>1,2</sup>, F. Yeşim Ekinci<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye*

<sup>2</sup>*Yeditepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

[gizemozan90@gmail.com](mailto:gizemozan90@gmail.com)

### **Giriş**

Ülkemizde gilaburu olarak bilinen European cranberrybush (ECB) (*Viburnum opulus* L.) meyvesi sağlık üzerinde pozitif etkileri olan klorojenik, kafeik asit gibi fenolik asitler ile kateşin, antosiyanin gibi flavonoidleri içermektedir. Bu çalışmada, taze sıkılmış ECB meyve suyunda yüksek miktarda bulunan klorojenik asitin (KA) *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014'ün gelişimine etkisi incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda MRS besiyerine eklenmiş saf KA'nın *L. plantarum* gelişimi üzerindeki etkisi daha önceki çalışmamızda belirlenmiş olup bu çalışmada farklı KA'ların *L. plantarum* üzerindeki gelişim kinetiği parametreleri hesaplanarak belirlenen optimum KA konsantrasyonunda büyük ölçekte *L. plantarum* gelişim parametreleri analiz edilmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Daha önceki çalışmada, 2.12, 0.71, 0.53, 0.35, 0.10, 0.05 ve 0.03 mg/ml klorojenik asit (KA) içeren ve/veya içermeyen MRS besiyerinde 37°C'de 48 saat süreyle 600 nm'de otomatik mikropilaya okuyucusu ile alınmış olan *L. plantarum* ATCC 8014'ün OD değerleri kullanılarak, bakterinin kinetik parametreleri; maksimum spesifik büyüme hızı ( $\mu_{max}$ ), lag faz süresi ( $\lambda$ ), hücre yoğunluğu ( $\Delta OD$ ) ve jenerasyon süresi (td) hesaplanmıştır. Daha sonra, optimum gelişimin gözlemlendiği KA varlığında aynı şartlarda fermantasyon hacmi artırılarak farklı zaman aralıklarında (0, 4, 8, 10, 24 ve 48 sa) alınmış örneklerin bakteri sayısındaki (log kob/ml) değişim, OD, pH ve şeker tüketim miktarları (mg/ml) belirlenmiştir. Şeker tüketim miktarı HPLC-Refraktif İndeks (RI) dedektörü kullanılarak analiz edilmiştir.

### **Bulgular**

Laktik asit bakterilerinin (LAB) fenolik madde içeren ortamlardaki aktivasyonu/inhibisyonu LAB türüne fenoliklerin kimyasal yapısı ve konsantrasyonuna göre değişir. Önceki çalışmada elde edilen gelişim eğrisi sonuçlarına paralel olarak en düşük  $\Delta OD$   $\mu_{max}$  ve en yüksek td değerleri 2.12mg/ml KA varlığında görülürken 0.71, 0.53, 0.35 ve 0.10mg/ml KA içeren kültürlerde  $\Delta OD$  kontrol grubuna yakın,  $\mu_{max}$  kontrol grubuna göre daha yüksek ve td değerleri ise daha düşük bulunmuştur. *L. plantarum* 'un en yüksek  $\mu_{max}$  ( $0.65sa^{-1}$ ) değeri 0.35mg/ml KA varlığında görülürken bu konsantrasyondaki büyük ölçek analizlerinde fermantasyon süresince bakteri sayısı OD pH ve glikoz tüketim değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir değişim gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

### **Sonuç ve Tartışma**

Yapılan çalışmada, *L. plantarum* ATCC 8014'ün gelişiminin ortamdaki KA miktarına göre farklılık gösterdiği kinetik hesaplamalarla doğrulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Viburnum opulus* L., klorojenik asit, *Lactobacillus plantarum*

**Teşekkür:** TUBITAK 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile desteklenmiştir.

## Türk Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Mayaların Fitaz Aktiviteleri

Ruşen Metin Yıldırım<sup>1</sup>, Muhammet Arıcı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya - Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

[muarici@yildiz.edu.tr](mailto:muarici@yildiz.edu.tr)

### Giriş

Tam tahıllı gıdalar lif, mineraller, vitaminler, fenolik bileşikler, steroller ve tokoferoller gibi birçok fitokimyasal madde açısından zengindir. Tüm bu besin maddelerinin yanında önemli miktarda, mineral maddeleri bağlayarak bunların besleyici kalitesini düşüren fitik asit içerir. Bu sebeple ekme yapımında kullanılacak fitaz aktif maya çeşitliliğini arttırmak, özellikle tüketilmesi teşvik edilen tam tahıllı ekmeklerin besinsel özelliklerini arttırmak için oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı ekşi hamurdan fitaz aktif mayaların izole edilmesi ve tanımlanmasıdır. Bu amaçla Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinden 73 maya izolatu elde edilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Tüm izolatlar Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)'de, ayrıca 28 izolat 26S rDNA gen bölgesinin PZR yardımı ile çoğaltılıp dizin analizi ile tanımlanmıştır. Bilinmeyen izolatlara ait FT-IR spektrumları mikrobiyal kütüphanede taranmış, farklı suşların spektrumlarını karşılaştırmak amacıyla sınıflandırma analizi yapılmıştır. Maya izolatlarının fitaz aktivitelerini belirlemek için fitik asitin sodyum tuzunu içeren besiyeri kullanılmıştır.

### Bulgular

FT-IR sınıflandırma analizine göre *Saccharomyces cerevisiae* (57 izolat), *Torulaspota delbrueckii* (7 izolat), *Kluyveromyces marxianus* (3 izolat), *Pichia anomala* (3 izolat), *Pichia membranifaciens* (2 izolat) and *Pichia guilliermondii* (1 izolat) olarak belirlenmiştir. 29 izolatu DNA sekans ve BLAST analizinin FT-IR sınıflandırma analizini doğruladığı görülmüştür. Maya izolatları arasında en yüksek fitaz aktivitesine sahip izolatu *Pichia anomala* olduğu, bunu takiben *Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspota delbrueckii* geldiği tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışma, yüksek fitaz aktivitesine sahip *Pichia anomala* ve *Saccharomyces cerevisiae* izolatlarının tam tahıllı ekmeklerin tüketilmesinde mineral kullanılabilirliğini arttırmak için ideal aday izolatlar olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ekşi hamur, maya, FT-IR, PZR, fitaz

## Nisin ve Lizozimin Panton Valentine Leukocidin Toksini Üreten *S. aureus* Suşlarının Gelişimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Mert Sudağidan<sup>1</sup>, Ali Aydın<sup>2</sup>, Ahmet Yemenicioğlu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Stratejik Ürünler Ar-ge Merkezi (sargem), Meram, Konya

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul

<sup>3</sup>İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gülbahçe Kampüsü, Urla, İzmir

[msudagidan@gmail.com](mailto:msudagidan@gmail.com)

### Giriş

Panton–Valentine Leukocidin (PVL) *Staphylococcus aureus* suşlarının en önemli patojenite faktörleri arasındadır. PVL toksini vücutta nekrotize pnömoni gibi ciddi bir enfeksiyona neden olmaktadır. PVL toksini üreten suşlar genellikle klinik kökenli olması yanında gıda kaynaklı da olabilmektedir. Gıda, patojen bakterilerin insanlar ve gıdalar arasında taşınmasında en önemli taşıyıcı araçlardır. Nisin, laktik asit bakterilerinden *Lactococcus lactis* tarafından üretilen ve gıda koruyucusu olarak yasal kullanımına izin verilen ilk bakteriyosindir. Çalışmamızda gıdalarda biyokoruyucu olarak kullanılan nisin ve lizozimin PVL pozitif *S. aureus* suşlarının gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda 3 adet gıda kaynaklı PVL pozitif *S. aureus* M1-AAG42B, PY30C-b ve YF1B-b suşu ile klinik kaynaklı 2 adet *S. aureus* HT.421 ve HT.480 suşu kullanılmıştır. Nisin (Sigma N5764) ve lizozim ( $\geq 40,000$  U/mg protein, Sigma L6876) farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri triptik soy buyyon (pH 6.5) içerisinde hazırlanmıştır. Bir gece triptik soy agar'da üretilen *S. aureus* suşları 10 ml %0.9 NaCl içerisinde çözüldürülerek türbiditesi McFarland 0.5'e ayarlanmıştır. 0.5, 2.5, 12.5 ve 25 µg/ml konsantrasyonlarda nisin ve 1, 2, 3, 4 ve 5 mg/ml konsantrasyonlardaki lizozim test edilmiştir. 20 µl bakteri süspansiyonu, 180 µl test materyali içeren besiyeri ile 96-kuyucuklu mikropalakalarda karıştırılmış ve 37°C'de 24 saat OD600 nm'de her 15 dakikada bir ölçüm alınarak mikropalaka okuyucu'da (VarioSkan, Thermo) büyüme eğrileri çıkarılmıştır. Her bakteri ve her test konsantrasyonu için triplike kuyucuk kullanılmıştır. Sonuçlar test materyali içermeyen kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

### Bulgular

Lizozimin test edilen tüm konsantrasyonlarında *S. aureus* suşları üzerine herhangi bir inhibe edici etkisi tespit edilememiştir. *S. aureus* HT.421 12.5 µg/ml nisin konsantrasyonunda, *S. aureus* HT.480 ise 25 µg/ml nisin konsantrasyonunda tamamen inhibe olurken, *S. aureus* M1-AAG42B, PY30C-b ve YF1B-b suşlarında lag fazının uzayarak ve yüksek konsantrasyonlarda da bakteriyal gelişimin başladığı ve test edilen yüksek nisin konsantrasyonlarında bu 3 suşun gelişebildiği gözlemlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

*S. aureus* suşlarının lizozime karşı dirençli olmaları ve patojen *S. aureus* suşlarının biyokoruyucu nisin'e karşı direnç göstermesi, patojen bakterilere karşı yeni ve daha etkili gıda koruyucu maddelerinin kullanılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Panton–Valentine leukocidin, *Staphylococcus aureus*, nisin, lizozim

**Teşekkür:** İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi

## ***Saccharomyces cerevisiae*'nin Şarap Mayası Cinsi Tarafından Yapılan Kalan Fermentasyonu Ksiloz İzomeraz Kullanarak Önlemek**

Nahide Seray Ünal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, Ankara*

[serayunal3@gmail.com](mailto:serayunal3@gmail.com)

### **Giriş**

Fermente olmamış üzüm yaklaşık olarak eşit miktarda fruktoz ve glikoz içermesine karşın, *Saccharomyces cerevisiae* tarafından yapılan fermentasyondan sonra artık olarak kalan fruktoz miktarı daha fazladır. Bunun nedeninin heksoz transport proteinlerinin fruktoza olan afinitesinin alkolden etkilenmesi olduğu düşünülmektedir. Fruktoz ve glikozun izomerleşmesini sağlayan tersinebilir bir enzim olan ksiloz izomerazı fermente olmuş üzüm suyuna ekleyerek fruktozun glikoza çevrilmesine, kalan fermentasyonun yeniden hareketlendirilmesine ve sonuçlandırılmasına çalışılacaktır. Transport proteinlerinin alkollü ortamda fruktoz ve glikoza olan afinitelerinin belirlenip kinetik modele olan uyumları da çalışılacaktır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Uygun maya ortamında büyütülmüş *Saccharomyces cerevisiae* şarap mayası cinsi tarafından yapılan fermentasyon, transport proteinleri tarafından hücre içine alım ile başladığı için D-glikoz ve D-fruktoz heksoz şekerleri deneylerde kullanılacaktır. Glikoz ve fruktoz şekerlerinin hücre içine alınımından ve maya tarafından kullanımından aynı transport proteinleri sorumlu olmasına rağmen, alkollü ortamda kullanım hızı fruktoz için daha yavaştır. Bunu göstermek için glikoz ve fruktozun ayrı ayrı ve aynı anda buldukları etanollü ortamlarda zamana bağlı kullanım hızları ölçülecektir ve kinetik modellenmesi yapılacaktır. Bunun yanı sıra, ksiloz izomerazın, optimum koşulları göz önünde bulundurularak (pH, sıcaklık), öncelikli olarak mimik şarap ortamındaki izomerizasyon aktivitesine ve stabilitesine bakılacaktır. Sonrasında, şarap ortamında enzim aracılığıyla istenmeyen artık fruktozun glikoza çevrilip fermentasyonun devamı sağlanacaktır.

### **Bulgular**

Şarap mayası tarafından heksoz şekerleri ve etanol bulunan ortamda yapılan deneylerde, alım hızının fruktoz için daha düşük olduğu görülecektir. Bu durum transport proteinlerinin afinitesinin alkol bulunan ortamda değişmesinden dolayı olduğu kinetik modelleme ile açıklanacaktır. Mimik şarap ortamında (pH= ~3.6, gliserol= ~0.8%, etanol= ~13%, T= 30°C) ksiloz izomeraz aktivitesini göstererek izomerleşme reaksiyonunu gerçekleştirecek ve ortamda bulunan artık fruktozu denge tepkimesi ile glikoza dönüştürecektir. Aynı ortam koşullarında şarap ortamında kalan fruktoz izomerleşme ile glikoza dönüşecek ve fermentasyon devam edecektir. Şarap prosesi sırasında enzim kolonlara konulacak ve şarap bu kolonların içinden 2-3 ay süre ile geçirilecektir.

### **Sonuç ve Tartışma**

*Saccharomyces cerevisiae* şarap mayası cinsi ve ksiloz izomeraz ile yapılan deneyler sonucunda şarap endüstrisinde istenmeyen bir durum olan bitmiş ürünlerdeki artık fruktozdan kaynaklanan tatlılık sorunu çözüme ulaşmış olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** şarap mayası, kalan fermentasyon, ksiloz izomeraz, transport proteinleri

**Teşekkür:** Prof. Haluk Hamamcı'ya, Dr. Ayşem Batur'a, arkadaşlarıma özellikle laboratuvar arkadaşlarıma, aileme

## **Gıda Güvenliğinde Eşzamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyon tekniğinin Kullanım Olanakları**

Remziye Yılmaz<sup>1</sup>, Ayşe Merve Büyükyazı<sup>1</sup>, Büşra Deniz Karaduman<sup>1</sup>, Ceren Cansın Gazel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe Kampüsü, 06800, Ankara*

[remziye@hacettepe.edu.tr](mailto:remziye@hacettepe.edu.tr)

### **Giriş**

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)'nin başlatmış olduğu "Tarladan Sofraya Gıda Güvenliği" yaklaşımı gıda güvenliği alanındaki bilimsel ve teknolojik gelişmelerin daha yakından izlenmesi gerekliliğini ortaya koymuştur. Gıda güvenliği, gıdayı tüketicinin sağlığına zarar verici hale getiren, kronik ya da kronik olmayan tüm risk etmenlerini kapsayan bir terimdir. Gıda analizlerinde hızlı, doğru, tekrar edilebilirliği yüksek ve çoklu sonuç verebilen bir moleküler biyoloji tekniği olan Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyon (RT- PCR) tekniği gıda güvenliği için yapılan analizlerde kullanım olanakları gittikçe artan ve yaygınlaşan yöntemler arasındadır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Gıda analizlerinde hızlı, doğru, tekrar edilebilirliği yüksek ve çoklu sonuç verebilen bir moleküler biyoloji tekniği olan Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyon (RT- PCR) tekniği gıda güvenliği için yapılan analizlerde kullanım olanakları gittikçe artan ve yaygınlaşan yöntemler arasındadır. RT- PCR, çeşitli amaçlarla nükleik asitlerin kalitatif veya kantitatif olarak saptanabilmesini sağlayan DNA'ya dayalı bir yöntemdir. Bu yöntem gıda kaynaklı patojenler, genetik modifiye organizma varlığı, gıdanın içeriğinde bulunabilecek muhtemel alerjen maddeler ve gıda orijinlerinin belirlenmesi gibi yeni alanlarda incelemeye olanak sağlamaktadır.

### **Bulgular**

Bu çalışmanın temel amacı, gıda güvenliğinde RT- PCR'ın kullanım olanaklarını ortaya koymaktır. Bu amaçla gıda kaynaklı patojenlerin, gıdanın alerjenitesinin ve orijininin tespiti, genetik modifiye organizma (GDO) içeriğinin hızlı ve doğru tespit edilmesi için RT- PCR yönteminin temel prensipleri araştırılmıştır. Gıda güvenliğinin sağlanmasında moleküler biyolojik yöntemlerin kullanımları incelenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

TÜRKAK veri tabanı yararlanılarak Türkiye'de bulunan ve akreditasyonu olan patojen, alerjen, orijin belirleme ve GDO analizlerinde moleküler biyolojik yöntemler kullanan gıda analiz laboratuvarlarına dair istatistiksel bir araştırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** RT-PCR, gıda güvenliği



## **Akrilamitin Ic75 Konsantrasyonu Uygulanan C6 Hücrelerinde Mitokondriyal Membran Potansiyeli Değişimi**

Sedat Kaçar<sup>1</sup>, Varol Şahintürk<sup>1</sup>, Hatice Mehtap Kutlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

<sup>2</sup>*Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir*

[skacar@ogu.edu.tr](mailto:skacar@ogu.edu.tr)

### **Giriş**

1954 yılında endüstride çalışan işçilerde toksisitesi görülen ve üzerinde çalışılan akrilamitin 2002 yılında yiyeceklerde de bulunmasıyla toksisitesi daha geniş olarak araştırılmaya başlanmıştır. Akrilamitin sinir hücrelerinde ve mitokondri üzerinden toksik etki gösterdiği kabul edilmektedir. Biz de bu çalışmamızda akrilamitin C6 glioma hücrelerinin mitokondriyal membranındaki değişimleri akış sitometrisi ile araştırmayı amaçladık.

### **Gereçler ve Yöntemler**

C6 hücreleri kullanıma hazır besiyerinde 75'lik flasklarda 37 °C'de %5 CO2 içeren inkübatörde kültüre edildi. Yeterince büyüyen hücreler tripsin-EDTA ile kaldırılarak 6'lı plaklara ekildi ve bir kısmı akrilamitin IC75 dozuyla muamele edilirken diğer bir kısmı kontrol olarak bırakıldı. 24 saat sonra hücreler kaldırılarak mitokondriyal membran potansiyelleri ölçülerek değerlendirildi.

### **Bulgular**

Akrilamit IC75 dozunun C6 glioma hücrelerinde kontrole göre mitokondriyal depolarizasyonu ve ölü hücre yüzdesini arttırdı.

### **Sonuç ve Tartışma**

Akrilamit mitokondriyal depolarizasyona yol açmaktadır ve C6 hücrelerine toksik etki yapmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** akrilamit, mitokondriyal membran potansiyeli, C6 hücreleri

## Akrilamit Verilen C6 Hücrelerinde Kaspaz 3 ve Bcl-2 Proteinlerinin İmmünohistokimyasal Yöntemle Analizi

Sedat Kaçar<sup>1</sup>, Varol Şahintürk<sup>1</sup>, Hatice Mehtap Kutlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

<sup>2</sup>*Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir*

[skacar@ogu.edu.tr](mailto:skacar@ogu.edu.tr)

### Giriş

C3H5NO formülüyle 2-propenamit olarak da bilinen akrilamit evlerimize kadar ulaşan bir kimyasaldır. Yüksek ısılarda işlem gören yiyeceklerde tost yapma, kızartma ve fırınlama sonucu akrilamit oluşmaktadır. Kaspaz 3 hücre ölümü tiplerinden apoptoz esnasında artan pro-apoptotik bir proteinken, bcl-2 ise anti-apoptotik bir proteindir. Bu çalışmamızda akrilamitin C6 glioma hücrelerinde kaspaz 3 ve bcl-2 ifadesini nasıl değiştirdiğinin immünohistokimyasal olarak analiz edilmesi amaçlandı.

### Gereçler ve Yöntemler

C6 hücreleri 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde kullanıma hazır besiyerinde çoğaltıldı. Hücre besiyeri gerektiğinde değiştirildi. Yeterli derecede konfluent hücreler 24 saat boyunca akrilamitle muamele edildi. Bir grup hücre ise kontrol olarak kullanıldı. Akrilamit uygulanan ve kontrol olarak kullanılan C6 hücreleri lamlara yayılarak %96'lık etil alkolle fikse edildi. 10 mM sitratla antijen geri kazanımı yapıldıktan sonra % 3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile hidrojen peksidazlar inaktive edildi. Daha sonra bir gece 4 °C primer antikorda bekletildi. HRP'li sekonder antikor inkübasyonundan sonra kromojen olarak DAB eklendi. Hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı. Örnekler artan etil alkol serilerinden geçirildi, ksilenle muamele edildi ve lameller kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi.

### Bulgular

Kontrol olarak kullanılan C6 hücreleri bcl-2 pozitifken, kaspaz 3 açısından negatif olarak gözlemlendi. Akrilamitle muamele edilen C6 hücrelerinde ise bcl-2 pozitifliği azaldı ve daha çok kaspaz 3 ile boyanma gösterdiler.

### Sonuç ve Tartışma

Akrilamit C6 hücrelerinde apoptozu tetiklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** akrilamit, C6 hücreleri, Bcl-2, kaspaz 3, immünohistokimya

## Hurmalardan İzole *Pichia kudriavzevii* ve *Kluyveromyces marxianus* Mayalarının Hidrofobisite ile Ekzopolisakkarit Üretimleri

Yavuz Beyatlı<sup>1</sup>, Jaafar Akef<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

[caferakef@gmail.com](mailto:caferakef@gmail.com)

### Giriş

Probiyotikler, canlıların sağlığı üzerine yararlı etkileri olan mikrobiyal hücre preparatları veya mikrobiyal hücre bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. Birçok laktik asit bakterileri (LAB) ile bazı maya türleri probiyotik olarak değerlendirilmektedir. Mikrobiyal suşların probiyotik olarak seleksiyonlarında EPS üretim yetenekleri önemli bir kriter olarak değerlendirilmektedir. EPS çeşitli mikroorganizmaların hücre dışı salgıladıkları veya hücre yüzeyinde bulunan ekzosellüler polimerlerdir. Hidrofobisite, mikrobiyal hücrelerin epitel yüzeye tutunmasında önemli bir özelliktir. Probiyotiklerin epitel yüzeylere tutunması ile bir bariyer oluşmakta ve patojenlerin epitel hücrelere tutunması engellenmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Piyasaya sunulmuş farklı hurma örneklerinden izole edilen toplam 16 adet maya suşunun klasik tanımlamasında yer alan, morfolojik ve koloni özellikleri incelenip, moleküler düzeyde 16S rRNA tanımlamaları yapılmıştır. Suşların, 14 adedi *Pichia kudriavzevii* ve 2 adedinde *Kluyveromyces marxianus* suşları olduğu belirlenmiştir. İzole edilen suşlar Yeast Extract- Peptone- Dextrose (YPD) Broth besiyerinde aktifleştirilerek, EPS üretimleri 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak fenol sülfürik asit metoduna göre belirlenmiştir. Mayaların hidrofobisite özellikleri, suşların p-ksilen (polar olmayan nötral çözücü), kloroform (monopolar asidik çözücü), etil asetat (monopolar bazik çözücü) hidrokarbonlara tutunma yüzdesi spektrofotometrik olarak tanımlanmaktadır.

### Bulgular

Moleküler düzeyde tanımlanan 14 adet *Pichia kudriavzevii* suşunun EPS üretimleri (146,19-452,2 g/L) arasında bulunmuştur. En yüksek EPS üretimi (452,2 g/L) *P.kudriavzevii* JD2 suşunda belirlenirken, en düşük (146,19 g/L) EPS üretimi *P. kudriavzevii* JDG suşunda tesbit edilmiştir. 2 adet *Kluyveromyces marxianus* JST ve JZ suşlarının EPS üretimleri sırası ile, (108,53 ve 194,13 g/L) olarak bulunmuştur. *P. kudriavzevii* suşlarının p-ksilen, kloroform ve etil asetat hidrokarbonlarına tutunma yüzdeleri sırası ile, %55,78 – 86,74, %81,42 – 84,90 ve %52,71-72,23 arasında tesbit edilmiştir. 2 adet *K. marxianus* JST ve JZ suşlarının kloroform hidrokarbona tutunma yetenekleri diğer p-ksilen ve etil asetata kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmadaki sonuçlara göre *P. kudriavzevii* suşlarının EPS üretimlerinin, diğer *K. marxianus* suşlarına kıyasla daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Probiyotik maya suşlarının tümünün hidrofobisite özelliklerinde farklılık gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** maya, hurma, EPS üretimi, hidrofobisite, probiyotik

## Hurmalardan İzole Edilen Probiyotik Bazı Maya Suşlarının Otoagregasyon ve Koagregasyon özelliklerinin İncelenmesi

Yavuz Beyatlı<sup>1</sup>, Jaafar Akef<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

[caferakef@gmail.com](mailto:caferakef@gmail.com)

### Giriş

Probiyotikler canlı mikroorganizmalar olup, tüketildiğinde konak sağlığına faydalı etkiler sağlamaktadır. Günümüzde probiyotikler insan, hayvan ve akuatik canlılar gibi geniş bir alanda kullanılmaktadır. Mikrobiyal suşların probiyotik özelliklerinin belirlenmesinde bazı önemli kriterler araştırılmaktadır. Bu kriterlerden bazıları olan suşların agregasyon (otoagregasyon ve koagregasyon) yetenekleri ve hidrofobosite özellikleri probiyotik açıdan önemli bir kriter olarak değerlendirilmektedir. Otoagregasyon, aynı türe ait mikroorganizmaların birbirlerine tutunarak oluşturdukları hücre kolonileri şeklinde tanımlanmaktadır. Koagregasyon ise farklı türe ait iki mikroorganizmanın birbirine tutunması olarak tanımlanmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Piyasaya sunulmuş farklı hurma örneklerden izole edilen ve moleküler düzeyde 16S rRNA ile tanımlanan 14 adet *Pichia kudriavzevii* ve 2 adet *Kluyveromyces marxianus* maya suşlarının otoagregasyon, koagregasyon özellikleri tesbit edilmiştir. Maya suşları Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YPD) Broth besiyortamında aktive edilerek, otoagregasyon özellikleri 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Maya suşlarının *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Escherchia coli* ATCC 25922 ve *Candida albicans* ATCC 90028 suşları ile koagregasyonları 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak tesbit edilmiştir.

### Bulgular

14 adet *P. kudriavzevii* suşunun otoagregasyon yeteneklerinin (%12,47 – 70,96) arasında olduğu bulunmuştur. 2 adet *K. marxianus* JST ve JZ suşlarının otoagregasyon değerleri sırası ile, (%30,86 ve %57,84) olarak belirlenmiştir. *P. kudriavzevii* suşlarının *L. acidophilus* ATCC 4356, *E. coli* ATCC 25922 ve *C. albicans* ATCC 90028 suşları ile koagregasyonları sırası ile, (%23,42- 48,9, %17,31-50,2 ve %16,43-54,06) arasında tesbit edilmiştir. 2 adet *K. marxianus* JST ve JZ suşlarının test bakterileri ile koagregasyonları sırası ile, (%33,35 - %43,71, %19,11 - 53,38 ve %32,62 – 30,11) olduğu belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, maya suşlarının otoagregasyon yeteneklerinin farklı olduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca, *P. kudriavzevii* suşlarının EPS üretimleri, diğer *K. marxianus* suşlarına kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** hurma, maya, EPS üretim, otoagregasyon, koagregasyon, probiyotik

## Staphylococcus Cinsi Mikroorganizmalar ile Hyaluronik Asit Üretimini Araştırılması

Yasemin Karasu<sup>1</sup>, Merih Kıvanç<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

[yaseminkarasu@anadolu.edu.tr](mailto:yaseminkarasu@anadolu.edu.tr)

### Giriş

Hyaluronik asit (HA),  $\beta$ -1,3 ve  $\beta$ -1,4 glikozidik bağı ile bağlanmış D-glukuronik asit ve N-asetilglukozamin disakkarit birimlerinin tekrarlanmasıyla oluşan canlıların vücut dokularında doğal olarak üretilen ve birçok göreve sahip olan bir polimerdir. HA kozmetik ürünlerin üretimi, yara için ilaçların üretimi, doku rejenerasyonu ve tedavisi, ilaçların hedef dokuya ulaştırılması, göz damlası ilaçları, protezler, deri dokusunun yeniden biçimlenmesi, yumuşak dokuların tedavisi gibi birçok alanda kullanıma sahip olması nedeniyle ekonomik değeri yüksek olan bir polimerdir. Tüm bunların yanında canlı vücudunda bazı yaşamsal aktiviteleri olan HA'nın gün geçtikçe önemi daha çok anlaşılmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada peynirden izole edilmiş olan izolatlar arasından bir adet Staphylococcus epidermidis suşu ve Anadolu Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiş olan bir adet Staphylococcus warnei suşu deneylerde kullanılmış olup daha ucuz ve bol olarak HA üretimi gerçekleştirmek amaçlanmıştır. Kullanılan izolatlar hyaluronik asit üretimi açısından üronik asit karboksil reaksiyonu yöntemi ile taranmıştır. Bu yöntemde göre üretilen maddenin karbazol ile reaksiyon vermesine bakılıp spektrofotometrik olarak 550 nm 'de okuma yapılmıştır ve hazırlanan standart eğri ile karşılaştırma yapılmıştır. Hyaluronik asit ürettiği belirlenen izolatlar ile üretim yapılarak kısmi saflaştırma yapılmıştır. Kısmi saflaştırılan hyaluronik asit hyaluronidaz enzimi ve FTIR ile kontrol edilmiştir.

### Bulgular

Teste alınan iki mikroorganizmanın da farklı oranlarda hyaluronik asit üreterek pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu mikroorganizmaların ticari olarak hyaluronik asit üretiminde kullanılabileceği ve aynı zamanda bu tekniğin geliştirilerek hyaluronik asit üretiminde kullanılabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** hyaluronik asit, karboksil reaksiyonu, *Staphylococcus*



**HAYVANSAL  
BİYOTEKNOLOJİ**

## ***Androctonus crassicauda* Venomunun Proteolitik Aktivitesinin Antivenom ile İnhibisyonu**

Figen Çalışkan<sup>1</sup>, Neslihan Atlıakın<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü*

<sup>2</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı*

[fcalis@ogu.edu.tr](mailto:fcalis@ogu.edu.tr)

### **Giriş**

*Androctonus crassicauda* ülkemizde özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yaygın olarak bulunan ve ölümcül zehirlenmelere yol açan bir akrep türüdür. Bu çalışma *Androctonus crassicauda* akrebi venomunu kullanılarak atların immunizasyonu sonucu elde edilen polivalent akrep antivenomunun, venomun içerdiği proteolitik enzimlere karşı olan etkisinin araştırılması üzerine odaklanmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu amaçla *Androctonus crassicauda* ham venomunu yüksek performans sıvı kromatografisi kullanılarak bileşenlerine ayrılmıştır. Ham venoma ait fraksiyonların proteolitik aktiviteleri sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezinde zimogram yöntemiyle belirlenmiştir. Proteolitik aktivite çalışmalarında substrat olarak jelatin ve kazein kullanılmıştır.

### **Bulgular**

Farklı dozlarda antivenomla karıştırılmış ham venomdan oluşan örnekler ile gerçekleştirilen elektroforez çalışmalarında antivenomun, ham venomda bulunan jelatinolitik etkili peptidlerin aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Kazein substrat kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda antivenom inhibisyonu gözlenmemiştir. Antivenomun ham venoma ait fraksiyonlarda ise jelatinolitik aktiviteyi kısmen etkilediği, kazeinolitik bantlar üzerinde ise etkin olmadığı belirlenmiştir. Venomlarda bulunan proteolitik enzimlerin zehirlenme sürecinde doku geçirgenliğini artırarak venomun yayılma faktörleri olarak görev yaptığı düşünülmektedir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Antivenomun proteolitik enzim inhibisyonunda substrat seçiciliği olduğu gösterilmiştir. Yeni nesil antivenomların tasarımı ve yeni iyiletim stratejilerinin geliştirilmesi için elde edilen sonuçların yarar sağlaması beklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Androctonus crassicauda*, akrep, venom, antivenom, proteolitik aktivite



## Sazan Genomunda Lösin Fermuarı Proteinlerinin Tanımlanması ve Analizi

Kevser Betül Ceylan<sup>1,2</sup>, Buket Ustaoglu<sup>2</sup>, Yasemin Çelik Altunoğlu<sup>2</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu

[kevserbb@bartin.edu.tr](mailto:kevserbb@bartin.edu.tr)

### Giriş

Transkripsiyonel düzenleyicilerin en geniş üyelerinden biri olan ‘basic leusine zipper-lösin fermuarı’ (bZIP) ailesi, metazoonlar, mantarlar, bitkiler ve hayvanlar gibi pek çok canlıda tanımlanmıştır. bZIP transkripsiyon faktörleri; hücre döngüsü, üreme, gelişme, homeostazi, metabolizma, stres yanıtı ve programlanmış hücre ölümü de dâhil olmak üzere pek çok süreçte düzenleyici rol almaktadır. Sazan (*Cyprinus carpio* L.), ülkemizde olduğu gibi dünya genelinde de geniş yayılım gösteren ve balık yetiştiriciliğinde ekonomik değere sahip f türüdür. Sazan balığına ait biyoinformatik çalışmalar sınırlı olup, bZIP proteinlerinin karakterizasyonu daha önce yapılmamıştır. Bu amaçla bu çalışmada sazan bZIP proteinlerinin tanımlanması ve analizi gerçekleştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Sazan balığına ait protein verileri, NCBI veri tabanından elde edilmiş, PFAM veri tabanında bu protein verileri taranarak ilgili bZIP domainlerini içerip içermedikleri kontrol edilmiştir. Daha önce tanımlanmış bZIP protein dizilerine benzer diziler belirlenerek çalışmaya dâhil edilmiş ve kromozomlardaki yerleşimlerine göre adlandırılmışlardır. GSDS yazılımı ile bZIP genlerinin ekzon intron yapıları belirlenmiştir. Proteinlerin öne çıkan biyokimyasal özellikleri EXPASY PROTPARAM ile analiz edilmiş ve PHYRE2 yazılımı ile muhtemel 3 boyutlu yapıları saptanmıştır. MEME SUIT yazılımı kullanılarak sazan bZIP proteinlerinin korunmuş motifleri ortaya çıkarılmış, sazan bZIP transkriptlerini hedef alan miRNA’ları tanımlamak amacı ile ise psRNATarget kullanılmıştır. Gen ontolojisi analizleri için Blast2GO programı kullanılmış, sazan bZIP proteinleri arasındaki evrimsel ilişki de MEGA7 programı kullanılarak Maximum Likelihood metodu ile belirlenmiştir.

### Bulgular

Sazan balığı genomuna ait 243 adet CcabZIP geni tespit edilmiştir. En fazla CcabZIP geni içeren kromozom, 13 CcabZIP geni ile 5. kromozom olmuştur. CcabZIP proteinlerinin moleküler ağırlıklarının yaklaşık olarak 9,9-67 kDa arasında değiştiği saptanmıştır. Yirmi yedi CcabZIP geninin intron bölgesine sahip olmadığı görülürken, alfa heliks yapısal motifinin genelinde hakim yapı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, 23 farklı miRNA tarafından CcabZIP genlerinin hedeflendiği belirlenmiş, 4 farklı miRNA tarafından hedeflenen CcabZIP-127 geni ise en çok hedeflenen gen olmuştur. CcabZIP proteinlerinde 20’nin üzerinde farklı motif kalıbı saptanmıştır. CcabZIP genlerinin metabolik ve hücrel süreçler ile biyolojik regülasyonda yer aldığı gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Sazan balığı genomundaki CcabZIP genlerinin tanımlanması ve CcabZIP proteinlerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi, fonksiyonel analiz çalışmaları için yol gösterici olabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** bZIP, sazan, gen tanımlama, karakterizasyon

## ***Scolopendra cingulata* Venomunda Jelatinolitik Aktiviteli Peptidlerin Belirlenmesi**

Figen Çalışkan<sup>1</sup>, Sebahat Oluçay<sup>2</sup>, Volkan Ulutaş<sup>2</sup>, Hakan Çalışkan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü*

<sup>2</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı*

[sebahatolucay@gmail.com](mailto:sebahatolucay@gmail.com)

### **Giriş**

Venomlarda temel rolü oynayan peptidlerin sodyum, potasyum, kalsiyum ve klor iyon kanallarına tanımlı olarak bağlandığı, kanallarının blokajına ya da modifikasyonuna neden olarak hücrelerin depolarizasyonunda anomalilikler oluşturduğu bilinmektedir. Yılan, arı, akrep, örümcek ve çıyan gibi farklı türlerinin venom peptidlerinden; insektisit, analjezik, anti-epileptik, proteolitik, lipolitik, anti-malaryal ve anti-mikrobiyal etkilere sahip olan bir çok farmakolojik bileşenler izole edilmiştir. Bu çalışmada *Scolopendra cingulata*'nın venomunun ana bileşenleri olan peptid toksinlerin jelatin substrat kullanılarak proteolitik aktiviteleri araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*Scolopendra cingulata* türü çıyanlar Eskişehir ili Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Meşelik Kampüsü' nden toplanmıştır. Ham venom elektriksel stimülasyon yöntemi ile elde edilmiş ve ardından peptid karışımı vakum kurutucuda kurutulmuştur. Karışımdaki proteolitik aktiviteli peptidlerin varlığının belirlenmesi için SDS-PAGE-Zimografi yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde substrat olarak jelatin kullanılmıştır.

### **Bulgular**

Elektroforez-Zimogram sonrasında pH 7.2 'de 36 kDa ve 45 kDa aralığında iki tanesi yoğun olmak üzere ayrıca 84 kDa ve 116 kDa aralığında toplam 4 renksiz beyaz band proteolitik aktivitenin belirteci olarak bulgulanmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

*S.cingulata* venomunda jelatine karşı proteolitik aktiviteli peptidler olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın çıyan zehirlenmelerine karşı iyiletim yöntemlerinin geliştirilmesi için yararlı olması beklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Scolopendra cingulata*, proteolitik-jelatinolitik aktivite, zimografi

## Gökkuşığı Alabalığında Lösin Fermuarı Proteinlerinin Karakterizasyonu

Yusuf Ceylan<sup>1,2</sup>, Büşra Özkan<sup>2</sup>, Yasemin Çelik Altunoğlu<sup>2</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu

[yceylan@bartin.edu.tr](mailto:yceylan@bartin.edu.tr)

### Giriş

bZIP (lösin fermuarı) proteinleri, ilk defa sıçan karaciğerine ait çekirdek proteininde saptanmış olup; hücrenin çoğalmasında ve farklılaşmasında, strese yanıt mekanizmalarında ve homeostaz gibi temel ökaryotik hücre işlemlerinde rol almaktadır. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) hemen hemen dünyanın her yerinde yetiştiriciliği yapılan ve en çok kültüre edilen balık türlerinden bir tanesidir. Gökkuşığı alabalığının ortam koşullarına kolay adaptasyonu, kuluçka süresinin kısa olması ve hastalıklara karşı dayanıklı olması da yetiştiriciler için diğer avantajlarıdır. Çalışmamızda tüm genom dizisi 2014 yılında yayınlanan gökkuşığı alabalığındaki bZIP genlerinin belirlenip karakterizasyonunun yapılması hedeflenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Gökkuşığı alabalığına ait protein dizileri NCBI veri tabanından elde edilmiş, PFAM veri tabanı kullanılarak bZIP ailesine ait domainler taranmış ve pozitif sonuç veren alabalık proteinleri çalışmaya dâhil edilmiştir. Genlerin ekzon-intronlarını saptamak amacıyla GSDS (Gene Structure Display Server) aracı kullanılmıştır. MEME-SUITE yazılımı yardımıyla bZIP proteinlerinde yer alan korunmuş motifler belirlenmiştir. Üç boyutlu yapılarının tahmini ise PHYRE2 programı ile gerçekleştirilmiştir. Bu proteinlere ait biyolojik işlevler, hücreyel yerleşim ve moleküler fonksiyonlarını saptamak için Blast2GO programı kullanılmış, gökkuşığı alabalığı bZIP transkriptlerini hedefleyen miRNA'ların tespiti amacı ile de psRNATarget Server veri tabanından yararlanılmıştır. bZIP proteinleri arasındaki evrimsel ilişkinin ortaya çıkartılması amacı ile önce ClustalW yazılımı ile dizi hizalaması gerçekleştirilmiş, ardından MEGA7 programı kullanılarak filogenetik ağaç çizilmiştir.

### Bulgular

Gökkuşığı alabalığı genomuna ait 259 *OmybZIP* geni tespit edilmiştir. *OmybZIP* genlerinin 1-29 numaralı kromozomlar arasında dağılım gösterdiği ve en fazla *OmybZIP* geni bulunduran kromozomların 21 adet farklı geni içeren 7. ve 13. kromozomlar olduğu belirlenmiştir. Kırk adet *OmybZIP* geninin intron bölgesi içermediği gözlenirken, *OmybZIP* proteinlerinin aminoasit içeriklerinin 84 ile 872 aa uzunluğu arasında olduğu saptanmıştır. *OmybZIP* genlerinin 36 farklı miRNA tarafından hedeflendiği belirlenmiştir. *OmybZIP* proteinlerinin tahmini üç boyutlu yapılarında alfa heliks yapısal motifinin baskın olduğu tespit edilirken, korunmuş motifler tarandığında ise *OmybZIP* proteinlerinde 30'un üzerinde farklı motif kalıbı saptanmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Gökkuşığı alabalığının ekonomik değeri göz önüne alındığında, bZIP proteinlerinin tanımlanması, fonksiyon belirleme ve klonlama çalışmalarında araştırmacılara yeni imkânlar sunabilir.

**Anahtar Kelimeler:** bZIP proteini, gökkuşığı alabalığı, moleküler karakterizasyon

## ***Scolopendra cingulata* türü Çiyan Venomu Bileşenlerinde Fosfolipaz Aktiviteli Peptidlerin Belirlenmesi**

Figen Çalışkan<sup>1,2</sup>, Volkan Ulutaş<sup>2</sup>, Sebahat Oluçay<sup>2</sup>, Firdevs Osanmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü*

<sup>2</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı*

[volkanulutas89@gmail.com](mailto:volkanulutas89@gmail.com)

### **Giriş**

Çiyan venomları nörotoksik peptidler, enzimler, aminler, nükleotidler içeren ve halen tanımlanmayı bekleyen biyoaktif bileşenlerin doğal kaynağıdır. Bu kompleks karışımlar içerisinde esterazlar, asitfosfatazlar, fosfolipaz A2, alkalik fosfatazlar, hyaluronidazlar, metalloproteazlar ve kazeinolitik aktiviteli proteolitik enzimler halk sağlığı açısından medikal öneme sahiptir ve ölümle sonuçlanan zehirlenmelere neden olmaktadır. Bu araştırma kapsamında Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti çiyanlarından elde edilen venomların fosfolipaz aktivitesi araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çiyanlardan ham venomun eldesi elektrostimulasyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Venom içeriğindeki protein miktarı A280 yöntemi ile spektrofotometrik ölçüm ile yapılmıştır. Elde edilen peptid karışımının, SDS-PAGE dikey jel elektroforezi ile elektroforetik profili ortaya çıkarılmıştır. Venomların fosfolipaz aktivitesi yumurta sarılı agar yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

### **Bulgular**

SDS-PAGE sonuçlarına göre ham venomda 36-45 kDa arasında peptidik bant görülmemiş olup, 45-55 kDa arasında 1 adet yoğun, 55-66 kDa arasında 3 adet zayıf, 66-84 kDa arasında çok sayıda yoğun, 84-97 kDa arasında çok sayıda yoğun, 97-116 kDa arasında çok sayıda yoğun ve 116-205 kDa arasında ise çok sayıda yoğun yüksek molekül ağırlıklı peptidik bantlar görülmüştür. Agar üzerine uygulanmış olan farklı konsantrasyonlardaki çiyan ham venomu farklı çaplarda berrak zonlar oluşturmuş ve böylece venomun fosfolipaz etkisi ortaya çıkarılmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu çalışma ile çiyan ham venomunun fosfolipaz etkisi ortaya çıkarılmıştır. Ham venomun elektroforetik profili ile var olan peptidlerin belirlenmesini sağlamıştır. Çiyan venom peptidlerinin belirlenmesi çiyan antivenomunun üretimi için önceliklidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Scolopendra cingulata*, SDS-PAGE, fosfolipaz, enzimatik aktivite

## Anadolu Irkı Bal Arısı Venomunun Elektroforetik ve Kromatografik Profilinin Belirlenmesi

Dilber Ece Sezgin<sup>1</sup>, Figen Çalışkan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

decesezgin@gmail.com

### Giriş

Arı venomu (apitoksin), çeşitli biyolojik aktiviteleri rapor edilmiş protein, peptid, enzim ve non-peptid bileşenlerin kompleks bir karışımıdır. Günümüze kadar bal arısı venomlarının anti-enflamatuar, anti-kanser, anti-mutajenik, analjezik, anti-oksidan ve radyoprotektif etkileri gösterilmiştir. Ancak, farklı ırklardaki arı venomlarına ait kromatogramlar arasında da karakteristik farklılıklar bulunduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Türkiye’de geniş yayılım gösteren ve bilgilerimize göre venom bileşenleri hakkında henüz bilgi bulunmayan *Apis mellifera anatoliaca* ırkı arı venomunun peptid bileşenlerinin elektroforetik ve kromatografik profilinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

*A.m.anatoliaca* venomu Macahel A.Ş. Ana Arı Üretim Tesisi arılığında bulunan damızlık saf kolonilerden toplanmıştır. Ham venom elektrostimülasyon ile her kovan 1 saat süreyle (1sn/1sn, 12V) sağılarak elde edilmiş ve -20°C’de muhafaza edilmiştir. Elde edilen ham venom distile su içinde çözülüp santrifüj edilerek peptid karışımı elde edilmiştir. SDS-PAGE yöntemi ile ham venomda bulunan peptid bileşenlerin molekül ağırlığı 2-212 kDa aralığında protein standardı referans alınarak belirlenmiştir. Klasik Laemmli yöntemi izlenerek, %15’lik Tris-Glisin yürütüme jeli kullanılmıştır. Yürütme sonrası jel, %0.1 Coomassie Blue R-250 çözeltileriyle boyandıktan sonra görüntülenerek bantlar elde edilmiştir. HPLC ile kromatografik ayırım, C18 ters-faz analitik kolon kullanılarak, ters faz 0-60 %B gradient ayırım ile hareketli fazın akış hızı 1 ml/dk olacak şekilde 60 dk süresince 230 nm’de absorbans izlenerek gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

SDS-PAGE ile ayrıştırılan ham venom profiline bakıldığında 212-66.4 kDa arasında bulunan en az 6 adet farklı protein bileşen olduğu belirlenmiştir. 66.4 ile 27 kDa aralığında 2’si belirgin olmak üzere en az 3 adet bant gözlenmiştir. 6.5 kDa’dan küçük peptid bileşenlerin ise venomun daha büyük bir kısmını oluşturduğu görülmüştür. *A.m.anatoliaca* ham venomu HPLC ile ayrıştırıldıktan sonra elde edilen kromatografik profile göre 14 tanesi belirgin bir şekilde ayrılan majör fraksiyon belirlenmiştir. Bununla birlikte toplamda en az 25 fraksiyon bulunduğu görülmüştür.

### Sonuç ve Tartışma

*A.m.anatoliaca* venomunun elektroforetik ve kromatografik profili ilk defa rapor edilmiştir. İleri araştırmalar ile elde edilen fraksiyonların yapı ve fonksiyonunun belirlenmesi, ırklar arası benzerlik/farklılığının ortaya çıkmasını sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Apis mellifera anatoliaca*, venom, peptid, elektroforez, kromatografi

## Dna Barkod Metodunun Koyunda Tür Ayrımı İçin Kullanımı

Özge Şebnem Cıldır<sup>1</sup>, Esra Duman<sup>1</sup>, Özge Özmen<sup>1</sup>, Selim Kul<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Elazığ

[oscildir@ankara.edu.tr](mailto:oscildir@ankara.edu.tr)

### Giriş

DNA barkodlama DNA dizisi orijininin tanımlanması için kısa, standart gen bölgelerindeki dizi değişikliklerinin kullanıldığı bir yöntemdir. DNA barkodunun tür içinde benzer, türler arasında farklı diziler içermesi; bölgenin standardize edilmiş olması; korunumlu primer bağlanma bölgelerinin kolayca çoğaltılabilmesi ve sekanslanabilmesi gereklidir. Bu kriterler göz önüne alındığında hayvanlarda en yaygın kullanılan DNA barkodunun mitokondriyal DNA'ya ait sitokrom c oksidaz (COI) geni olduğu görülmüştür. COI dizisi hayvan türlerinin % 98'inden fazlasının ayrımını mümkün kılmaktadır. Tür tanımlamasında mtDNA kullanımının yüksek oranda başarılı olduğu, birçok çalışmada hata payının %5'in altında olduğu görülmüştür.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, Akkaraman – Kangal koyun ırkına ait 20 adet kan örneği 10ml'lik K3-EDTA'lı tüplere alınmış ve bu kan örneklerinden fenol kloroform izoamil alkol metoduna göre DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar PCR aşaması tamamlandıktan sonra Sanger Sekanslama (ABI prism 3100) yapılmak üzere hizmet alınmasına gönderilmiştir. Sekanslama işlemi yükseltgemedde kullanılan primerler kullanılarak iki yönlü olarak uygulanmıştır. Tüm örneklerle ait mtDNA dizileri GenBank veri tabanından elde edilen referans diziler yardımıyla Bioedit yazılımı kullanılarak hizalanmıştır. Gruplar arası ortalama genetik uzaklık analizleri ortak veri ile gruplara ayrılmış veri seti üzerinden K2P modeli kullanılarak MEGA yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Evrimsel ilişki analizlerinin gerçekleştirilmesinde MEGA yazılımı kullanılmış, örnekler arasındaki evrimsel ilişkinin hesaplanmasında neighbor joining (NJ) yönteminden yararlanılmıştır.

### Bulgular

Tür içi genetik analizlerin gerçekleştirilmesi sonucu toplam 20 COI barkod dizisi analiz edilmiştir. Dizilerin hizalanması sonucu Akkaraman-Kangal varyetesinin 6 haplotipe sahip olduğu gözlenmiştir. En fazla gözlenen haplotip ise Haplotip 1 olarak bulunmuştur. Evrimsel ilişkinin hesaplanması amacıyla NJ yöntemi ile oluşturulan filogenetik ağaçta tür ayrımının meydana geldiği ve üç temel grubun oluştuğu belirlenmiştir. Haplotip veri setleri kullanılarak K2P yöntemi ile gerçekleştirilen türler arası genetik uzaklık analiz sonucuna göre keçi ve koyun arasındaki genetik uzaklık %10,05 koyun ve sığır arasındaki genetik uzaklık %27,96 ve keçi-sığır arasındaki genetik uzaklık %17,24 olarak bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada DNA barkodlama metodunun koyunlarda tür ayrımı ve filogenetik analiz için etkin şekilde kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** DNA barkod, koyun, evrimsel analiz

## Örümcek Venomlarının Elektroforetik Analizi ve Sitotoksik Etkisinin HepG2 ve Bc3h1 Kanserli Hücre Hatlarında Araştırılması

Figen Çalışkan<sup>1</sup>, Emel Ergene<sup>3</sup>, Sebahat Oluçay<sup>2</sup>, Volkan Ulutaş<sup>2</sup>, Köksal Kayalı<sup>1</sup>, Arda Sever<sup>1</sup>, Cumhuriyet Veli Sezgün<sup>1</sup>, Hakan Çalışkan<sup>1</sup>, Özlem Tomsuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>3</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

[ozlem.tomsuk@gmail.com](mailto:ozlem.tomsuk@gmail.com)

### Giriş

Örümcek venomları peptidler, küçük organik ve inorganik moleküller ve kompleks protein karışımlarından oluşan farmakolojik olarak aktif moleküller içerir. Keşfedilme sürecinde olan bu peptidlerin kullanıldığı en iyi iyileşim alanlarından birisi kanser araştırmalarıdır. Venom peptidlerinin seçici olarak ve yüksek özgüllükte kanser hücrelerine bağlanarak hücre invazyonu, migrasyonu ve çoğalmasını inhibe ettiği bulgulanmıştır. Ancak örümcek venomları üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu çalışmada, iki farklı türdeki örümcek venomunun elektroforetik analizi yapılmış ve sitotoksik etkisi, hepatoselüler karsinoma hücreleri olan HepG2 ve fare beyin tümörü hücreleri olan BC3H1 kanser hücrelerinde araştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

İki farklı Lycosidae familyasına ait örümcekler (L1 ve L2 kodlu) Eskişehir'den toplanıp laboratuvar koşullarında beslenerek, elektrostimülasyon yöntemiyle sağılıp venom ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ham venoma ait molekül ağırlıkları SDS-PAGE yöntemi ile belirlenip farklı bantlar kaydedilmiştir. Venomun hücre canlılığı üzerindeki etkisi MTT (tetrazolyum tuzu testi) yöntemiyle araştırılmıştır. HepG2 ve BC3H1 hücreleri venomun farklı dozlarıyla muamele edilerek 24,48 ve 72 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. Ardından MTT (5 mg/ml) uygulanarak spektrofotometrik olarak ELISA cihazı ile ölçümler gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

SDS-PAGE sonuçlarına göre, L1 kodlu örümcek venomunda 205 kDa üstü 2 tane zayıf bant ve 66-55 kDa arasında bir adet yoğun bant gözlemlenmiştir. L2 kodlu örümcek venomunda 97-66 kDa arasında bir zayıf bant ve 45-36 kDa arası bir kalın bant gözlemlenmiştir. Her iki örümcek venomunda da 36 kDa'dan küçük molekül ağırlığında benzer bantlaşmalar görülmüştür. MTT sonuçlarına göre, iki örümcek venomunun HepG2 hücrelerinde sitotoksik etkisi gözlemlenmiş ve L1 kodlu örümcek için 48. saatte IC50 değeri 1 µg/ml ve L2 kodlu örümcek için 10 µg/ml olarak belirlenmiştir. BC3H1 hücrelerinde L1 kodlu örümcek türünün 20 µg/ml venom dozu 72. saatte etki ederken, L2 kodlu örümcek venomunun etkisi bulgulanmamıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Seçilen örümcek venomlarının HepG2 kanserli hücre hattında sitotoksik bir etkiye sahip olduğu ön çalışmalarımızla belirlenmiştir. Etkin peptidlerin belirlenerek, kanser tedavisi için alternatif moleküller ortaya çıkarması beklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** örümcek venomu, HepG2, BC3H1, sitotoksikite, SDS-PAGE, kanser

## Hücre Kültüründe Mtt Sitotoksite Testinde Canlılık Ölçümünde Kör Kuyunun Önemi

Sedat Kaçar<sup>1</sup>, Varol Şahintürk<sup>1</sup>, Hatice Mehtap Kutlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

<sup>2</sup>*Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir*

[skacar@ogu.edu.tr](mailto:skacar@ogu.edu.tr)

### Giriş

MTT testi hücre sitotoksitesini kolorimetrik olarak ölçen ve çok yaygın olarak kullanılan bir testtir. MTT testi ilk olarak 1983'te geliştirilmiş olup günümüzde uygulanma yönünden farklılıklar göstermektedir. MTT testinde kör kuyu denilen hücre ve madde içermeyen, sadece besiyerinden oluşan kuyular testin doğruluğu için çok önemlidir. Bu çalışmamızda MTT testinde kör kuyu ile ve kör kuyusuz belirlenen hücre canlılıkları ve IC50 değerleri arasındaki farkın araştırılması amaçlandı.

### Gereçler ve Yöntemler

BEAS-2B hücreleri 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde kullanıma hazır besiyerlerinde çoğaltıldı. Hücreler flaskların %80'ini kapladığında tripsin-EDTA ile kaldırıldı ve her bir örnekten kör kuyuyu da içeren 6 kuyu olmak üzere 96'lı plaklara (kör kuyular hariç) kuyu başına 3.000 hücre ekildi. Hücrelere farklı konsantrasyonlardaki akrilamid verildi ve 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 24 saat yaşatıldı. 24 saat sonra MTT eklenerek 4 saat daha inkübe edildi. Daha sonra DMSO eklenerek hücrelerin absorbansları ölçüldü. Alınan absorbans değerlerinden hücre canlılıkları kör kuyu kullanılarak ve kullanılmayarak ölçüldü.

### Bulgular

Kullanılan en yüksek doz olan 20 mM akrilamid uygulanan BEAS-2B hücrelerinde kör kuyu hesaba katılmadan yapılan ölçümde diğerine göre 3 kat, 10 mM akrilamid dozunda ise 2 kat daha fazla canlılık oranı görüldüğü ve bu oranın dozun azalmasıyla azaldığı bulundu. IC50 miktarı kör kuyu hesaba katılarak yapılan ölçümde yaklaşık 4 mM dolaylarında bulunurken, diğer ölçümde 20 mM dan daha fazla çıktığı görüldü.

### Sonuç ve Tartışma

Kör kuyu kullanılıp kullanılmaması canlılık yüzdesi sonuçlarının doğruluğunu etkilemektedir. Kör kuyu kullanımı MTT ve diğer toksisite testlerinde göz ardı edilmemelidir.

**Anahtar Kelimeler:** MTT, toksisite, kör kuyu



## BZIP Genlerinin Somon'da Tanımlanması ve Moleküler Karakterizasyonu

Tevfik Hasan Can<sup>1</sup>, Ferhat Ulu<sup>1</sup>, Yasemin Çelik Altunoğlu<sup>1</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

[hasantevfik.can@gmail.com](mailto:hasantevfik.can@gmail.com)

### Giriş

bZIP (Basic Leucine Zipper) ailesi, en büyük ve çeşitli transkripsiyon faktör ailelerinden biridir ve promoter bölgelerine bağlanarak özellikle gelişimsel ve fizyolojik süreçlerde rol alan genlerin ifadesini kontrol ederler. Atlantik Somon'u (*Salmo salar*) ekonomik olarak üretimi 1980'li yılların başında birkaç bin tondan 2012 yılında neredeyse 2.5 milyon tona yükselen değerli bir balıktır. Somon'un genom dizisi 2016 yılında yayınlanmış ancak henüz gen tanımlanması ve karakterizasyonu çalışmaları sınırlı sayıda kalmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Animal Transcription Factor Database'den (<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/AnimalTFDB1.0>) belirlenen bZIP protein dizileri somon genom veritabanı Salmobase (<http://salmobase.org>) kullanılarak benzer diziler belirlendi. PFAM ve SMART ile korunmuş bölgeye sahip diziler bulundu. Phyre2 kullanılarak belirlenen amino asit dizilerinin 3 boyutlu modellenmesi yapıldı. Protein motif dizileri MEME (<http://meme.nbcr.net/meme3/meme.html>) kullanılarak belirlendi. Filogenetik ağaç iTOL (<http://itol.embl.de/index.shtml>) ile çizildi. bZIP genlerinin Ekson-İntron sayıları ve yerleşimleri GSDS ([gsds.cbi.pku.edu.cn/](http://gsds.cbi.pku.edu.cn/)) kullanılarak bulundu. bZIP genlerinin kromozomal dağılımları MapChart programı ile belirlendi. miRNA hedef bZIP transkriptleri psRNA Target Server (<http://plantgrn.noble.org/psRNATarget/>) kullanılarak tanımlandı. Fonksiyonel analizler için ise Blast2GO programı kullanıldı ve somonda bZIP proteinlerinin biyolojik işlevleri, hücresel yerleşimi ve moleküler fonksiyonları belirlendi.

### Bulgular

Somon genomunda 282 bZIP geni bulundu. Belirlenen bu genler somon genomunun tamamına dağılım göstermiştir. bZIP gen transkriptlerinin 166 tane miRNA tarafından hedeflendiği belirlenmiştir. Filogenetik ağaç 282 protein dizisi kullanılarak çizdirilmiş ve tüm bu proteinlerin 6 gruba ayrıldığı bulunmuştur. Bulunan bZIP protein dizilerinin 3 boyutlu yapıları Phyre2 ile %90 güvenirlilik ve %85 homoloji ile belirlendi. Somonda tespit edilen bu bZIP proteinlerinin hücresel lokalizasyonlarının genellikle hücre içi ve organeller olduğu görülmüştür. Biyolojik fonksiyon olarak biyolojik süreçlerin düzenlenmesi, hücresel ve metabolik süreçler ile ilgili oldukları belirlenirken, en sık gösterdikleri moleküler fonksiyon ise bağlanma olarak belirlendi.

### Sonuç ve Tartışma

Hayvanlarda tanımlanan bZIP genleri somon genomunda taranarak bu genlere yüksek oranda benzerlik gösteren bZIP genleri somonda ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma gelecekteki klonlama ve fonksiyonel analiz araştırmaları için bir fırsat sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** bZIP, filogenetik ağaç, MEME, Phyre2



# NANOBİYOTEKNOLOJİ

## **Karvakrol Yüklü Katı Lipid Nanopartiküllerin Planktonik *Salmonella* ve *Listeria Monocytogenes* Hücreleri Üzerine Etkileri**

İlknur Dağ<sup>1</sup>, Bükay Yenice Gürsu<sup>1</sup>, Gökhan Dikmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*

[idadag280@gmail.com](mailto:idadag280@gmail.com)

### **Giriş**

*Salmonella* türleri ve *Listeria monocytogenes*, besin kaynaklı hastalıklardan sorumlu patojenlerdir. Üretimden tüketime tüm aşamalarda besin çevrelerini kontamine edebilirler. Bu yüzden bu patojenlerin sağkalım karakteristiklerinin bilinmesi çok önemlidir. Karvakrol, [2-methyl-5-(1-methylethyl)phenol], kekiğin fenolik bir bileşeni olup güçlü bir antimikrobiyal etkinliğe sahiptir ancak sudaki düşük çözünürlüğü uygulama alanlarını kısıtlamaktadır. Eğer etken maddeler, katı lipid nanopartiküller (KLN) gibi taşıyıcı sistemlere yüklenirse, antimikrobiyal aktiviteleri kolaylaşabilir. Çalışmamızda karvakrol yüklü KLN'lerin planktonik *Salmonella* spp ve *L. monocytogenes* hücreleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışmamızda karvakrol yüklü KLN'ler sıcak homojenizasyon tekniği ile elde edilmiştir. Antimikrobiyal duyarlılık testleri (MİK), M27-A8 CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) kriterlerine uygun olarak yapılmıştır. Geçirimli (TEM) ve Taramalı (SEM) elektron mikroskopik analizler için hücreler rutin elektronmikroskopik takiplere alındıktan sonra Jeol JEM1220 TEM ve Jeol JSM5600 LW SEM ile incelenmişlerdir.

### **Bulgular**

Karvakrol yüklü KLN'ler MİK testlerinde tek başına karvakrole göre daha az etkili bulunurken, TEM analizlerinde ise hücreler üzerinde önemli hasarlar oluşturmuşlardır. SEM analizlerinde ise karvakrol yüklü KLN'ler biyofilm oluşumunu engellemiş ancak hücrelerin üremesini baskılayamamışlardır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Nanopartiküllerle yapılan ilaç yükleme ve etki değerlendirme çalışmalarında salım süresi, yüzey yükü ve kullanılan testler gibi pek çok parametre önem taşımaktadır. Konu ile ilgili ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, karvakrol, solid lipid nanopartikül

**Teşekkür:** Projemizi 215-910 nolu ESOGU-BAP projesiyle destekleyen üniversitemize teşekkür ederiz.

## Difenilalanin Türevi Dipeptitlerden Nanopartiküllerin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Uygulamaları

Betül Bozdoğan<sup>1</sup>, Öznur Akbal<sup>2,3</sup>, Tayfun Vural<sup>4</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Serbest Araştırmacı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Ad, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi, Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi, Polatlı, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Ankara, Türkiye

[betul.bozdogan@gmail.com](mailto:betul.bozdogan@gmail.com)

### Giriş

Doğadaki oluşum mekanizmalarından biri olan kendiliğinden düzenlenme (self-assembly) nanoteknolojide üstün özelliklere sahip yeni nanomalzemeler tasarlama yöntemi olarak sıkça kullanılmaktadır. Aslında kendiliğinden düzenlenme, moleküllerin belli şartlar altında enerjilerini minimize etmek için üç boyutlu geometriye otomatik ve doğal adaptasyonudur. Sistemdeki moleküller arasındaki çekici ve itici güçler hassas bir dengededir. Kendiliğinden düzenlenme yapabilen organik yapıların en başında gelen peptitler özellikle  $\beta$ -amiloyid polipeptidinin çekirdek molekülü difenilalanin (L-Phe-L-Phe, FF) ve türevleri (katyonik FF, Fmoc-FF, Boc-FF ve cyclo-FF gibi) belli koşullarda nanotüp, nanofibril ve nanopartikül gibi yapılara düzenlenebilmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Sunulan çalışmada, oldukça stabil ve biyoyumlu olan anyonik zwitteriyonik difenilalanin nanopartiküller (ZFFNP) literatürde ilk kez sentezlenmiştir. ZFF dipeptidi glutaraldehit (GA) ile çapraz bağlanarak ZFF-nGA-ZFF dimerleri oluşturmaktadır. Bu dimerler sulu ortamda nanopartikül yapılara kendiliğinden düzenlenmektedir. Difenilalanin dipeptidinin amidli türevi olan difenilalaninamid (FFA) dipeptidide benzer mekanizma ile nanopartikül yapılara düzenlenmektedir. FFA dipeptide GA ile çapraz bağlanarak FFA-nGA-FFA dimerlerini oluşturmada ve sulu ortamda nanopartiküler yapılara düzenlenmektedir. Her iki dipeptitten elde edilen nanopartiküller SEM, TEM ve Zetasizer ile morfolojik, yüzey yükü ve stabilite açısından karakterize edilmiştir. FTIR ve Maldi-Tof MS analizleri yapılarak kimyasal yapıları değerlendirilmiştir. Son olarak ZFF ve FFA nanopartiküllerin sitotoksikite testleri yapılmıştır ve nanopartiküller elde edilen tüm karakterizasyon sonuçları bakımından karşılaştırılmıştır.

### Bulgular

ZFFNP ve FFANP'lerin SEM ve TEM ile yapılan analizlerinde küresel morfolojide homojen boy dağılımı gösterdikleri görülmektedir. ZFFNP yüzeyinde negatif karboksil, FFANP polar karakterli amid fonksiyonel grupları taşımaktadır. ZFFNP aşırı asidik ortamlarda (pH 3-5) yüksek stabil iken, FFANP pH 4-10 gibi geniş bir pH aralığında stabilitesini korumaktadır. Her iki dipeptidin ve nanopartikülün FTIR spektrumları incelendiğinde dipeptitler  $\beta$ -turn konfigürasyona sahipken, GA ile çapraz bağlanarak oluşturduğu nanopartiküller paralel ve antiparalel  $\beta$ -tabaka konfigürasyon göstermektedir. Bu sonuç dipeptitlerin nanopartiküllere düzenlenirken yapısal geçişe uğradığına işaret etmektedir. Her iki nanopartikül de hücreler üzerinde toksik etkili değildir.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, ZFF ve FFA dipeptitlerinden sentezlenen nanopartiküller monodispers, stabil ve biyoyumlu olmalarının sonucu farklı pH'larda ilaç taşıma, gen taşıma ve kontrollü ilaç salımı gibi birçok biyomedikal uygulamada kullanım vaad etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** kendiliğinden düzenlenme, difenilalanin, glutaraldehit, peptit nanopartikül

## Hücre Füzyonu İçin Nano Kanal Tasarlanması

Ali Akpek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü

[aliakpek@gtu.edu.tr](mailto:aliakpek@gtu.edu.tr)

### Giriş

Hücre füzyonun da asıl amaç hücre canlılığını yitirmeden yüksek verimli hücre bütünlüğünü tesis etmektir. Bu çalışmada dielektroforesiz uygulanarak hücrelerin belirlenmiş olan bölgelerde toplanmaları ve füzyona uğrayarak sağlıklı füzyon hücreleri üretilmeye çalışılmıştır. Bunu gerçekleştirmek için bir mikroakışkan çip geliştirilmiştir. Mikroakışkan çipin her iki kenarına da birer adet giriş haznesi ile çipin ortasına bir adet bölme yerleştirilmiştir. Bu bölme yapısı sayesinde çip iki kanala ayrılmıştır. Hücreler bu giriş haznelerinden sisteme aktarılmıştır. Sonrasında dielektroforesiz uygulanarak sisteme girilen hücreler daha önceden tasarlanmış bölgelerde hareketsiz hale getirilmiştir. Nihayetinde bu hücreler füzyona uğratılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

L929 fare fibroblast hücreleri hücre füzyonu çalışmaları için kullanılmıştır. Hücreler DMEM içerisinde kültürlenmiştir. %10 Fetal bovin serumu ve penicilin-streptomisin ile desteklenmiştir. Hücre yoğunluğu %70'e ulaştığı zaman hücreler hasat edilmiştir. PDMS, SU8 fotodirenç, sitozolik florasan boya deneylerde kullanılmıştır. Bir ters mikroskop CCD kamera ile birlikte kullanılmıştır. Bir jeneratör hücre füzyonu için gerekli olan voltajı temin etmek için kullanılmıştır. Hücreler sisteme motor içermeyen bir pompalama sistemi aracılığı ile aktarılmıştır. Bunun öncesinde ise füzyon için kullanılan arayüz, sisteme aktarılmıştır. Hücrelerin mikroakışkan çipe aktarılması sonrasında hücre füzyonu süreci başlamıştır. İlk olarak 10s için ac voltajı uygulanmıştır. Böylelikle dielektroforesiz uygulanarak hücreler belirlenen yerlerde hareketsiz hale getirilmiştir. Akabinde ise 10s için dc voltaj uygulanmış ve hücrelerin füzyona uğraması sağlanmıştır.

### Bulgular

Çalışma sonucunda füzyon için sisteme girilen hücrelerin %95 ile %100 arasındaki bir bölümü füzyona uğramıştır. İki kanala ayrılmış olan hücrelerin aşağıdaki bölümde olanı calcein ile boyanmıştır. Bunun nedeni hücrelerin füzyondan sonra canlılığını tespit edebilmek maksadıyladır. Üst kanalda olan hücreler herhangi bir şekilde boyanmamıştır. Füzyon başladığı andan itibaren hücreler boyun vermeye başlamakta hücre içerisindeki materyal karışmaya başlamakta ve calcein sebebiyle mikroskop altında kardan adama benzeyen bir görüntü vermektedir. Füzyon başarısı olarak %95 oranında bir başarı tespit edilmiştir. Füzyondan sonra hücreler 10 dakika hiç dokunulmamıştır. Bu işlemden sonra füzyona uğramamış hücreler sistemden uzaklaştırılmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışma sonucunda bir mikroakışkan çip geliştirilmiştir. Bu çalışma sayesinde dielektroforesiz aracılığı ile hücreler kendileri için belirlenmiş yerlere sabitlenmiş ve hücreler eşleştirilerek füzyona maruz bırakılmıştır. %95 başarı sağlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** hücre füzyonu, nano kanal tasarlanması, dielektroforesiz

## Small Interference Rna Temelli Kanser Tedavisinde İlaç Salım Stratejileri

Cem Bülent Üstündağ<sup>1</sup>, Aşkican Hacıoğlu<sup>1</sup>, Taylan Baran Yeşil<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

[askican.h@gmail.com](mailto:askican.h@gmail.com)

### Giriş

RNA interferans, çoğu ökaryotik hücrede bulunan özel bir düzenleyici mekanizmadır. RNAi mekanizmasının tıpta kullanılmaya başlanması, spesifik RNAi regülatörlerinin dizaynıyla mümkün olmuştur. Bu regülatörlerden biri de siRNA'dir. siRNA kanserli hücrelerde gen ekspresyonunu durdurma veya engelleme yönünden güçlü bir araçtır. Taşıyıcı sistemlerin hedefli bir şekilde kullanılması siRNA'lerin sağlıklı hücreleri etkilemesine engel olarak tedavide kritik bir rol oynar. Taşıyıcının nanoboyutta olması kanserli dokuya erişimi kolaylaştırır ve hedefe bağlanma ihtimalini artırır. Lipid bazlı nanotaşıyıcılar, polimerik nanotaşıyıcılar, karbon bazlı nanotaşıyıcılar ve manyetik nanotaşıyıcılar, siRNA tedavisinde kullanılabilen nanotaşıyıcılardır.

### Gereçler ve Yöntemler

Nanotaşıyıcılar siRNA'nın serum nükleaz enziminde degrades olmasını engellemek, siRNA'yı istenen dokuya ulaştırmak ve hedef hücrenin sitoplazmasına girişi sağlamasını kolaylaştıracak şekilde dizayn edilmelidir. Bu, taşıyıcıyı ligandlar vasıtasıyla hedeflemek yoluyla sağlanabilir. Nanoboyutta lipozomlar seçici geçirgen bir fosfolipid duvara sahiplerdir. Hidrofobik ve hidrofilik ilaçları aynı anda enkapsüle etmek için kullanılabilirler. Bu yüzden kombine tedavi taşıyıcısı olarak kullanılabilirler. Literatürde taşıyıcı olarak kullanılabilen polimerik nanomateriyaller; misel, dendrimer ve nanokapsül şeklinde gözlemlenir. Karbon bazlı nanopartiküler ilaç salınımında genelde grafen levha, karbon nanotüp, fulleren çalışmaları daha revaçtadır. Nanoelmas çalışmaları kısıtlı olsa da mevcuttur. Manyetik nanoparçacıklar da siRNA çalışmalarında kullanılsa da bunların sitotoksik etkilerinin yüksek olması, bunu diğer taşıyıcılar arasında dezavantajlı kılar.

### Bulgular

Tek ilaca dayanan kanser tedavilerinde, genellikle kısıtlı verimlilik, istenmeyen yan etkiler ve ilaç direnciyle karşılaşılır. Birden fazla ilaç içeren kombinasyonlar dezavantajları azaltan etkileri nedeniyle efektif kanser tedavisinde umut verici stratejilerdir. Malzeme biliminin gelişmesiyle, nanopartiküller kemoterapötik ilaçların ve siRNA'ların birlikte teslim edilmesi için en yaygın kullanılan platform haline gelmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

siRNA'ler kemoterapötik ilaçlarla kombine şekilde kullanılınca yan etkilerin azaldığı ve ilaç veriminin arttığı literatürde gözlemlenmiştir. Nanopartiküller, siRNA'ları ilaçlarla birlikte hedefli bir şekilde taşıyabilen en efektif taşıyıcılardandır.

**Anahtar Kelimeler:** siRNA, kombine tedavi, nanotaşıyıcılar, hedefli ilaç salımı, kanser

## Prostat Spesifik Antijen'in Sandviç Tip Biyosensör ile Amperometrik Tayini

Tayfun Vural<sup>1</sup>, Yeşim Tuğçe Yaman<sup>2</sup>, Serhat Öztürk<sup>1</sup>, Serdar Abacı<sup>2</sup>, Emir Baki Denkbaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Beytepe, 06800, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Beytepe, 06800, Ankara

[tvural@hacettepe.edu.tr](mailto:tvural@hacettepe.edu.tr)

### Giriş

Prostat spesifik antijen (PSA), prostat tarafından üretilen bir glikoprotein olmakla beraber günümüzde prostat kanserinin teşhisinde kullanılan bir biyobelirteçtir. Sağlıklı insanlarda kan serumu içerisinde düşük düzeyde bulunan PSA, prostat kanserinin ortaya çıkışı ile birlikte kan serumu içerisindeki miktarında artış meydana gelmektedir. Sağlıklı insanlarda PSA miktarı en fazla 4 ng/mL iken prostat kanseri hastalarında hastalığın evresine göre PSA miktarı 4 ng/mL seviyelerinin üzerine çıkmaktadır. Yapılan bu çalışmada, prostat spesifik antijenin saptanması için tek kullanımlık sandviç immunoassay geliştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Kendiliğinden düzenlenen peptit nanotüp (PNT), altın nanopartikül (AuNP) ve iletken bir polimer olan polianilin ile kompozit yapı (PANI/AuNP-PNT) oluşturularak kalem grafit elektrotlar (PGE) modifiye edilmiştir. Nanokompozit ile modifiye elektrot üzerine PSA'yı yakalamak için anti-psa (Ab1) immobilize edilerek fonksiyonelleştirilmiş ve bu şekilde PSA tayini için kullanılmıştır. Horseradish peroksidaz (HRP) ile etiketlenmiş anti-PSA (HRP-Ab2) ise izleyici antikor olarak kullanılmıştır. Çalışmada modifiye edilen elektrotlar, taramalı elektron mikroskopisi (SEM), termal gravimetrik analiz (TGA), enerji dispersif X-ray spektroskopisi (EDS), geçirimli elektron mikroskopisi (TEM), dönüşümlü voltametri (CV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile karakterize edilmiştir. Modifiye edilmiş çalışma elektrotu üzerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin elektro-katalitik indirgenmesi sonucu PSA kronoamperometrik metot kullanılarak saptanmıştır.

### Bulgular

Nanokompozit yapının morfolojik yapısı SEM ve TEM ile incelenmiş, nanotübüler peptit yapıları ile AuNP'lerin oluşturduğu yapı tespit edilmiştir. TGA ile AuNP miktarı tespit edilmiş olup, EDS ile elemental analiz gerçekleştirilmiştir. CV ve EIS yöntemleri modifikasyon basamaklarının başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermiştir. PSA için tayin sınırı yüksek regresyon ( $R^2=0.990$ ) ile 1-100 ng/mL doğrusal aralığında 0.68 ng/mL olarak bulunmuştur. Modifiye edilmiş biyosensörün, pratik olarak kan serumu örnekleri içerisindeki PSA'nın tayininde başarılı bir şekilde uygulanabilirliği gösterilmiştir. Ayrıca metot ELISA yöntemi ile karşılaştırılmış ve bunun sonucunda uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Yapılan bu çalışma sonucunda, PSA tayini amacıyla geleneksel metotlara kıyasla tekrarlanabilirliği yüksek, yüksek kararlılıkta ve bununla birlikte düşük maliyete sahip bir immunoassay geliştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** PSA, peptit nanotüp, elektrokimya, altın nanopartikül



## Elektrospın Yöntemi ile Üretilen İlaç Yüklü Pvp/dextran Fiberlerinin Antibakteriyel Etkisi

Neslihan Nohut Maşlakcı<sup>1</sup>, Seyhan Ulusoy<sup>2</sup>, Halime Çevikbaş<sup>2</sup>, Hatice Kaplan Can<sup>3</sup>, Lütfi Öksüz<sup>4</sup>, Emre Uygun<sup>4</sup>, Ayşegül Uygun Öksüz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Isparta

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara

<sup>4</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Isparta

[neslihannohut@gmail.com](mailto:neslihannohut@gmail.com)

### Giriş

Elektrospın, yüksek voltaj altında düzgün ve sürekli nano/mikro fiberlerin üretimi için kullanılan oldukça önemli bir yöntemdir. Bu yöntem ile elde edilen elektrospın fiberlerin en büyük potansiyel kullanım alanlarından biri biyomühendislik alanıdır. Birçok biyomedikal uygulamalar için, doğal polimerlerin yüksek biyouyumlu ve biyofonksiyonel özellikleri kullanılmaktadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, biyomedikal uygulamalar için oldukça fazla tercih edilen dextranın iki farklı molekül ağırlığı (Dextran T40 ve Dextran T10) kullanılarak, destek polimer polivinilprolidon (PVP) ve suda çözünür biyoaktif maddeler (ibuprofen (Ibu) ve asetilsalisilik asit (ASA)) varlığında homojen karışımları oluşturulup elektrospın nanofiberleri elde edilmiştir. Elde edilen biyoaktif madde yüklü homojen fiberlerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Antibakteriyel özellikleri Gram pozitif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* bakterileri kullanılarak incelenmiştir. Nanofiber numunelerindeki ibuprofen ve asetilsalisilik asit miktarı, ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanılarak belirlenmiştir.

### Bulgular

HPLC sonuçları, PVP/Dext T40-Ibu ( $431.7 \pm 39.7$  µg/mL) ve PVP/Dext T10-Ibu ( $528.3 \pm 24.7$  µg/mL) nanofiber örneklerindeki ibuprofen içeriğinin, PVP/Dext T40-ASA ( $145.5 \pm 5.6$  µg/mL) ve PVP /Dext T10-ASA ( $168.3 \pm 7.3$  µg/mL) nanofiber örneklerindeki asetilsalisilik asit içeriğinden anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. İlaç yüklü nanofiberlerin Gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) için antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

İlaç yüklü nanofiberler başarılı bir şekilde üretilmiş ve Gram-pozitif bakterilere karşı oldukça iyi antibakteriyel etki göstermiştir. PVP içeren ilaç çözeltisine dextran eklenmesi ilaçların fosfat tampon çözeltisindeki çözünürlüğünü arttırmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** dextran, elektrospın, ibuprofen, nanofiber

## Gümüş Nanopartikül-polivinilklörür Kompozitlerinin Antibakteriyel ve Antibiyofilm Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Neslihan Zorba Aras<sup>1</sup>, Özlem Darcansoy İşeri<sup>2,3</sup>, Mustafa Kocakulak<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Başkent Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Başkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Başkent Üniversitesi, Transplantasyon ve Gen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>İzmir Demokrasi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye  
[oiseri@gmail.com](mailto:oiseri@gmail.com)

### Giriş

Gümüş nanopartiküller (AgNp) hücre tipi ve Gram boyanma özelliklerine göre antibakteriyel etki gösterebilmektedir. Polivinilklörür (PVC), işleme kolaylığı, farklı maddelerle uyumluluk ve çok yönlülük açısından tıbbi ve biyomedikal alanda birçok biyomalzemeyi üretmede yaygın olarak kullanılır. Literatür taramasında PVC ve AgNp kompozitler ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışmada farklı ağırlık oranları ile elde edilmiş gümüş nanopartikül (AgNp) ve polivinilklörür kompozitlerinin, vücut sistemlerinde kullanılan PVC biyomalzemelerde ve tıbbi cihazlarda kontaminasyona neden olabilecek ve hastane enfeksiyonları için önemli enfeksiyöz suşlara karşı antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri karşılaştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda, %1, %2, %5 ağırlık oranları ile elde edilmiş AgNp-PVC kompozitleri elde edilmiştir. Test mikroorganizmaları olarak Gram pozitif *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve Gram negatif *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları çalışılmıştır. Antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitelerin karşılaştırılması amacıyla PVC ve kompozit disklerde 24 ve 72 saat inkübasyon süreleri sonunda inhibisyon zonu belirlenmiştir. Disk yüzeylerine inoküle edilen bakteriler 6 saatlik ve 24 saatlik inkübasyon ardından sıvı besiyerine aktarılmış ve 24 saatlik inkübasyon sonrasında optik yoğunluk değerlendirilmiştir. Antibiyofilm aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, sıvı besiyerlerine kompozit diskler yerleştirilmiş ve 24 saat inkübasyonun ardından kristal viyole boyaması ile disklerin üzerindeki biyofilm oluşumu belirlenmiştir.

### Bulgular

AgNp ile hazırlanan kompozit diskler etrafında inhibisyon zonu oluşmamıştır. %2 ve %5 AgNp oranlarındaki kompozitlerin üzerinde Gram(-) suşların çoğalması azalmıştır. AgNp ile hazırlanan tüm kompozitlerin üzerinde *E. faecalis* çoğalmasının azaldığı tespit edilmiştir. Kompozitlerin tüm gümüş konsantrasyonlarında Gram negatif bakterilerin biyofilm oluşumunu kontrollere göre engellediği belirlenmiştir. Özellikle, %5 oranındaki kompozitin *K. pneumoniae* biyofilm oluşumunda %99 inhibisyona neden olduğu saptanmıştır. Tüm gümüş konsantrasyonları ile hazırlanan kompozitlerin Gram pozitif bakterilerinin biyofilm inhibisyonunda etkin olduğu, *S. pyogenes* ve *L. monocytogenes* biyofilm oluşumunun ise %99'a kadar engellendiği belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Disk difüzyon sonuçları kompozitlerden iyon salınımının olmadığı, biyofilm ve büyüme sonuçları birlikte değerlendirildiğinde ise, her iki parametre açısından da AgNp-PVC kompozitlerinin Gram negatif bakterilerde daha etkin olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** polivinil klörür, gümüş nanopartikül, antibakteriyel, biyofilm, kompozit

**Teşekkür:** Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca (Proje no: DA14/28) desteklenmiştir.

## Gümüş Nanopartiküllerin Mucize Meyve Goji Berry ile Yeşil Sentezi

Demet Erdönmez<sup>1</sup>, Kübra Erkan Türkmen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aksaray Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aksaray

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

[demet.erdonmez@gmail.com](mailto:demet.erdonmez@gmail.com)

### Giriş

Nanopartikül üretiminde yaygın şekilde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler istenilen boyutlardaki partiküllerin elde edilmesini sağlamaktadır, fakat kullanılan kimyasal maddelerden toksik veya zararlı çevresel etkisi yüksek ürünler oluşmaktadır. Bu kimyasalların ya da yöntemlerin pahalı olması maliyeti de artırmaktadır. Bu bağlamda nanopartikül üretimi için yeni yöntemlerin araştırılmasının gerekliliği doğmuştur. Günümüzde partikül sentezinin “yeşil” sentez başlığı ile zararsız ve biyolojik kökenli maddelerden eldesi için bitki bazlı ekstraktlardan sıkça yararlanılmaktadır. Goji berry (*Lycium barbarum*) meyvesinin ekstresi kullanılarak nanopartikül eldesi ve partikülün antimikrobiyal etkinliğinde araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu araştırma da, sulu ortamda hazırlanan Gojiberry (*Lyciumbarbarum*)’nin ekstraktı hem indirgeyici hem de stabilize edici madde olarak herhangi bir kimyasal indirgeyici ajan kullanılmadan elde edilmiştir. 5-25 nm arasındaki boyutlarda sentezlenen partiküllerin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkileri de araştırıldı. Metalik nanopartiküllerin oluşumu renk değişikliği ve UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ile gözlemlendi. Elde edilen gümüş nanopartiküller, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve X-ışını kırınımı (XRD) ile analiz edildi.

### Bulgular

Sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin şekil bakımından küresel biçimde ve oldukça kristal yapıda olduğunu göstermektedir. Tepkime süreleri, gümüş nitrat konsantrasyonları ve kurutulmuş meyve özü miktarı, küçük gümüş nanopartiküllerin sentezinde önemli rol oynamaktadır. 5nm ila 25nm arasında değişen boyutlara sahip nanopartiküllerin yeşil sentezi, basit ve düşük maliyetli olarak gerçekleştirilmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerinde bu nanopartiküllerin antimikrobiyal etkiye sahip oldukları da tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Gümüş nanopartiküllerin hazırlanması için Goji Berry meyvelerinin kullanılması kolay, yenilenebilir, çevre dostu, tek adımlı ve toksik olmayan bir yöntemdir.

**Anahtar Kelimeler:** goji berry, yeşil sentez, gümüş nanopartikül

## **Boronik Asit Türevi Moleküllerin ve Karbon Nanotüplerin Dna'ya Bağlanmalarının Spektroskopik Yöntemler ile Belirlenmesi**

Gökhan Dikmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (arum), Eskişehir*

[gokhandikmen1@gmail.com](mailto:gokhandikmen1@gmail.com)

### **Giriş**

Boronik asit ve türevi moleküller günümüzde antikanserojen, antimikrobiyal ve antifungal gibi özellikleri ile kullanılmaya başlanmıştır. Böyle molekülleri karbon nanotüp gibi ilaç taşıyıcı sistemler kullanarak belirli bölgelere hedefleme yapıp kontrollü salım yapması sağlanmaya çalışılmaktadır. Karbon nanotüpler de gözenekli yapılarından dolayı ve yüksek elektriksel iletkenliklerinden dolayı taşıyıcı sistem olarak kullanılmaya çalışılmaktadır. Ancak, karbon nanotüpleri özellikle spektroskopik yöntemler kullanılarak karakterize etmek oldukça zordur. Çünkü hem elektriksel iletkenlikleri hem de herhangi bir çözücüde çözünememeleri oldukça büyük bir problem yaratmaktadır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada karbon nanotüplere boronik asit türevi moleküllerinin bağlı olduğu ve DNA'ya yapılan hedefleme NMR, FT-IR, UV-VIS and XRD spektroskopik yöntemleri ile belirlenmiştir.

### **Bulgular**

Katı NMR kullanılarak karbon nanotüp üzerinde meydana gelen fonksiyonilize gruplar ve karbon hibritleşmeleri bulunmuştur. Ayrıca, NMR, UV-VIS, XRD ve FT-IR spektroskopileri yardımıyla moleküllerin DNA ve karbon nanotüpler ile aralarındaki bağ gösterilmiştir. Farklı konsantrasyondaki moleküllerin DNA ile etkileşimlerine göre DNA'daki major gruplara bağlandığı bulunmuştur. Karbon nanotüplere bağlı boronik asit moleküllerinin DNA ile etkileşimi için fosfor NMR deneyi ile bağlandıktan sonra kimyasal kayma gözlemlenmiştir. Bu kimyasal kayma değerinin konsantrasyon ile değiştiği gözlemlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Sonuç olarak bu çalışmada, tek duvarlı karbon nanotüplere boronik asit türevi moleküller bağlanarak DNA'ya hedeflenmiş ve spektroskopik yöntemler kullanılarak hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşimlerin olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** boronik asit türevleri, karbon nanotüpler, spektroskopik yöntemler, DNA

## Sinapik Asit Yüklü Polimerik Nanopartiküller

Fatma Şayan Poyraz<sup>1</sup>, Serap Derman<sup>2</sup>, Dilek Duranoğlu<sup>3</sup>, Melike Ersöz<sup>4</sup>, Tülin Arasoğlu<sup>1</sup>, Banu Mansuroğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

<sup>2</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

<sup>3</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul

<sup>4</sup>İstanbul Bilim Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul  
[sayanpoyraz@gmail.com](mailto:sayanpoyraz@gmail.com)

### Giriş

Son yıllarda nanoteknoloji ile ilgili yapılan çalışmalarda önemli sayıda artış olmuş, nanopartiküler sistemlerle ilgili araştırmalar fazlasıyla gelişmiştir. Nanopartiküller; submikron boyutta, spesifik fizikokimyasal özelliklere sahip polimerlerden hazırlanan ve ilaç yüklenerek taşıyıcı sistem olarak kullanılabilen, katı, koloidal partiküllerdir. Küçük boyutlu olmaları nanopartiküllerin küçük kapillerlerden daha kolay geçmesini, hücre içi ve hücre dışı alanlara daha kolay giriş yapmasını ve hedef bölgede etkili etkin madde salımını sağlar. Nanopartiküler sistemler çeşitli özelliklerde olmakla beraber son yıllarda yapılan çalışmalarda, biyolojik sıvılarda yüksek stabiliteye sahip polimerik nanopartiküller daha çok tercih edilmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Polimerlerin seçiminde; ilaç tipi, fiziksel özellikleri, kullanılış yolu, dozu ve salım süresi, polimerin biyobozunurluğu, biyoyumluluğu ve toksisite dereceleri dikkate alınır. Polimerik nanopartikül üretiminde en çok kullanılan polimer Poli-(D,L-laktik-ko-glikolik asit)(PLGA)'dır. PLGA içerisine etken yüklenmesi ile oluşturulan sistemlerin, aynı maddelerin serbest formuna göre farmakokinetik özelliklerinin ve biyoyumluluklarının dikkat çekici bir şekilde arttırıldığı belirlenmiştir. Sinapik asit, bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bir bileşik olup fenilpropanoid ailesinin üyesidir. Sinapik asitin farmakolojik özelliklerini belirlemek ve etki mekanizmasını aydınlatmak için yapılan çalışmalarda geniş spektrumlu farmakolojik özellikler gösterdiği kanıtlanmıştır. Nanopartiküllerin, içine hapsedilen molekülün biyoyararlanımını, biyoyumluluğunu ve biyolojik sistemde kalma süresini arttırdığı, daha düşük konsantrasyonlarda serbest etken maddeye oranla daha iyi etki gösterdiği bilinmektedir.

### Bulgular

Literatürde nanopartiküler sistemlerle ilgili çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen sinapik asit molekülünün etken madde olarak kullanıldığı nanopartiküler sistemlere rastlanmamıştır. Etkin madde içeren taşıyıcı sistemler dolaşımında uzun süre kalıp maddenin korunmasını ve kontrollü salınımını sağlar. Bu nedenle suda çözünürlüğü düşük olan sinapik asit maddesi PLGA kopolimeri kullanılarak tekli emülsiyon yöntemi ile nanopartiküler sisteme yüklenecek, üretilen nanopartiküller deneysel tasarım yöntemi ile optimize edilecek ve detaylı karakterizasyon çalışmaları sonrasında optimize formülasyonun in vitro salınımı incelenerek serbest sinapik asit molekülü ile karşılaştırmalı olarak hücre soyları üzerindeki biyolojik aktiviteleri çalışılacaktır.

### Sonuç ve Tartışma

Geliştirilen nanopartiküler formülasyonun diğer hidrofobik biyolojik etken maddeler için de faydalı bir model oluşturacağı ve yeni bir teröpatik ilaç olarak tıp ve eczacılık alanında ki çalışmalar için ön çalışma teşkil edeceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** polimerik nanopartikül, poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), sinapik asit

**Teşekkür:** Bu çalışma 117Z016 nolu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir.

## Manyetik Özelliğe Sahip Jelatin Nanopartiküllerin Kolorektal Kansere Hücreleri İçin Sirna Taşıyıcısı Olarak Kullanılması

Amina Selimovic<sup>1</sup>, Göknur Kara<sup>2</sup>, Emir Baki Denkbaz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

[goknurkara@hacettepe.edu.tr](mailto:goknurkara@hacettepe.edu.tr)

### Giriş

Kolorektal kanseri, ölüm oranının en yüksek olduğu kanserlerdendir. Radyasyon tedavisi, polipektomi ve kemoterapi kolorektal kanser için kullanılan geleneksel tedavi yöntemlerindedir. Bu yöntemlerdeki dezavantajlardan dolayı yeni nesil tedavi stratejileri geliştirilmektedir. Hedefli kanser tedavisi, araştırmacıların üzerinde en çok durduğu tekniklerdendir. Hücresel proses olan RNAi (RNA interferans) mekanizması, sitoplazmadaki siRNA'ların (küçük interfere edici RNA) hedef genin mRNA düzeyinde inhibe edilmesini sağlayarak kanser tedavisinde umut vaat etmektedir. Ancak, endonükleazlara karşı hassas olan ve polianyonik yapısı gereği hücre zarından kolay geçemeyen siRNA'ların hücresel transferinde etkin bir taşıyıcı sisteme gereksinim vardır.

### Gereçler ve Yöntemler

Süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller ikili çöktürme yöntemiyle sentezlenmiş ve doğal bir polimer olan jelatin ile kaplanmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin morfolojik ve kimyasal karakterizasyonu SEM (taramalı elektron mikroskopu) ve FTIR (fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi) ile yapılmıştır. Zeta-Sizer cihazı kullanılarak nanopartiküllerin boy-boy dağılımları ve yüzey yükleri analiz edilmiştir. Nanopartiküllerin manyetik özelliklerini ortaya koymak amacıyla VSM (örnek titreşimli manyetometre) ve ESR (elektron spin rezonans) teknikleri kullanılmıştır. mTOR genine spesifik siRNA'lar nanopartiküllerle etkileştirilmiş ve siRNA bağlanma verimi fluorometrik yöntemle hesaplanmıştır. siRNA yüklü olan ve olmayan nanopartiküllerin kolorektal hücre hattı, Caco-2 ve fare fibroblast hücreleri, L929 üzerinde sitotoksik etkileri MTT testi ile incelenmiştir.

### Bulgular

Demir oksit nanopartiküller 40-60 nm boyut aralığında, jelatin kaplı nanopartiküller de 120-180 nm aralığında sentezlenmiştir. VSM ve ESR teknikleriyle nanopartiküllerin süperparamanyetik karakterde oldukları gösterilmiştir. Farklı siRNA konsantrasyonları denenerek % bağlanma verimi incelenmiş ve en yüksek siRNA bağlanma verimi % 41 olarak bulunmuştur. Kansere ve sağlıklı hücrelerde yapılan MTT sitotoksikite analiziyle, siRNA bağlı olmayan nanopartiküllerin biyoyumlu özellikte oldukları gözlenmiştir. siRNA bağlı nanopartiküller, Caco-2 hücrelerinde daha fazla eksprese olan mTOR geninin inhibisyonunu sağlayarak daha fazla hücre ölümüne neden olurken, L929 hücrelerinde daha az toksik etkiye neden olmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, siRNA taşıyıcısı olarak kanser tedavisinde, manyetik özelliğiyle de teşhisinde umut vaat eden biyoyumlu nanoyapılar geliştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** kolorektal kanser, siRNA, demir oksit nanopartiküller, jelatin

## Aflatoksin B1 Tanısı İçin Mezoporlu Silika Nanoparçacık Tabanlı Aptasensörün Geliştirilmesi

Onur Bulut<sup>1,2</sup>, M. Deniz Yılmaz<sup>3</sup>, Hüseyin Avni Öktem<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya, Türkiye

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Konya, Türkiye

<sup>4</sup>Nanobiz Nanobiyoteknolojik Sistemler Arge Ltd., Odtü Teknokent, Ankara, Türkiye

[onur.bulut@gidatarim.edu.tr](mailto:onur.bulut@gidatarim.edu.tr)

### Giriş

Aflatoksinler farklı mantarlar tarafından üretilen toksik sekonder metabolitlerdir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı aflatoksin B1, B2, G1, ve G2'yi grup 1 karsinojen olarak tanımlamaktadır. Bu toksinler arasında aflatoksin B1 (AFB1) bilinen en güçlü hepato-karsinojenlerdendir; gıda ve yemlerdeki AFB1'e uzun-süreli kronik olarak maruz kalınması insan ve hayvan sağlığı için ciddi bir tehdittir. Bu sebeple farklı örneklerdeki aflatoksin kalıntısının tespiti önem arz etmektedir. Bu çalışmada, hedef moleküle yüksek affinite ve spesifite gösteren aptamerlerin, pozitif yüklü mezoporlu silika nanoparçacık (MSNP) yüzeyine elektrostatik olarak adsorbsiyonu temeline dayanan bir AFB1 tanı sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

MCM-41 tipi hegzagonal (MSNP) değiştirilmiş Stöber metodu ile sentezlenmiştir. Sentezlenen nanoparçacık yüzeyinin pozitif yüklenmesi için amino grupları ile fonksiyonellendirilmiştir. MSNP'lar içerisine işaret molekülü yüklenmesi ve yüzeyinin aptamer ile kaplanması için fluorescein ve aptamer içerisinde inkübe edilmiştir. Sentezlenen boş ve aptamer ile kaplanan MSNP'ların karakterizasyonu için TEM, zeta-potansiyel, ve dinamik ışık saçınımı gibi fiziksel karakterizasyon teknikleri kullanılmıştır. Aptamer ile kapatılan MSNP'lar ile AFB1'in spesifik olarak tespiti için nanoparçacıkların bulunduğu çözelti içerisine farklı konsantrasyonlarda AFB1 eklenerek nanoparçacık porlarından fluoresceinin salınımı floresan spektroskopisi ile belirlenmiştir. Porlardan salınarak tampon çözeltisine geçen fluorescein 480 nm'de uyarılarak emisyonu 520 nm'de ölçülmüştür. Bu sayede çözelti içerisindeki AFB1 miktarı ile orantılı olarak fluorescein salınımı gerçekleştirilmiş ve salınım kinetiği tespit edilmiştir.

### Bulgular

MSNP yüzeyinin aptamer ile kaplandığı zeta-potansiyel ölçümü, TEM ve dinamik ışık saçınımı analizleri ile doğrulanmıştır. Geliştirilen bu sisteme AFB1 içermeyen veya farklı bir mikotoksin içeren örnek eklendiğinde az bir miktarda salınım gerçekleşmiş ve düşük bir sinyal alınmıştır. Bu sinyal daha sonraki ölçümler için taban çizgisi olarak kullanılmıştır. Fakat sisteme AFB1 eklendiğinde aptamer MSNP yüzeyinden ayrılarak hedefe bağlanmakta ve nanoparçacık porlarından fluorescein salınmaktadır. Floresan yoğunluğundaki değişimin görüntülenmesi ile örnek içerisindeki AFB1 miktarı kantitatif olarak belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Özetle, aptamer tanı ligandları ile MSNP tabanlı kontrollü salınım sistemi AFB1'in tespiti için bir araya getirilmiştir. Sistem, hedef ligandı spesifik olarak ve yüksek hassasiyet ile tespit edebilme kapasitesine sahiptir.

**Anahtar Kelimeler:** aflatoksin, mezoporlu silika nanoparçacık, aptamer, biyosensör





**TARIMSAL  
BİYOTEKNOLOJİ**

## Karpuz Genomunda Hsp70 Gen Ailesinin Biyoinformatik Karakterizasyonu

Aslı Uğurlu<sup>1</sup>, Merve Caferoğlu<sup>2</sup>, Yasemin Çelik Altunoğlu<sup>2</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kastamonu

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu

[a.z.ugurlu@gmail.com](mailto:a.z.ugurlu@gmail.com)

### Giriş

Kabakgiller ailesinin bir üyesi olan karpuz, sıcak iklimde yetiştirilen ve dünyada en çok tüketilen beş taze meyveden birisidir. 11 kromozomlu karpuz genomunda 23.440 gen bölgesi vardır. Isı şok proteinleri (Heat shock proteins, Hsp) bütün organizmalarda bulunmakta olup; yüksek ısı artışı, açlık, hipoksi, enfeksiyon, ağır metal yoğunluğu, UV ışını, glikoz eksikliği, reaktif oksijen radikallerinin artması, bitkilerde tuzluluk, nitrojenizlik gibi çeşitli stres durumlarında sentezi artmaktadır. Hsp70 protein ailesi, moleküler şaperonlar olarak görev alırlar. Yeni sentezlenen ya da yanlış katlanan proteinlerin katlanmasından sorumludurlar. Hsp70 protein ailesinin bitkilerin normal gelişim sürecinde ve stres durumlarında kritik rolleri vardır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada amacımız karpuz genomunda Hsp70 genlerini tanımlayarak filogenetik ilişkilerini, moleküler fonksiyonlarını ve sekonder yapılarını belirlemektir. Hspir ve Cucurbit genomik veri tabanları kullanılarak karpuz genomunda Hsp70 dizileri belirlenmiştir. PFAM yazılımı ile korunmuş dizi analizleri yapılmıştır. GSDS sunucusu ile ekzon-intron yapıları bulunmuştur. MEME Suits kullanılarak proteinlerin motif düzenleri belirlenmiştir. Fonksiyonel analizler için Blast2GO programı kullanılmış ve karpuzda Hsp70 protein ailesinin biyolojik işlevleri, hücresel yerleşimi ve moleküler fonksiyonları belirlenmiştir. Phyre2 sunucusu yardımıyla proteinlerin tahmini 3 boyutlu modelleri elde edilmiştir

### Bulgular

Karpuz genomunda 12 tane ClaHsp70 geni bulunmuştur. ClaHsp70 proteinlerinin amino asit uzunluğu 571-898 arasında ve moleküler ağırlıkları 62.06-100.05 kDa arasında değişmektedir. Tanımlanan ClaHsp70 genleri, en fazla kromozom 9'da yerleşik bulunmuştur. ClaHsp70 proteinleri filogenetik analize göre 6 farklı gruba ayrılmıştır. Ekzon-intron analizine göre Cla-HSP-04 dışında tüm genlerde intronik bölgeler olduğu görülmüştür. 2 farklı motif düzeni ClaHsp70 proteinlerinde gözlemlenmiştir. ClaHsp70 gen ailesinin moleküler fonksiyonları bağlanma ve katalitik aktivite olarak belirlenmiştir. 3 boyutlu protein yapı analizi sonuçlarına göre elde edilen modellerde çoğunlukla  $\alpha$ -sarmal yapılar gözlemlenirken az sayıda  $\beta$ -tabaka yapılar da bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Fonksiyonel analiz sonuçlarına göre elde edilen bağlanma ve katalitik aktivite fonksiyonları, Hsp70 proteinlerinin moleküler şaperonlar olmalarıyla uyumludur. Karpuz genom analizleri, ileriye yönelik fonksiyonel analizler için altyapı oluşturacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** ısı şok proteini, karpuz

## Buğdayda Glifosat Sürüklenmesine Karşı Yaprak Nikel Uygulamalarının Koruyucu Etkileri

Bahar Yıldız Kutman<sup>1,2</sup>, Ümit Barış Kutman<sup>1,2</sup>, İsmail Çakmak<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>2</sup>University Of California Davis, Department Of Plant Sciences, Davis, Ca, Abd

<sup>3</sup>Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

bykutman@gtu.edu.tr

### Giriş

Sistemik bir herbisit olan glifosat, dünyada en yaygın kullanılan herbisit olarak kabul edilmektedir. Glifosat sürüklenmesi, hedef olmayan bitkilerde ciddi sorunlara sebep olmaktadır. Glifosat sürüklenmesinin sebep olduğu zararların arkasında şikimik asit yolağının inhibisyonu ve fitohormon mekanizmasının bozulması gelir. Glifosat iki değerli katyonlarla etkileşerek çözünürlüğü çok düşük komplekslerin oluşmasına sebep olabilir. Esansiyel bir bitki besin elementi olan nikel (Ni), glifosata yüksek ilgisi olan iki değerli bir katyon olmasının yanı sıra, etilenin biyosentez inhibitörüdür. Bu çalışma, Ni'nin buğdayda glifosat sürüklenmesinin sebep olduğu zararları hafifletmek için kullanılabilirliğini test etmek amacı ile yürütülmüştür.

### Gereçler ve Yöntemler

Deneyler kontrollü sera koşullarında durum buğdayı (*Triticum durum* cv. Balcalı 2000) kullanılarak yürütülmüştür. Glifosat sürüklenmesi buğdaya farklı gelişme dönemlerinde düşük dozlarda (uygulama dozunun % 0.5, 1 veya 1.5'i) glifosat uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Bitkiler glifosata maruz bırakılmadan önce topraktan veya yapraktan yapılan Ni uygulamalarının glifosat zararına karşı koruyucu etkinlikleri test edilmiştir. Kuru madde üretimi, gövde uzaması ve tane veriminin yanı sıra spektrofotometrik olarak şikimik asit birikimi ölçülmüştür. Ayrıca farklı bitki dokularında Ni konsantrasyonu ICP-OES kullanılarak belirlenmiştir. Bitkilere uygulanan glifosat ve Ni'nin o bitkilerden elde edilen tohumlar üzerine etkileri, çimlenme testleri yapılarak değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Glifosat sürüklenmesine maruz kalan buğdaylarda bodurluk, aşırı kardeşlenme, kuru madde ve verim kaybı gözlenmiştir. Bu semptomlar yaprak Ni uygulamaları ile kısmen veya tamamen engellenmiştir. Nikel uygulamalarının glifosat uygulamasına bağlı olarak artan şikimik asit konsantrasyonuna karşı bir etkisi olmamıştır. Yapraktan uygulanan Ni'nin buğday tanelerinin Ni seviyesini arttırdığı gösterilmiştir. Topraktan uygulanan Ni'nin ise bitki dokularında Ni artışına sebep olmadığı ve glifosat semptomları üzerine bir etkisi bulunmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bitkilerin glifosata maruz kalmasının, bu bitkilerden elde edilen tohumların çimlenmesini olumsuz etkilediği ve yaprak Ni uygulamaları ile bu etkilerin azaltılabileceği gösterilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Yaprak Ni uygulamaları, glifosat sürüklenmesinin sebep olduğu sorunları engellemek için etkin bir yöntem olarak kullanılabilir. Bu koruyucu etkilerin ardında Ni'nin glifosata bağlanması veya Ni'nin etilen inhibitörü olması yatıyor olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** glifosat, nikel, durum buğdayı, herbisit, verim, tane kalitesi

**Teşekkür:** Bu proje TÜBİTAK BİDEB tarafından desteklenmiştir.

## Yeni Bir *Hyphantria cunea* granülovirüs (hycugv): İzolasyon, Karakterizasyon, Filogeni ve Virulans

Zeynep Bayramoğlu<sup>1</sup>, Remziye Nalçacıoğlu<sup>1</sup>, Zihni Demirbağ<sup>1</sup>, İsmail Demir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon

[idemir@ktu.edu.tr](mailto:idemir@ktu.edu.tr)

### Giriş

*Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) polifag bir zararlı olup; larvaları Türkiye’de kiraz, fındık, akçaağaç, meşe, dut, kavak ve hurma yapraklarıyla beslenmektedir. Bakülovirüsler ise böcekleri enfekte eden ve zirai mücadele çalışmaları, gen terapi uygulamaları, gen ifade vektörü olarak kullanılmaları ve moleküler olaylarına anlaşılmasında model olarak kullanılan önemli böcek virüslerdir.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Doğu Karadeniz Bölgesinden toplanmış *H. cunea* larvalarında bir granülovirüs enfeksiyonu tespit edildi. Işık ve elektron mikroskopisi ile görüntülenen virüsün boyutları ölçüldü. İzole edilen virus DNA’sı restriksiyon enzimleriyle virüsün toplam genom büyüklüğü belirlendi. Granülün, geç ekspresyon faktör 8 ve geç ekspresyon faktör 9 genleri nükleotid sıraları kullanılarak izolatın ilogenetik analizleri yapıldı. İnsektisidal aktivite çalışmaları sonucunda virüsün *H. cunea* larvaları üzerindeki ölüm dereceleri belirlendi.

### Bulgular

Mikroskopik incelemeler sonunda granüllerin yaklaşık 318-546 nm × 174-240 nm boyutlarında olduğu belirlendi. Her granülün 35-51 nm × 202-341 nm boyutlarında birer virion içerdiği gözlemlendi. Restriksiyon fragment uzunluğu analizi HycuGV’nin genom büyüklüğünün yaklaşık 107 kb. olduğunu ortaya koydu. Granülün, *left 8* ve *left 9* genleri filogenetik analizleri izolatın HycuGV izolatına çok yakın olduğunu gösterdi. İzolat  $1 \times 10^{3-7}$  OBs/ml konsantrasyonlarda üçüncü evre *H. cunea* larvaları üzerinde test edildi. Doz denemelerinde ise  $1 \times 10^7$  OBs/ml konsantrasyonda 2, 3, 4 ve 5. evre *H. cunea* larvaları üzerinde test edildi ve en yüksek ölüm değerler %94 ve %93 olarak 14 gün içinde sırasıyla 2 ve 3. evreler üzerinde sağlandı.

### Sonuç ve Tartışma

Bu sonuçlar, ülkemizden izole edilmiş HycuGV izolatının zararlının biyolojik mücadelesinde kullanılmak üzere ümit verici olduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** granulovirus, *H. cunea*, karakterizasyon, virulance

**Teşekkür:** Çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP Birimi (FBA-2015-5173) tarafından desteklenmiştir.

## Laktik Asit Bakterilerinin Ateş Yanıklığı Hastalığı (*Erwinia amylovora*)'nın Biyokontrolünde Kullanımı

Emek Aslan<sup>1</sup>, Anna Bonaterra<sup>2</sup>, Jordi Cabrefiga<sup>2</sup>, Emilio Montesinos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>2</sup>University Of Girona, Institute Of Food And Agricultural Technology, Girona, Spain

[emek.aslan@ege.edu.tr](mailto:emek.aslan@ege.edu.tr)

### Giriş

Bitkisel üretimde karşılaşılan etmenlerin biyokontrolünde kullanılan mikrobiyal kaynaklı pestisitlerin ruhsatlandırılması ve ticarileşmesi aşamasında özellikle Avrupa Birliği kapsamındaki ülkelerde çeşitli zorluklar yaşanmaktadır. Biyokontrol potansiyelleri açısından etkili bulunan pek çok mikroorganizmaya, insan sağlığına ve çevreye olası olumsuz etkileri nedeniyle kuşkuyla yaklaşılmaktadır. Laktik Asit Bakterileri (LAB), gıda sektöründe yaygın olarak kullanılmakta ve “Genel olarak güvenilir zararsız” (GRAS) kabul edilmektedir. LAB’ nin biyokontrol odaklı kullanımı son yıllarda yeniden gündeme gelmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında sorun olan Ateş Yanıklığı Hastalığı (*Erwinia amylovora*) hastalığına karşı biyokontrol potansiyelleri saptanmış olan bazı LAB suşlarının, geniş ölçekte kullanıma yönelik olarak, biyoreaktörde kitle üretimleri ve kurutulmuş formülasyonları gerçekleştirilmektedir. Karıştırmalı tank tipi biyoreaktörle üretilen LAB suşları (*Lactobacillus plantarum* str. TC92 ve *Lactobacillus plantarum* str. PM411) liyofilizasyon, püskürtmeli kurutma ve enkapsülasyon yöntemleriyle formülasyona tabi tutulmakta, bu kapsamda farklı protektanlar denenmektedir. Büyük ölçekte üretime yönelik olarak ucuz substratların kullanıldığı bir üretim ortamının optimizasyonu da çalışmanın kapsamı içindedir. Üretilen formülasyonlar ile ham armut meyve testleri gerçekleştirilerek hastalığın kontrolü açısından ümit verici sonuçlar elde edilmiştir.

### Bulgular

*Lactobacillus plantarum* str. TC92 nin liyolize formülasyonlarının canlılık değerleri laktozun protektan olarak kullanıldığı uygulamada en iyi sonuçları vermiştir ( $6,4 \times 10^9$  cfu/g). Püskürtmeli kurutucu ile üretilen formülasyonlarda canlılık değerleri,  $2,8 \times 10^9$  cfu/g ile  $8,8 \times 10^8$  cfu/g arasında değişmiştir. Standart üretim ortamı ve ucuz substratların kullanıldığı üretim ortamlarının kurutucu sonrası son ürün üzerine farklı etkileri olduğu saptanmıştır. Enkapsüle formülasyonların canlılık oranları  $10^8$  düzeyinde seyretmekte ve bitkide uygulanabilirlik açısından daha uygun küçük boyutlu enkapsüle formülasyonların üretimi sürmektedir. Formülasyonlar ile yapılan ham armut meyve testleri verileri ümit vericidir.

### Sonuç ve Tartışma

Laktik asit bakterileri ile biyokontrol çalışmalarında elde edilen veriler ümit vericidir. Ürünlerin farklı saklama koşullarında raf ömrü canlılıklarının saptanmakta olduğu çalışma, meyvelerin çiçeklenme döneminde arazi uygulamaları ile sürecektir.

**Anahtar Kelimeler:** *Lactobacillus plantarum*, biyokontrol, *Erwinia amylovora*, biyoreaktör, LAB

**Teşekkür:** Çalışma Tübitak Bideb 2219 programı ile desteklenmiştir.

## Türk Buğday Çeşitlerinde Kuraklık Stresi Altında Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi

Fadime Çetin<sup>1</sup>, Necdet Mehmet Ünel<sup>1</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu

[fadime\\_cetin\\_05@hotmail.com](mailto:fadime_cetin_05@hotmail.com)

### Giriş

Hububat grubundaki ana ürün olan buğdayın ilk olarak kültüre alındığı ve doğal yayılış gösterdiği bölge Güneydoğu Anadolu Bölgesidir. Buğdayın atası olarak kabul gören 2 çeşit buğday türünden birisi olan Siyez (*T. monococcum*)  $2n = 14$  kromozom yapısına sahiptir. Bu buğday türünün kavuzlu olması ve işlenmesinin güç olması nedeniyle iki farklı buğday türü ortaya çıkmıştır. Bunlar tetraploid yapıya sahip  $2n=28$  kromozomlu *T. durum* cinsi makarnalık buğday Kızıltan-91, diğeri ise heksaploid yapıya sahip  $2n=42$  kromozomlu *T. aestivum* cinsi ekmeklik buğday olan Yüreğir-89' dur. Stres faktörlerine direkt olarak maruz kalan bitkiler; fizyolojik, biyokimyasal ve metabolik olarak önemli farklılıklar içermektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada farklı ploidi seviyelerine sahip buğday çeşitlerinde kuraklık stresi altında bazı biyokimyasal parametreler incelenmiştir. Kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki ilk etkisi turgor basıncının kaybedilmesidir. Bunun için kontrol ve stres uygulaması yapılan örneklerin görüntüleri alınmıştır. Stresin büyüme üzerinde etkisini gözlemek için kök ve gövdelerin uzunlukları kaydedilmiştir. Bunları desteklemek adına taze ve kuru ağırlıkları tartılmıştır. Membran iletkenliği Nanjo *et al.* (1999) metodu kullanılarak değer hesaplaması yapılmıştır. Okhawa *et al.* (1979) metoduna göre MDA içeriği belirlenmiştir. Serbest radikallerden olan hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) içeriğini belirlemek için Mukherjee ve Choudhuri, (1983) metodu kullanılmıştır.

### Bulgular

Kök uzunluğunda; stresten en fazla etkilenenin Yüreğir-89, gövdede Kızıltan-91 olduğu saptanmıştır. Taze ağırlık belirlenmesinde en fazla değer kökte Yüreğir-89, gövde de ise Kızıltan-91 olduğu belirlenmiştir. Kuru ağırlık kök ölçümünde de en fazla değer Kızıltan-91'e aittir. Gövde ölçümünde de tüm türlerin azaldığı belirlenmiştir. Membran geçirgenliği analizinde hem kökte hem de gövdede etkilenenin Yüreğir-89 olduğu bulunmuştur.  $H_2O_2$  saptamasında ise kuraklıkla her iki dokuda da artış olduğu, en fazla artışın ise Siyez türünde olduğu bulunmuştur. MDA ölçümlerinde en fazla etkilenen kökte Yüreğir-89 iken, yaprakta tüm türlerde stresle birlikte arttığı ancak en yüksek değerinde Siyez' de olduğu bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Stres uygulanan yapraklarda kuraklıkla beraber membran zarar görmüştür. Kök ve yaprak örneklerinde  $H_2O_2$  artışı bu durumu desteklemektedir. Buğday çeşitlerinin kuraklık stresi bakımından değerlendirilmesi enzimatik çalışmalar ile desteklenecektir.

**Anahtar Kelimeler:** siyez, kıztan-91, yüreğir-89, kuraklık, biyokimyasal

**Teşekkür:** Bu çalışma, 215Z354 nolu TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.

## **Türkiye'nin Derin Ekime Toleranslı Buğdayı *Triticum aestivum tir*'in Birinci Internodyum Uzama Dinamiğinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin Rolü**

Aşkıım Hediye Sekmen<sup>1</sup>, Azime Gökçe<sup>1</sup>, Tolga Yalçınkaya<sup>1</sup>, Turgut Yiğit Akyol<sup>2</sup>, İsmail Türkan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Tohoku Üniversitesi, Graduate School Of Life Sciences, , Aoba-ku, Sendai, Japan  
[hediye.sekmen@ege.edu.tr](mailto:hediye.sekmen@ege.edu.tr)

### **Giriş**

Artan dünya nüfusunun besin ihtiyacının karşılanabilmesi için tarımda, verimin ve sürdürülebilirliğin artırılması oldukça önemlidir. Bu sebeple, tarımda genellikle kuraklık, tuzluluk gibi abiyotik streslere toleranslı çeşitlerin ekimi tercih edilmektedir. Örneğin, yarı kurak alanlarda çiftçilerimiz özellikle derin ekim toleransına sahip tahıl bitkilerinin ekimini yapmaktadır. Bu bitkiler ya birinci internodyumlarını ya mezokotillerini ya da koleoptillerini uzatarak sürgün apikal meristemlerini toprak yüzeyine ulaştırırlar. Bu süreçte büyüme ve gelişmeden sorumlu pek çok mekanizma etkindir. Bu araştırmada Tir'in birinci internodyum uzama mekanizması ve bu mekanizmada çoklu sinyal molekülü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin rolü araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Tir tohumları, 0.05 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 10 µM DPI (Diphenyliodonium, NOX inhibitörü) solüsyonunda 24 saat şişirilip %1 (w/v) ve 2 cm kalınlığında agar içeren kaplara ekilmiş ve agarın üzeri 2 ve 10 cm torf:vermikülit:perlit (7:2:1) karışımı ile kaplanmış. Bitkiler JSR JSPC-420C bitki büyüme kabini (25°C ve %70 nem) 10 gün karanlıkta yetiştirilmiştir. Fidelerin birinci internodyum ve koleoptil uzunlukları ölçülmüş ve birinci internodyumları hasat edilmiştir. Fidelerin birinci internodyumlarında, protein miktarı Bradford (1976), NOX aktivitesi Jiang ve Zhang (2002), SOD izozim enzimlerinin aktivitesi Beauchamp ve Fridovich (1971), POX Herzog ve Fahimi (1973), APX Nakano ve Asada (1981)'ya ve GR aktiviteleri Foyer ve Halliwell (1976)'e göre tanımlanmıştır. Hücre duvarı gevşemesine ilişkin genlerin ifadesi (Glucanase EI ve TaEXPB23) qRT-PCR ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği Amplex® Red Hydrogen Peroxide Kit'i kullanılarak ölçülmüştür. Lipid peroksidasyon Madhava Rao and Sresty (2000)'e göre belirlenmiştir.

### **Bulgular**

Dışarıdan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması ile derin ekim koşulları altındaki Tir'in birinci internodyum uzunluğu artarken DPI ile baskılanmıştır. Ayrıca bu süreçte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Tir'in birinci internodyumundaki NADPH oksidaz (NOX) ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini (SOD, POX, APX ve GR) ve hücre duvar gevşemesine ilişkin genlerin (Glucanase EI ve TaEXPB23) ifadesini arttırmıştır. Ancak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, derin ekim koşulu altındaki Tir'in birinci internodyumunda, uzamada inhibisyona yol açan hücre duvar bileşiklerinin çapraz bağlanmasına aracılık eden hücre duvar-peroksidaz enziminin aktivitesini azaltmıştır. Diğer yandan lipid peroksidasyonda meydana gelen azalmadan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin birinci internodyumun hücre membranında herhangi bir hasara neden olmadığı da kanıtlanmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Derin ekim koşullarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in aracılık ettiği birinci internodyum uzamasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun düzenlenmesinin önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Ayrıca bu süreçte, hücre duvar gevşemesi ile ilişkili genlerinde etkili olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** birinci internodyum uzunluğu, derin ekim, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Teşekkür:** Araştırma, TÜBİTAK 114Z034 proje ve 13FEN049 no'lu Ege Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

## Kompetitive Allele Specific PCR Sisteminin Domateste Dayanıklılık İslahında Kullanımı

Zübeyir Devran<sup>1</sup>, Erdem Kahveci<sup>2</sup>, Ercan Özkaynak<sup>3</sup>, Gamze Gettioğlu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Antalya

<sup>2</sup>M..Y. Genetik Tarım Teknoloji Laboratuvar Tic. Ltd. Şti., Antalya

<sup>3</sup>Yüksel Tohum Tarım San. ve Tic. A. Ş., Antalya

<sup>4</sup>Multi Tohum Tar. San. Tic. A.Ş., Antalya

[zdevran@akdeniz.edu.tr](mailto:zdevran@akdeniz.edu.tr)

### Giriş

Domates, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan en önemli sebzelerdendir. Birçok hastalık ve zararlı etmeni domateste verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Dayanıklı çeşitlerin kullanılması ürün kayıplarını azaltmaktadır. Moleküler yöntemler, dayanıklılık ıslahında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Single Nucleotide Polymorphism (SNP)’e dayalı Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) genotipleme sistemi moleküler yöntemlerden birisidir. KASP yöntemi; hızlı, doğru, tekrarlanabilir ve güvenilir sonuç vermektedir. Bu çalışmada KASP kullanılarak domatesteki *Ty-1*, *Sw-5*, *Tm-2<sup>2</sup>*, *Ve*, *Mi-1* ve *I-2* dayanıklılık genlerinin moleküler analizi yapılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Domates bitkileri, Yüksel Tohum ve Multi Tohum firmalarının ıslah programlarından seçilmiş ve bu bitkilerin genç yapraklarından DNA izolasyonu yapılmıştır. *Ty-1*, *Sw-5*, *Tm-2<sup>2</sup>*, *Ve*, *Mi-1* ve *I-2* genleri için PCR ve dizilim analizleri gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

Çalışmada *Ty-1*, *Sw-5*, *Tm-2<sup>2</sup>*, *Ve*, *Mi-1* ve *I-2* genleri için dayanıklı ve duyarlı domates bitkileri arasında SNP bölgeleri belirlenmiştir. Bu SNP farklılıkları kullanılarak KASP sistemine uygun primerler geliştirilmiştir. Bu markörler, Multi Tohum’un ve Yüksel Tohum’un domates ıslah programlarına entegre edilerek uygulamaya aktarılmıştır. Ayrıca oluşturulan bu bilgi birikimi firmaların ıslah çalışması yürüttüğü diğer sebze türlerinde yeni moleküler markörlerin geliştirilmesine imkân sunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Domates ıslahında KASP genotipleme sistemi kullanılarak, piyasa koşullarında rekabet edebilecek, ilgili dayanıklılık genlerini taşıyan çeşitlerin geliştirilmesine büyük bir katkı sunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** domates, KASP genotipleme, moleküler markör

**Teşekkür:** Bu çalışma Yüksel Tohum ve Multi Tohum tarafından desteklenmiştir.



## Toprakaltı Zararlılarına Karşı Yerel *Metarhizium* Şuşlarının Seçimi ve Granül Formülasyonunun Üretimi

İsmail Demir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 61080, Trabzon*

[idemir@ktu.edu.tr](mailto:idemir@ktu.edu.tr)

### Giriş

Entomopatojen funguslar, tarım ve orman alanlarındaki zararlı arthropod türleri ile mücadeleye son derece önemli mikrobiyal etmenlerdir. Fungusların kararlılık ve spor üretim verimlilikleri suştan suşa değişebilir. Bu nedenle, preparat geliştirme çalışmalarında bu özelliklerin korunuyor olması gerekir. Bu çalışmada, ülkemizde önemli ekonomik kayıplara neden olan toprakaltı zararlıların biyolojik mücadelesinde kullanılmak amacıyla, yerel kaynaklardan izole edilmiş ve çeşitli zararlılar üzerinde öldürücü etkileri yüksek dokuz adet *Metarhizium* suşunun kararlılığı, spor üretim verimliliği ve pasajlamanın virulans üzerindeki etkisi araştırıldı.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, ilk olarak bütün suşlar  $1 \times 10^7$  spor/ml konsantrasyonda *Melolontha melolontha* larvaları üzerinde tarama testlerine tabi tutuldu ve devam etmek için suşlardan dört tanesi (KTU-2, Gg-12, KTU-51 and KTU-60) belirlendi. Bu suşlar üzerinde de pasajlamanın (12 pasaj) fenotipik, genotipik ve biyokimyasal etkileri araştırıldı.

### Bulgular

Test sonuçlarına göre KTU-2 ve KTU-60 en kararlı suşlar olarak belirlendi ve bu suşlardan granül formülasyonu üretimi gerçekleştirildi.

### Sonuç ve Tartışma

Ürünlerin orta ve/ya büyük ölçekte üretilmesiyle alanlarda kullanımı mümkün olacaktır. Bu da ülke ve çiftçi açısından son derece önemli ekonomik kazanımlara neden olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Melolontha melolontha*, metarhizium, biopesticide

## Buğdayın Çinko ile Biyofortifikasyonunda Azot - Çinko İlişkileri

Ümit Barış Kutman<sup>1,2</sup>, Bahar Yıldız Kutman<sup>1,2</sup>, İsmail Çakmak<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>2</sup>University Of California Davis, Department Of Plant Sciences, Davis, Ca, Abd

<sup>3</sup>Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji Genetik ve Biyomühendislik Programı, İstanbul

[bkutman@gtu.edu.tr](mailto:bkutman@gtu.edu.tr)

### Giriş

Çinko (Zn) eksikliği, özellikle beslenme yoluyla yetersiz düzeyde alımdan ve düşük yararıyla kaynaklanan ve küresel ölçekte büyük önem arz eden bir beslenme sorunudur. Bu sorun ile bağlantılı sağlık problemlerinin giderilmesi için tahıl tanelerinin Zn ile biyofortifikasyonu bilhassa 2000'li yıllarda sıcak bir araştırma konusu haline gelmiştir. Bu projede, buğdayda Zn alımı, taşınması ve depolanması ile azot (N) beslenmesi arasında bir bağlantı olduğu hipotezinden hareketle, N ve Zn uygulamalarının ve bu uygulamalar arasındaki etkileşimlerin buğdayın Zn ile biyofortifikasyonu bakımından potansiyelleri değerlendirilmiş, ilgili fizyolojik mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Proje kapsamında yapılan deneylerde durum buğdayı, sera veya iklim odası koşullarında, toprak veya besin çözeltilisi kültüründe, toprağa ve/veya yapraklara farklı N ve Zn uygulamaları yapılarak yetiştirilmiştir. Elde edilen tanelerin N ve Zn konsantrasyonlarının belirlenmesi dışında, büyüme ve verim verileri toplanmış, bilanço hesapları, radyoizotop çalışmaları ve boyama tekniklerinden de yararlanılarak Zn'nin alımı ve taşınması ile gelişim sürecinde bitki içerisinde ve farklı tane dokularındaki dağılımı incelenmiştir.

### Bulgular

Gerek N gerekse Zn uygulamaları ile tohum Zn konsantrasyonu çarpıcı oranlarda artmış, yüksek N ve Zn uygulamalarının kombinasyonu sinerjik etkiler doğurmuştur. Yüksek Zn varlığında artan N uygulaması yeşil aksamın toplam Zn içeriğini 3 katına kadar, Zn'nin remobilizasyonunu ise 2 katından fazla arttırabilmiştir. Radyoizotop (<sup>65</sup>Zn) çalışmaları ile, buğdayın N beslenmesinin iyileştirilmesinin Zn'nin kökten alımını, kökten yeşil aksama taşınmasını ve vejetatif ve jeneratif dönemlerde remobilizasyonunu ayrı ayrı olumlu etkilediği ortaya konmuştur. Yeterli Zn koşullarında artan N uygulamaları, Zn konsantrasyonunun sadece tam tanede değil, spesifik olarak buğday tohumunun en yaygın tüketilen kısmı olan endospermde de yükselmesini sağlamıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Optimize edilmiş N ve Zn uygulamalarına dayalı agronomik biyofortifikasyon teknolojileriyle, ülkemiz de dahil pek çok coğrafyada Zn eksikliğinin yaygınlığından sorumlu tutulan buğdayı Zn eksikliği ile mücadelede etkin bir araca dönüştürmek mümkündür.

**Anahtar Kelimeler:** buğday, çinko eksikliği, azot, biyofortifikasyon, remobilizasyon, endosperm

**Teşekkür:** Bu proje uluslararası HarvestPlus Biofortification Challenge Program tarafından desteklenmiştir.

## Salatalık Hsp70 Genlerinin Tanımlanması ve Analizi

Yasemin Çelik Altunoğlu<sup>1</sup>, Necdet Mehmet Ünel<sup>1</sup>, Şerife Yerlikaya<sup>1</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu

[yaltunoglu@kastamonu.edu.tr](mailto:yaltunoglu@kastamonu.edu.tr)

### Giriş

Isı şoku proteinleri (Hsp), bitkilerde normal gelişimin yanında çeşitli abiyotik stres koşullarında da görev alan önemli bir protein grubudur. Hsp proteinlerinin bir alt grubunu oluşturan Hsp70 proteinleri ise yeni sentezlenmiş veya yanlış katlanmış proteinlerin katlanması, bir araya toplanarak çökmesinin engellenmesi, membran boyunca taşınması ve düzenleyici protein aktivitesinin kontrolü süreçlerinde görev yaparlar. Salatalık (*Cucumis sativus*), Cucurbitaceae ailesi üyesidir ve vasküler biyoloji ve cinsiyet belirlenmesi çalışmalarında model bir sistem oluşturur. Çalışmamızda da tam genom dizisi 2009 yılında yayımlanan salatalık bitkisinde *Hsp70* gen ailesinin biyoinformatik yöntemler ile tanımlanması ve analizi gerçekleştirilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Hspir veri tabanı aracılığıyla diğer bitkilerde belirlenen Hsp70 protein dizileri kullanılarak PHYTOZOME'da salatalıkta benzeyen diziler belirlenmiştir. PFAM ve SMART yazılımları ile korunmuş motif yapısı gösteren diziler ileri analizler için toplanmıştır. Blast2GO programı kullanılarak Hsp70 protein ailesinin salatalıktaki tahmini biyolojik işlevleri, hücresel yerleşimi ve moleküler fonksiyonları belirlenmiştir. Mapchart programı ile kromozomal yerleşimleri, MEGA v6 programı ile ise filogenetik ilişkileri incelenmiştir. Phyre2 programı kullanılarak 3 boyutlu protein yapıları tahmin edilmiş, psRNA Target server ile de salatalık Hsp70 transkriptlerini hedef alan miRNA'lar belirlenmiştir.

### Bulgular

Salatalık genomunda toplam 14 adet *CsHsp70* geni tanımlanmıştır. *CsHsp70* genlerinin dördüncü salatalık kromozomunda en fazla sayıda buldukları belirlenirken, benzer motif yapısına sahip Hsp70 proteinlerinin aynı filogenetik sınıfta yer aldığı saptanmıştır. Bu proteinlerin genellikle hücre, hücre bölümü ve organellerde yerleşim gösterdiği görülmüştür. Biyolojik fonksiyonlarının çoğunlukla metabolik işlevlerle ilgili olduğu belirlenirken, moleküler fonksiyonlarını ise bağlanma ile gösterdikleri saptanmıştır. Üç boyutlu yapılarında baskın olarak  $\alpha$ -heliks yapı görülürken az sayıda  $\beta$  tabakalı yapıya da rastlanmıştır, *CsHsp70-14* geninin ise miRNA'lar tarafından en fazla hedeflenen *Hsp70* geni olduğu belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Tüm genomu kapsayan gen tanımlama yaklaşımları, klonlama ve fonksiyonel çalışmalar için öncü niteliğindedir. Ayrıca bitkilerde ürün kayıplarının önüne geçmek amacıyla abiyotik stres toleransının geliştirilmesi için de yol gösterici olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Hsp70, salatalık, filogenetik analiz, miRNA, gen ontoloji analizi

**Teşekkür:** KÜBAP-01/2016-45 nolu Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi ile desteklenmiştir.

## Dağ Alası (*Salmo trutta macrostigma* dumeril, 1858) $\beta$ -aktin Promotör Allelerinin Araştırılması

Mesut Yılmaz<sup>1</sup>, Mehmet Akif Kılıç<sup>2</sup>, Mehmet Özbaş<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya

[myilmaz@akdeniz.edu.tr](mailto:myilmaz@akdeniz.edu.tr)

### Giriş

$\beta$ -aktin proteini hücre iskeletinde yer almakta ve hücrede sürekli olarak üretilmektedir. Bu proteini kodlayan gen “housekeeping” gen olarak tanımlanmaktadır. Bu ve benzeri genlerin kodladığı proteinler sürekli ifade edildiklerinden geni kontrol eden promotör yoğun ekspresyonu sağlayabilmek amacı ile gen transferi çalışmalarında etkili bir şekilde kullanılmaktadır.  $\beta$ -aktin promotörü yaklaşık 1600 baz çiftine sahip bir dizidir. Günümüze kadar farklı familyalara ait balıklardan izole edilerek gen aktarımı çalışmalarında kullanılmıştır. Bu çalışmada gen aktarımı çalışmalarında düzenleyici dizi olarak kullanılma potansiyeli yüksek olan  $\beta$ -aktin promotörünün dağ alasından izole edilerek allellerinin tanımlanması amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada 10 bireyin dorsal yüzgeçlerinin hemen gerisinde laterale yakın bölgeden kas doku parçaları alınmıştır. DNA izolasyonunda bu dokudardan yararlanılmıştır.  $\beta$ -aktin promotör dizisinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılacak primerlerin dizaynı amacıyla referans dizi olarak aynı familya üyesi Atlantik salmon (*Salmo salar*)’a ait GenBank’ta yer alan DQ924958 kodlu diziden yararlanılmıştır. Elde edilen  $\beta$ -aktin promotörü PCR ürünleri klonlanmıştır. Bu amaçla pMD18-T klonlama vektörü kullanılmıştır. DH 5 $\alpha$  suşu E. coli’ye aktarılan plazmidler gecelik inkübasyon sürecinden sonra rasgele seçilen 10 koloniden ayrı ayrı izole edilmiştir.

### Bulgular

$\beta$ -aktin promotör dizisine ait rasgele seçilen 10 transformanttan elde edilen dizilerin analiz sonuçları değerlendirilmiş ve 18 nolu primer seti ile hedef bölgeye ait farklı dizilerin PCR reaksiyonu ile çoğaltılabildiği tespit edilmiştir. Bu dizilerin kendi aralarındaki uyumları incelenerek 3 farklı allel ( $\beta$ -ApIA,  $\beta$ -ApIB ve  $\beta$ -ApII) ortaya konmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmayla gen aktarım ve filogeni çalışmalarında yararlanılabilecek nitelikte olan dağ alası (*Salmo trutta macrostigma*)  $\beta$ -aktin promotör dizisi ilk kez izole ve karakterize edilerek allelleri ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** dağ alası, *Salmo trutta macrostigma*,  $\beta$ -aktin promotör

**Teşekkür:** Akdeniz Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi’nce 2009.03.0121.012 no’lu proje ile desteklenmiştir.

## **Bazı Sıklamen Türlerinde Ovül ve Anter Kültürü Yöntemleri ile Haploidizasyon Olanaklarının Araştırılması**

Başar Sevindik<sup>1</sup>, Tolga İzgü<sup>2</sup>, Mehmet Tütüncü<sup>3</sup>, Zerrin Söğüt<sup>4</sup>, Pembe Çürük<sup>1</sup>, Nebahat Sarı<sup>1</sup>, Neslihan Yeşim Yalçın Mendi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, İzmir

<sup>3</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Samsun

<sup>4</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Adana

[basarsevindik@gmail.com](mailto:basarsevindik@gmail.com)

### **Giriş**

Sıklamen ıslahı genellikle klasik melezleme yöntemleri ve fenotipik seçimler ile yapılmakta, fakat bu yöntemlerle çeşit geliştirme oldukça zaman almaktadır. Bitkinin döllenme biyolojisinde görülen kendileme depresyonu, farklı ploidi seviyeleri ve abortif embriyo oluşumuna neden olan kendine uyumsuzluk gibi faktörlerden dolayı klasik yöntemlerle sıklamen ıslahı oldukça zordur. Bu sorunun giderilmesinde en etkili yöntem, biyoteknolojik destekli ıslah yöntemlerinden biri olan haploidizasyon ve dihaploidizasyon yöntemidir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Ülkemizde doğal yayılış gösteren *C. persicum*, ve ticari çeşitlerden Melody (9246-red) F1 hibrit çeşidinde ovül ve anter kültürü denemeleri kurulmuştur. Ovül kültürü denemelerinde büyümeyi düzenleyicilerden 2.4D (0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/L) ve 2İP (0, 0.1, 0.3, 0.5 ve 0.8 mg/L)'nin farklı konsantrasyonları, anter kültürü çalışmalarında ise NAA (0, 1.0, 3.0 ve 5.0 µM)'nin farklı dozları embriyogenik kallus oluşumunda denenmiştir. Ayrıca anter kültüründe, soğuk uygulaması (+4°C), aktif karbon (0, 0.5, 1 ve 2g/L) ve gümüş nitrat konsantrasyonları (%0, 0.1, 0.3 ve 0.5) denenmiştir.

### **Bulgular**

Ovül kültürü sonucu *C.persicum* türünde ve ticari çeşitlerden Melody (9246-red) F1 hibrit çeşidinde sırasıyla 1,5mgL-1 2.4D 0,5 mgL-1 2iP, 1,5mgL-1 2.4D 0,5 mgL-1 2iP içeren MS besisi yerinde aday haploid hatlar elde edilmiştir. Anter kültüründe ise yalnızca *C. persicum* türünde 1mg/l NAA içeren B5 besisi yerinde aday haploid bitkiler elde edilmiştir. Anter kültüründen elde edilen aday haploid bitkiciklerin ploidi seviyeleri belirlenecektir. Ovül kültürü sonucu elde edilen bitkiciklerin ise ploidi analizleri sonucu diploid oldukları tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Sıklamen türlerinde haploid bitkilerin elde edilmesinde etkili yöntem anter kültürü olduğu düşünülmektedir. Ovül kültürü sonucu elde edilen bitkilerin ovül eksplantlarının üzerindeki diploid yapıdaki dokulardan meydana geldiği saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** sıklamen, bitki biyoteknolojisi, ovül, anter, haploidizasyon

## ***Valeriana officinalis* L.'in Farklı Eksplantlarına Uygulanan Bitki Büyüme Düzenleyicilerin *In Vitro* Rejenerasyona Etkileri**

Burcu Çetin<sup>1</sup>, Elmas Sönmez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Kütahya

<sup>2</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Entitüsü, Biyoloji Bölümü, Kütahya

[burcu.cetin@dpu.edu.tr](mailto:burcu.cetin@dpu.edu.tr)

### **Giriş**

Dünya Sağlık Organizasyonu tarafından yapılan çalışmalar sonucunda 20.000 bitkinin tedavi amaçlı olarak kullanıldığı belirlenmiştir. Bu bitkilerden biri olan *Valeriana officinalis* L. (Kedi Otu), sinirsel gerginlik, uykusuzluk, kaygı ve stres gibi endikasyonlar için sedatif özellik gösterir. Son yıllarda kontrollü koşullarda, istenilen zaman ve kalitede bitki üretimini sağlayan Bitki Doku Kültürü Yöntemleri ile tıbbi bitki üretimi üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmada *Valeriana officinalis* L. (Kedi Otu) bitkisinin farklı eksplantlarına uygulanan bitki büyüme düzenleyicilerin *in vitro* rejenerasyona etkileri araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Kedi Otu tohumları Kütahya Hekim Sinan Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Tohumlar 3dk %70 etanol ardından 5 dk %0.5 NaOCl içeren çözeltilerde steril edildikten sonra 3 seri steril saf su içerisinde 3'er dk bekletilerek durulanmıştır. Tohumlar herhangi bir bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besin ortamında çimlendirilmişlerdir. Çimlenen 5 haftalık steril bitkiciklerden izole edilen kotiledon, yaprak ve yaprak sapı eksplantları yalnızca sitokinin (BAP) içeren 2 ve farklı konsantrasyon ve kombinasyonda sitokinin (BAP) ve oksin (NAA) bitki büyüme düzenleyicileri içeren 8 olmak üzere toplam 10 farklı MS besin ortamlarına aktarılmıştır. Ayrıca kontrol ortamı olarak herhangi bir bitki büyüme düzenleyici içermeyen MS ortam kullanılmıştır.

### **Bulgular**

Yapılan uygulamalar sonucunda yalnızca 1 mg/L BAP ve 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamlarına aktarılan eksplantlarda herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Oksin ve sitokinin kombinasyonu içeren tüm uygulamalarda kök oluşumları gözlenmiştir. En iyi kök oluşumu yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında 1 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA içeren ve 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA içeren MS besin ortamlarında elde edilmiştir. Sitokinin miktarının artırıldığı uygulamalarda kök oluşumunu azaldığı kallus oluşumunu arttırdığı belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu bitkinin kotiledon, yaprak ve yaprak sapı eksplantlarına uygulanan bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinin araştırıldığı bu çalışma sonucunda *in vitro* kök eldesi için gerekli bitki büyüme düzenleyicileri belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** mikro çoğaltım, oksin, sitokinin, *Valeriana officinalis* L.

## **Bor Toksisitesine Maruz Kalan *Arabidopsis thaliana*'da Post-transkripsiyonel Seviyede Meydana Gelen Değişimler**

Doğa Selin Kayıhan<sup>1</sup>, Ceyhan Kayıhan<sup>2</sup>, Yelda Özden Çiftçi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, Çayırova, Kocaeli*

<sup>2</sup>*Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Başkent Üniversitesi, Bağlıca Kampüsü, Etimesgut, Ankara*

[ckayihan@gmail.com](mailto:ckayihan@gmail.com)

### **Giriş**

Bitkiler için esas mikro-elementlerden olan bor (Warington, 1923), yüksek seviyede olduğunda bazı morfolojik ve fizyolojik bozukluklara yol açarak tahıl verimini sınırlamaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bitki mikroRNA'larının (miRNA), biyotik ve abiyotik streslere karşı cevapta önemli düzenleyici rollerinin olduğunu göstermiştir. Ancak literatürde, bor stresine karşı bitki miRNA'larındaki değişimi inceleyen çalışma yok denecek kadar azdır. Bu sebeple bu çalışmada, model bitki *A. thaliana*'ya ait bazı genlerin post-transkripsiyonel düzenlenmesinde görevli dokuz tane miRNA'nın (mir398, mir408, mir159, mir319, mir394, mir172, mir156, mir397, mir169), bor toksisitesi uygulamaları altındaki transkripsiyonel değişimi incelenmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*A. thaliana* cv. Columbia bitkisine ait tohumlar, 2 dakika boyunca % 70 etanol içinde, 10 dakika boyunca % 15 NaOCl içinde bekletildikten sonra 3 kez steril dH<sub>2</sub>O ile durularak yüzey sterilizasyonu gerçekleştirildi. Ardından tohumlar, normal (100 µM) ve toksik seviyelerde (1 mM ve 3 mM) borik asit içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamına aktarıldı. Bu besiyerlerinde büyüyen 14 günlük bitkilerden total RNA'lar, TRIzol yöntemi ile izole edildi (Chomczynski ve Sacchi, 1987). miRNA'ların ekspresyon seviyesi modifiye edilmiş stem-loop qRT-PCR (kuantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile tespit edildi (Varkonyi-Gasic vd., 2007). Elde edilen veriler, ACT2 referans genine göre normalize edildi ve kontrole göre ekspresyon seviyesindeki değişim  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  hesaplaması ile karşılaştırıldı.

### **Bulgular**

İki farklı seviyede bor toksisitesine maruz kalan *Arabidopsis* bitkilerinde mir156 ekspresyon seviyesi 1mM borik asit (1B) uygulaması sonrasında kontrol uygulamasına göre değişmezken, 3mM borik asit (3B) uygulamasından sonra az miktarda düştü. Diğer yandan, mir408 ve mir397 ekspresyonlarında her iki toksik koşulda da anlamlı seviyede bir değişim olmadı. mir398 ekspresyon seviyesi ise sadece 1B koşulunda az miktarda yükseldi. Benzer şekilde mir159, mir319, mir394, mir172 ve mir169 ekspresyonları 3B uygulaması sonrası kontrol koşullarına göre değişmezken, 1B bu miRNA'ların uyarılmasına yol açtı. Ekspresyon seviyesindeki artış, mir159 için 2 kat, mir319 için 3 kat, mir394 ve mir169 için yaklaşık 3 kat ve mir172 için 4 kat olarak belirlendi.

### **Sonuç ve Tartışma**

mir398, bor stresi altında daha önceden belirlediğimiz CSD1 ekspresyonu ve SOD aktivitesinin artışında rol alıyor olabilir. Seçilen miRNA'lardan jasmonat ve etilen metabolizmasını hedefleyenler, bor toksisitesine karşı gelişen cevaba katılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Arabidopsis thaliana*, bor toksisitesi, miRNA, post-transkripsiyonel değişim

## Domateste Yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) Zararlısına Karşı Biyoinsektisit Denemesi

İlker Güven<sup>1</sup>, Canan Yılan<sup>1</sup>, Abdurrahman Akkuş<sup>1</sup>, Büşra Başpınar<sup>1</sup>, Kemal Kesenci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Safa Tarım Ar-ge Merkezi, Konya

[eruilkerguven@gmail.com](mailto:eruilkerguven@gmail.com)

### Giriş

*Bacillus thuringiensis* biyoinsektisit özelliğiyle biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmaktadır. Endospor oluşumu sırasında, Lepidoptera, Diptera ve Coleoptera gibi böceklere zarar veren parosporal kristal toksik proteinler üretirler. Bu kristal proteinler duyarlı bir larva tarafından yutulduğunda ortabağırsakta aktive olur. Ardından hücre yapısını ve membran bütünlüğünü bozarak böceği öldürür. *Helicoverpa armigera* Hbn. bitki yapraklarında beslenerek özellikle domateste meyvelerin delinmesine ve bitkinin zarar görmesine neden olur. Dacron® WP adlı ilacımızın biyolojik aktivite testleri yapılarak tarlada yetiştirilen domateslerdeki yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) zararlısına karşı uygulama dozları belirlenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Adana-Seyhan'da Nisan ayında ve Diyarbakır'da Mayıs ayında domates (H2274) tarlalarında yaklaşık 60 cm boyunda çiçek ve meyve döneminde olan, %10'unda yumurta ve larva bulaşığı belirlenen bitkiler seçilmiştir. 4 tekerrürlü deneme tesadüf blokları desenine göre, 3 doz (80, 90, 100 g/ hl) deneme ilacı olan Dacron® WP, tek doz (100 g/ hl) karşılaştırma ilacı olan Delfin WG ilaçları kullanılmıştır. Müdahale edilmeyen bitkilerle karşılaştırılmışlardır. İlaçların etkili maddesi *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (32000 IU/mg)'dir. Pulverizatör ile püskürtülerek yeşil aksamlara, uygun rüzgar hızında, uygun sıcaklık ve saatlerde tek uygulamalı olarak ilaçlama yapılmıştır. İlaçlama yapılmadan önce seçilen yetmiş bitkilerden, enfekteli meyveler temizlenerek, ilaçlamadan 7,14 ve 21 gün sonra yapılan ara sayımlarda enfekteli, son sayımda enfekteli ve sağlam meyveler sayılmıştır. Sayım sonuçları, istatistik analizlerle (Abbott formülüne göre COSTAT programı Duncan testi) değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Adana'da, Dacron® WP'nin 80 ve 90 g/hl dozlarında enfeksiyon yüzdesi (sırasıyla %12.11,%8.85) diğer gruplara göre yüksek çıkmıştır. Her iki ilacın 100 g/hl dozları yaklaşık olarak eşit çıkmış ve istatistikel bakımdan aynı grupta yer almıştır. Kontrol grubunda %32.14 enfeksiyon gözlenirken 100 g/hl Dacron® WP'de ise bu sonuç %4.71'de kalmıştır.Diyarbakır'daki sonuçlarda benzer çıkmıştır. 21. günde Dacron® WP'nin 100 g/hl dozunda %4.98 enfeksiyon gözlenirken, karşılaştırma ilacında %5.28 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise bu sonuç %34.53'dür. İlaçların domates bitkisinde herhangi bir fitotoksik etkisi gözlenmemiş, deneme alanında ise hastalık, zararlı ve yabancı otlar ile doğal düşmanlar üzerinde herhangi bir olumsuz etki olmamıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Adana ve Diyarbakır'da yapılan etkinlik testlerine göre, *Helicoverpa armigera* Hbn. yeşilkurt zararlısına karşı Dacron® WP ilacının 100 g/hl dozunda tarla denemelerinde yeterli decede etkili olduğu görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *B. thuringiensis*, Dacron® WP, *H. armigera*, biyolojik etkinlik

**Teşekkür:** Safa Tarım A.Ş. Yönetim Kurulu'na desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.



## **Metal Bazlı Nanopartiküllerin *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* İzolatları Üzerine Antifungal Etkilerinin Araştırılması**

İlgin Akpınar<sup>1</sup>, Taner Şar<sup>2</sup>, Elif Yüzbaşıoğlu<sup>3</sup>, Eda Dalyan<sup>3</sup>, Muammer Ünal<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*

<sup>2</sup>*Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye*

<sup>3</sup>*Botanik Anabilim Dalı, Fen Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*

[akpinarilgin@gmail.com](mailto:akpinarilgin@gmail.com)

### **Giriş**

Son yıllarda, bitki patojeni mantarların pestisitlere karşı direnç geliştirme oranlarında artış olduğu görülmüştür. Bu nedenlerden dolayı tarımsal bitkilerde verim ve kalite kaybının azaltılması için yeni antifungal özelliğe sahip etkin materyaller araştırılmaktadır. Yeni teknolojilerin ışığı altında en umut verici ve yeni terapötik maddelerden biri de nanopartiküllerdir. Nanopartikül grupları arasında metal-bazlı nanopartikül uygulamalarının patojen olan bakteri ve fungal türlerini baskıladığı bilinmektedir. Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), silisyum dioksit (SiO<sub>2</sub>) ve gümüş nanopartikülleri (AgNP) endüstriyel alanlarda kullanılmak üzere ve potansiyel birer antimikrobiyal materyal olarak kullanılmaktadır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada, domates bitkilerinde enfeksiyona neden olan FOL (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) izolatlarına titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), silisyum dioksit (SiO<sub>2</sub>) ve gümüş nanopartiküllerinin potansiyel antifungal etkinliği incelendi. Farklı konsantrasyonlarda ve ayrı ayrı titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), silisyum dioksit (SiO<sub>2</sub>) ve gümüş nanopartikülü (AgNP) içeren patates dekstroz agar (PDA) ortamlarında FOL izolatları (EM2, FL, HT ve J2) inkübe edilerek fungal inhibisyon oranları hesaplandı.

### **Bulgular**

Elde edilen sonuçlar ile en etkin antifungal aktivite gümüş nanopartikülleri ile 50 ppm konsantrasyonunda olduğu belirlendi. Diğer nanopartiküllerin (TiO<sub>2</sub> ve SiO<sub>2</sub>) antifungal özellikleri ise yüksek konsantrasyonlarda (400 ppm) etki gösterdiği belirlendi.

### **Sonuç ve Tartışma**

Elde edilen sonuçlar ile, metal bazlı nanopartiküllerin potansiyel antifungal etken materyal olarak kullanılabileceği belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** antifungal aktivite, *Fusarium oxysporum*, metal-bazlı nanopartiküller

## **Biyoyakıt Üretimi İçin Terminatörsüz Vektörler Kullanılarak Çeltik Saplarında Lignin Miktarının Düşürülmesi**

M. Aydın Akbudak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya*

[akbudak@akdeniz.edu.tr](mailto:akbudak@akdeniz.edu.tr)

### **Giriş**

Çeltik anızı potansiyel olarak biyoyakıt üretimi için kullanılabilir en büyük biyokütlelerden biridir. Bununla beraber ligninin selüloz ve hemiselüloz ile birlikte bulunması çeltik anızının verimli bir şekilde selülozik biyoyakıt olarak kullanılmasını engeller.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu nedenle bu çalışmanın amacı lignin biyosentez yolağında yer alan hidroksisinnamoil CoA: şikimat hidroksisinnamoil transferaz (HCT), sinnamoil CoA redüktaz (CCR) ve sinnamil alkol dehidrojenazı (CAD) gibi genlerin terminatörsüz konstraktlar kullanılarak ifadelerinin azaltılmasıyla çeltik anızında lignin miktarını azaltmaktır

### **Bulgular**

Seçilen T1 transgenik çeltik bitkilerinin gerçek zamanlı qPCR analizleri, HCT hatlarında en az % 36-87, CCR hatlarında % 75-94 ve CAD hatlarında % 14-85 transkript azalması olduğunu göstermiştir. Dokuz down regüle hat için (her gen için üç hat) lignin analizi yapılmış ve toplam lignin içeriğinin yedi hatta (HCT-4, HCT-7, CAD-1, CAD-7, CCR-3, CCR-7 ve CCR-12) önemli derecede azaldığı (%4.6 ila% 10.8) saptanmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Terminatör sekansı içermeyen vektörler ile çeltikte lignin genlerinin ifadelerinin azaltılabileceği ve lignin içeriği azaltılmış bu transgenik hatlarının anızının selülozik biyoyakıt üretiminde hammadde olarak kullanılabilirliğini gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** biyoyakıt, gen susturma, lignin, çeltik anızı, terminatörsüz yapılar

**Teşekkür:** Dr. Vibha Srivastava ve Dr. Muthusamy Manoharan' a teşekkürlerimi sunarım

## Lokal *Bacillus thuringiensis* Se13 İzolatı Spor/Kristal Karışımlarının Enkapsülasyonu

Ardahan Eski<sup>1</sup>, Zihni Demirbağ<sup>1</sup>, İsmail Demir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon

[aeski@ktu.edu.tr](mailto:aeski@ktu.edu.tr)

### Giriş

*Bacillus thuringiensis*, sporulasyon safhasında ürettiği insektisidal kristal proteinleri sayesinde zararlı böceklerin mücadelesinde kimyasal insektisitlerin yerine kullanılmaktadır. Bu özelliğine rağmen, doğada kullanımları değişen çevre koşulları ve ultraviyole ışınları nedeniyle sınırlıdır. *B. thuringiensis* spor ve kristallerinin doğada uzun süre aktif şekilde kalması için enkapsülasyon önemli bir uygulamadır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile spor ve kristallerin enkapsülasyonu gerçekleştirildi. Çalışmada, kaplama materyalinin, sprey kurutucunun giriş ve çıkış sıcaklıklarının enkapsülasyona etkisi Taguchi yöntemi ile belirlendi. Belirlenen 3 faktör ve her faktörün 4 seviyesi için Taguchi L16 ortogonal düzlemi kullanılarak faktörlerin etkisi 16 deney ile test edildi. Deneyler sonucu elde edilen ürünlerin 1 gramında bulunan spor sayısı standart plak sayım metodu kullanılarak belirlendi. Sonuçlar sinyal-gürültü oranı ve varyans analizi ile değerlendirilerek faktörlerin etki dereceleri ve optimum koşullar belirlenerek, bu koşullarda bir doğrulama deneyi gerçekleştirilip tahmin edilen değer ile karşılaştırıldı. Optimum koşullarda elde edilen ürünün spor sayısı, nem içeriği, ıslanabilirliği, süspansibilitesi ve partikül boyutu belirlendi.

### Bulgular

Çalışmada kullanılan tüm faktörlerin ürün verimini önemli derecede etkilediği belirlendi. Üretiminde optimum koşullar, sprey kurutucu giriş ve çıkış sıcaklıkları için sırasıyla 160 ve 70°C olarak belirlendi. Kaplama materyali olarak da en uygun malzemenin maltodekstrin olduğu görüldü. Ürün verimi üzerine kaplama materyalinin etkisi %46.01, giriş sıcaklığının etkisi %22.53 ve çıkış sıcaklığının etkisi %23.56 olarak tespit edildi. Optimum koşullarda gerçekleştirilen deney sonucunda ürünün partikül boyutunun 13.4 µm, nem içeriğinin %7.8, ıslanabilirliğinin 22 s, süspansibilite oranının %84 ve canlı spor sayısının 8.1×10<sup>11</sup> CFU/gdv olduğu belirlendi.

### Sonuç ve Tartışma

Enkapsülasyona etki eden faktörlerin optimize edilmesi kaliteli ürün elde etmede önemlidir. Çalışmada zararlı böceklerle mücadelede kullanılan *B. thuringiensis* Se13'ün enkapsülasyonu Taguchi yöntemi ile başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bacillus thuringiensis*, spor/kristal, enkapsülasyon

**Teşekkür:** Bu çalışma TÜBİTAK BİDEB-2211/C kapsamında desteklenmiştir.

## ***In vitro* Doku ve Klasik Kültür ile Üretilen *Prunella vulgaris* L. Bitkilerindeki Metabolitlerin Lc-ms Yöntemi ile Analizi**

Burcu Çetin<sup>1</sup>, Muharrem Akcan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Kütahya

<sup>2</sup>Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Kütahya

[burcu.cetin@dpu.edu.tr](mailto:burcu.cetin@dpu.edu.tr)

### **Giriş**

Tıbbi bitkilerin geleneksel yöntemlerden farklı olarak, bitki doku kültürü yöntemleri ile üretimi konusundaki çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Önemli bir tıbbi bitki olan *Prunella vulgaris* L. halk arasında “Yara Otu” olarak bilinmektedir. Bitkinin flavonoidler, triterpenler ve fenolik asit açısından zengin olduğu belirlenmiştir. Tıbbi olarak yara iyileşmesini hızlandırıcı, boğaz ağrısını hafifletici, ateş düşürücü, iltihap kurutucu, antimikrobiyal, antitümör ve antiviral özelliklere sahip olduğu, sıracca hastalığı, guatr ve karaciğer sorunlarının tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Bu çalışmada bitki doku kültürü ve klasik kültür yöntemleri ile üretilen *Prunella vulgaris* bitkilerinin Q-TOF LC-MS analizi yapılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında çimlendirilmiş iki haftalık *Prunella vulgaris* bitkilerinden izole edilen sürgün uçları 3 mg/L benzil amino pürin (BAP) ve 1 mg/L indol bütirik asit (IBA) içeren MS ortamda kültüre alınmıştır. İki hafta aralıklar ile 8 alt kültür işlemini alınan bitkiler HPLC analizleri için hasat edilmiştir. Kurutulmuş bitki numuneleri (10 g) öğütülmüş ardından 500 mL etanolde 24 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Önce cam elyaf ardından kaba filtre kâğıdı ile süzülerek, katı ve sıvı kısımlar birbirinden ayrılmıştır, katı özüt rötarı evaporatörde elde edilmiştir. Kurutulmuş numune (200 µg) 200 µL Çözelti A’ da (%0,050 2,2,2-trifluoroasetik asit (TFA) içeren saf suda (v/v)) çözülüp şırınga ucu filtre ile süzülükten (RC 0,45 µm) sonra Agilent G6530B marka Q-TOF LC-MS ile analiz edilmiştir. Bu analiz için 80 dakikalık % 5-80 Çözelti B (%0,045 2 TFA içeren % 90 lık asetonitril çözeltisi) gradyentli metod ve 150x2 mm Agilent marka C18 kolonu kullanılmıştır.

### **Bulgular**

Yapılan LC-MS analizleri sonucunda *in vitro* doku kültürü ve klasik yöntemlerle yetiştirilen *Prunella vulgaris* L bitkilerinin ekstrelerindeki benzer ve farklı metabolitler belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Çalışmamız *in vitro* doku kültürü ve klasik kültür yöntemleri ile üretilen *Prunella vulgaris* L bitkilerinin metabolit içeriklerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Belirlenen metabolitlerin tanımlanması endüstriyel bir çok alan için önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** doku kültürü, *in vitro*, LC-MS, *Prunella vulgaris* L.

**Teşekkür:** Tohum temininde yardımcı olan Kütahya Belediyesi Tıbbi Bitkiler Merkezine teşekkür ederiz.

## Derin Ekime Toleranslı *Triticum aestivum tir*'in Birinci Internodyum ve Koleoptil Uzamasında Glutamat Reseptörlerinin Rolü

Çağlar Candan<sup>1</sup>, Azime Gökçe<sup>1</sup>, Osman Deliavcı<sup>1</sup>, Aşkı Hediye Sekmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

[caglarcandan35@gmail.com](mailto:caglarcandan35@gmail.com)

### Giriş

Tahıl bitkilerinin derin ekime tolerans stratejilerinden biri olan birinci internodyum ve ya koleoptil uzama mekanizması ile ilgili literatürde sınırlı sayıda araştırma mevcuttur. Son yıllarda glutamat reseptörlerinin (GLRs) uyarılmasından sorumlu olan glutamat ile birlikte özellikle glisin sitozoldeki Ca<sup>+2</sup> dengesini sağlayarak hipokotil uzamasını düzenlediği bulunmuştur. Ancak literatürde glutamat ya da glisin birinci internodyum uzaması üzerindeki etkisine ilişkin herhangi bilgi bulunmamaktadır. Bu amaçla çalışmamızda, *Triticum aestivum* cv. Tir' e dışarıdan glisin uygulanarak GLR reseptörleri uyarılmış ve bu reseptörlerin aktivitesindeki artışın birinci internodyum uzaması üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

*Triticum aestivum* cv. Tir tohumları yüzey sterilizasyonu gerçekleştirildikten sonra 24 saat boyunca şişmeye bırakılmış, daha sonra tohumlar 2 cm kalınlığında 1 mM ve 10 mM glisin içeren agar ortamına ekilmiş ve agarın üzeri 2 cm (sığ ekim) ve 15 cm (derin ekim) torf:vermikülit:perlit (7:2:1) karışımı ile kaplanmıştır. Bitkiler JSR JSPC-420C bitki büyütme kabinde (25°C ve %70 nem) 10 gün karanlıkta yetiştirilmiştir. 10 günün sonunda Tir fidelerinin bitki boyu, koleoptil ve internodyum uzunlukları ölçülmüş ve birinci internodyumları ve koleoptilleri hasat edilmiş Hasat edilen birinci internodyum ve koleoptillerdeki protein tayini Bradford (1976) yöntemine göre NADPH oksidaz (NOX) aktivitesi Jiang ve Zhang (2002), SOD izozim enzimlerinin aktivitesi Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Cell Wall Peroksidaz (CWPOX) enzim aktivitesi Herzog ve Fahimi (1973) ye tanımlanmıştır.

### Bulgular

Sığ ekim ile karşılaştırıldığında derin ekim, Tir'in hem birinci internodyum hem de koleoptil uzunluğunu belirgin şekilde arttırmıştır. Sığ ekimde, dışarıdan glisin uygulaması, koleoptil uzunluğunu arttırırken, birinci internodyum uzunluğunu değiştirmemiştir. Ancak derin ekim koşulunda glisin, glisin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak birinci internodyumun uzunluğunu azaltmıştır fakat buna karşılık koleoptil uzunluğunda glisine bağlı herhangi bir artış gözlenmemiştir. Ayrıca derin ekim koşulunda dışarıdan glisin uygulaması birinci internodyumdaki CWPOX, NOX ve SOD enzimlerinin aktivitelerinde belirgin bir azalmaya neden olmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Dışarıdan glisin derin ekim koşulları altındaki Tir'in birinci internodyum ve koleoptil uzunluğunu üzerinde antagonist bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** glisin, buğday, ilk internodyum uzunluğu, derin ekim toleransı

**Teşekkür:** Araştırma, Ege Üni. BAP tarafından 17-FEN-035 nolu proje ile desteklenmektedir.

## Yerli *Trichoderma harzianum* Suşlarının Stres Koşullarında Proteaz Aktivitesi

Ciğdem Küçük<sup>1</sup>, Tülay Gezer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Şanlıurfa

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Şanlıurfa

[ckucuk@harran.edu.tr](mailto:ckucuk@harran.edu.tr)

### Giriş

Bitki hastalıklarının kontrolünde fungusitler önemli rol oynamakla birlikte, çevre ve insan sağlığına zararlı etkilere sahiptirler. Bitki patojeni funguslar, çeşitli tarım ürünlerinde zararlara neden olmaktadır. Tarımsal ürünlerin korunmasında kimyasal uygulamalara karşı alternatif olarak biyolojik mücadele yapılmaktadır. Biyolojik mücadelede bu amaçla en yaygın olarak kullanılan fungal türlerden biri de *Trichoderma* sp.'dir. Çalışmamızda topraktan izole edilen yerli *Trichoderma harzianum* suşlarının biber kök çürüklüğü etmeni olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı antagonistik aktivitesi farklı stres koşullarında test edilmiş ve proteaz aktiviteleri incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda topraktan izole edilen *T.harzianum* suşlarının biberde kök çürüklüğü etmeni olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı antagonistik aktiviteleri farklı stres koşullarında incelenmiştir. Stres koşulları olarak; farklı tuz konsantrasyonları (70, 150, 240, 300 ve 350 mM NaCl), kuraklık (% 10, %20, %30, %35 ve %40 Polietilen glikol) ve farklı sıcaklık dereceleri (25, 30, 35, 40, 50 °C) çalışılmıştır. antagonistik aktivite deneyleri çift kültür tekniğine göre yapılmıştır. Patates dekstroz agar içeren ortamında geliştirilen suşların herbirinin ayrı ayrı 3 mm çapındaki diskleri, Tris-HCl (pH 8.8) içinde hazırlanan azocasein içeren ependorf tüplerine yerleştirilmiştir. İnkübasyon sonrası içeriğe soğuk trichloro acetic acid ilave edilerek reaksiyon sonlandırılmıştır. İçerikler, santrifuj edildikten sonra, supernatant, 1M NaOH ile karıştırılmış ve tekrar santrifuj edilmiştir. Suşların proteaz aktivitesi 440 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür.

### Bulgular

Test edilen yerli suşlar *Macrophomina phaseolina*'ya karşı en yüksek antagonistik aktiviteyi 40°C de göstermişlerdir. Ayrıca, *T.harzianum* suşları stres koşullarında yüksek proteaz aktivite göstermişler ve patojen gelişimini inhibe etmişlerdir. Stres faktörlerine karşı tek bir suş bulunmamakla birlikte, en yüksek proteaz aktivite 40°C de Tm18 ve Tm11 nolu suştan, tuz içeren ortamda ise Tm17 ve Tm1 nolu suştan elde edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Yerli *T.harzianum* suşlarının *M.phaseolina*'ya karşı antagonistik aktivite göstermeleri, yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzlu koşullarda proteaz üretebilmeleri, tarımsal ürünlerin korunmasında umut verici aday olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Trichoderma*, proteaz, antagonizm, stres koşulları, *M.phaseolina*

**Teşekkür:** Harran Üniversitesi (HÜBAK) tarafından desteklenmiştir.

## **Antalya Bölgesi'nden Gelen Elma Örneklerinde Emamectin B1a ve B1b Aktif Maddeleri Kalıntı Miktarının Belirlenmesi**

Esra Metin<sup>1</sup>, Aylin Dal<sup>1,2</sup>, Murat Ekremoğlu<sup>1</sup>, Musa Kara<sup>1</sup>, Fatma Duman<sup>1</sup>, Kemal Kesenci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Safa Tarım Ar-ge Merkezi

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

[esra.metin675@gmail.com](mailto:esra.metin675@gmail.com)

### **Giriş**

Ülkemizde elma ağaçlarının çoğunda elma iç kurdu (*Cydia pomonella*) larvaları meyveleri delerek içlerinde boşluklar açmakta, meyvelerin etli kısmını ve çekirdeğin çevresini yiyerek pislikler bırakmaktadır. Böylece meyvelerin dökülmesine, ağaçta kalanların ise kalitesinin bozulmasına neden olarak elmanın piyasadaki değerini düşürmektedir. İlaçlama yapılmadığı durumda zarar % 60-100 olabilmektedir. Ortaya çıkacak zararı engellemek için mevcut olan ilaçlardan biri de Safa Tarım A.Ş. tarafından üretilen % 5 emamectin benzoate (EB) aktif madde içeren Hypnose 05 SG'dir. EB; yapraklarda beslenen Lepidoptera larvalarına etki edip, sinir uyarılarını bloke etmektedir. Böylece larvaların beslenmesi durmakta ve larvalar hemen paralyze olmaktadır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada ilaçlama sonrası elmadaki kalıntı miktarı belirlenecektir. Antalya Bölgesi'nden gelen elma örneklerinde (kontrol grubu + ilaçlamanın 0., 1., 3., 5., 7. ve 10. günlerinde toplanan elma grupları) emamectin benzoate ve metabolitleri emamectin B1a ve emamectin B1b aktif maddeleri taranmıştır. Bu amaçla, ilk olarak elmalar Quechers yöntemi kullanılarak ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Ardından LC-MS/MS cihazına enjekte edilerek kütle analizi yapılmıştır. Standart konsantrasyonlarda hazırlanan emamectin B1a ve B1b çözeltileriyle oluşturulan kalibrasyon eğrisine göre sonuçlar hesaplanmıştır.

### **Bulgular**

İlaçsız olan kontrol grubunda B1a ve B1b metabolitleri 0.010 mg/kg'den düşük bulunurken; ilaçlamanın 0. gününde B1a miktarı 0.016 mg/kg ve B1b miktarı 0.010 mg/kg'den düşük bulunmuştur. İlaçlamanın 1.,3., 5., 7. ve 10. günlerinde alınan örneklerde emamectin B1a ve B1b miktarları 0.010 mg/kg'den düşük olduğu görülmüştür.

### **Sonuç ve Tartışma**

Kalıntı çalışmaları sonucunda ilaçlamadan sonraki 1. günden itibaren elmalarda rastlanan emamectin B1a ve emamectin B1b kalıntı miktarı 0.01 mg/kg'den düşük bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi'ne göre de bu miktar kabul edilebilir bir değerdir.

**Anahtar Kelimeler:** elma iç kurdu, ilaç kalıntısı, emamectin benzoate

**Teşekkür:** Safa Tarım A.Ş. Yönetim Kurulu'na verdiği destekten dolayı teşekkürlerimizi sunarız.

## ***Citrus sinensis* (portakal) Türünün Antosiyanidin Sentaz Proteininin Biyoinformatik Karakterizasyonu**

Kübra Yalçın<sup>1</sup>, Emre Sevindik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Çakmar/aydın

[ph.d-emre@hotmail.com](mailto:ph.d-emre@hotmail.com)

### **Giriş**

Antosiyaninler, flavonoller, flavonlar ve proantosiyanidinler ile birlikte yüksek bitkilerin çiçek, meyve ve vejetatif dokularına canlı renkler kazandırmaktadırlar. Antosiyanidin sentaz enzimi, kompleks antosiyanin biyosentetik yolunda anahtar enzim olarak rol almaktadır. Rutaceae familyasına ait olan Citrus türleri dünyadaki en popüler ve önemli besindir. Özellikle Citrus sinensis, liminoidler, sinefrin, hesperidin flavonoid, polifenoller, pektin gibi önemli fitokimyasal maddeler ve yeterli miktarda folasin, kalsiyum, potasyum, tiamin, niasin ve magnezyum bulundurmaktadır. Bu çalışmada Citrus sinensis (Portakal) bitkisine ait antosiyanidin sentaz proteininin biyoinformatik araçlar kullanarak in siliko analizi yapılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada Citrus sinensis türüne ait Antosiyanidin sentaz protein dizisi FASTA formatında NCBI dan alındı. Biyoinformatik analizlerde, aminoasit sayısı, moleküler ağırlıkları, instabilite indeksi, extinction coefficients ve GRAVY değerleri Expasy ProtParam ile hesaplandı. Antosiyanidin sentaz proteinin varsayılan fosforilasyon bölgeleri NetPhos 2.0 ve NetPhos 3.1 ile belirlendi. CELLO v.2.5 kullanılarak subselüler lokalizasyon belirlendi. Pfam analizi kullanılarak domain analizi gerçekleştirildi. Antosiyanidin sentaz proteinin 3 boyutlu yapısı PyMOL programı kullanılarak yapıldı.

### **Bulgular**

Antosiyanidin sentaz proteinine ait aminoasit sayısı 357, molekül ağırlığı 40776.59 Da, instabilite indeksi 55.77, extinction coefficients, 44140 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> ve GRAVY değeri -0.524 çıkmıştır. Antosiyanidin sentaz proteini içinde maksimum oranda bulunan amino asit Glu (% 11.7) iken, minimum oranda ki amino asit Cys (% 1.1) olarak belirlendi. Subselüler lokalizasyon CELLO v.2.5 kullanılarak yapıldı ve protein sitoplazmik olarak lokalize edildi. Proteinlerin tahmini 3 boyutlu yapısı incelendiğinde proteinlerin yapısı ve fonksiyonu için önemli rol alan Gly aminoasidi %5.8 oranında tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Sonuç olarak, Citrus sinensis türüne ait antosiyanidin sentaz proteinleri kullanılarak yapılan biyoinformatik, ve 3D analizleri ile gelecekte farklı protein ile ilgili yapılacak olan biyoinformatik, ve biyoteknolojik çalışmalarına ışık tutacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Citrus sinensis*, antosiyanidin sentaz, biyoinformatik



## ***Fabaceae* (baklagiller) Familyasına Ait Türlerin Boron Transport Proteinlerinin Biyoinformatik ve Filogenetik Analizi**

Sümeyye Filiz<sup>1</sup>, Emre Sevindik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Aydın/türkiye*

*ph.d-emre@hotmail.com*

### **Giriş**

Fabaceae familyası hem tarım hem de ekonomik olarak önemli bir bitki ailesidir. Ayrıca, topraktaki serbest azotu özümlemesi bu familyanın değerini bir kat daha arttırmaktadır. Bitkiler için önemli olan ve hücre duvarının yapısında önemli rol oynayan Bor, topraktaki tarımsal verimi ve ürünsel kaliteyi etkilemektedir. Bununla birlikte, Bor eksikliği bitkilerde, kök uzaması, karbonhidrat metabolizması, polen çimlenmesi, azot fiksasyonu ve nükleik asit sentezi gibi birçok işleme etki etmektedir. Bu çalışmanın amacı, Fabaceae familyasına ait bazı türlerde bulunan boron transport proteinlerinin biyoinformatik araçlar kullanılarak in silico ve filogenetik analizini yapmaktır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada Fabaceae familyasına ait 10 adet boron transport proteinlerinin dizileri FASTA formatında NCBI dan alındı. Biyoinformatik analizlerde, aminoasit sayısı, moleküler ağırlıkları, instabilite indeksi, extinction coefficients ve GRAVY değerleri Expasy ProtParam ile hesaplandı. Boron transport proteinlerinin varsayılan fosforilasyon bölgeleri NetPhos 2.0 ve NetPhos 3.1 ile belirlendi. Proteinlere ait korunmuş bölge motifleri ve domainler Pfam, MEME ve MAST programları kullanılarak yapıldı. Protein sekansları kullanılarak filogenetik analizler MEGA 6.0 programı ile yapıldı. Proteinlerin 3 boyutlu yapısı PyMOL programı kullanılarak gerçekleştirildi.

### **Bulgular**

Boron transport proteinlerinin ait aminoasit sayısı 723 ile 728, molekül ağırlığı 80601,91 ve 81187,67 Da arasında, instabilite indeksi 40.51 ve 47,45 arasında, 110155 M-1 cm-1 arasında ve GRAVY değerleri, 0,083 ve 0,144 arasında çıkmıştır. Boron transport proteinlerinin içinde maksimum oranda bulunan amino asit Leu (%11.7) iken, minimum oranda ki amino asit Cys (% 0.9) olarak belirlendi. Filogenetik analizler sonucunda oluşturulan Maximum likelihood ağacı 2 gruptan oluşmuştur. Geçmiş çalışmalardaki filogenetik analizler ile sonuçlar karşılaştırılmıştır. Proteinlerin tahmini 3 boyutlu yapısı incelendiğinde proteinlerin yapısı ve fonksiyonu için önemli rol alan Gly rezidüsü en fazla %7.2 oranında tespit edilmiştir

### **Sonuç ve Tartışma**

Sonuç olarak, Fabaceae türlerine ait boron transport proteinleri kullanılarak yapılan biyoinformatik, filogenetik ve 3D analizleri ile gelecekte yapılacak olan farklı biyoinformatik çalışmalara ışık tutacaktır

**Anahtar Kelimeler:** Fabaceae, boron transport, biyoinformatik, filogenetik analiz

## ***Citrus sinensis* ve *Citrus aurantium* Çiçeklerinden Elde Edilen Uçucu Yağlarının Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi**

Emre Sevindik<sup>1</sup>, Ali Aydın<sup>2</sup>, Eyyüp Mennan Yıldırım<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Aydın/türkiye

<sup>2</sup>Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, 74100, Bartın, Türkiye

[ph.d-emre@hotmail.com](mailto:ph.d-emre@hotmail.com)

### **Giriş**

Aromatik bitkiler antik zamanlardan beri gıda için lezzet veren meyveleri ve taneleri baharat için kullanılmıştır. Bunlar, biyolojik açıdan aktif bileşiklerin zengin ve önemli doğal bir kaynağıdır ve antibakteriyel, antifungal, antiviral, böcek öldürücü ve antioksidan özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir. Rutaceae familyasına ait olan Citrus türleri dünyadaki en popüler ve önemli besindir. Hoş lezzetlerinin yanı sıra, C vitamini, folik asit, lifler ve uçucu yağlar gibi önemli bileşenleri bulundurmaktadır. Bu çalışmanın konusu, Citrus sinensis L. ve Citrus aurantium L. çiçeklerinden elde edilen uçucu yağların anti-proliferatif ve sitotoksik özellikleri ile beraber hücre morfolojisinde neden oldukları temel değişimler incelenmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışma materyali olan Citrus sinensis ve Citrus aurantium çiçekleri Nisan 2017 tarihinde Batı Anadolu (Aydın) ekolojik koşullarında toplanmıştır. Çiçeklerin uçucu yağları Clevenger cihazıyla ekstrakte edildi. Her iki doğal ürün için de anti-proliferatif etkinlik ve toksisite çalışmalarında European Pharmacopoeia 8.0 protokolü dikkate alınmıştır. Bu protokole göre, bileşiklerin hücre proliferasyonuna olan etkilerini (GI50, TGI, LC50) ve IC50 değerlerini ölçmek amacıyla MTT [3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromid] testi [4,5], devamında da LDH testi HeLa (İnsan serviks karsinoması), HT29 (İnsan kolorektal adeno karsinoması), A549 (akciğer karsinoması), Hep3B (Liver hepatocellular karsinom), MCF7 (meme bezi adenokarsinoması) kanseri hücreleri ile FL (epitelyal normal amniyon) normal hücre hattı kullanılarak uygulanmıştır. Morfolojik analizler faz-kontrast mikroskopi ile yapılmıştır.

### **Bulgular**

Her iki uçucu yağda, düşük ve orta konsantrasyonda (1.9-2.9 Log<sub>10</sub> µg/mL) düşük sitotoksosite değerleri ile güçlü antiproliferatif etki sergiledi. Her iki numune, orta ve yüksek konsantrasyonlarda (2.9 - 4.4 Log<sub>10</sub> µg/mL) hücrelerde, hücrenin astroit şekilden globüler şekle kaymasına, zemine çok zayıf bağlanmasına, kabarcık oluşumuna, hücre küçülmesine ve yer yer tamamen parçalanmış hücre oluşumlarına sebep olmuştur.

### **Sonuç ve Tartışma**

Sonuç olarak her iki bitkinin çiçeğinden elde edilen uçucu yağların gelecekte kanser sorununa yardımcı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, uçucu yağ, sitotoksik

## Erzincan Ekolojik Koşullarında Yayılış Gösteren *Achillea biebersteinii* afan. Bitkisinin Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi

Emre Sevindik<sup>1</sup>, Elif Eren Apaydın<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Aydın

<sup>2</sup>Giresun Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Uygulama ve Araştırma Merkezi, Giresun

[ph.d-emre@hotmail.com](mailto:ph.d-emre@hotmail.com)

### Giriş

Asteraceae familyası dünyada ki en büyük bitki ailelerinden biri olup, yaklaşık 23.000 türü ve 1535 cins içermektedir. Dünyada ve Yurdumuzda yayılış gösteren Asteraceae familyasına ait pek çok türün tıbbi ve farmakolojik önemi bulunmaktadır. *Achillea* L. cinsi Asteraceae familyasına ait olup kuzey yarım kürede yayılış göstermektedir. Bu cinsin tüm dünyada 100'den fazla türü olup ülkemizde 48 taksonla temsil edilmektedir. Geçmiş yıllarda *Achillea* türlerinin uçucu yağları araştırılmış olup bazı türlerin ekonomik ve tıbbi özellikleri ortaya konmuştur. Bu çalışma da Doğu Anadolu (Erzincan) ekolojik koşullarında yayılış gösteren *Achillea biebersteinii* Afan. elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışma materyali olan *Achillea biebersteinii* Temmuz 2016 tarihinde Doğu Anadolu'nun Erzincan ilinden toplanmıştır. Laboratuvara getirilen bitkiler kurutulup ekstraksiyon işlemi için hazırlanmıştır. Bitkinin uçucu yağları Clevenger cihazıyla ekstrakte edildi. Esansiyel yağ bileşimleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı ile belirlendi.

### Bulgular

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi analizinin sonuçları, *Achillea biebersteinii* elde edilen uçucu yağda en fazla; 1.8-sineol (%20.36), sikloheksanon (%8.39), 2-sikloheksen-1-on (%5.38) ve (+) spathulenol (%4.19) en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Geçmiş yıllarda yapılmış çalışmalar incelendiğinde, farklı lokalitelerden toplanan *Achillea biebersteinii* bitkisinin uçucu yağ bileşimlerinde en fazla 1.8-sineol tespit edilmiştir. Ancak miktar oranında farklılıklar çıkmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular, *Achillea biebersteinii* ile ilgili ileride yapılacak antimikrobiyal, antifungal, sitotoksik çalışmalar için kaynak olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Achillea biebersteinii*, asteraceae uçucu yağ, Erzincan/Türkiye

## Aydın Ekolojik Koşullarında Yayılış Gösteren Çınar (*Platanus orientalis* L.) Meyvesinin Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi

Kemalcan Okan<sup>1</sup>, Fadime Efe<sup>1</sup>, Elif Eren Apaydın<sup>2</sup>, Emre Sevindik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Aydın*

<sup>2</sup>*Giresun Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Uygulama ve Araştırma Merkezi, Giresun*

[ph.d-emre@hotmail.com](mailto:ph.d-emre@hotmail.com)

### Giriş

Halk içinde uçucu yağ olarak adlandırılan kimyasal bileşikler bitki kimyasının önemli bileşenleri arasında yer almaktadır. Bu yağlar genellikle bitkilerin yaprak, meyve, tohum ve çiçek kısımlarından elde edilmekte olup hem farmakoloji hem de endüstride kullanılmaktadır. Çınar (*Platanus orientalis* L), Planataceae familyasının Planatus cinsine ait olup, Ülkemizde yetişen önemli ağaçlardan biridir. Özellikle Çınar ağacının meyvesinden yapılan ilaçlar ile böcek sokmalarının tedavi edilmesi sağlanır. Özellikle yılan zehrini gidermede birebir etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma da Çınar bitkisinin meyvesinden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışma materyali olan Çınar meyveleri Ağustos 2017 tarihinde Batı Anadolu (Kuşadası/Aydın) ekolojik koşullarında toplanmıştır. Meyvelerin uçucu yağları Clevenger cihazıyla ekstrakte edildi. Esansiyel yağ bileşimleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı ile belirlendi.

### Bulgular

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi analizinin sonuçları, Çınar meyvesinden elde edilen uçucu yağda en fazla; 9-Oktadekanoik asit (%44.71), 1-oktadekanol (%7.79), nerolidol (%4.15) ve hegzadekanonik asit (%3.56) yüksek oranda tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada Çınar ağacının meyvesinden elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, gelecekteki biyoteknolojik, biyolojik çeşitlilik, farmasötik ve tıbbi araştırmalar için değerli bir kaynak olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** çınar meyvesi, uçucu yağ, Kuşadası/Aydın

## ***Amanita* Türlerine Ait Endoglukanaz Proteinlerinin Biyoinformatik ve Filogenetik Analizi**

Emre Sevindik<sup>1</sup>, Ömer Faruk Çolak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Aydın*

<sup>2</sup>*Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Isparta*

*ph.d-emre@hotmail.com*

### **Giriş**

Amanita cinsi en iyi bilinen mantar cinslerinden biridir. Bu cins yaklaşık 500 tane türden oluşmaktadır. Selüloz dünyada en bol bulunan ve yenilenebilir bir polisakkarittir. Selüloz glikoza, en az üç farklı enzimin birlikte çalışması ile hidrolize olabilir. Bu enzimler; endoglukanaz, ekzoglukanaz ve beta-glukosidaz'dır. Endoglukanazlar, büyük selüloz moleküllerini rastgele daha küçük parçalara kesip, selüloz uzunluğunu çok kısa sürede indirgenme özelliğine sahiptirler. Bu çalışmanın amacı, Amanita cinsine ait bazı türlerde bulunan endoglukanaz proteinlerinin biyoinformatik araçlar kullanılarak in siliko ve filogenetik analizini yapmaktır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada bazı Amanita türüne ait endoglukanaz proteinlerinin dizileri FASTA formatında NCBI dan alındı. Biyoinformatik analizlerde, aminoasit sayısı, moleküler ağırlıkları, instabilite indeksi, extinction coefficients ve GRAVY değerleri Expasy Protparam ile hesaplandı. Endoglukanaz proteinlerinin varsayılan fosforilasyon bölgeleri NetPhos 2.0 ve NetPhos 3.1 ile belirlendi. Proteinlere ait korunmuş bölge motifleri ve domainler Pfam, MEME ve MAST programları kullanılarak yapıldı. Protein sekansları kullanılarak filogenetik analizler MEGA 6.0 programı ile yapıldı. Proteinlerin 3 boyutlu yapısı PyMOL programı kullanılarak gerçekleştirildi.

### **Bulgular**

Endoglukanaz proteinlerinin ait aminoasit sayısı 154, molekül ağırlığı 16265.22 ve 16479.44 Da arasında, instabilite indeksi 15.35 ve 20.40 arasında ve GRAVY değerleri, -0.129 ve 0.040 arasında çıkmıştır. Endoglukanaz proteinlerinin içinde maksimum oranda bulunan amino asit Ala (%12.3) iken, minimum oranda ki amino asit Tyr (% 0.6) olarak belirlendi. En fazla putative fosforilasyon Amanita subcaligata tespit edildi. Filogenetik analizler sonucunda oluşturulan filogenetik ağaç 2 gruptan oluşmuştur. Geçmiş çalışmalardaki filogenetik analizler ile sonuçlar karşılaştırılmıştır. Proteinlerin tahmini 3 boyutlu yapısı incelendiğinde proteinlerin yapısı ve fonksiyonu için önemli rol alan Gly rezidüsü en fazla %11.4 oranında tespit edilmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Sonuç olarak, Amanita türlerine ait endoglukanaz proteinleri kullanılarak yapılan biyoinformatik, filogenetik ve 3D analizleri ile gelecekte yapılacak in siliko çalışmalara yol gösterecektir.

**Anahtar Kelimeler:** amanita, endoglukanaz, biyoinformatik, filogenetik analiz

## **Bitkilerin Yağ Asit İçeriklerinin Biyoteknolojik Yöntemler Kullanılarak İyileştirilmesi**

Hüseyin Uysal<sup>1</sup>, Gizem Hatice Havutcu<sup>1</sup>, Merih Varlıker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü*

[huseyin.uysal@adu.edu.tr](mailto:huseyin.uysal@adu.edu.tr)

### **Giriş**

Yağlar enerji vermelerinin yanı sıra yağda eriyen vitaminler A, D, E ve K emilimi için ve ayrıca lezzet ve aroma vermeleri açısından önemli bir yere sahiptir. Doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki tip yağ asidi içermektedir. Dengeli beslenme açısından gıdalarda kullanılan yağların başta oleik asit olmak üzere doymamış yağ asitlerince zengin olması arzu edilmektedir. Bitkisel yağların kalitesini düşüren yağ asitlerinin birikimi belirli oranlarda bloke edilerek sağlık açısından faydalı yağ asitlerinin birikimi teşvik edilebilmektedir. Bu çalışmada insan beslenmesinin temel gıdalarından olan yağların bileşiminde bulunan temel yağ asitlerinin miktarının iyileştirilmesi amacıyla uygulanan biyoteknolojik yöntemler irdelenmiştir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Son yarım asırda biyoteknoloji alanında yaşanan gelişmeler sayesinde bitkilerdeki genetik mekanizmalar daha iyi anlaşılmağa başlanmıştır ve daha kısa yoldan sonuca götüren çözüm odaklı çalışmalar hız kazanmıştır. Buna bağlı olarak insan beslenmesinin temel besin maddelerinden olan yağlı tohumlu bitkilerin içermiş olduğu yağların bileşimini oluşturan yağ asitlerinin oranlarının iyileştirilmesine yönelik olarak yapılan çalışmalarda kullanılan biyoteknolojik uygulamalar da hız kazanmıştır. Bu çalışmada bu amaçla kullanılan yöntemler irdelenerek ortaya konan sonuçlar değerlendirilmiş ve elde edilen başarılar yorumlanmıştır.

### **Bulgular**

Son yarım asırda biyoteknoloji alanında yaşanan gelişmeler sayesinde yağ asitlerinin genetik mekanizması daha iyi anlaşılmağa ve buna bağlı olarak mutasyon ıslah çalışmaları hız kazanmıştır. Ayçiçeği, kolza, soya fasulyesi, aspir, keten, yer fıstığı gibi birçok yağ bitkisinde bu yöntemle geliştirilen yemeklik veya sanayiye yönelik yağ kalitesi iyileştirilmiş çeşit sayısı artmıştır. Ayrıca embriyo kültürü gibi birçok biyoteknolojik uygulama ile türler ve çeşitler arası melezlemeler hız kazanmıştır ve bu sayede hem ıslah süreci kısaltılmış hem de yeni çeşitler geliştirilebilmiştir. Geliştirilen markörler sayesinde ise marköre dayalı seleksiyon uygulamaları hız kazanmıştır daha kısa sürede daha etkin sonuçların alınması mümkün hale gelmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Biyoteknolojik uygulamalar birçok bitki de olduğu gibi yağ bitkilerinde de çığır açmıştır. Gen transferleri, moleküler markörler ve diğer biyoteknolojik yöntemlerle birçok bitkide ıslah süreci kısaltılmış ve yeni çeşitler geliştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** yağ bitkileri, yağ asitleri, biyoteknolojik yöntemler

## Yulaf Aksesyonlarının Genom Büyüklüklerinin Belirlenmesi ve Ploidi Seviyelerinin Tespiti

M. Aydın Akbudak<sup>1,2</sup>, Ahmet Paksoy<sup>2</sup>, Metin Tuna<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya

<sup>2</sup>N. E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, Konya

<sup>3</sup>Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Tekirdağ

[aydinakbudak@hotmail.com](mailto:aydinakbudak@hotmail.com)

### Giriş

Genom büyüklüğü, kromozomları replike olmamış bir hücredeki (mitoz geçirmiş, G1 fazında) DNA içeriğidir (Swift, 1950). Diploid ( $2n=2x$ ) organizmalarda genom büyüklüğü,  $n$  sayıdaki kromozomdaki DNA miktarına işaret eder. Ekmeklik buğday ( $2n=6x=64$ ) gibi üç farklı genoma (ABD) sahip organizmalarda ise bu üç farklı genomu oluşturan kromozomların yarısındaki DNA içeriği genom büyüklüğünü verir. Genom büyüklüğü C değeri olarak ifade edilmekte olup, bu değer genomdaki DNA içeriğinin pikogram cinsinden miktarıdır. 2C değeri ise ploidi seviyesine bakılmaksızın, somatik bir hücrenin çekirdeğinin ağırlığını vermektedir (Şakiroğlu ve Kaya, 2012).

### Gereçler ve Yöntemler

Dördü Türkiye’de de bulunan ve toplamda 13 farklı Avena türüne ait tohumlar ABD Tarım Bakanlığı Ulusal Bitki Genetik Kaynaklar Sistemi (USDA-GRIN)’nden temin edilmiştir. Flow sitometri de yapılan ölçümler için referans bitki olarak bakla (*Vicia sativa*) ve arpa (*Hordeum vulgare*) kullanılmıştır. Hem yulaf hem de referans bitkilerin tohumlarından elde edilen fideler dört hafta boyunca serada yetiştirilmiştir. Her bir aksesyona ait yaklaşık bir aylık fidelerin genç yapraklarında alınmış 15 µg doku ile referans bitkisinden alınan 10 µg yaprak dokusu flow sitometri analizi için kullanılmıştır. Alınan yaprak dokusu örnekleri ayrı ayrı cihazda okunmuştur. Örneklerin DNA içeriklerinin belirlenmesine yönelik ölçümler Partec CyFlow Space (CY-S-3001) flow sitometre cihazında 488 nm dalga boyunda yapılmıştır. Ortalama DNA içeriği, 10000 çekirdeğin analiziyle belirlenmiştir.

### Bulgular

Yapılan analiz sonucunda incelenen aksesyonların çekirdek DNA içeriklerinin tür ortalamalarının 8.61–26.54 pg/2C arasında değiştiği görülmüş olup, diploid türlerde DNA içeriği 7.99 – 12.53 aralığında, tetraploid türlerde 16.37–18.71 ve heksaploid türlerde ise 25.40–26.54 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Farklı bitki türlerinde yapılan çalışmalarda gen bankasına koymadan önce türlerin fiziksel benzerlikler nedeniyle akraba türlerle karıştığı ve yanlış tanımlandığı veya öncesinde ya da gen bankasında tutulduğu süreçte uğradıkları fiziksel karışma nedeniyle aksesyonların gen bankası veritabanında kayıtlı olan türle farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir (Şakiroğlu and Brummer 2011).

### Sonuç ve Tartışma

Önceki çalışmalarla paralel olarak aynı ploidi düzeyine sahip türler arasında da çekirdek DNA içeriklerinin farklı olduğu dolayısıyla Avena cinsine ait türlerde türler arası varyasyonun görüldüğü belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** avena, çekirdek DNA içeriği, flow sitometri, ploidi seviyesi

**Teşekkür:** Bu çalışma N.E.Ü. Bilimsel Araştırmalar Fonu (Proje No: 161315001) tarafından desteklenmiştir.

## Yeni Nesil Genom Düzenleme Teknikleri ve Bitkilerde Kullanımı

M. Aydın Akbudak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya

[aydindakbudak@hotmail.com](mailto:aydindakbudak@hotmail.com)

### Giriş

Dizi spesifik nükleazlar (ZFN, TALEN ve CRISPR) tıp, moleküler biyoloji ve bitki ıslahında son 3-4 yıldır yaygın olarak kullanılmaya başlanılan yeni nesil genom düzenleme araçlarıdır. Bu nükleazlar DNA kesim (restriction) enzimlerine benzer şekilde, genomda düzenleme yapılmak istenen bölgede DNA'yı çift iplikli olarak keserler. Oluşan bu çift iplik kesikleri, hücrenin DNA tamir mekanizmaları olan HR (Homologous Recombination = Homolog Rekombinasyon) ya da NHEJ (Non-Homologous End Joining= Homolog Olmayan Uçların Birleşmesi) yoluyla tamir edilirken, hücre tarafından hangi tamir mekanizmasının kullanıldığına bağlı olarak genomda farklı modifikasyonlar meydana gelir (Bortesi ve ark. 2015; Lawrenson ve ark. 2015). T

### Gereçler ve Yöntemler

ZFN'ler (Zinc Finger Nucleases) kullanıcının genomda modifiye etmek istediği bölgeye göre dizayn edilen ilk dizi spesifik nükleazlardır. ZFN' ler DNA'ya spesifik olarak bağlanan bir domain (binding= bağlanma domaini) ve bir nükleaz (cleavage=kesim) domaini olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Her ZF birimi 30 amino asit içerir ve bu amino asitler bir adet çinko atomuna bağlıdır. Dizi spesifik nükleaz ailesinin ikinci üyesi olan TALEN sistemi ZFN sistemine bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. TALEN sistemi de ZFN sistemi gibi bir DNA bağlanma domaini ve FokI DNA kesim domaininden oluşmaktadır (Budhagatapalli ve ark. 2015). Kullanıma başlanmasıyla genom mühendisliği çalışmalarını oldukça hızlandırarak bitki biyoteknolojisinde çığır açan CRISPR'ların çalışma prensibi RNA aracılı nükleazlara dayanır (Bortesi ve ark. 2015). En yaygın kullanılan sistem Streptococcus pyogenes'de keşfedilen CRISPR/Cas9 sistemidir (Rani ve ark. 2016; Nejat ve ark. 2016).

### Bulgular

ZFN, TALEN ve CRISPR ile elde edilen bitkilerin GDO olarak sayılıp sayılmayacağı, dolayısıyla bu tekniklerle elde edilen ticari varyetelerin doğaya salınımı ve tüketiminde GDO'lara uygulanan denetimlerin uygulanıp uygulanmayacağı dünyadaki pek çok düzenleme kuruluşunun gündemini yoğun olarak işgal eden bir sorudur. İlk yaklaşımda yeni varyetelerin elde edilmesinde hangi tekniklerin kullanıldığı göz önünde bulundurulmaktadır. İkinci yaklaşımda ise uygulanan teknikten çok ortaya çıkan ürünün sahip olduğu risklere yani, meydana getirilen yeni özelliğin potansiyel riskine ve bu özelliğin insan sağlığına ve doğaya zarar verip vermeyeceğine odaklanılmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Üçüncü devrim olarak niteleyebileceğimiz, yeni nesil genom düzenleme tekniklerinin bitki ıslahında kullanımı, klasik ıslah yöntemleri ve hâlihazırda kullanılan biyoteknolojik yöntemlere göre daha hızlı, ucuz ve güvenli bir alternatif sunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** ZFN, TALEN, CRISPR, gen susturma, genetik modifikasyon



## ***Camarosa* Çileklerinde *Tetranychus Urticae* Zararlısına Karşı Biyolojik Etkinlik Çalışması**

Murat Ekremoğlu<sup>1</sup>, Aylin Dal<sup>1,2</sup>, Esra Metin<sup>1</sup>, Musa Kara<sup>1</sup>, Fatma Duman<sup>1</sup>, Kemal Kesenci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Safa Tarım Ar-ge Merkezi, Konya*

<sup>2</sup>*Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

[murat\\_ekremoglu@yahoo.com.tr](mailto:murat_ekremoglu@yahoo.com.tr)

### **Giriş**

En yaygın bitki zararlılarından olan fitofagositik akarların başında yer alan iki noktalı kırmızı örümcek (*Tetranychus urticae*), bitkilerin fotosentetik mekanizmalarını etkilemektedir. *T. urticae* yoğunluğunun yüksek olduğu durumlarda, bitki gelişiminin bozulmasına, yaprak ve meyvelerin normale göre daha küçük kalmasına ve %50 verim kaybına neden olurken; şiddetli istila durumunda ise klorofil kayıplarına bağlı olarak yaprak dökülmesi, yaprak bronzlaşması ve bitki ölümlere sebep olabilmektedir. *T. urticae* 'ye karşı bitkilere özgü çeşitli insektisitler bulunmaktadır. Çalışmamızda, piyasada bulunan Safa Tarım A.Ş.'ye ait Arvilmeç® EC' nin çeşitli konsantrasyonlarda *Camarosa* çileğinde saha biyolojik etkinliği araştırılması amaçlanmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Bu çalışmada Mersin (Silifke-Atakent) bölgesinde yetiştirilen *Camarosa*® çileklerinde, *T. urticae* yeterli yoğunluğa ulaştığında aktif maddesi Abamectin, 18g/l olan Arvilmeç® EC 4 tekerrürlü deneme tesadüf blokları desenine göre 5 grup (deneme ilacı 3 doz, karşılaştırma ilacı 1 doz, 1 kontrol grubu 1 doz) oluşturularak gerçekleştirilmiştir. Sayımlar (stereoskopik binoküler mikroskop ile), ilaçlama öncesi ve ilaçlamadan 3, 7, 14 ve 21. gün sonrası yapılmıştır. Henderson-Tilton formülüyle ilaçların yüzde etkileri bulunmuştur. Bulunan etki değerlerine karşılık gelen açı değerlerine Costat programında Varyans analizi analizi uygulanarak Duncan testine göre ilaçların grupları oluşturulmuştur.

### **Bulgular**

Arvilmeç® EC ilacının 0,25ml/L dozundaki biyolojik etkinliği uygulama günlerinde (3, 7, 14 ve 21. gün sırasıyla) 86.03, 90.48, 91.02 ve 81.10 olarak belirlenerek karşılaştırma ilacının aynı dozdaki değerleri ise 85.0, 91.59, 91.23 ve 80.75 olarak ölçülmüştür. 0,15 ml/L dozu uygulanan grupta günlere göre değerler sırasıyla 57.44, 62.77, 61.31 ve 57.27 bulunmuştur. 0,2ml/L doz grubunda ise bu değerler 64.94, 70.80, 70.31, 60.70 olarak belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

0,15 ml/L ve 0,2 ml/L uygulanan gruplarda, 0,25 ml/L uygulanan grup ve karşılaştırma grubuna kıyasla biyolojik etkinliğinin daha düşük olduğu görülmüştür.0,25 ml/L deneme grubu ile karşılaştırma ilacı aynı etkinliği göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Tetranychus urticae*, biyolojik etkinlik, *camarosa* çileği

**Teşekkür:** Safa Tarım A.Ş. Yönetim Kuruluna Destekleri İçin Teşekkür Ederiz.

## Biberde Çiçek Tripsine Karşı Econeem Biyoinspektisit Ürününün Etkin Doz Belirlemesi

Yasemin Cemile Altınsu<sup>1</sup>, Nurcihan İnan<sup>1</sup>, Burcu Erdoğan<sup>1</sup>, Kemal Kesenci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Safa Tarım Ar-ge Merkezi

[arge1@safatarim.com](mailto:arge1@safatarim.com)

### Giriş

Çiçek tripsi (*Frenkliniella occidentalis*) biber zararlısı olmakla birlikte, bitki dokusunu zedeleyerek çıkan bitki özsuyunu emerek beslenirler. Klorofil hücrelerini de tahrip ederek bitkinin özümleme kapasitesi düşürürler. Çiçekte ve meyvedeki zararı sonucu meyvelerde kalite sorunu ortaya çıkmaktadır. Çeşitli bitki virüs hastalıklarının taşınmalarıyla ürün kayıplarına neden olurlar. Tripslere karşı kullanılan etkili maddelerden biri bitkisel kaynaklı Azadirachtin'dir. Bu aktif maddeyi içeren ECONEEM adlı ürününün biberlerde karşılaşılan çiçek tripsi (*Frenkliniella occidentalis*)'ne karşı üç dozda (400, 450 ve 500 ml/100 L su) Azadirachtin içeren NİMBİCİDİNE ve Spinosad içeren LASER ürünlerine karşı biyolojik etkinlik denemeleri yapılmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Deneme Antalya Serik 'te tripsle bulaşık olan Erciyes F1 çeşidi biberde serada yapılmıştır. İlaçlama öncesi biber bitkilerinde tesadüfi olarak toplam 40 bitkide sayım yapılmış ve çiçek başına ortalama 5,5 canlı bireyin olduğu belirlenmiştir. Tesadüf blokları deneme desenine göre 6 karakter (deneme ilacının 3 dozu+2 karşılaştırma ilacı+kontrol) ve 4 tekerrürlü olarak 20 m<sup>2</sup>'lik parsellerde gerçekleştirilmiştir. Çift sıralı her bir parselde 3L ilaçlı su motorlu sırt pülverizatörü ile atılmıştır. Sayımlar, ilaçlamadan 1 gün önce, 1,3,7,10,14 gün sonra gerçekleştirilmiştir. Sayımlar her parselin ortasından en az 5 bitkinin alt orta ve üst kısımlarından alınan yaprak ve çiçeklerle yapılmıştır. Sayım sonuçları Henderson-Tilton formülüne göre ilaçların etki oranları belirlenmiş, ilaçların etki oranları açı değerlerine çevrilerek bunlara varyans analizi ve Duncan testi uygulanarak dozlar arasındaki farklılıklar ortaya konulmuş ve karakterler gruplandırılmıştır.

### Bulgular

Serada biberde deneme ilacı ECONEEM'in 400 ml/100L su dozu, uygulamadan 1,3,7,10 ve 14 gün sonra sırasıyla ortalama %62.47, %69.09, %68.05, %59.79 ve %50.23; 450 ml/100L su dozu ortalama %71.53, %80.74, %81.59, %72.63 ve %62.79; 500 ml/100L su dozunda ise ortalama %83.28, %92.26, %94.38, %83.33 ve %74.38 oranlarında etki göstermiştir. Karşılaştırma ilacı LASER'de etki oranları sırasıyla %90.60, %94.35, %94.41, %91.68 ve %89.66 olurken diğer karşılaştırma ilacı NİMBECİDİNE'de ise bu değerler sırasıyla %74.23, %82.36, %80.76, %76.11 ve %71.89 olmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Yapılan deneme sonuçlarına göre ECONEEM biyoinspektisit ürününün 400 ve 450 ml/100L su dozları yeterli etkiyi gösterememişken, 500 ml/100L su dozu yedi gün süre ile beklenen etkiyi göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** azadirachtin, biyoinspektisit, ECONEEM, biber, çiçek tripsi

**Teşekkür:** Safa Tarım A.Ş. yönetim kuruluna katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

**TIBBİ**  
**BİYOTEKNOLOJİ**

## **Sinir Sisteminde Akrilamitle Etkinliği Değişen Genlerin İlişkili Gen Kümelerinin Araştırılması**

**Sedat Kaçar<sup>1</sup>, Seçkin Eroğlu<sup>2</sup>, Varol Şahintürk<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

<sup>2</sup>*İzmir Ekonomi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İzmir*

[skacar@ogu.edu.tr](mailto:skacar@ogu.edu.tr)

### **Giriş**

Bioinformatik son yıllarda artan çalışmaların değerlendirilmesi ve karmaşık bilgilerden anlaşılır ve geçerli bir bilgi çıkarımı için gerekli bir daldır. Akrilamit 1950'lerden beri bilinen nörotoksik bir ajandır. Akrilamitle alakalı çalışmalar 2002'de akrilamitin yiyeceklerde olduğu ortaya çıkmasıyla artmıştır. Bu çalışmamız Genevestigator (NEBION AG, Zürih, İsviçre) programını kullanarak sinir sisteminde akrilamitin etkilediği genlerle zenginleştirilmiş gen kümesi analizinin yapıldığı bir bioinformatik çalışmasıdır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

“Akrilamit” ve “Mikroarray” anahtar sözcükleri en bilinen veri tabanları olan Pubmed, Web of Science, Sciencedirect ve Google Scholar'da aratılarak yayınlanmış makaleler saptandı. Yüzlerce makale arasından, sinir sistemiyle ilgili olan makalelerden akrilamitin upregüle/downregüle ettiği genler belirlendi. Amacımızla doğrudan bağlantılı 9 makaleden saptanan genlerle çalışmamıza özgü bir gen kümesi oluşturuldu. Daha sonra Genevestigator programı kullanılarak bu genlerle “zenginleştirilmiş gen kümesi analizi” yapıldı. Bu gen kümesinin çeşitli kategoriler altında diğer gen kümeleriyle ilişkisi “Gene annotations” ve Reactome annotations” kategorileriyle ayrı ayrı araştırıldı. Anlamlı sonuçlar genel analiz, hücre ölümü, gelişimsel süreç ve çeşitli koşullarda yanıt genleri bölümlerine ayrılarak analiz edildi.

### **Bulgular**

Analizlerimiz sonucunda akrilamitle upregüle/downregüle olan toplam 28 adet gen olduğu saptandı. Genlerden 15 tanesinin nöron kısımları kategorisinde, 15'inin hücre arası madde geçişi regülasyonundan sorumlu olduğu görüldü. Hücre ölümüyle ilgili 10 gen bulunurken bunlardan 7 tanesinin negatif apoptotik regülasyonla ilişkili olduğu bulundu. 21 adet gelişimsel süreç genlerinden 11'inin sinir sistemiyle ilgili olduğu, 3 tanesinin substantia nigra gelişimsel sürecinde rol aldığı saptandı. Reaktom anotasyon analizinde bulunan sonuçlara göre, genler GPRC aracılığıyla sinyal iletimi (9 gen), doğuştan gelen bağışıklık (9 gen), kas kasılması (4 gen) ve AP-1 transkripsiyon faktörünün aktivasyonu (2 gen) kategorisinde sınıflandırıldı.

### **Sonuç ve Tartışma**

Akrilamit toksisitesi sinir sisteminde, nöron uzantıları, anti-apoptotik proteinler, GPRC aracılı sinyal yolağı proteinleri ve gelişimsel süreçteki genlerle ilişkili olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** bioinformatik, akrilamit, zenginleştirilmiş gen kümesi analizi

## Paratiroid Hücrelerinin İn Vitro Mikroenkapsülasyonu

Beyza Servet Göncü<sup>1</sup>, Emrah Yücesan<sup>2</sup>, Önder Hüseyinbaş<sup>1</sup>, Harun Başoğlu<sup>3</sup>, Nur Özten Kandaş<sup>4</sup>, Fahri Akbaş<sup>5</sup>, Erhan Aysan<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Enstitüsü, İstanbul

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji, İstanbul

<sup>5</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>6</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

[bsgoncu@gmail.com](mailto:bsgoncu@gmail.com)

### Giriş

Enkapsülasyon, bir maddenin ya da bir karışımın diğer bir malzeme ya da sistemle kaplandığı ya da içine sıkıştırıldığı tekniktir. Mikroenkapsülasyon tekniğinde kullanılan maddeler elde edilme kaynaklarına göre doğal ya da sentetiktir. Bunlar arasından aljinat; kahverengi algden elde edilen doğal anyonik ve biyoyumlu bir polimerdir. Ham haldeki aljinat saflaştırıldıkça mekanik anlamda stabil yapı kazanmasının yanında berraklığı ve en önemlisi biyoyumlu polimer özellikleri artış gösterir. Teknolojik gelişmeler, aljinatın ilaç taşıyıcı veya hücre nakli için yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda mikroenkapsülasyon tekniğinin optimum koşullarını sağlamak için paratiroid hücreleri model olarak kullanıldı.

### Gereçler ve Yöntemler

BVÜ Genel Cerrahi AD tarafından sekonder hiperparatiroidi tanısı ile subtotal paratiroidektomi uygulanan olgulardan gönüllü olur formu onayı alındıktan sonra, paratiroid dokularının 1/3'üne histopatolojik değerlendirme yapıldı. Kalan 2/3'lük kısma enzimatik hücre izolasyonu uygulandı. Elde edilen hücrelerin canlılık oranları belirlendikten sonra,  $10 \times 10^6$  hücre içeren 4 gruba ayrıldılar. Bir grup kapsüle edilmeden kültüre edildi. Diğer üç grup; %2'lik ultrasaf aljinat ile aljinat-hücre karışımı oluşturularak kapsüle edildi. 30G şırınga ile 300mOsm CaCl<sub>2</sub> içeren çözeltiliye yaklaşık 20 cm yükseklikten yavaşça damlatıldı. Damlatılan kapsül sayıları gruplar için kaydedildi. Bağlı olmayan kalsiyumun ortamdan uzaklaştırılması için mikroenkapsüller izotonik tuz çözeltisi ile yıkandı. Elde edilen mikroenkapsüllerin çapları 2,2-2,3 mm olarak ölçüldü. Tüm gruplarda; 1., 2., 7., 15., 30., 45., 60., 75. günlerde parathormon ölçümleri, ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü.

### Bulgular

75. güne kadar parathormon seviyelerindeki değişimler, uygulanan mikroenkapsüllerin sayısı da dikkate alınarak takip edildi. Parathormon seviyelerinin birbirleriyle uyumlu olacak şekilde yedinci günde maksimum düzeye ulaştığı, sonrasında ise düzenli bir şekilde azaldığı belirlendi. Mikroenkapsüllerin morfolojilerinde izlem süresince bozulma, çatlama tespit edildi.

### Sonuç ve Tartışma

Model olarak seçtiğimiz paratiroid hücreleri kullanılarak; mikroenkapsüllerin sayısı ve bozulma süresi ile parathormon değişimi değerlendirilmiştir. İlerleyen çalışmalarda belirlenen optimum şartlara göre in vivo çalışmalar yapılması düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** mikroenkapsülasyon, aljinat, paratiroid hücreleri, parathormon

**Teşekkür:** BVÜ Biyokimya laboratuvarından Tağı Polat ve Derya Devran'a katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## Doksorubisin-kaempferol'ün Meme Kanseri Hücrelerinde P13k/akt/mtor Metastatik Yolağı Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Emel Ergene<sup>1</sup>, Hande Güner<sup>1</sup>, Emilia Ekenel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

[eergene@anadolu.edu.tr](mailto:eergene@anadolu.edu.tr)

### Giriş

Kanser hastalarında; PI3K/AKT yolağındaki birçok bileşenin amplifikasyon, mutasyon veya translokasyon gibi yollarla anormal aktivasyonu tespit edilmiş ve bu yolaktaki anomalilerin standart kanser tedavilerinde kemoterapi direncine yol açtığı belirtilmiştir. mTOR; PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağının aşağı yönlü aktivasyonunda etkilidir ve pek çok fizyolojik olayda etkin rol oynamaktadır. Bu yolak, kanserde sıklıkla bozulur ve bu yüzden mTOR, kanser tedavisinde önemli bir anti-tümör hedef haline gelmiştir. Doksorubisin, normal dozlarında bile kardiyotoksik etkiye sahip anti-kanser ilaçtır. Bu çalışma, Doksorubisin-ilişkili sitotoksitenin Kaempferol ile azaltıp, metastazın baskılanmasını sağlamak için tasarlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

İnsan meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231) %10 FBS-RPMI-1640 içinde, 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda kültür edilmiştir. Test maddeleri belirlenen dozlarda (Dox; 1,25-1-0,5 µM ve Kaem; 150-125-100-75 µM) seyreltilerek hazırlanmıştır. Stotoksik aktivite; MTT ve Nötral Kırmızısı Alımı Testi ile ölçülmüştür. Veriler, bağımlı gruplar için Two-Way Anova testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş, yapılan test istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Belirgin olarak gözlenen değişimler p<0,05 “\*”, p<0,01“ \*\*”, p<0,001 “\*\*\*” ile gösterilmiştir. Hücrelerin 48 saat için IC<sub>50</sub> aralıkları; Doksorubisin için 1 µM, Kaempferol için 100 µM olup Western Blot Analizlerinde kullanılmak üzere bir düşük dozları olan 0,5 µM Dox ve 100 µM Kaem olarak ve kombinasyonları da Western Blot çalışmalarında uygulanmıştır. Daha sonra Western Blot Analizi ile MDA-MB-231 hücrelerinde protein ekspresyon seviyeleri belirlenmiş ve dansitometre analizleri yapılmıştır.

### Bulgular

Hücrelerin Inverted mikroskop görüntülerine; hasarlı hücrelerin çaplarında küçülme, sitoplazmik büzülme ve toplam hücre sayısında azalma dikkat çekmiştir. Bu değişimler, “75 µM Kaempferol” ve “0,5 µM Dox + 75 µM Kaempferol” uygulanan hücrelerde, 0,5 µM Dox uygulanan hücrelere oranla yoğun gözlenmiştir. Western Blot Analizi sonuçlarına göre; p-mTOR yoğunlukları ile β-aktin yoğunlukları oranlanarak ve kontrol ile kıyaslanarak elde edilen dansitometrik analiz sonucunda; 48 saat sonunda 0,5 µM Doksorubisin, p-mTOR ifadesini % 49 oranında azaltırken, 75 µM Kaempferol % 77 oranında ve 0,5 µM Doksorubisin + 75 µM Kaempferol kombinasyonu ise p-mTOR ifadesini % 51 oranında azaltmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Meme kanserinde fazla ifade edilen p-mTOR belirli bir ölçüde baskılanmış olup; asıl etki Kaempferol tek başına uygulandığında görülmüştür. Metastazın engellenmesi ve Dox'un toksitesinin azaltılmasında Kaempferol'ün kullanılabilirliği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** mTOR, PI3K/AKT/mTOR, doksorubisin, kaempferol

**Teşekkür:** Projeyi destekleyen TÜBİTAK ve ANADOLU ÜNİVERSİTESİ BAP Komisyonuna Teşekkür ederim.

## Formononetin'in Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Lokman Durmaz<sup>1</sup>, İlhami Gülçin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Erzincan Üniversitesi, Çayırılı Meslek Yüksekokulu, Erzincan*

<sup>2</sup>*Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum*

*lokmandurmaz25@gmail.com*

### Giriş

Antioksidanlar, oksidan ürünleri ortadan kaldırmaz ya da oksidasyonu tamamen engelleyemezler. Hipertansiyon, Diyabet, koroner kalp hastalığı, romatizma, behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Formononetin nohut tohumunda bulunan bir izoflavondur. Flavonlar, fenolik bileşikler, güçlü antioksidan kapasitesine sahip olduğu düşünülür. Çalışmamızda formononetin fenolik bileşiğinin muhtemel antioksidan aktiviteleri ve radikal giderme aktiviteleri değerlendirildi.

### Gereçler ve Yöntemler

Formononetin'in antioksidan ve radikal giderme aktivitelerini belirlemek için antioksidan kapasite yöntemleri kullanıldı. Bu amaçla Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi, kuprak metodu ile kuprik iyonları (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme kapasitesi, DPPH<sup>+</sup> radikal giderme, ABTS<sup>+</sup> radikal giderme, DMPD<sup>+</sup> radikal giderme, bipiridil reaktifleri ile şelatlama aktiviteleri ayrı ayrı çalışıldı. Ayrıca her metot için BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks referans antioksidan bileşikler olarak kullanıldı.

### Bulgular

Formononetin bileşiğinin 20 µg/mL konsantrasyonlarında birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks ile karşılaştırıldığında Fe<sup>3+</sup> indirgeme kuvveti 0,282 iken ve Cu<sup>2+</sup> metotlarına göre indirgeme kuvveti 0,043'dir. Formononetin bileşiğinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks ile karşılaştırıldığında DPPH<sup>+</sup>, ABTS<sup>+</sup>, DMPD<sup>+</sup> ve bipiridil metal şelatlama aktivitelerinin IC50 değerleri sırasıyla: 30.13µM, 26.65 µM, 16.50 µM, 14.44 µM'dir. Bipiridil metal şelatlama aktivitesi, formononetin bileşiğinin en etkili olduğu antioksidan aktivite yöntemidir.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak çalışmadan elde edilen verilere göre fenolik bileşik olan formononetin, in vitro olarak α-tokoferol, trolox, BHA, BHT gibi standart antioksidan bileşiklerle karşılaştırıldığında formononetin'de yüksek antioksidan aktivite tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** formononetin'in antioksidan aktivite parametreleri

## Fermente Ürünlerden İzole Edilen *L. plantarum* Ga06 ve Ga11 İn Glycocholate Dekonjugasyonu ve Kolesterol Asimilasyonu

Gülçin Alp Avcı<sup>1</sup>, Emre Avcı<sup>1</sup>, Gamze Çağatay<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Hitit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çorum*

[cagataygamze@gmail.com](mailto:cagataygamze@gmail.com)

### Giriş

Günümüzde probiyotikler bazı besinlerle (süt, lahana turşusu vb.) doğal olarak alındığı gibi, endüstriyel olarak üretilen fermente süt ürünleri (peynir, yoğurt, kefir,)nde de bulunur. Çok sayıda çalışma probiyotiklerin laktoz intoleransına hafiflettiği, mukozal bağışıklık sistemini uyararak bağışıklık sistemini güçlendirdiği, kan kolesterolünü düşürdüğü, kolonize olarak patojen mikroorganizmaların varlığını engellediği, Chron hastalığı, diyare ve kabızlık gibi hastalıkların üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Son olarak fermantasyon yapan tüm mikroorganizmaların probiyotik kapasitelerinin olmadığı suşa bağlı olarak probiyotik etkinin değiştiği bilinmektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

MRS broth ortamında 42 °C’de 18 saat geliştirilen izolatlar MRS Agar besiyerine çizgi ekimi yapılmıştır. 42 °C’de 18 saat inkübe edilecek bu ortamlardan tek koloni seçilerek tekrar MRS broth ortamına aktarılmış ve 42°C’de 18 saat inkübe edilmiştir. Hücreler santrifüledikten sonra 2 mL fizyolojik suda çözülüp, hücre konsantrasyonu McFarland 2’ye (A550= 0.5) göre ayarlanarak 10 mL’lik API 50CHL test kiti ortamına inoküle edilmiştir. Daha sonra örnekler, test kitinin kuyucuklarına aktarıldı ve kuyucukların üzeri mineral yağ ile kapatılıp 37 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir.. Pozitif testlerde bromkrezol purple indikatörün rengi sarıya dönerken, negatif testlerde değişmeden kalmıştır. İnkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde, her test için kuyucuklardaki renk değişimleri kaydedilmiştir ve sonuçlar apiweb identification software database (V5.1) kullanılarak değerlendirilmiştir. Kolesterol asimilasyonu (Gilliland et al.1985 e göre) glycocholate dekonjugasyonu ile belirlendi.

### Bulgular

Ekzopolisakkarit üretim kapasitesine göre belirlenmiş iki suş belirlenmiştir. EPS üretimi düşük olan *L. plantarum* GA06 suşunun kolesterol asimilasyonu %28.56 iken Glycocholate dekonjugasyonu % 19.42 ; EPS üretimi yüksek olan GA11 suşunun kolesterol asimilasyonu %36.67, Glycocholate dekonjugasyonu ise %31.84 olarak tespit edildi.

### Sonuç ve Tartışma

*L. plantarum* GA06 ve GA11 suşları EPS üretimi, Glycocholate dekonjugasyonu ve Kolesterol asimilasyonu açısından incelendiğinde, BSH enzim aktivitesinin önemini vurgulamak için önemli probiyotikler olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** glycocholate dekonjugasyonu, *L. plantarum*, kolesterol asimilasyonu, EPS



## **Kobaylarda Olfaktör Kök Hücre İzolasyonu ve Nörojenik Farklılaşması**

**Inanc Baral<sup>3</sup>, Yusuf Muhammed Durna<sup>1</sup>, Olga Nehir Öztel<sup>2</sup>, Deniz Tuna Edizer<sup>2</sup>, Özgür Yiğit<sup>2</sup>, Sevgi Durna Daştan<sup>3</sup>, Ercüment Ovalı<sup>4</sup>, Taner Daştan<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Lüleburgaz Devlet Hastanesi, Kulak-burun- Boğaz Kliniği, Lüleburgaz, Kırklareli

<sup>2</sup>İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak-burun- Boğaz Kliniği, Çapa, İstanbul

<sup>3</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı, Sivas

<sup>4</sup>Acıbadem Labcell, Hücre ve Kordon Kanı Bankası Laboratuvarı, İstanbul

<sup>5</sup>Cumhuriyet Teknokent, Vetagenom Biyoteknoloji ve Ar-ge Laboratuvarı, Sivas  
[ibaral@cumhuriyet.edu.tr](mailto:ibaral@cumhuriyet.edu.tr)

### **Giriş**

Kök hücreler organizmaları oluşturan tüm hücre türlerine farklılaşabilme ve yaşamboyu sayılarını dengede tutabilme yeteneğine sahip özelleşmiş hücrelerdir. Özellikle yenileyici tıp alanında kök hücrelerin işlevsel rollerinin üzerinde önemle durulmaktadır. Son zamanlarda, olgun dokuların kendilerine ait kök hücre hatlarına sahip olduğu gösterilmektedir. Deneysel çalışmalar olgun kök hücrelerin uygun vasatlarda kültüre edilerek, doğru zamanda yeterli uyarımla farklı hücre türlerine farklılaşabileceğini göstermiştir. Bu keşifler, tıbbi biyoteknoloji ve yenileyici tıp alanlarına yeni imkanlar kazandırmıştır. Bu çalışmada da kobayların olfaktör kök hücrelerinin izolasyonu, üretimi ve nörojenik farklılaşmasının temini amaçlanmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışmada yaşları 6-8 hafta ve ağırlıkları 500-658 gr arası olan 6 dişi kobay kullanılmıştır. Kobaylar 12:12 sa. aydınlatmalı ortamda tutularak, ad libitum beslenmiştir. Kobaylar sodyum tiyopental (120 mg/kg) IP enjeksiyonu ile ötenazi edilmiştir. Kobayların kafatasları sagittal düzlemde operatif olarak açılıp olfaktör doku ortaya konmuştur. Mikroskop altında dokular eksize edilerek, olfaktör mukoza tripsin-kollajenaz ile enzimatik diseksiyona alındı ve hücrelerinden 800xg santrifüjle ayrıldı. Elde edilen hücreler, %1 antibiyotik ve %10 FBS içeren DMEM-LG vasatı bulunan T-150 şişelerde 37°C'de kültüre edildi. Primer kültürden sonra %70 konflüens elde edilene kadar pasajlama yapıldı. İkincil pasaj kalite kontrolünde en az %80 canlılık seviyesi elde edildi. İkincil pasaj hücreleri fibronektin kaplı merkez havuza alındı ve 7 gün boyunca günlük olarak mezenşimal kök hücre nörojenik farklılaşma vasatı içinde tutuldu. Hücre morfolojisi ters faz mikroskop ile günlük takip edildi.

### **Bulgular**

İzole edilen olfaktör kök hücrelerinin kültürü ile ikincil pasaj sonunda en az %70 konflüens ve %80 canlılık seviyesine ulaşılabilmiştir. Kontrol örnekleri kültür sonunda en az 20 milyon canlı hücre seviyesine ulaşmıştır. Akım sitometri analizinde canlı hücrelerin CD73, CD90, CD105 pozitif ve CD34, CD45, HLA-DR negatif olduğu görülmüştür. Kültüre edilen olfaktör kök hücrelerin ikincil pasajından nörojenik farklılaşması gerçekleşmiştir. Birincil pasajlarda olfaktör kök hücreler boyutça küçük ve sayıca az gözlenmiştir ancak, nörojenik farklılaşma sonrasında kök hücrelerin hücre boyutları birincil pasaja göre çok daha büyük ve farklılaşan hücrelerin olgun nöron yapısına benzer oldukları gözlemlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bu çalışmada kobaylardan olfaktör kök hücreler izole edilerek, kültüre edilmiş ve nörojenik farklılaşmaları temin edilmiştir. Morfolojik değişimlerin istatistiği için kobay sayısının artırılması veya farklı yöntem uygulamaları düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** kök hücre, olfaktör, nörojenik, farklılaşma, yenileyici tıp, kobay

## ***Cornus mas L. Ekstraktlarının Bakteriyel İletişim Sistemi Üzerine Etkisinin Araştırılması***

Kübra Erkan Türkmen<sup>1</sup>, Demet Erdönmez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Aksaray Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aksaray

kerkan87@gmail.com

### **Giriş**

Bakterilerde hücreler arası iletişim veya quorum sensing (QS), bakteri popülasyonuna bağlı olarak gen ekspresyonu bilgilerinin paylaşımını sağlayan bir iletişim mekanizmasıdır. Dolayısıyla QS sistemi birçok mikroorganizmanın patogeneze ve antibiyotik direnci gibi çeşitli metabolizmal faaliyetleri sonucunda oluşan özelliklerini de kontrol etmektedir. Bu sistemin engellenmesi bakteriyel patojenitenin engellenmesinin önünü açacaktır. Bu çalışmada antosiyaninler bakımından zengin olmasının yanında antiinflamatuar ve antioksidan aktivite gösteren *Cornus mas L.* (Kızılcık) meyvelerinden elde edilen ekstraktların anti-quorum sensing aktivitesi araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

*Chromobacterium violaceum* CV026 (Biyosensörsüz), *Chromobacterium violaceum* 12472 (wildtype), *Chromobacterium violaceum* 31532 (AHL üreticisi) bakteri suşları kullanılmıştır. *Cornus mas L.*'in ekstraktlarının anti-quorum sensing aktivitesinin etkisini saptamak için Disk Diffüzyon Testi ve viyolasin pigmenti miktarı da ölçülmüştür. *Cornus mas L.* 'nin metanol:diklorometan ve su ekstraktı soxhlet cihazı kullanılarak elde edilmiştir.

### **Bulgular**

*Cornus mas L.* 'nin metanol:diklorometan ve su ekstraktının bakteriyel iletişim molekülü olan AHL üzerindeki negatif etkisi hem disk difüzyon testi ile hem de viyolasin pigmenti izolasyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile saptanmıştır. C6-HSL gibi Gram negatif patojen bakteriler tarafından sıklıkla kullanılan bakteriyel iletişim molekülünü etkilediği belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Bakteriyel hastalıklarla mücadelede antibiyotiklere karşı direnç her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle alternatif tedavi yöntemlerinden biride QS ile yapılan çalışmalardır. Çalışmamızın bu alternatif yöntemlerin gelişmesinde temel olarak düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** anti-quorum sensing, *Cornus mas L.*, açıl-homoserin lakton

## Tek Kullanımlık Optik Sensörlü Taşınabilir Kan Pıhtılaşması Ölçüm Sistemi

Merve Gökçe<sup>1</sup>, Gökhan Sağlam<sup>1</sup>, Selim Ölçer<sup>1</sup>, Yusuf Samet Yaraş<sup>2</sup>, Fehmi Çivitçi<sup>3</sup>, Gökseven Göksevenin Yaralıoğlu<sup>4</sup>, Hakan Ürey<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Koç Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği, İstanbul

<sup>2</sup>Georgia Institute Of Technology, Atlanta

<sup>3</sup>Ohsu Knight Cancer Institute - Cedar, Oregon

<sup>4</sup>Özyeğin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği, İstanbul  
[mgokce@ku.edu.tr](mailto:mgokce@ku.edu.tr)

### Giriş

Sıvı formda bulunan kanın içerdiği hücrelerden biri olan kan pulcuklarının kümeleşmesi ile jel formuna geçmesine pıhtılaşma denir. Birçok hastalık kan pıhtılaşmasında problemlere yol açarak hastaların kan sulandırıcı ilaç tedavisi görmelerine neden olur. Bunlara örnek olarak K vitamini eksikliği, bazı genetik hastalıklar, mekanik kalp kapağı implantasyonu, çoklu stent takımı ve by-pass operasyonları verilebilir. Hastaların her ölçüm yaptırılmaları gerektiğinde hastaneye gitme zorunluluğunu ortadan kaldırarak zaman kaybını önlemek için ev tipi, taşınabilir bir optik sensör sistemi geliştirilmiştir. Bu taşınabilir ölçüm sistemi ile bir damla kandan anında pıhtılaşma değerlerinin ölçülmesi kolay, ucuz ve hızlı bir şekilde elde edilmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu taşınabilir sistemde, tek kullanımlık optik sensörler ile protrombin zamanı ölçülmektedir. Mikro-mekanik ve optik teknolojileri birleştiren, direk viskozite ölçülmesine olanak veren patentli yeni bir ölçüm prensibi kullanılmıştır. Viskoziteye bağlı olarak optik fiberlerin salınım hareketindeki değişim ışık geçişini doğrudan etkilemektedir. Faz ve genlik verilerindeki değişim elektronik ortamda analiz edilmektedir. Tek kullanımlık optik sensörler kan pıhtılaşması reaksiyonuna uygun olarak dizayn edilmiştir. Bu sensörler sıvı girişinin kapiler basınç ile engellendiği bir ölçüm bölümü ile reaksiyonun gerçekleştiği bir reaksiyon havuzundan oluşmaktadır. Mevcut teknolojilerin farklı ilaçların birlikte kullanılmasından kaynaklanan hatalı ölçüm riski, elektrik bağlantısı ve dolaylı ölçüm metodu kullanılması gibi belirli limitasyonları bulunmaktadır. İlerleyen araştırmalar optik sensörde bulunan paralel kanallarda aynı anda birden farklı biyolojik ölçümün yapılmasına olanak sağlayabilir.

### Bulgular

Ortalama 50 tek kullanımlık optik sensör ile 3 çeşit kontrol plazması kullanılarak protrombin zamanı ölçümleri elde edilmiştir. Normal plazma ile yapılan protrombin zamanı ölçüm değeri ortalama olarak 11 saniye (referans değeri: 8-12sn), az anormal plazma ile yapılan protrombin zamanı ölçüm değerleri ortalama olarak 26 saniye (referans değeri: 17-28sn) ve yüksek anormal plazma ile yapılan ölçümlerde ise sonuç ortalama 49 saniye (referans değeri: 32.6-48.9sn) çıkmıştır. International Normalized Ratio (INR) değeri ise her bir kontrol plazma için ölçülen protrombin zamanı sonuçları ve kullanılan doku faktörüne ait International Sensitivity Index (ISI) değeri kullanılarak hesaplanabilir.

### Sonuç ve Tartışma

Hızlı, kolay, ucuz ve bir damla kadar az kan örneği kullanılarak protrombin zamanı ölçülmesini sağlayan optik sensörlü, taşınabilir bir sistem geliştirilmiştir. 3 çeşit kontrol plazma için protrombin zamanı referans değerleri aralığında ölçülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** pıhtılaşma, protrombin zamanı, INR, optik fiber, biyosensör

**Teşekkür:** TÜBİTAK, İntentram Fikri Mülkiyet Hakları Yönetimi ve Koç Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

## Kadmiyuma Karşı Kemik Hücrelerinde Alkalen Fosfataz Aktivitesi Değişimi

Aylin Dal<sup>1,3</sup>, Didem Turgut Coşan<sup>1,2</sup>, Fezan Mutlu Şahin<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>3</sup>Safa Tarım Ar-ge Merkezi, Konya

<sup>4</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Eskişehir

[aylin\\_dal@yahoo.com](mailto:aylin_dal@yahoo.com)

### Giriş

Metabolik olarak aktif bir doku olan kemik, osteoklastik rezorpsiyon, kemik matriksinin osteoblastik oluşumu ve mineralleşmesinden dolayı, sürekli olarak yeniden şekillenmektedir. Alkalen fosfataz (ALP) çoğunlukla karaciğer olmak üzere kemik, bağırsak ve böbreklerden üretilen önemli bir enzimdir. Yaygın bir çevre kirleticisi olan kadmiyum (Cd) toksik özellikte ağır bir metal olup, artmış osteoporoz riski ile ilişkili olabilir. Yapılan bu çalışmada, uzun süre kadmiyum klorür (CdCl<sub>2</sub>)'e maruz kalan kemik hücrelerindeki alkalen fosfataz aktivitesini değerlendirmek üzere değişimler incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Kemik hücreleri (hFOB 1.19) DMEM:F/12 (%10 FBS ve %1 Pen) besiyerinde 34.5°C'de kültüre edildi. Yeterli hücre sayısına ulaşıldıktan sonra 105 hücre flasklara aktarılarak, 0.025 µmol/l 22 gün boyunca CdCl<sub>2</sub> ile muamele edildi. Uygulama süresince 3 günde bir besiyeri değiştirildi. 22. gün tripsin solüsyonu ile kaldırılan hücreler ELISA-bALP kiti ile intrasellüler alkalen fosfataz açısından analiz edildi. Örneklerin absorbanları 450 nm'de Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer'de belirlendi. Belirlenen bu değerler standart eğriye göre hesaplanarak, sonuçlar istatistiksel açıdan değerlendirildi.

### Bulgular

Elde edilen sonuçlara göre, 3. gün kontrol osteoblast hücrelerinin (292,98 ng/ml) ve 22. gün kontrol (246,98 ng/ml) hücrelerine göre, 22. gün Cd uygulanan osteoblast hücrelerinin (200,38 ng/ml) bALP değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

CdCl<sub>2</sub> hücre permeabilite artmasına bağlı olarak osteoblast intrasellüler bALP azalmıştır. Kronik kadmiyum maruziyeti osteoblastik metabolizmayı olumsuz etkilenebilir, sonucuna ulaşıldı.

**Anahtar Kelimeler:** osteoblast, CdCl<sub>2</sub>, toxicity, alkalen fosfataz

## Bezmalem Taşıma Solüsyonu®'nun Soğuk İskemi Süresince Verimliliğinin Paratiroid Hücreleri İncelenerek Belirlenmesi

Bezya Servet Göncü<sup>1</sup>, Emrah Yücesan<sup>2</sup>, Burcu Özdemir<sup>2</sup>, Cemile Kesgin Toka<sup>3</sup>, Harun Başoğlu<sup>4</sup>, Nur Özten Kandaş<sup>5</sup>, Fahri Akbaş<sup>6</sup>, Erhan Ayşan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bezmalem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi

<sup>2</sup>Bezmalem Vakıf Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Enstitüsü

<sup>3</sup>Bezmalem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

<sup>4</sup>Bezmalem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı

<sup>5</sup>Bezmalem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

<sup>6</sup>Bezmalem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

[bsgoncu@gmail.com](mailto:bsgoncu@gmail.com)

### Giriş

Doku, organ naklinde başarı birçok değişkene bağlıdır, en önemli parametre; nakil gerçekleştirilecek organ için geçen soğuk iskemi süresidir. Bu nedenle nakil yapılacak organ ve dokular özel solüsyonlar içinde transfer edilirler. Bu uygulamanın temel hedefi, hücre ölümünü olabildiğince yavaşlatmaktır. Bezmalem Vakıf Üniversitesi (BVÜ) Paratiroid Nakil Laboratuvarımızda spesifik olarak paratiroid dokusunun transferi için özel bir solüsyon geliştirdik ve etkinliğini insan paratiroid hücreleri üzerinde değerlendirdik. Etkinliğin tespiti için paratiroid hücrelerinin canlılığı, hücrelerden salınan hormon miktarı ve kalsiyum dengesini parathormon salınımı ile düzenleyen kalsiyum-algılayıcı reseptör (CaSR) düzeyine etkileri incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

BVÜ Genel Cerrahi AD tarafından sekonder hiperparatiroidi tanısı ile subtotal paratiroidektomi uygulanan 7 olgudan gönüllü olur formu onayı alındıktan sonra, paratiroid dokularının 1/3'ü histopatolojik değerlendirme yapıldı. Kalan 2/3'lük dokular Bezmalem Taşıma Solüsyonu® içerisinde 24 saate kadar soğuk iskemiye maruz bırakılmıştır. Soğuk iskemi süreleri olan 0, 6, 12, 18 ve 24 saatlik zaman aralıklarında; her dokudan yaklaşık 0,4 gr örnek alınarak, enzimatik yöntemle hücre izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hücrelerin canlılık oranları belirlendikten sonra bir gün kültür ortamında tutularak ürettikleri parathormon (PTH) miktarları ELISA yöntemi, hücrelerin yüzeyindeki kalsiyum-algılayıcı reseptör (CaSR) değişimleri ise Western blot yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu çalışma için BVÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

### Bulgular

Soğuk iskemi uygulanan yedi ayrı paratiroid dokusunun, beş farklı zaman aralığındaki ortalama hücre canlılıkları % 92,7 olup, zaman aralıkları ve canlılık seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir (p=0,04). Aynı şekilde bir gece kültüre edilen hücrelerin PTH seviyeleri (p=0,08) ve total protein izolasyonları gerçekleştirilen paratiroid hücrelerinin CaSR düzeyinin değişmediği gösterilmiştir (p=0,543).

### Sonuç ve Tartışma

Paratiroid nakillerinde kullanılacak Bezmalem Taşıma Solüsyonu®'nun yeni, güvenilir ve etkin olduğu elde edilen ilk sonuçlarda gösterilmiştir. Diğer endokrin organlar ile yapılacak yeni çalışmalar etkinliğinin değerlendirilmesinde yararlı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** paratiroid, transplantasyon, soğuk iskemi, kalsiyum-algılayıcı reseptör

**Teşekkür:** Çalışma BVÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (9.2016/5)

## **Meme Kanserinde Terapötik Hedef Olarak Kullanılabilecek Özgül Metastaz Baskılayıcı Mikrorna'ların Tespiti**

Emilia Ekenel<sup>1</sup>, Emel Ergene<sup>1</sup>, Yeşim Aydın Son<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

<sup>3</sup>Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Enformasyon Enstitüsü, Sağlık Enformasyonu Bilim Dalı

[emilia.gomi@gmail.com](mailto:emilia.gomi@gmail.com)

### **Giriş**

En yaygın kanser türlerinden meme kanserinde temel ölüm sebebi, tümörün metastazdır. miRNA genlerinin yaklaşık yarısının kanserle ilişkili genomik bölgelerde bulunması bu moleküllerin kanserdeki rolünü desteklemektedir. miRNA'nın kanserle ilişkisini ve metastatik süreçleri düzenleyebildiğini gösteren çalışmalar, çok sayıda genin eş zamanlı tek düzenleyicisi olarak miRNA'ların tedavi potansiyelini vurgulamaktadır. miRNA'lar genellikle "tümör baskılayıcı" olarak görülmektedir. Genel olarak, tümördeki miRNA'lar baskılanmış durumdadır. Meta-analiz, aynı konuda farklı yer, zaman ve merkezlerde yapılmış olan araştırma sonuçlarını niteliksel ve niceliksel olarak birleştirmeye yardımcı olan istatistiksel bir yöntemdir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışmamızda, hem meme kanserli hem de bazı epitel hücreli kanser türlerinde araştırılmış çok sayıda örnekten elde edilen miRNA mikrodizi veri setleri, biyoinformatik olarak meta-analiz ile GEO (Gene Expression Omnibus; [www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)) veri bankalarının taranması sayesinde incelenmiştir. Meta-analizde izlenen süreç şu şekilde özetlenmiştir: GEO data setleri arasında değişen genlerin tespiti için, Geo2R çevrimiçi araç (Geo2R online tool) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) kullanılarak, "Kanserli vs Normal" ya da "Metastatik vs Metastatik olmayan" örnekler arasında değişkenlik gösteren miRNA'lar karşılaştırılmıştır.

### **Bulgular**

Sonuç olarak, meme kanserli hücrelerde baskılanmış bütün miRNA'lar tespit edilmiştir ve sıralama tabanlı meta-analiz yöntemi manual olarak (Microsoft Excel kullanarak) uygulanmıştır. Ardından, meme kanserinin ve genelde epitel hücreli kanserlerde baskılanmış gerçek sıralamalı meta-miRNA listesi elde edilmiştir. Elde edilen miRNA'ların hedef genleri belirlenmiş ve yolak analizleri yapılmıştır.

### **Sonuç ve Tartışma**

Meme ve diğer epitelial kanserlerde metastaz yollarında baskılayıcı etkisi olan, terapötik hedef olabilecek özgül metastaz baskılayıcı miRNA mimiklerinin bir tedavi ajanı olarak kullanılabilirlikleri ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** meme kanseri, miRNA, metastaz, meta-analiz

**Teşekkür:** Çalışmaya 1505F212 numaralı projeye destek olan Anadolu Üniversitesi BAP'a teşekkür ederiz.

## Formononetin'in Asetilkolinesteraz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi

Lokman Durmaz<sup>1</sup>, İlhami Gülçin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Erzincan Üniversitesi Çayırılı Meslek Yüksekokulu, Erzincan*

<sup>2</sup>*Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum*

*lokmandurmaz25@gmail.com*

### Giriş

Asetilkolinesteraz (AChE; EC.:3.1.1.7) enzimi, metabolizmada asetilkolini (ACh) hidrolizleme işleminin katalizinde görev alan önemli bir enzimdir. Bu nedenle AChE olarak adlandırılır. Alzheimer hastalığı beyindeki nörotransmitterlerin azalması sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıkta en fazla azalma gösteren nörotransmitter ise ACh'dir. Alzheimer hastalığının tedavisi için AChE'nin inhibisyonuna sebep olan doğal ilaçlar aranmakta ve çalışılmaktadır. İlaçların çoğu, aslında bir enzim inhibitörüdür. Çalışmamızda AChE inhibitörlerinden formononetin inhibitörü bu amaçla çalışılmıştır. Formononetin nohut tohumlarında bulunan bitkisel izoflavonlardandır. İzoflavonlar, fenolik bileşikler dolayısıyla formononetin güçlü antioksidan özelliğe sahiptir.

### Gereçler ve Yöntemler

Asetilkolinesteraz enzimi aktivitesi, Ellman ve arkadaşlarının metodlarına göre belirlendi. Bu amaçla Asetilkolin iyodat (AChI) substrat olarak kullanıldı. Öncelikle, 100 µL Tris/ HCl tampon çözeltisine (1 M, pH 8.0) yılan balığından (Electrophorus electricus) saflaştırılmış 30 µL AChE enzimi ilave edildi ve karışım 10 dakika boyunca 25°C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 50 µL DTNB (0.5 mM) ilave edildi. Reaksiyon 50 µL AChI (10 mM) ilavesiyle başlatıldı. Kontrol tüplerinde AChE bulunmaz iken, numune tüplerinde ise 30 µL AChE enzimi bulunur. AChE enziminin esteraz aktivitesiyle yapılan çalışmanın kuvartz küvetlerin hacimleri, 1 mL olana kadar saf su ilave edildi. Substratların hidrolizi ve daha sonra DTNB' nin tiyokolün ile reaksiyon sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu 412 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir.

### Bulgular

Güçlü antioksidan kapasitesine sahip fenolik bileşiklerin ve dolayısıyla formononetin'in asetilkolinesteraz enzimi için güvenli bir inhibitör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Doygun substrat konsantrasyonunda formononetinin asetilkolinesteraz (AChE) enzimi için üzerine inhibisyon etkisi incelendi. Ölçümler asetilkolinesteraz yöntemiyle yapıldı. İnhibisyon etkisi gösteren formononetin için Aktivite(%)-[I]'den IC50 değeri bulundu. Daha sonra Lineweaver-Burk grafiğinden de Ki değeri hesaplandı. Bizim çalışmamızda sonuçlara göre formononetin'in IC50 değeri 0.89 µM olarak bulunurken ortalama Ki değeri 47.23 µM olarak bulundu. İnhibisyon tipi ise yarışmasız olarak belirlendi.

### Sonuç ve Tartışma

Çalışmamızda AChE için güvenli inhibitör olarak kullandığımız formononetin fenolik bileşiği ile ilgili elde edilen sonuçların tedavi amaçlı kullanılacak ilaçların dizaynı ve farmakolojik uygulamalar için önemli bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** asetilkolinesteraz (AChE) enzimi, formononetin, inhibisyon parametreleri

## Bazı Beyaz Çürükçül Fungus Özütlerinin Kronik Myeloid Lösemi Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması

Ayfer Serindağ<sup>1</sup>, Elif Apohan<sup>1</sup>, Özfer Yeşilada<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Abd, Malatya

[ayferserindag@gmail.com](mailto:ayferserindag@gmail.com)

### Giriş

Kronik myeloid lösemi (KML), öncül hücrelerin anormal klonal çoğalan kök hücre hastalığıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar *Trametes versicolor*'un kanserlerin önlenmesi ve tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada bir beyaz çürükçül fungus türü olan *Trametes versicolor* ATCC 200801 ve doğadan izole ettiğimiz *T. versicolor* (H) kullanılmıştır. Bu funguslardan elde edilen özütlerin kronik myeloid lösemi hücreleri (K562) üzerine sitotoksik etkisi test edilmiştir.

### Bulgular

*T. versicolor* ATCC 200801 özütünün K562 hücreleri üzerine optimum maruz kalma süresinin 48 saat olduğu IC<sub>50</sub> değeri 95,09 µg/mL olarak *T. versicolor* (H) özütünün, K562 hücreleri üzerine IC<sub>50</sub> değeri optimum 72. saatte 12,70 µg/mL olarak saptanmıştır. *T. versicolor* ATCC 200801'in K562 hücrelerindeki kaspaz-3 aktivitesinin 200 µg/mL'ye kadar arttığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise azaldığı gözlenmiştir. *T. versicolor* (H) özütünün uygulanan en düşük konsantrasyonda (10 µg/mL) en yüksek kaspaz-3 aktivitesine sahip olduğu, konsantrasyon artışına bağlı olarak aktivitenin düştüğü tespit edilmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

*T. versicolor* (H) suşunun KML hücreleri üzerinde düşük konsantrasyonlardaki sitotoksik etkisi, aynı fungus türüne ait soyların etkilerinin farklı olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Trametes versicolor*, tıbbi funguslar, sitotoksik etki

**Teşekkür:** İnönü Üniv. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2010/118 no'lu proje ile desteklenmiştir.



## Derin Kültür Koşullarında Üretilen *Mucor* Misellerinin Toplam Fenolik Madde İçeriği

Burcu Atlı<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

<sup>2</sup>Mayasan Gıda, Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarı, İstanbul

[burcuatli2006@gmail.com](mailto:burcuatli2006@gmail.com)

### Giriş

*Mucor miehei*, süt pıhtılaştırıcı enzim (rennet) olarak bilinen asit proteaz enziminin ticari fungal kaynaklarından biridir. Süt endüstrinde, süt pıhtılaştırma aktivitesinin proteolitik etkinliğe oranı, kazein içerisindeki bazı peptid bağlarına özgünlüğü, iyi peynir kalitesi ve verim oranı nedeniyle fungal rennet tercih edilmektedir. Ticari öneme sahip olan *Mucor miehei* aynı zamanda lipaz enziminin de üreticisi olarak yaygın kullanılmaktadır. Bu çalışmada asit proteaz üretimi için derin kültür koşullarında geliştirilen *Mucor* misellerinden elde edilen ekstraktın antioksidant potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Asit proteaz üretimi için gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda arta kalan *Mucor miehei* biyokütlesi homojenize edilerek su ile ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraktın askorbik asit (Vitamin C) konsantrasyonu iyodinli redoks titrasyonu ile, toplam fenolik madde içeriği Folin's Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir.

### Bulgular

*Mucor miehei* ekstraktının toplam fenolik madde içeriği 546.32 mg/100 g gallik asit eşdeğeri (GAE), antioksidant özelliğe sahip askorbik asit konsantrasyonu 1.6 g/100 g olarak bulunmuştur.

### Sonuç ve Tartışma

Bu sonuçlar, enzim endüstrisinin potansiyel atığı olan *Mucor miehei* 'nin ekstraktının ilaç ve kozmetik endüstrisinde biyolojik olarak aktif yeni ürün *Mucor* ekstraktının geliştirilmesi için bir ön basamak oluşturmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Mucor miehei*, fungal rennet, toplam fenolik madde, askorbik asit

## Scopoletin'in Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Lokman Durmaz<sup>1</sup>, İlhami Gülçin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Erzincan Üniversitesi, Çayırılı Meslek Yüksekokulu, Erzincan*

<sup>2</sup>*Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum*

*lokmandurmaz25@gmail.com*

### Giriş

Antioksidanlar, oksidan ürünlerini ortadan kaldırmaz ya da oksidasyonu tamamen engelleyemezler. Çalışmamızda metoksi ve hidroksil grupları içeren Scopoletin fenolik bileşiğinin muhtemel antioksidan ve radikal giderme aktiviteleri değerlendirildi.

### Gereçler ve Yöntemler

Scopoletin 'in antioksidan ve radikal giderme aktivitelerini belirlemek için antioksidan kapasite yöntemleri kullanıldı. Bu amaçla Fe<sup>3+</sup>- Fe<sup>2+</sup> indirgeme kapasitesi, kuprak metodu ile kuprik iyonları (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme kapasitesi, DPPH<sup>+</sup>, ABTS<sup>+</sup>, DMPD<sup>+</sup> radikal giderme, bipiridil reaktifleri ile şelatlama aktiviteleri ayrı ayrı çalışıldı. Ayrıca her metot için BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloks referans antioksidan bileşikler olarak kullanıldı. Scopoletin 'in çalışılan bütün metotlarda kuvvetli antioksidan ve radikal giderme aktivitesi sergiledi.

### Bulgular

Scopoletin bileşiğinin 20  $\mu$ g/mL konsantrasyonlarında birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -Tokoferol ve Troloks ile karşılaştırıldığında Fe<sup>3+</sup> indirgeme kuvveti 0,395 iken ve Cu<sup>2+</sup> metotlarına göre indirgeme kuvveti 0,295'dir. Scopoletin bileşiğinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT,  $\alpha$ -Tokoferol ve Troloks ile karşılaştırıldığında DPPH<sup>+</sup>, ABTS<sup>+</sup>, DMPD<sup>+</sup> ve bipiridil metal şelatlama aktivitelerinin IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla: 31.50  $\mu$ M, 26.65  $\mu$ M, 14.14  $\mu$ M, 11.36  $\mu$ M'dir.

### Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen verilere göre Scopoletin, in vitro olarak  $\alpha$ -tokoferol, trolox, BHA, BHT gibi standart antioksidan bileşiklerle karşılaştırıldığında Scopoletin'de yüksek antioksidan aktivite tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** antioksidan, antioksidan aktivite, scopoletin

## **Dna Protection And Antibacterial Activities Of Isatin 3-(n-cyclohexzyl)-thiosemicarbazone Against Different Types Of Bacteria**

Mohamed Abdulhamid Ganim<sup>1</sup>, Yasemin Çelik Altunoğlu<sup>1</sup>, Hakan Sezgin Sayiner<sup>2</sup>, Fatma Kandemirli<sup>3</sup>, Mehmet Cengiz Baloğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu University, Faculty Of Engineering And Architecture, Department Of Genetics And Bioengineering, Kastamonu, Turkey

<sup>2</sup>Adiyaman University, Faculty Of Medicine, Department Of Infectious Diseases, Adiyaman, Turkey

<sup>3</sup>Kastamonu University, Faculty Of Engineering And Architecture, Department Of Biomedical Engineering, Kastamonu, Turkey

[mghanimdvm@yahoo.com](mailto:mghanimdvm@yahoo.com)

### **Giriş**

Researchers have focused on Thiosemicarbazones for more than a decade because of their wide range of area for biological applications such as anti-bacterial, anti-viral, anti-fungal and anti-neoplastic effects. Thiosemicarbazones have different derivatives. One of them is Isatin 3-[(N-cyclohexzyl)-thiosemicarbazone] and abbreviated as I3-[(N-CHX) TSC]. In this study, antibacterial activity against to different types of bacteria and DNA protection property of I3-[(N-CHX) TSC] were examined.

### **Gereçler ve Yöntemler**

I3-[(N-CHX) TSC] is new chemical compound which was synthesized in Kastamonu University laboratories by using the Cyclohexyl isothiocynate, hydrazine monohydrate and Isatin. I3-[(N-CHX) TSC] was dissolved in Dimethyl sulfoxide (DMSO) to obtain a final concentration of 0.4 M. Antibacterial activity was carried out by disk-diffusion method using the Muller Hinton media agar. Sterile paper disks with 5 mm in diameter were loaded by the stock solutions of I3-[(N-CHX) TSC] in antimicrobial activity experiments. The DNA protection assay was performed using pUC19 plasmid. Two concentrations of 0.0165 and 0.102 M of I3-[(N-CHX) TSC] and Fenton's reagent (30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 50 mM ascorbic acid, and 80 mM FeCl<sub>3</sub>) were utilized for the DNA protection analysis. The DNA mixtures were run on 1% agarose gel and then visualized under ultraviolet light cabin. The test was repeated at three times and band density was determined by the gel image analysis software.

### **Bulgular**

Different types of gram positive and negative bacteria strains were used. The I3-[(N-CHX) TSC] showed antibacterial activity against 42.9% of total 21 selected bacteria strains. *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus*, *S. alfa haemolyticus*, *E. faecium*, *S. aureus* ATCC 43300, *S. pneumoniae* ATCC 10015, *S. lutea* ATCC 9341, *E. faecalis* were influenced ones. The only gram-negative bacteria affected from I3-[(N-CHX) TSC] was *Y. enterocolitica* ATCC 1501. The inhibition zones of the affected bacteria were ranged between 6 to 12 mm in diameter. I3-[(N-CHX) TSC] had a capacity to inhibit the DNA damage arisen from Fenton's reagent. The highest DNA protective activity was observed in concentration of 0.102 M of I3-[(N-CHX) TSC] which gave 25% of protection.

### **Sonuç ve Tartışma**

The most obvious finding is that I3-[(N-CHX) TSC] had good effect on the gram-positive bacteria and high DNA protection property. After *in vivo* studies, I3-[(N-CHX) TSC] may replace antibiotics which have a resistance against those types of bacteria.

**Anahtar Kelimeler:** 3-(N-cyclohexzyl)-thiosemicarbazone, antimicrobial activity, DNA interaction

**Teşekkür:** This study was supported by Kastamonu University Scientific Project Research Office (KÜBAP-01/2016-40)

## Uçucu Yağ Nanoemülsiyonlarının Antibakteriyel ve Antienflamatuvar Etkinliklerinin İncelenmesi

Nursenem Karaca<sup>1</sup>, Betül Demirci<sup>2</sup>, Fatih Demirci<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Farmakognozi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir

<sup>2</sup>Farmakognozi Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir

<sup>3</sup>Farmakognozi Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir

[fdemirci@anadolu.edu.tr](mailto:fdemirci@anadolu.edu.tr)

### Giriş

Sinüzit gibi üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) hastalıklarında antibiyotiklere dirençli suşların ortaya çıkması ve sentetik ilaçların yan etkilerinin çok olması gibi faktörler doğal kaynaklı ilaçların kullanımlarının önemini artırmıştır. Uçucu yağlar antimikrobiyal, antienflamatuvar ve antioksidan gibi etkileri iyi bilinen sekonder metabolitlerdir. Bu çalışmada halk arasında da çeşitli amaçlarla kullanılan *Rosmarinus officinalis* L. uçucu yağının, temel bileşenlerinin, fraksiyonlarının ve nanoemülsiyon formlarının antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkinliklerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

### Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Avrupa Farmakopesi kalitesindeki *R. officinalis* uçucu yağı hammadde olarak kullanılmıştır. Uçucu yağ flash kolon kromatografisiyle sırasıyla n-hekzan, dietil eter ve metanol kullanılarak fraksiyonlanmıştır. Uçucu yağın ve fraksiyonların kimyasal içeriği ve kalitesi GK-AİD (Gaz kromatografisi-Alev iyonizasyon detektörü), GK/KS (Gaz kromatografisi/Kütle spektrometrisi) ve İTK (ince tabaka kromatografisi) yöntemleriyle teyit edilmiştir. Ham yağ ve diğer fraksiyonlar farklı yöntemler kullanılarak nanoemülsiyon halinde getirilmiştir. Numunelerin in vitro antibakteriyel etkileri üst solunum yolları hastalıklarına neden olan Gram-pozitif ve Gram-negatif standart suşlara karşı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır. In vivo iritan ve antienflamatuvar etkileri tavuk embriyosu koryoallantoik membranında (CAM) sodyum dodesil sülfat (SDS) ile karşılaştırılarak yapılmıştır. In vitro antienflamatuvar etkiler ise 5-lipoksigenaz (LOX) enzimi inhibisyonu ile gerçekleştirilmiştir.

### Bulgular

Uçucu yağın temel bileşenleri 1,8-sineol (%47.4), kafur (%15.2) ve  $\alpha$ -pinen (%12.0) olarak belirlenmiştir. %91,17 verimle fraksiyonlanan uçucu yağın n-hekzan fraksiyonunun temel bileşenleri  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen ve  $\beta$ -karyofilen; dietil eter fraksiyonunun temel bileşenleri 1,8-sineol ve kafur; metanol fraksiyonunun temel bileşeni ise karvon olarak tespit edilmiştir. Antimikrobiyal etki numunelerin 1.25-5 mg/mL konsantrasyon aralığında belirlenmiştir. Uçucu yağ (100  $\mu$ g/mL) %23,25  $\pm$  2,11 LOX inhibisyonu gösterirken yağın dietil eter fraksiyonu %89,91  $\pm$  0,22 enzim inhibisyonu göstermiştir. 250-500  $\mu$ g/pellet konsantrasyonda in vivo antienflamatuvar ve iritan etki gözlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

ÜSYE'da biberiye yağının ve nanoemülsiyon fraksiyonlarının etkin olabileceği ön görülmektedir. Bu nedenle uçucu yağın düşük konsantrasyonlarının kullanılabilmesi farklı maddelerle kombinasyon çalışmalarıyla sinerjik etki çalışmaları sürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** uçucu yağ, *Rosmarinus officinalis*, nanoemülsiyon, antibakteriyel, CAM, LOX

**Teşekkür:** Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP 1604S160) tarafından desteklenmiştir.

## **Cd133(+) Beyin Tümörü Başlatıcı Hücrelerde (btb) Elk1 ve Mitotik Kinazların Etkileşimi**

Oya Arı Uyar<sup>2,4</sup>, Melis Savaşan Söğüt<sup>1,2</sup>, Bayram Yılmaz<sup>3</sup>, Işıl Aksan Kurnaz<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli, Türkiye

<sup>2</sup>Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fizyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli, Türkiye

[oyaari@outlook.com](mailto:oyaari@outlook.com)

### **Giriş**

Beyin tümörleri, özellikle nöroblastomlar ve glioblastomlar, beyin dokusunu oldukça hızlı bir şekilde işgal ederler ve ilerleyen aşamalarda aşırı çoğalarak tedaviye direnç gösterebilirler. Ets benzeri transkripsiyon faktörü 1 (Elk1) hücrelerin apoptozdan korunması, apoptoz ile ilişkili genlerin baskılanması ile hücrelerin hayatta kalmasına aracılık etmesi ve Akt'ye bağlı fosforilasyonunun glioblastoma hücrelerinin proliferasyonunda rol oynamasıyla hücrenin sağkalm-ölüm dengesinde rol oynar. Mitotik kinazlar, Aurora kinazlar, Polo benzeri kinazlar (Plk) ve Siklin bağımlı kinazlar (Cdk), mitozun temel düzenleyici proteinleridir ve bu kinazların normal aktivitelerinde meydana gelen aksaklıkların kanser oluşumunu tetiklediği bilinmektedir.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışmamızın amacı, CD133(+) beyin tümörü başlatıcı (BTB) hücre izolasyonu sonrasında elde edilen tümörkürelerde çeşitli nöroblastom ve glioblastom hücre hatlarında var olduğu gösterilen Elk1 ve mitotik kinazlar arasında etkileşimin varlığının belirlenmesi ve buna karşı ilaç tarama platformu geliştirmektir. Manyetik boncuklar kullanılarak izole edilen CD133(+) hücreler, büyüme faktörü içeren ortamda büyütülerek tümörküre oluşturulduktan sonra Aurora A, Plk1 ve Cdk1 mitotik kinazları ve bu kinazların kinaz-aktif ve kinaz-inaktif formları ile transfekte edilmiştir. Elk1 ve bu kinazlar arası etkileşim immün çöktürme ve western blotlama gibi moleküler teknikler kullanılarak analiz edilmiştir.

### **Bulgular**

CD133(+) manyetik boncuklar ile izole edilen beyin tümörü başlatıcı hücreler, bFGF ve EGF büyüme faktörlerini içeren besiyeri ile desteklendiğinde hücrelerin farklılaşması engellenerek tümörküre oluşturması sağlandı. Oluşturulan tümörkürelerde Elk1 aşırı anlatımı sağlandığında mitotik kinazların anlatımında görülen değişim, mitozun farklı aşamalarında Elk1 ile mitotik kinazların etkileşim içerisinde olduğunu belirtmektedir. Dolayısıyla, beyin tümör hücrelerindeki benzer şekilde CD133(+) BTB hücrelerinde de etkileşim mevcuttur.

### **Sonuç ve Tartışma**

Devam eden çalışmalarda, bu etkileşimin beyin tümörlerinin oluşumu ve proliferasyonu üzerindeki etkisinin analizi ve bu etkileşimi durdurucu ilaç geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** mitotik kinaz, CDK, aurora, Plk, CD133, beyin tümörü başlatıcı hücre

**Teşekkür:** Bu çalışma, TÜBİTAK 1001 115Z344 ve TÜBİTAK COST 115Z804 projeleri ile desteklenmiştir.

## Metastatik Meme Kanserinde Mmp-9 İnhibisyonu Üzerinde Doksuribisin-kaempferol Kombinasyonun Rolü

Özgenur Kayaalp<sup>1</sup>, Hande Güner<sup>1</sup>, Emilia Ekenel<sup>1</sup>, Emel Ergene<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

[ozgenurkayaalp@gmail.com](mailto:ozgenurkayaalp@gmail.com)

### Giriş

Meme epitel hücrelerinde homeostatik mekanizmaların bozulmasıyla, meme kanseri riski ortaya çıkar. Günümüzde, biyoteknolojik ilaç geliştirme gibi yöntemlerle, kanserin metastazının engellenmesi amaçlanmaktadır. Kanser gelişiminde rol alan en önemli proteinaz alt sınıfı matris metalloproteinazlar (MMP's)'dir. Kanser tedavisi amaçlı çalışmalarda Doksuribisin ve Kaempferol kullanıldığı bilinmektedir. Doksuribisin, hücre döngüsü kontrolündeki protein ekspresyonlarını baskılayan bir ajan olarak kullanılırken, Kaempferol, MMP ailesinden MMP-9'un transkripsiyonunu baskılayıcı özelliği açısından kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Doksuribisin, Kaempferol ve kombinasyonlarının sitotoksik aktiviteleri ve MMP-9 ekspresyonu üzerine etkileri incelenmiştir.

### Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda, meme tümör hücrelerinden elde edilmiş MDA-MB-231 hücre hattı, %10 FBS-RPMI-1640 içinde, 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda kültür edilmiştir. Hücrelere farklı dozlarda Doksuribisin, Kaempferol ve Doksuribisin-Kaempferol 24, 48, 72 saatlerinde uygulanmıştır. MTT formazan testi ve Nötral Kırmızısı alım testi ile sitotoksik aktivite belirlenmiştir. Veriler bağımlı gruplar için Two-Way ANAVO testi ile istatistiksel olarak analiz edilmiş, yapılan test istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Belirgin olarak gözlenen değişimler  $p < 0,05$  “\*\*”,  $p < 0,01$  “\*\*\*”,  $p < 0,001$  “\*\*\*\*” ile gösterilmiştir. IC<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir. IC<sub>50</sub> değerlerinden düşük konantrasyonlar 48 saat süreyle Western Blot deneylerinde çalışılmıştır. Proteinlerin miktarları, Qubit® 3.0 Fluorometer cihazı ile belirlenmiştir.

### Bulgular

MDA-MB-231 hücrelerinin İverted mikroskopik incelemelerinde, 48 saatte hücresel hasar ve ölüm oranının arttığı morfolojik olarak gözlenmiştir. Sitotoksite sonuçlarında, 48 saatlik IC<sub>50</sub> değerleri; Doksuribisin için 0,5 µM Doksuribisin, Kaempferol için 75 µM, Doksuribisin-Kaempferol kombinasyonu için 0,5 µM Doksuribisin-75 µM Kaempferol olarak belirlenmiştir. Ayrıca, İnvaziv metastatik meme kanseri hücrelerinde ifadesi arttığı belirlenen ve literatürle de desteklenen MMP-9 proteininin ekspresyonu Doksuribisin, Kaempferol ve kombinasyonları uygulandığında değişen oranlarda baskılanmış olup; Kaempferol'ün tek başına uygulandığı hücrelerde MMP-9 protein ekspresyonu daha düşük seviyelerde belirlenmiştir.

### Sonuç ve Tartışma

MMP-9 proteininin ekspresyonunun baskılanmasıyla metastazın engellenmesinde antitümör ilaç olarak ve ayrıca, Doksuribisin'in toksik etkilerinin azaltılması ve tedavi başarısının artırılmasında Kaempferol'ün de kullanılabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** meme kanseri, biyoteknoloji, MMP-9, doksuribisin, kaempferol

**Teşekkür:** Bu çalışmaya destek veren TÜBİTAK ve ANADOLU ÜNİVERSİTESİ BAP Komisyonuna Teşekkür ederim.

## **5rp7 Hücrelerinde Nükleer Reseptör Alt Ailesinden Nr5a2 İfadesinin Varlığının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi**

**Sedat Kaçar<sup>1</sup>, Varol Şahintürk<sup>1</sup>, Hatice Mehtap Kutlu<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

<sup>2</sup>*Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

[skacar@ogu.edu.tr](mailto:skacar@ogu.edu.tr)

### **Giriş**

NR5A2 veya diğer adıyla karaciğer reseptör homologu 1 hücre içi transkripsiyon faktörlerinin bir üyesidir. Gelişimsel regülasyon, kolesterol taşınması, safra asidi homeostazı ve steroidogeneizde rol almaktadır. 5RP7 hücreleri embriyodan elde edilmiş fibroblast hücreleridir. NR5A2 proteinin 5RP7 hücrelerinde ifadesi ve yerleşimi hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmamızda NR5A2 proteinin 5RP7 hücrelerinde ifadesinin olup olmadığını ve varsa lokalizasyonunu immünohistokimyasal olarak incelemeyi amaçladık.

### **Gereçler ve Yöntemler**

5RP7 hücreleri Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan temin edildi. 5RP7 hücreleri 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde RPMI-1640 besiyeri ile yaşatıldı. Hücre besiyerleri gerektiğinde düzenli olarak değiştirildi. Yeterli derecede konfluent olan 5RP7 hücreleri lamlara yayılarak %96'lık etil alkolle fikse edildi. 10 mM sitratla antijen geri kazanımı yapıldıktan sonra % 3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile hidrojen peoksidazlar inaktive edildi. Daha sonra bir gece 4 °C'de primer antikorda bekletildi. HRP'li sekonder antikor inkübasyonundan sonra kromojen olarak DAB eklendi. Son olarak örnekler yükselen etil alkol serilerinden geçirildi, ksilende tutuldu ve lamalar kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi.

### **Bulgular**

İncelemelerimiz sonucunda 5RP7 hücrelerinde NRF5A2 antikoruyla pozitif boyanma gözlenmedi.

### **Sonuç ve Tartışma**

Sonuç olarak NRF5A2'nin 5RP7 hücrelerinde ifade edilmemesi nedeniyle bu hücreler üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı düşünülebilir. Daha ayrıntılı moleküler çalışmalarla bu ilişkinin araştırılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** 5RP7, NRF5A2, immünohistokimya

## **Chlorpyrifos-ethyl ve Gülsuyu Uygulamalarının Sıçan Böbrek Dokuları Malondialdehit (mda) Seviyeleri Üzerine Etkisi**

Serdal Ögüt<sup>1</sup>, Murat Arı<sup>2</sup>, Ömer Erdoğan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi*

<sup>2</sup>*Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi*

[serdal.ogut@adu.edu.tr](mailto:serdal.ogut@adu.edu.tr)

### **Giriş**

Pestisitler; zirai mücadele araştırma ve uygulamalarında kullanılan her türlü zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak ya da zararlarını azaltmak amacıyla kullanılmakta ve hedef olmayan canlılar üzerinde toksik etkiye neden olabilmektedir. Klorprifos-etil (KE), tarım, orman ve bahçe zararlılarına karşı yaygın şekilde kullanılan bir organofosfatlı pestisittir. KE, tarım alanında ve evlerde yaygın kullanılan bir insektisit olması nedeniyle insan ve hayvanların sıkça maruz kaldığı önemli bir insektisittir. Bu çalışmada, KE uygulaması yapılan sıçanlarda gülsuyu uygulamalarının böbrek dokularında malondialdehit (MDA) seviyeleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Araştırmada hayvan materyali olarak 250-300 gram, 8-12 aylık, erkek 32 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Hayvanlar 30x55x35 cm boyutundaki çelik sıçan kafeslerinde barındırıldı. Sıçanlar rasgele dört gruba ayrıldı. I. Grup: kontrol grubu, II.Grup: Klorprifos-etil (KE) grubu, III.grup: Gülsuyu grubu, IV.grup: KE + gülsuyu grubu. Deney gruplarına her gün aynı saatte ilgili maddeler gavaj ile verildi. Doku lipit peroksidasyon düzeyleri Uchiama ve Mihara yöntemiyle doku homejenatında tiyobarbitrik asit reaktif substans (TBARS) konsantrasyonları ölçülerek saptandı. Çalışmada, sıçanlarda gruplar arası biyokimyasal ve hematolojik parametrelerin değerlendirilmesinde non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

### **Bulgular**

MDA (nmol/gprotein) Kontrol grubu  $237 \pm 11.8$  Klorprifos-etil (KE) grubu  $511 \pm 32.7$  Gülsuyu grubu  $204 \pm 10.9$  KE + gülsuyu grubu  $384 \pm 24.7$  . Sonuçlar değerlendirildiğinde KE verilen grupta gülsuyu uygulamasının böbrek dokusu MDA değerlerinde anlamlı azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Araştırma sonuçlarına göre böbrek dokusunda oksidan gösterge MDA'nın KE grubuna göre KE + gülsuyu grubunda anlamlı düştüğünü belirledik. yine tek başına gülsuyu uygulanan grupta tüm gruplara göre MDA anlamlı seviyede düşük bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** böbrek dokusu, gülsuyu, klorprifos-etil (KE), malondialdehit (MDA) , sıçan

**Teşekkür:** Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birim'ne teşekkür ederim.



## **Silika Nanoparçacık Kullanarak $\beta$ Talasemi Nokta Mutasyonu Tespiti**

Samet Uçak<sup>1</sup>, Meltem Ercan<sup>1</sup>, Bilge Güvenç Tuna<sup>2</sup>, Yasemin Yücel Yücel<sup>3</sup>, Veli Cengiz Özalp<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Altınbaş Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>Altınbaş Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Konya

[samet.ucak@altinbas.edu.tr](mailto:samet.ucak@altinbas.edu.tr)

### **Giriş**

$\beta$ -talasemi, anemiye yol açabilen kalıtsal bir kan hastalığıdır. Hastalığın nedeni, beta hemoglobin adı verilen alt birimlerden birini üreten hemoglobin (HBB) geninde mutasyon (lar) olduğu bilinmektedir. HBB genindeki mutasyonlar, anormal hemoglobin protein yapısına ve dolayısıyla oksijen taşıma kapasitesine yol açan beta-hemoglobin üretimini azaltabilir veya yok edebilir. Bu nedenle, kandaki az sayıda kırmızı kan hücresi, kişinin hemoglobin üretme yeteneği ile ilişkili anemi komplikasyonlarına neden olur.

### **Gereçler ve Yöntemler**

Çalışmadaki amacımız, IVS-110 olarak adlandırılan ve model mutasyon dizisi olarak kullanılan,  $\beta$ -Talasemi'nin tek bir nükleotid mutasyonunu belirlemek için taşınabilir ve hızlı bir deney sistemi geliştirmektir. Testin prensibi, esnek tek sarmal veya çift sarmal formlarına bağlı olarak DNA yapısında değişikliklerine dayanır. Silika nanopartiküllerinin (MCM-41) karakterizasyonu, AFM analizi, TEM analizi, DLS analizi ve FTIR analizi kullanılarak yapılmıştır. Mutasyona uğramış bölgenin tek sarmal parçasını elde etmek için genomik DNA PCR ile amplifiye edilmiştir. Salınım deneyleri yapılarak IVS-110 mutasyon tespiti deneyleri yapılmıştır.

### **Bulgular**

AFM analizi, TEM analizi, DLS analizi ve FTIR analizi sonuçlarına göre, silika nanopartiküllerinin (MCM-41) karakterizasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Yapılan salınım deneylerine göre,  $\beta$ -talasemi hastalarından alınan numuneler, normal bireylerden alınan numunelerle karşılaştırıldığında,  $\beta$ -talasemi hastalarından alınan sinyal anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. IVS-110 mutasyonuna uğramış  $\beta$ -talasemi hastalarından ve normal kişilerden alınan numunelere, geliştirdiğimiz metodu uyguladığımızda istatistiksel olarak önemli farklar gözlenmiştir.

### **Sonuç ve Tartışma**

Hassasiyet, hızlilik, doğruluk avantajlarına sahip olan, nanopartiküllere dayalı analiz; mutasyon tespiti için yeni bir platformdur. Bu amaç doğrultusunda, nanopartikül teknolojisi ile tanısal yöntemlerin gelişimine büyük ölçüde katkı sağlanacaktır.

**Anahtar Kelimeler:**  $\beta$ -Talasemi, silika nanopartikülü, IVS-110



## KURUMSAL SPONSORLAR



## ALTIN SPONSORLAR



**BİLİMMED**

## GÜMÜŞ SPONSORLAR



## BRONZ SPONSORLAR



## MEDYA SPONSORLARI



1-3 ARALIK 2017  
ESKİŞEHİR

