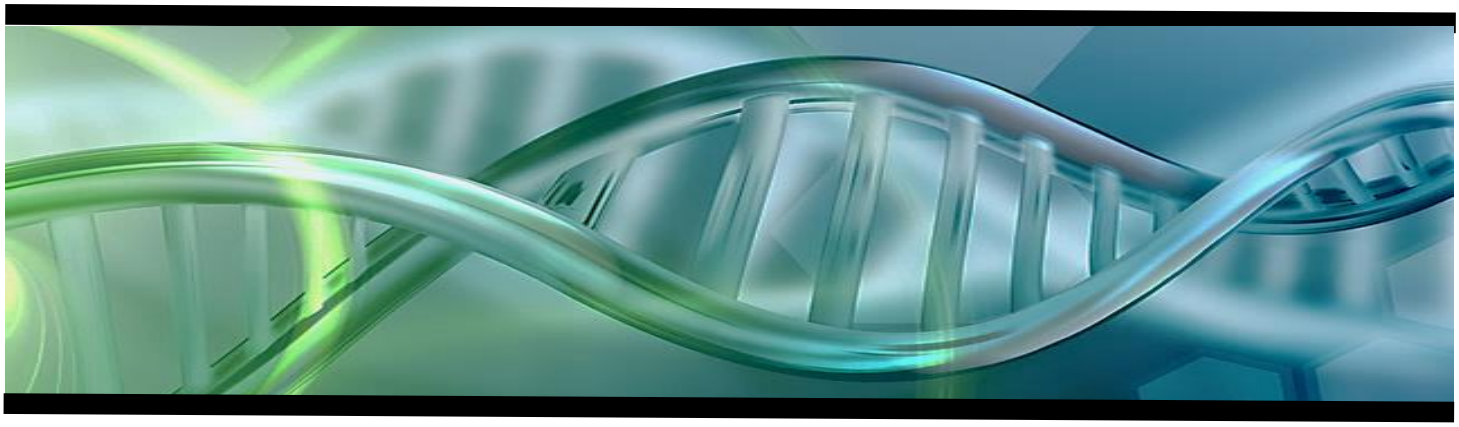
BİYOTEKNOLOJİ DERNEĞİ
1986
BIOTECHNOLOGY ASSOCIATION

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

20. BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

10-12 Ekim 2019
ANKARA



BİLDİRİLER KİTABI

Bu etkinlik 2223-B-TÜBİTAK Yurt İçi Ulusal Etkinlik Düzenleme Desteği kapsamında desteklenmektedir.

20.
ULUSLARARASI KATILIMLI
BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

BİLDİRİLER KİTABI

www.biyoteknoloji.org.tr

www.biyoteknolojikongre.com

10-12 Ekim 2019, ANKARA

Kongremizi destekleyen tüm kuruluşlara teşekkürlerimizi sunarız

İÇİNDEKİLER

Düzenleme Kurulu……...II

Bilim Kurulu……...III

Davetli Konuşmacı Bildirileri…….…..1-8

Biyomühendislik…….……..9

Sözlü Sunumlar……10-16

Poster Sunumlar……...17-21

Çevre Biyoteknolojisi……..22

Sözlü Sunumlar……23-26

Poster Sunumlar……...27-32

Endüstriyel Biyoteknoloji……...33

Sözlü Sunumlar……34-41

Poster Sunumlar……...42-43

Gıda Biyoteknolojisi……45

Sözlü Sunumlar…….……...46-52

Poster Sunumlar……...53-58

Hayvansal Biyoteknoloji……60

Sözlü Sunumlar……61-62

Poster Sunumlar……63

Nanobiyoteknoloji……...64

Sözlü Sunumlar……65-69

Poster Sunumlar……...70-73

Tarımsal Biyoteknoloji……...74

Sözlü Sunumlar…….……...75-85

Poster Sunumlar. …….86-91

Tıbbi Biyoteknoloji…….93

Sözlü Sunumlar…… …..……...94-106

Poster Sunumlar……...107-113

20.
ULUSLARARASI KATILIMLI
BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ

10-12 Ekim 2019, ANKARA

Onur Kurulu

Prof. Dr. Mehmet HABERAL	Başkent Üniversitesi Kurucusu ve Yönetim Üst Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Ali HABERAL	Başkent Üniversitesi Rektörü

Düzenleme Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Hüseyin Avni Öktem	Orta Doğu Teknik Üniversitesi

Düzenleme Kurulu Üyeleri

Prof. Dr. Cumhur Çökmüş	Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi
Prof. Dr. Füsun Eyidoğan	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Ahmet Çabuk	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Prof. Dr. Özlem Darcansoy İşeri	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Erkan Yurtcu	Başkent Üniversitesi
Doç. Dr. Remziye Yılmaz	Hacettepe Üniversitesi
Doç. Dr. Mehmet Cengiz Baloğlu	Kastamonu Üniversitesi
Dr. Oğuz Balcı	Başkent Üniversitesi
Gökhan Güngör	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Aliye Ezgi Güleç	Başkent Üniversitesi
Ege Soydemir	Başkent Üniversitesi

BİLİM KURULU

Prof. Dr. A. Kadir Halkman

Prof. Dr. Adnan Ayhancı

Prof. Dr. Ahmet Çabuk

Prof. Dr. Ahu Altunkut Uncuoğlu

Prof. Dr. Aykut Özkul

Prof. Dr. Aysel Uğur

Prof. Dr. Cengizhan Öztürk

Prof. Dr. Cesare Montecucco

Prof. Dr. Cumhur Çökmüş

Prof. Dr. Edgar Dantan Gonzales

Prof. Dr. Ekrem Gürel

Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş

Prof. Dr. Emir Cansunar

Prof. Dr. Erhan Pişkin

Prof. Dr. Erkan Yurtçu

Prof. Dr. Fatih Demirci

Prof. Dr. Fazilet Vardar Sükan

Prof. Dr. Fikrettin Şahin

Prof. Dr. Füsun Eyidoğan

Prof. Dr. Gamze Torun Köse

Prof. Dr. Gerardo Corzo

Prof. Dr. Gülay Özcengiz

Prof. Dr. Güven Özdemir

Prof. Dr. Hakan Yardımcı

Prof. Dr. Haluk Hamamcı

Prof. Dr. Haralambos Stamatis

Prof. Dr. Hilal Özdağ

Prof. Dr. Hüseyin Avni Öktem

Prof. Dr. İhsan Gürsel

Prof. Dr. İsmail Karaboz

Prof. Dr. İsmail Türkan

Prof. Dr. Kıymet Güven

Prof. Dr. Mehmet Akan

Prof. Dr. Mehmet Yakup Arıca

Prof. Dr. Melek Özkan

Prof. Dr. Meral Özgüç

Prof. Dr. Meral Yüce

Prof. Dr. Mithat Bozdayı

Prof. Dr. Mustafa Akçelik

Prof. Dr. Nazif Kolankaya

Prof. Dr. Necdet Sağlam

Prof. Dr. Nefise Özlen Şahin

Prof. Dr. Nermin Gözükırmızı

Prof. Dr. Neşe Kırımer

Prof. Dr. Nezih Hekim

Prof. Dr. Nilüfer Aksöz

Prof. Dr. Özfer Yeşilada

Prof. Dr. Özlem Darcansoy İşeri

Prof. Dr. Sedef Tunca Gedik

Prof. Dr. Semra İlhan

Prof. Dr. Semra Mirici

Prof. Dr. Sezen Arat

Prof. Dr. Ş. Şebnem Ellialtıoğlu

Prof. Dr. Şule Arı

Prof. Dr. Ufuk Bakır

Prof. Dr. Vasıf Nejat Hasırcı

Prof. Dr. Yavuz Beyatlı

Prof. Dr. Zümrüt Begüm Ögel

Doç. Dr. Belgin Karabacakoğlu

Doç. Dr. Bülent İçgen

Doç. Dr. Didem Turgut Coşan

Doç. Dr. Macid Nurbaş

Doç. Dr. Mehmet Cengiz Baloğlu

Doç. Dr. Remziye Yılmaz

Doç. Dr. Veli Cengiz Özalp

Doç. Dr. Yelda Özden Çiftçi

Yrd. Doç. Dr. Abdullah Tahir Bayraç

Yrd. Doç. Dr. Ceren Bayraç

Dr. Blanca Ines Garcia Gomez

Dr. Laszlo M. Szabados

*Kurul üyeleri alfabetik sıraya göre sıralanmıştır.

DAVETLİ KONUŞMACI BİLDİRİLERİ

From Gene Editing to Bacterial Sensors: Fluorescence Imaging as a Versatile Tool

Ferhan Ayaydın

Cellular Imaging Laboratory, Biological Research Centre, 6726-Szeged, Hungary
ayaydin.ferhan@brc.hu

Fluorescence imaging is an indispensable tool in biology, and it is used in various fields ranging from cancer research and protein mobility to plant biotechnology and bacterial sensors. Development of novel fluorochromes and new approaches in fluorescence imaging in combination with advanced microscopy techniques allow us to analyze molecules, cells, tissues, organs and whole organisms in great detail. Three specific applications of fluorescence imaging will be presented here involving mammalian cells, plants and bacteria.

Discovery of novel fluorescent dyes for mammalian cell imaging

With the emergence and advance of new fluorescence imaging techniques and equipment, there is an increasing need to discover new fluorochromes with novel characteristics. We have developed a combined approach of small molecule microarray prescreening and confocal laser scanning microscopy imaging in order to discover novel fluorescent dyes to label intracellular organelles in mammalian cells. More than 14000 randomly synthesized small molecules were prescreened for autofluorescence using microarray scanner and the selected chemicals possessing fluorescence emission were further tested on live human cervical carcinoma cells under fluorescence confocal microscope. Eleven compartment-specific and cell-permeable fluorochromes were identified. They were tested for cytotoxicity and found to be non-toxic at micromolar concentrations even during long-term incubations.

High efficiency oligonucleotide-directed gene editing in plants

Targeted genome editing has been developed as an alternative to classical mutation breeding and transgenic (GMO) methods to improve crop plants. The oligonucleotide directed mutagenesis using single stranded DNA oligonucleotides attracts special attention for use in both basic science and plant biotechnology. One major limitation of this technique is the low frequency of gene editing events. Using a mutant version of green fluorescent protein and chromatin modifying agents, we have achieved significantly increased frequency of targeted nucleotide exchange in cultured maize cells. We predict that our results will facilitate the use and applicability of this new gene editing technique which in turn may lead to crops with improved characteristics without the introduction of foreign DNA sequences.

Development of an imaging platform for drone-assisted toxicity monitoring using fluorescent bacteria

Air pollution is one of the main problems of progressively crowded cities. Therefore, the need for continuous monitoring of air quality is becoming increasingly important. In our recently initiated Turkish-Hungarian joint project, our aim is to demonstrate the possibility of using fluorescent biosensor bacteria arrays for in-flight monitoring of toxic industrial chemicals using a drone-integrated portable fluorescence imaging system. We have tested several gelling media and medium components for low autofluorescence and optimized a medium suitable for high contrast fluorescence imaging of bacteria. We have tested various fluorescent *E. coli* strains to optimize the experimental setup for detection of bacterial fluorescence and developed a compact, mobile phone-based fluorescence imaging setup as a prototype suitable for drone integration.

Acknowledgements: Presented work was supported by the following grants: Hungarian National Research, Development and Innovation Office NNE 129987, K116318, GINOP-2.3.2-15-2016-00001.

The Use and Benefits of Global Infrastructures of Siemens Healthineers Innovation Think Tank to Address Healthcare Needs

Sultan Haider
Founder and global head of Siemens Healthineers Innovation Think Tank

Siemens Healthcare GmbH, Henkestr. 127, 91052 Erlangen, Germany

Using Python Programming for Devising Predictive models and Analytics in Healthcare

Bekim Fetaji[1]

[1]*University Mother Teresa, Faculty of Informatics, Skopje, Macedonia*

The early diagnosis of any illness can improve the prognosis and chance of survival significantly, as it can promote timely clinical treatment to patients. This analysis aims to observe which features are most helpful in predicting illnesses by focusing in general trends that may aid us in model selection and hyper parameter selection. Classification and data mining methods are an effective way to classify data. Especially in medical field, where those methods are widely used in diagnosis and analysis to make decisions. Because of its unique advantages in critical features detection from complex datasets, using programming in python with machine learning (ML) is widely recognized as the methodology of choice in forecast modeling. The goal of this analysis is to see two practical applications in classifying whether the patient has predisposition to develop diabetes type 2. Also, discussion how this prediction model can be used for a certain case the breast cancer is benign or malignant. Accurate classification of benign tumors can prevent patients undergoing unnecessary treatments. Currently breast cancer (BC) is very widely researched topic. The correct diagnosis of BC and classification of patients into malignant or benign groups is the subject of many research projects. Insights and recommendations are provided.

Doku ve Organ Üretiminde 3B ve 4B Biyobaskılama

Pınar YILGÖR HURİ[1]

[1]*Ankara University, Facukty of Engineering, Faculty of Engineering, Biomedical Engineering Department, Gölbaşı 50.Year Campus, Bahçelievler Street, K Blok Gölbaşı/ANKARA*

Tissue engineering is an emerging research field with the hope to produce novel therapy options using biomaterials and autologous cells. The joint use of tissue engineering principles with the developments in 3D bioprinting technology possess the potential to produce custom-made tissues and organs in the laboratory. Along with providing perfect anatomical fit, 3D bioprinting holds the promise to produce living and functional human tissues and organs with some pioneering work already translated into the clinic. Recently, 4D bioprinting emerged as a new therapeutic tool for the preparation of stimuli responsive custom-made engineered tissues. Our experience with 3D printing polycaprolactone (PCL) scaffolds and consequent in vitro and in vivo studies have shown that scaffold internal architecture as well as functionalization with mesenchymal stem cells and nanoparticulate controlled growth factor delivery system holds great promise in the regeneration of bone tissue. This talk will give brief information about this experience as well as the biomimetic strategies we have developed to engineer functional skeletal muscle constructs.

Kolorektal Kanserde Teranostik Biyobelirteçler

Hilal Özdağ[1]

[1]*Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara*

Kolorektal kanser dünyada en sık gözlenen 4. ve ülkemizde ise 3. kanser tipidir. Erken teşhis edildiğinde tedavi edilebilir bir hastalık olan kolorektal kanserin (KRK) mortalitesi dünya genelinde azalırken Güney Amerika ve Türkiye'de mortalite artma eğilimi göstermektedir. KRK'nın teşhis, prognoz ve hedefe yönelik tedavisine imkan verecek moleküler belirteçlerin keşfi kolorektal kanser araştırmalarının yoğunlaştığı alanların başında gelmektedir.

KRK'da bugüne dek terapötik olarak kullanılabilen iki biyobelirteç KRAS ve BRAF gen mutasyonları olmuştur. Bunun dışında Oncotype, Coloprint gibi KRK ile ilişkili gen setlerinin ifade profillerini hastalığın rekürensini öngörmek üzere kullanan prognostik biyobelirteçler mevcuttur.

Grubumuzun yürütmüş olduğu KRK araştırma projeleri kapsamında toplanan 50 sporadik KRK vakasının parafine gömülü doku kesitlerinden mikrodisseksiyon ile ayrıştırılan tümör ve normal hücrelerden ayrı ayrı izole edilen RNA üzerinden mikrodizin analizi ile transkriptom profillemesi yapılmıştır. Bu profiller üzerinden elde edilen Farklı olarak İfade edilen Gen (FİG) setleri zenginleşme, ontoloji ve yolak analizlerine tabi tutulduğunda ekstrasellüler matriks genlerinin özellikle ön plana çıktığı tespit edilmiştir. Bulgularımızı doğrulamak üzere GEO (Gene Expression Omnibus) veritabanından muadil bağımsız verisetleri indirilerek paralel analizler tekrar edilmiş ve sonuçlar bulgularımızı teyit etmiştir. İkinci bir doğrulama aşaması tespit edilen FİG'lerin GEO'dan indirilen muadil hasta örneklerinin miRNA verisetleri ile entegrasyonu ile gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak analizlerimiz 5 ekstraselüler matriks geninin yüksek ifade oranının KRK'da hayatta kalım ve nüks ile korelasyon gösterdiğini işaret etmiştir. Çalışmalarımız risk skor analizlerinin yapılması yönünde devam etmektedir.

Doku Mühendisliği ve Uygulama Alanları

Ayşen Tezcaner[1]

[1]ODTÜ Mühendislik Bilimleri Bölümü

Doku mühendisliğinde temel yaklaşım, hasar görmüş ve fonksiyonlarını kaybetmiş doku ve organlarının yerine geçebilecek veya onarımında yardımcı olacak yapıların mühendislik ve yaşam bilimlerin prensiplerini kullanarak laboratuvar ortamında geliştirilmesidir. Bu yaklaşımda doku veya organı en iyi taklit eden iki boyutlu veya üç boyutlu biyomalzeme temelli taşıyıcılar (iskeleler), hücreler ve biyosinyal molekülleri ile biraraya getirilerek fonksiyonel, doku/organ benzeri yapılar oluşturulması hedeflenmektedir. Hücre olarak genellikle immunomodulatör etkisi olduğu bilinen hasta veya donör kaynaklı mezenkimal kök hücreler kullanılmaktadır. Ayrıca kullanımında avantaj ve dezavantajı içinde barındıran uyarılmış pluripotent kök hücreler de hücre kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak, son yıllarda hücre kaynağı yerine rejeneratif ve immunomodulasyon sağlayabilecek mezenkimal kök hücrelerin salgıladığı ekzozomların doku rejenerasyonu için uygulandığı araştırmalar vardır. Doku iskeleleri sentetik veya doğal polimerler, biyoseramikler veya bunların kompozitleri olarak farklı proses teknikleri ile hazırlanmaktadır. Ayrıca insan veya hayvan doku ve organları hücrelerden arındırıldıktan sonra doku taşıyıcısı olarak da kullanılmaktadır. 1993 yılında Langer ve Vacanti bu alanda ilk makalelerini yayınladıktan sonra, moleküler biyoloji, kök hücre biyolojisi gibi alanlarda yapılan yeni buluşlar ve gelişen teknoloji sayesinde doku mühendisliği büyük aşama kaydetmiştir ve gelişmeye de devam etmektedir. Doku mühendisliği ile üretilmiş kıkırdak, deri, kornea, trakea gibi dokuların klinik uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Ancak halen dokuların damarlanması ve vücuda entegre olması ile kompleks organların geliştirilmesinde aşılması gereken birçok zorluk bulunmaktadır. Doku mühendisliği araştırmaları rejeneratif amaç dışında ilaç testlerinin uygulanabileceği veya hastalık mekanizmaların incelenebileceği doku modelleri (deri, kemik iliği, kanser, yağ gibi) geliştirilmesi üzerine de odaklanmaktadır. Bu sayede klinik öncesi hayvan deneylerinin yerine geçebilecek, hızlı analizlerin yapılmasını sağlayabilecek platformlar geliştirilmiş olacaktır. Tüm bu gelişmeler göz önünde bulundurulduğunda yakın gelecekte doku mühendisliği ürünlerinin global pazarda payının daha da artacağına kesin gözüyle bakılmaktadır.

Değişen Ekonomide Biyogirişimci Olmak

Mete Özgürbüz

BMT Calsis Sağlık Tek. San. Tic. AŞ

BİYOMÜHENDİSLİK

Sözlü Sunum

Bakır (II) İyonunun Etiketsiz G-quadrupleks Tabanlı Floresan Metot ile Tespiti

Berke Bilgenur Şener[1], Yasemin Acar[1], Abdullah Tahir Bayraç[1]

[1]*Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Karaman*

bilgenurkandemir@kmu.edu.tr

Giriş

Organizmalar için hayati öneme sahip olan bakır (II) iyonu; optimum konsantrasyonun üstüne çıktığında toksik etki göstermektedir. Bakır (II) iyonunun canlılar ile temasının ilk kaynağı su ekosistemleridir. Bu çalışmada bakır (II) iyonunun su numunelerinde tespiti için, guanince zengin bir DNA dizisi ile Thioflavin T'nin (ThT) G-kuadrupleks (G-q) yapı oluşturmasını temel alan etiketsiz bir algılama sistemi geliştirilmiştir. Floresan moleküler rotor (FMR) özelliğe sahip ThT, G-q DNA dizisi ile etkileşime girerek yüksek floresan özellik gösterir. Ortama eklenen bakır (II)'ın G-q yapılar ile özgün etkileşimi sayesinde ThT salınmakta ve floresan yoğunluğun düşmesiyle bakır (II) iyonlarının hızlı ve hassas bir biçimde tespiti sağlanabilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

G-q DNA dizileriyle kompleks oluşturacak ThT miktarı floresan spektroskopi kullanılarak optimize edilmiştir. Ortama eklenen bakır (II) konsantrasyonunun lineer aralıkları belirlenerek her bir konsatrasyon artışının neden olduğu floresan sönümleme miktarı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler kullanılarak en düşük tespit limiti (LOD) ve en düşük tayin limiti (LOQ) hesaplanmıştır. Farklı 12 iyonla sistemin seçiciliği araştırılmıştır. ThT, bakır (II) ve G-q etkileşimi 3D floresan spektroskopi ve UV-vis spektroskopi kullanılarak analiz edilmiştir. Ortama bakır (II) eklendiği zaman meydana gelen floresan sönümlenmesi floresan görüntüleme cihazı ile görüntülenmiştir. Son olarak bakır (II) iyonunun tespiti bu sistem kullanılarak şehir şebeke sularından tespiti yapılıp referans değerlerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Yapılan floresan ölçümlerine dayanan LOD ve LOQ hesaplamaları sonucu bu değerler sırasıyla 30,7 nM ve 102,5 nM olarak belirlenmiştir. Görüntüleme ve floresan spektrofotometre cihazlarıyla ayrı ayrı yapılan testlerde, ortama eklenen bakır (II) miktarına bağlı floresan sönümlenmesi kanıtlanmıştır ve 0-1 μM arasında lineer bir grafik elde edilmiştir. Bakır (II) iyonunun floresan sönümleme üzerindeki etkisi, diğer iyonlar ortamda kendisinden 10 kat daha fazla iken dahi yüksek seçicilik göstermiştir. UV-vis sonuçları G-q yapının bakır (II) miktarı artışıyla tek zincirli hale geçtiğini göstermiştir. Şebeke sularından yapılan analizlerde, örneklerin %72,49 ile 117,54 aralığında geri kazanım oranına sahip olduğu görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Tasarlanan bu algılama sisteminin bakıra seçici olduğu anlaşılmış ve bu sistem kullanılarak bakır (II) iyonunun özellikle su örneklerinde yüksek hassasiyet ve doğrulukta tespitinin sağlanabileceği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: G-quadrupleks, Thioflavin T, Bakır (II), Floresan moleküler rotor

Sözlü Sunum

Toksoplazmoza Karşı Peptid Aşılarına Dayalı Formülasyonların Etkinliğinin*İn vitro* Çalışmalarda Gösterilmesi

Eslin Üstün[1], Rabia Çakır Koç[1]

[1] *Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye*

ustuneslin@gmail.com

Giriş

Toksoplazma gondii, dünyada ciddi sağlık sorunlarına neden olan bir parazittir. Bu paraziter hastalığın klinik endikasyonu spesifik olmadığı için birçok hastalıkla karışır ve spesifik bir tedavisi bulunmamaktır. Fakat aşı yardımı ile önlenebilmektedir. Son yıllarda parazitlerin yol açtığı hastalıklara karşı polimerlere dayalı aşı çalışmaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni polimere antijenler bağlanarak oluşturulan konjugatların immün cevaplarının diğer aşılama yöntemlerine göre daha yüksek olmasıdır. Bu çalışmanın amacı, toksoplazmoza karşı polimere bağlı peptit aşı üretilmesi ve bu aşı formülasyonun etkinliğinin in vitro çalışmalarda gösterilmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Toksoplazmoza karşı olarak formülasyonunu geliştirdiğimiz aşı polimere bağlı peptit aşıdır. Mikro enkapsülasyon yöntemi ile peptit poli [di(karboksiilatofenoksi) fosfazen] (PCPP) polimerinin içerisine enkapsüle edilmiştir. Bu yöntemde, PCPP polimeri ve peptitinden oluşan sulu çözeltinin içerisine sodyum klorür ilave edilerek koaservatif mikro damlacıklar oluşturulmuştur. Bu mikro damlacıklar, daha sonra eklenen kalsiyum iyonlarının yardımıyla birlikte polimerle çapraz bağlanma yoluyla stabilize edilmiştir. Yöntem, mikro kapsül oluşturmaya olanak sağlamıştır. Elde edilmiş olan mikrokapsüller ZETA, FTIR, SEM gibi spektroskopik yöntemlerle gösterilmiştir.

Bulgular

Zeta yardımı ile üretilmiş olan mikro kapsüllerin boyut analizi yapılmıştır. Boyut aralığının 1 – 10 μm olarak bulunması beklenmektedir. Boyut aralığı 1.3 ile 1.8 μm arasında bulunmuş olup, istenilen boyut elde edilmiştir. Polimerin ve peptitin enkapsüle olmadan önceki boş hallerine ve enkapsüle olduktan sonraki hallerine FTIR yardımıyla bakılmıştır. Enkapsüle olmadan önce 4 adet pik elde edilmiştir. Bu pikler su ve yan gruplara aittir. Enkapsülasyon sonucu 1623 nm ve 3500 nm civarında iki pik elde edilmiştir. Buda yan grupların bağlandığını göstermektedir. 3500 nm' de bulunmuş olan pik suyun vermiş olduğu pik diğer pik ise mikro partiküle ait olan piktir.

Sonuç ve Tartışma

Polimer ve peptitin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş olan enkapsülasyonu sonucunda,toksoplazmoza karşı aşı çalışmalarında kullanılabilmek üzere istenilen boyutlarda mikropartiküller üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Toksoplazmoz, Aşı, Polimer, PCPP, Enkapsülasyon, Mikro partikül

Sözlü Sunum

Patulin Tespiti İçin Grafen Oksit-dna Temelli Floresan Algılama Platformunun Geliştirilmesi

Ceren Bayraç[1,1], Gülnur Camızcı Aran[1,1]

[1]*Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Karaman*

camizci.gulnur@gmail.com

Giriş

Patulin *Penicillum, Aspergillus, Paecilomyces* ve *Byssochlamys* gibi mantarlarının çeşitli türleri tarafından ikincil metabolit olarak üretilen bir mikotoksindir. Immunolojik, nörolojik, karsinojenik ve gastrointestinal gibi birçok sağlık problemine neden olması nedeniyle 2011 yılında 28157 sayılı resmi gazetede yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği"'nde Avrupa Birliğine uyumlu olarak patulin için elma suyunda maksimum limit 50 µg/kg olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada patulin tespiti için grafen oksit (GO)-DNA temeli floresan algılama platformunun geliştirilmesine ait sonuçlar belirtilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada 45 baz uzunluğunda 5' ucu tiyol grubu ve 3'ucu floresan molekül işaretli tek zincir DNA dizisi kullanılmıştır. Patulin çözeltisi fosfat tampon çözeltisi (0.01 M, pH 7.4) kullanılarak hazırlanmış, standart patulin çözeltileri ise stok çözeltinin seyreltilmesiyle elde edilmiştir. Su içerisinde süspanse edilen GO her deney öncesi iki kere yıkanmıştır. DNA'ya ait floresan değerine karşılık konsantrasyona ait standart eğrisi 0,5-1000 ng konsantrasyonları arasında DNA çözeltileri ile belirlenmiştir. DNA'nın GO'ya adsorpsiyonu için DNA/GO kütle oranı (1:100, 1:200, 1:400 ve 1:500), adsorpsiyon süresi (10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dk) ve sıcaklığı (4, 25, 37 ve 50°C) optimize edilmiştir. DNA adsorbe edilen GO platformu ile patılin tespiti floresan değerindeki artış ile belirlenmiştir.

Bulgular

DNA konsantrasyonunun (ng) floresan değerine karşı oluşturulan standart eğrisi y=1,229x + 83,18 (R2=0,999) olarak belirlenmiştir. DNA dizilerinin GO'a adsorpsiyonu için yapılan optimizasyon çalışması sonucu en uygun koşullar 1:400 DNA:GO kütle oranı ve oda sıcaklığında 30 dakika adsorpsiyon süresi olarak belirlenmiştir. DNA'nın GO ile adsorpsiyonu sonucu floresan değerindeki azalma ortama eklenen patulin ile tekrar artış göstermiştir. Farklı konsantrasyonlarda ortama eklenen patulinin tespiti için floresan değerindeki artışa karşı patulin konsantrasyonu standart eğrisi hiperbolik bir eğri olup formulü y=54,52+ 223,4x/(0,014+x) (R2 =0,989) olarak hesaplanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Tiyol ve floresan işaretli DNA'nın GO ile adsorpsiyonuyla floresan özelliğinin baskılanması, patulin eklenmesi ve patulin tiyol bağlanmasıyla DNA adsorpsiyonunun azalarak floresan değerinin artması prensibine dayalı bir platform tasarlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Patulin, Grafen oksit, Adsorpsiyon

Teşekkür: Bu çalışma Karamanoğlu Mehmetbey Üni. Bilimsel Arş. Projeleri (33-M-16) tarafından desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Tek Hücreli Jel Elektroforez Testi Görüntülerinin Otamatik Sınıflandırılması İçin Derin Öğrenme Tabanlı Analiz Algoritması

Aykut Erdamar[1], Mehmet Feyzi Akşahin[1]

[1]*Başkent Üniversitesi*

maksahin@baskent.edu.tr

Giriş

Deoksiribonükleik asidin (DNA) yapısal ve işlevsel bütünlüğü, kalıtsal bilgilerin korunması için oldukça önemlidir. Hücresel metabolizmanın yan ürünleri ile fiziksel veya kimyasal faktörler, kendiliğinden DNA hasarına neden olabilir. Comet analizi olarak da adlandırılan alkalin tek hücreli jel elektroforezi, kimyasal ve fiziksel faktörlerin genotoksik etkilerinin belirlenmesi için kolay ve güvenilir bir yöntemdir.

Gereçler ve Yöntemler

Yöntem, tek bir hücrenin bozulmamış / zarar görmüş DNA'sının ince bir agaroz jeli tabakası üzerinde elektroforetik analizidir. Test sonucunda elde edilen görüntülerin kantitatif analizi rutin olarak uzman bir araştırmacı tarafından manuel olarak gerçekleştirilir. Görsel skorlamada, DNA çekirdeği 0, 1, 2, 3 ve 4 olarak puanlanır. Skorlamanın nesnelliği DNA hasarının belirlenmesi için önemlidir. Manuel değerlendirme araştırmacının mesleki deneyimine bağlı olan zaman alıcı ve yorucu bir iştir. Bu nedenle, değerlendirmenin öznel sonuçları olması muhtemeldir. Bu çalışmada, Comet analizi sonucunda elde edilen görüntülerin otomatik olarak sınıflandırılması amacıyla derin öğrenme tabanlı bir evrişim sinir ağı (ESA) yöntemi önerilmiştir. Çalışmada kullanılan görüntüler meme karsinomu MCF-7 hücrelerinin Comet analizinden elde edilmiştir. Görüntülerin elde edilmesinde floresan mikroskopisi (Nikon, Eclipse E600) kullanılmıştır.

Bulgular

Bu çalışmada, tek hücreli jel elektroforez analiz görüntülerinin otomatik sınıflandırılması için derin öğrenmeye dayalı bir sınıflandırma algoritması geliştirilmiştir. Bulgulara göre, ESA yüksek doğrulukta eğitilmiş ve test edilmiştir. Sonuçlar, ESA algoritmasının beş farklı seviyedeki Comet görüntüsünü yüksek hassasiyet ve özgüllük ile ayırabildiğini göstermiştir. Elde edilen yüksek hassasiyet, özgüllük ve doğruluk ile Comet görüntüleri nesnel olarak sınıflandırılabilir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuçlar, ESA'nın Comet görüntülerini çok kısa bir sürede nesnel olarak ayrıştırılabileceğini göstermek ile birlikte, derin öğrenme tabanlı otomatik sınıflandırma yönteminin bu alandaki farklı görüntülere de uygulanabilmesine referans olabilir.

Anahtar Kelimeler: Comet testi, görüntü sınıflandırma, evrişim sinir ağı

Teşekkür: Çalışmada kullanılan görüntüler için Prof. Dr. Özlem Darcansoy İşeri'ye teşekkürlerimizi sunarız.

Sözlü Sunum

Aspergillus Oryzae Lipazı Varlığında Transesterleşme Tepkime Değişkenlerinin Yanıt Yüzey Yöntemi ile İyileştirilmesi

Bahar Gürkaya Kutluk[1,1], Togayhan Kutluk[1,1], Başar Uyar[1,1], Nurcan Kapucu[1,1]

[1]*Kocaeli Üniversitesi*

togay71@gmail.com

Giriş

Günümüzde petrol kaynaklarının büyük ölçüde azalması ve çevreye olan duyarlılığın artması nedeniyle mevcut yağlayıcılar yerine kullanılabilecek biyobozunur yağlayıcılar ilgi görmeye başlamıştır.Bu anlamda hem artan talebi karşılamak hem de yeni ve daha ekonomik ürünler elde etmek için yapılan çalışmalar ağırlıktadır. Bu çalışmada atık kızartma yağından çevre dostu enzimatik transesterleşme tepkimesi ile biyoyağlama yağı üretilmiş, tepkimeye etki eden parametrelerin (enzim miktarı, sıcaklık, yağ asidi metil esteri/alkol mol oranı, başlangıç su içeriği) Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile optimizasyonu yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Esterleşme tepkimelerinde kullanılan ayçiçeği atık kızartma yağı çevre restoranlardan toplanmıştır. *Aspergillus Oryzae* (Resinase HT) sıvı formda serbest lipaz ve ticari tutuklu Thermomyces lanuginosus (Lipozyme TL IM) lipazı Novozyme firmasından temin edilmiştir. Adı geçen diğer tüm kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır. Atık yağın metanol ile lipaz katalizli tepkimesi sonucu atık yağ asidi metil ester (AYAME) üretimi laboratuarımızda yapılan önceki çalışmalar (Kutluk, 2013) ile belirlenen en uygun koşullarda (200 rpm karıştırma hızı, 1/4 yağ/metanol, %15 başlangıç su miktarı, 35°C sıcaklık, %5 Lipozyme TL IM) sentezlenmiştir [4]. Biyoyağlayıcı, ağzı açık 25 ml'lik erlenlerde, IKA marka inkübatörde, 400 rpm çalkalama hızında eş zamanlı yapılmıştır. AYAME dönüşümü (içeriği), tepkime öncesinde ve sonrasında ortamdan alınan örneklerin Agilent 7820A model gaz kromatrafi cihazında analizlenmesiyle belirlenmiştir.

Bulgular

p- 0.05'den düşük değerlerde modelin uygun olduğunu göstermektedir Öngörülen modelin p-değeri(0.0164) bakıldığında, CCD modülünden lineer bir model önerilmiştir. Kübik modelin ise yeterli olmadığı öngörülmektedir [6,7]. Literatürde esterleşme tepkimeleri için genellikle önerilen durum ikinci dereceden bir matematiksel modeldir ve serbest enzimler ile yapılan çalışmaya rastlanmamıştır.Önerilen dizayn 2,55'lik gerileme F değeri de modelin uygun olduğunu desteklemektedir. [3-5] F değerleri ne kadar yüksek ve p değerleri de buna karşın ne kadar düşük ise modelin uygun olduğu bilinmektedir [8]. Adeq. Precision, sinyal / gürültü oranının 4'den büyük bir değer olması istenir. Öngörülen model için bu oran 5,8'dir

Sonuç ve Tartışma

Tepkime için en önemli parametrelerin başlangıç su içeriği ve enzim miktarıdır. Ester verimi artırmak için serbest lipazın uygun bir desteğe tutuklanarak aktivitesini koruması ve tepkime ortamında daha stabil olması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoyağlama Yağı, *Aspergillus Oryzae*, transesterleşme,yanıt yüzey yöntemi

Teşekkür: Bu çalışma 217M525 proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Besin Ortamındaki Tuz Miktarının Dunaliella Tertiolecta Türü Mikroalgin Büyümesine ve Yağ İçeriğine Etkisi

Necla Altın[1,1], Togayhan Kutluk[1,1], Başar Uyar[1,1], Nurcan Kapucu[1,1]

[1]*Kocaeli Üniversitesi*

togay71@gmail.com

Giriş

1970'li yıllarda değişik enerji kaynakları arayışı ile birlikte güneş enerjisi, dünyanın ilgisini üzerinde toplamıştır. Güneş enerjisini en etkin kullanan canlılardır ve bu nedenle de farklı mikroalg türlerinde yeni bileşenlerin keşfedilmesi amacıyla mikroalg üretim teknolojisine ilgi giderek artmaktadır. Bu çalışmada halofil bir yeşil mikroalg olan *Dunaliella tertiolecta*'nın büyüme ortamındaki tuz miktarlarının, mikroalgin büyümesine ve elde edilen yağ asidi bileşimlerine olan etkisi incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Dunaliella tertiolecta türü mikroalg 250'şer mililitrelik cam erlenlerde kültüre alınmıştır. Kültürlerin havalandırılması TETRA APS 300 marka 300lt/saat kapasiteli hava pompası ile yapılmıştır. Hava pompasından çıkan hava 0.45 µ delikli şırınga filtresinden geçirilip steril hale getirildikten sonra reaktörlere verilmiştir. Kültürlerin aydınlatılması 3,80 klüx yüzey ışık şiddeti sağlayacak şekilde 7W gücünde 2400K ışık rengindeki OSRAM marka led ampüller ile sürekli olarak sağlanmıştır (24 saat). Çalışmalar boyunca sıcaklık 25 ± 2 ºC olacak şekilde sabit tutulmuştur. Besi ortamı olarak Johnson's besin ortamı kullanılmıştır.

Bulgular

Aynı zamanda en yüksek büyüme hızına (µmax= 0,0295h-1) ve yağ içeriğine (%11)12.5 g tuz içeren besin ortamında ulaşılmıştır. Setan sayısı =59 olarak bulunmuştur. Yağın ortalama molekül ağırlığı ise 924,3 gr/mol olarak belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Tuz miktarlarının yağ içeriğine önemli bir etkisi olmamıştır. Yağda yüksek molekül ağırlıklı yağ asitlerinin baskın olduğu ve setan sayısı incelendiğinde biyodizel üretimi için hammadde kaynağı olarak kullanıbileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: alg yağı, biyodizel, Dunaliella tertiolecta, ,tuz derişimi, setan sayısı

Sözlü Sunum

Karaciğer Kanseri Tedavisi İçin Geliştirilen, Manyetik Özellikli Aljinat Mikrokapsüllerin İn Vitro Hücre Etkileşimleri

Şükran Alpdemir[1,2], Göknur Kara[3], Tayfun Vural[3], Orhan Erdem Haberal[4], Emir Baki Denkbaş[4]

[1]*Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Beytepe, Ankara*

[2]*Uluslararası İşbirliği Daire Başkanlığı, Tübitak, Kavaklıdere, Ankara*

[3]*Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Beytepe, Ankara*

[4]*Başkent Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Bağlıca, Ankara*

emirbaki@gmail.com

Giriş

Karaciğer kanserleri arasında üzerinde ençok çalışılan tür hepatoselüler karsinom'dur (HCC). Sunulan çalışma kapsamında; transarteriyel katerizasyon ile kemoembolizasyon, TAKE uygulamalarında kullanılmak üzere yeni nesil bir sistem geliştirmek için, etken madde (Sorefenib Tosylat) aljinat mikrokapsüllere demir oksit nanopartiküllerle beraber proses esnasında yüklenmiştir. Çalışmada görüntüleme ajanı (manyetik madde) içeren, manyetik rezonas, MR görüntüleme ve kemoembolizasyon ajanı geliştirilmesi üzerine gerçekleştirilen in vitro çalışmalar yer almaktadır. Bu kapsamda daha önce geliştirilen ve demir oksit nanopartikülleri içeren aljinat mikrokapsüllerin sağlıklı hücreler (L 929) ve kanser hücreleri (HEPG 2) ile etkileşimleri incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmalarda 200 mg Sorefenib Tosylat 20 ml metil alkolde çözünmüş ve 65 dereceye ısıtılmıştır. On dakikalık ısıtma işleminden sonra çözelti 0.25 µm'lik filtreden geçirilerek kirlilikler uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ilaç çözeltisi ile 5 mg/ml derişiminde demir oksit nanopartikülleri ve 10 mg/ml derişimindeki etken madde birleştirilerek 25 ml distile su içerisinde aljinat ile biraraya getirilmiştir. Manyetik karıştırıcıda karıştırılan çözeltiye 0.03 g HPMC ilave edilmiş ve karıştırma işlemine bir süre daha devam edilmiştir. Ardından 100 ml distile su içerisinde çözünmüş olan 5 g CaCl2 1 ml Tween-85 ile birlikte aljinat çözeltisine ilave edilmiştir. Bu çalışmalarda enkapsülatörün frekansı daha önceki çalışmalarda optimiz edildiği şekilde 1600 Hz olarak uygulanmıştır. Daha sonra elde edilen demir oksit nanopartikülleri ile etken madde içeren aljinat mikrokapsüller L 929 ve HEPG 2 hücreleri ile MTT testine tabi tutularak mikrokapsül-hücre etkileşimleri testi yapılmıştır.

Bulgular

Ede edilen mikrokapsüller ortalama 120 µm çapında ve düzgün küreseldir. Mikrokapsüllerdeki demir oksit nanopartiküll çapı ise 60 nm dolayındadır. Yapılan çalışmalarda Sorefenib Tosylat miktarı 0.1, 1.0 ve 10.0 mg/ml derişimlerinde değiştirilerek bu derişimlerle hazırlanan mikrokapsüllerden etken madde salımı incelenmiş ve salımının başlangıçta birinci derece, ardından sıfırıncı dereceden mekanizma ile salındığı belirlenmiştir. Ayrıca başlangıç etken madde miktarının artmasıyla daha yüksek oranlarda salınmakta olduğu gözlenmiştir. Hücre etkileşim testlerinde salınan etken maddenin sağlıklı hücrelerin canlılığı üzerinde önemli bir etkisi olmayıp kanser hücreleri üzerinde önemli oranda toksik etki yarattığı belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Geliştirilen demir oksit nanopartikül-Sorefenib Tosylat içeren aljinat mikrokapsüller TAKE uygulamaları için uygun bulunmuştur. Mikrokapsüllerin sağlıklı ve kanserli hücreler ile yapılan çalışmalarıda da bu sonuçları doğrular niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer kanseri, TAKE, mikroküre, kemoembolizasyon, manyetik nanopartikül

Poster Sunumu

Toksoplazmoza Karşı Peptid Aşılarına Dayalı Formülasyonların Etkinliğinin*İn vitro* Çalışmalarda Gösterilmesi

Eslin Üstün[1], Rabia Çakır Koç[1]

[1] *Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye*

ustuneslin@gmail.com

Giriş

Toksoplazma gondii, dünyada ciddi sağlık sorunlarına neden olan bir parazittir. Bu paraziter hastalığın klinik endikasyonu spesifik olmadığı için birçok hastalıkla karışır ve spesifik bir tedavisi bulunmamaktır. Fakat aşı yardımı ile önlenebilmektedir. Son yıllarda parazitlerin yol açtığı hastalıklara karşı polimerlere dayalı aşı çalışmaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni polimere antijenler bağlanarak oluşturulan konjugatların immün cevaplarının diğer aşılama yöntemlerine göre daha yüksek olmasıdır. Bu çalışmanın amacı, toksoplazmoza karşı polimere bağlı peptit aşı üretilmesi ve bu aşı formülasyonun etkinliğinin in vitro çalışmalarda gösterilmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Toksoplazmoza karşı olarak formülasyonunu geliştirdiğimiz aşı polimere bağlı peptit aşıdır. Mikro enkapsülasyon yöntemi ile peptit poli [di(karboksiilatofenoksi) fosfazen] (PCPP) polimerinin içerisine enkapsüle edilmiştir. Bu yöntemde, PCPP polimeri ve peptitinden oluşan sulu çözeltinin içerisine sodyum klorür ilave edilerek koaservatif mikro damlacıklar oluşturulmuştur. Bu mikro damlacıklar, daha sonra eklenen kalsiyum iyonlarının yardımıyla birlikte polimerle çapraz bağlanma yoluyla stabilize edilmiştir. Yöntem, mikro kapsül oluşturmaya olanak sağlamıştır. Elde edilmiş olan mikrokapsüller ZETA, FTIR, SEM gibi spektroskopik yöntemlerle gösterilmiştir.

Bulgular

Zeta yardımı ile üretilmiş olan mikro kapsüllerin boyut analizi yapılmıştır. Boyut aralığının 1 – 10 μm olarak bulunması beklenmektedir. Boyut aralığı 1.3 ile 1.8 μm arasında bulunmuş olup, istenilen boyut elde edilmiştir. Polimerin ve peptitin enkapsüle olmadan önceki boş hallerine ve enkapsüle olduktan sonraki hallerine FTIR yardımıyla bakılmıştır. Enkapsüle olmadan önce 4 adet pik elde edilmiştir. Bu pikler su ve yan gruplara aittir. Enkapsülasyon sonucu 1623 nm ve 3500 nm civarında iki pik elde edilmiştir. Buda yan grupların bağlandığını göstermektedir. 3500 nm' de bulunmuş olan pik suyun vermiş olduğu pik diğer pik ise mikro partiküle ait olan piktir.

Sonuç ve Tartışma

Polimer ve peptitin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş olan enkapsülasyonu sonucunda,toksoplazmoza karşı aşı çalışmalarında kullanılabilmek üzere istenilen boyutlarda mikropartiküller üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Toksoplazmoz, Aşı, Polimer, PCPP, Enkapsülasyon, Mikro partikül

Poster Sunumu

Solunum Yolu ile Bulaşan Patojenlere Karşı Biyomaske Tasarımı ve Etkinliğinin İncelenmesi

Gökçe Ünal[1], Ali Afandi[2], İbrahim Işıldak[1]

[1] *Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İstanbul*

[2] *Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

gokceunal89@gmail.com

Giriş

Günümüzde bulaşıcı hastalık etmenlerinin büyük çoğunluğunu hava yolu ile bulaşan patojenler teşkil etmektedir. Bu problemlere karşı biyomühendislik ve biyoteknolojik yöntemlerle özellikle hastalık riskinin yüksek olduğu hastane, alışveriş merkezleri, okullar gibi kalabalık bölgelerde hava yolu ile bulaşan patojenlerin vücuda girişlerini engellemeye yardımcı olacak bir biyomaske tasarımının hava yolu ile bulaşan patojenlerin neden olduğu salgınları kontrol etmede büyük yarar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu amaçla, IgY antikorları kullanılarak standart maskelerin patojenlerin solunum yoluna geçişine engel olmak için biyomaske tasarlanmış ve etkinliği incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

(1) Bakteri Kültürü ve Antijen Üretimi: *S. aureus, K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* bakterilerinin kültürleri antijen üretimi için yeterli miktarda çoğaltılıp total antijen hazırlanmıştır. (2) IgY Üretimi ve Saflaştırılması: IgY üretimi için yumurta tavukları için özel kafesler imal edilmiştir. Antijenler immünizasyonlar yapılmış ve 1 ayın sonunda yumurtalar toplanarak PEG 6000 çöktürme yöntemi ile antikorlar saflaştırılmış ve ELISA yöntemi ile antikorların etkinlikleri tespit edilmiştir. (3) İmmobilizasyon ve Geçirim Deneyleri: Antikorlar maske üzerine kaplama yöntemi ile immobilize edilmiştir. Özel tasarlanan geçirim düzeneği içerisinde çeşitli konsantrasyonlarda bakteri çözeltisi maskeye püskürtülerek biyomaskenin geçirim performansları maske arkasına yerleştirilen besiyerinde üreyen koloni sayıları negatif kontrole göre ölçülmüştür.

Bulgular

Anti-*S.aureus* IgY içeren filtrelerde geçirim deneyi sonrası maske arkasındaki besiye üreyen ortalama koloni sayısı 10 iken antikor içermeyen negatif kontrol filtre arkasında 540 koloni sayılmıştır, anti-*P.aeruginosa* IgY içeren filtrede 5-10 koloni ürerken, negatif kontrol filtrede 837 koloni üremiştir. En etkili antikor konsantrasyonu 500 µg/ml antikor içeren filtrelerde elde edilmiştir ve en uygun püskürtme zamanın ise 10 dakika olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçların istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$)

Sonuç ve Tartışma

Elde edilen veriler hava yolu ile bulaşan patojenlere karşı IgY antikorlarının verimli olduğunu göstermiştir. IgY antikorlarının tanı, tedavi ve endüstriyel ürün geliştirilmesinde etkin olarak kullanılabileceği düşüncesine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: IgY antikor, S.aureus, P.aeruginosa, K. pneumoniae, biyomaske

Poster Sunumu

Ets Ailesi Transkripsiyon Faktörlerinin Sistem Biyolojisi Yaklaşımıyla Gen Regulasyon Ağının İncelenmesi

Yiğit Koray Babal[1], Başak Kandemir[2], Işıl Kurnaz[1]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

[2]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Ankara*

ykbabal@gtu.edu.tr

Giriş

E26 Transformasyon Spesifik (ETS), sadece metazoa filogenetik hattında görülen en geniş transkripsiyon süper ailelerinden birisidir. ETS ailesi hücre farklılaşması, çoğalması, kanser, apoptoz gibi birçok biyolojik olayın regülasyonunda rol oynar. 12 alt ailesi ve yaklaşık 30 üyesi bulunan ETS ailesinin TCF ve PEA3 en önemli alt ailelerindendir. ETS literetürüne baktığımızda, bu transkripsiyon faktörlerinin anlamını artış veya azalış yönde etkiledikleri birçok gen bulunmasına karşılık, bunların birbirlerini de regüle ettiklerini gösteren çalışmalar vardır. Bu çalışmadaki odak noktamız, TCF alt ailesinden ELK1 ve PEA3 alt ailesinden PEA3'nin neuronlarda oluşturduğu trankripsiyonel gen regulasyon ağını tanımlamaya çalışmak ve incelemektir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda başlangıç olarak, laboratuvarımızda daha önce yapılmış olan ELK1 ve PEA3'nin SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattındaki aşırı anlatımından elde ettiğimiz mikrodizin analizi sonuçları incelendi. Bu iki mikro dizin çalışması sonucunda istatistiksel olarak elde ettiğimiz anlamlı genlerin ortak olanlarını artış-azalış regülasyon olarak ayıkladık. Elde ettiğimiz ortak gen listesi gen ontoloji (GO) analizi yapıldı ve ilişkili oldukları biyolojik olaylar listelendi. Paralel olarak ortak genlerin hedef olduğu miRNA'ların tespiti için literatür doğrulamalı miRNA etkileşimi veritabanları tarandı. Elde edilen tüm bu ortak genler ve miRNA listesi ile ELK1 ve PEA3 spesifik transkripsiyonel regülasyon ağı oluşturuldu. Ağın görüntülenmesinde Cytoscape programı kullanıldı. Ortak genlerin promotor sekanları EPD (Eukaryotic Promoter Database)'den elde edildi. PROMO isimli web tabanlı bir biyoenformatik araç sayesinde elde edilen promotorlarda ELK1 ve PEA3 için promotor analizi yapıldı.

Bulgular

Mikrodizin analizi sonucunda ELK1'nin anlatımını arttırdığı, PEA3'nin ise anlatımını azalttığı 52 ortak gen, bunun tam tersi için ise 9 ortak gen listelendi. Gen ontoloji analizi sonucunda bu genlerin yağ metabolizması ve gelişimsel süreçlerle ilgili olduğu gözlemlendi. Ortak genlerin hedef olduğu 140'a yakın miRNA tespiti ile birlikte, transkripsiyonel regülasyon ağı oluşturuldu. Ortak genlerde yapılan promotor analizi sonucunda, Genlerin promotorlarında ELK1 ve PEA3'nin bağlanma bölgeleri belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

ELK1 ve PEA3 ETS ailesinin önemli üyelerinden biri olup, kritik biyolojik olaylarda görev almaktadır. ELK1 ve PEA3'nin birlikte oluşturdukları bu regülasyon ağı, nöronlardaki farklı olayların ELK1 ve PEA3 regülasyonu ile açıklamasına ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: ETS Transkripsiyon Faktörü, Gen Regülasyon Ağı, Sistem Biyolojisi

Poster Sunumu

Atık İnsan Saçından Keratin İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Arda Odabaş[1], Özge Erdemli[1]

[1] *Başkent Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

oerdemli@baskent.edu.tr

Giriş

Keratin, film, hidrojel, doku iskelesi ve fiber gibi biyomalzeme uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan saçından keratin izolasyonu, hayvansal dokulardan izolasyona göre oldukça hafif koşullarda gerçekleşmesi nedeniyle biyomalzemelerin üretilmesi açısından daha iyi bir seçenektir. Ayrıca, insan saçından keratin izolasyonu atık saçların değerlendirilmesi açısından da önemlidir. Disülfit bağlarının indirgenmesine dayanan izolasyon yöntemleri, diğer yöntemlere göre daha ucuz ve çevreye daha az zarar vermektedir. Bu çalışmada, farklı indirgenme ajanları kullanılarak insan saç atığından keratin elde edilmiştir. Kullanılan yöntemlerin verimi ve elde edilen proteinin özellikleri karşılaştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Delipidizasyon işlemi yapılıp kurutulan insan saç örnekleri, 8,00 M üre, 0,10 M sodyum dodesil sülfat ve 0,50 M indirgenme ajanı içeren dört farklı ekstraksiyon çözeltisinde 4 saat boyunca 55°C de su banyosunda bekletilmiştir. İndirgenme ajanı olarak sodyum sülfit, sodyum bisülfit, sodyum metabisülfit veya sodyum sülfür kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda elde edilen çözelti 3 gün boyunca deiyonize suda diyaliz yapılıp liyofilizasyon ile kurutulmuştur. Diyaliz sonunda elde edilen keratin çözeltilerindeki, toplam protein miktarı Bradford yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Liyafilizasyon sonunda elde edilen keratin miktarı gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Ayrıca, liyofilize edilen keratinin kimyasal yapısı FTIR spektrometresi ile incelenmiştir. İzole edilen keratinlerin moleküler ağırlık dağılımları ise sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi ile belirlenmiştir.

Bulgular

Bradford ve gravimetrik analizler sonucunda, indirgen ajan olarak sodyum bisülfit ve sodyum sülfür kullanılarak izole edilen protein miktarları daha fazla bulunmuştur. Bu gruplarda sırası ile %33,2 ve %40,0 verim elde edilmiştir. Bütün grupların FTIR spektrumlarında keratine özgü pikler gözlemlenmiştir. SDS-PAGE analizi sonucunda, sodyum bisülfit kullanılarak elde edilen keratinin yapısında denatürasyon olmadığı belirlenmiş ve yapısındaki alfa-keratinler (48 kDa civarı) ve beta keratinler (63-75kDa aralığında) olmaları gereken kDa değerlerinde bantlar vermiştir. Diğer grupların SDS-PAGE bantları ise sürüntü şeklinde görülmüş ve protein yapılarında denatürasyon olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sodyum sülfür kullanıldığında verim daha yüksek olmasına rağmen keratin yapısında bozulmalara neden olmuştur. Bu nedenle, incelenen yöntemler içinde sodyum bisülfit kullanılan yöntemin atık saçlardan keratin izolasyonunda kullanılması daha uygundur.

Anahtar Kelimeler: Keratin, protein izolasyonu, indirgenme yöntemi

Teşekkür: Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projesi ile desteklenmiştir.

Poster Sunumu

G-kuadrupleks Tabanlı Auramine-o Tespiti

Dilan Güner[1], Berke Bilgenur Şener[1], Abdullah Tahir Bayraç[1]

[1] *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Karaman*

dilan.gunerdg@gmail.com

Giriş

Auramine-O (4,4′-dimethylaminobenzophenonimide: AO) ve tuzları kâğıt, kalem, tekstil, deri, balmumu ve gıda sanayiinde renklendirici olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı AO'yu deney hayvanlarında kanserojenik etki göstermek için yeterli kanıt bulunan kimyasallar listesinde göstermektedir ve AO'nun toksisitesi ile ilgili literatürde birçok kanıt bulunmaktadır. Bu nedenle AO'nun çevre, gıda ve sanayi atıklarında tayin ve tespiti oldukça önem arz etmektedir. Bu çalışmada floresan moleküler rotor (FMR) özelliğine sahip AO'nun G-kuadrupleks (G-q) DNA yapıları ile etkileşimi sonucu floresan yoğunluğundaki artıştan yararlanılarak kolaylıkla kullanılabilecek bir biyosensör yapılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

AO ile etkileşime girmek üzere, literatürde bulunan; paralel, antiparalel ve hibrit yapılarda G-q oluşturabilen 22AG, Oxy28, c-myc, c-kit87-up, TBA, AGRO100 isimli 6 farklı DNA dizisi seçilerek sentezlenmiştir. Farklı derişimde AO (0-3 µM) ve G-q (400 nM) birleştirilerek floresan yoğunluklarındaki değişimler floresan spektrometre ile ölçülmüştür. Bu ölçümler sonrasında farklı G-q DNA dizilerinin AO için tespit ve tayin limitleri, lineer aralıkları ve tekrarlanabilirlikleri belirlenmiştir.

Bulgular

AO (0-3 µM) konsantrasyonu tespiti için kullanılan 6 farklı dizinin tespit ve tayin limitleri sırasıyla; 22AG için 275 nM ve 834 nM; Oxy28 için 54 nM ve 165 nM; c-myc için 3 nM ve 10 nM; c-kit87-up için 47 nM ve 142 nM; TBA için 190 nM ve 577 nM; AGRO100 için 240 nM ve 727 nM olarak hesaplanmıştır. Tespit ve tayin limitlerinin yanısıra en yüksek floresan yoğunlukları da kıyaslanarak en hassas dizinin c-kit87-up olduğu görülmüştür. c-kit87-up dizisi ile 47 nM gibi çok düşük konsantrasyonlarda dahi AO'nun hassas tespiti sağlanabileceği gibi görüntüleme cihazı kullanılarak nicel bir tespit de mümkündür.

Sonuç ve Tartışma

Alınan sonuçlar ışığında, AO'nun G-q ile etkileşime girerek oluşturduğu floresanın ölçümüne dayalı hassas ve tekrarlanabilir bir tayin ve tespit metodu geliştirilmiştir. Bu metot ile farklı örneklerden AO tespiti yapmak mümkün olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Floresan moleküler rotor, G-kuadrupleks, Auramine-O

Teşekkür:

ÇEVRE BİYOTEKNOLOJİSİ

Sözlü Sunum

İnorganik Arsenik Tayini İçin Floresan Tam Hücre Bakteriyel Biyoraportörünün Geliştirilmesi

Evrim Elçin[1], Hüseyin Avni Öktem[1,2]

[1]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara*

[2]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

evrimelcin@gmail.com

Giriş

Yerkabuğunda en çok bulunan metal elementlerden biri olan arsenik, hızla artan endüstrileşme gibi antropojenik nedenlerle dünya genelinde toprak, hava ve sularda toksik konsantrasyonlara ulaşmaktadır. İçme sularındaki en toksik madde olarak dünyada liste başı olan arsenik insanlar için kanserojendir. Bu sebeple çevresel arsenik seviyelerinin hızlı ve sık izlenmesi, arseniğin birikimine engel olmak ve uzaklaştırmak için önemlidir. Fizikokimyasal analiz metotlarına alternatif ve tamamlayıcı metot olarak, metal tespitinde çeşitli biyosensör sistemleri önerilmektedir. Bu çalışmada, arseniğin sudaki inorganik dominant formlarını tespit edebilen floresan tam hücre bakteriyel biyoraportörü geliştirilip ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Yalnızca arsenik ile kontrol edilen promotör ve regülatör gen ile yeşil floresan proteini kodlayan gen birleştirilerek sensör plazmitler elde edilmiş ve DNA sekanslama yöntemi ile klonlama işlemi doğrulanmıştır. Nonpatojenik Escherichia coli bakteriyel hücrelere aktarılarak biyoraportör hücreler oluşturulmuştur. Arsenik biyoraportör hücreleri farklı besi ortamlarında belli aralıktaki arsenit ve arsenat derişimlerinde 16 saat boyunca inkübe edilip doza ve zamana bağlı değişen floresan değerleri mikroplaka okuyucuda ölçülerek arsenik tayin limitleri belirlenmiştir. Biyoraportörün metal özgünlüğünü test etmek için farklı ağır metaller eklenerek hücrelerin floresan değerleri ölçülmüştür. Ayrıca, biyoraportör hücrelerinin farklı büyüme fazlarındaki arsenik tayin becerisi değerlendirilmiştir. Son olarak, kontamine yer altı suyu testi yapılarak biyorapotör hücrelerin gerçek örnekteki arsenik seviyesini tespit edebilmesi araştırılmış ve fizikokimyasal analiz metodu ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Arsenik biyoraportör hücreleri minimal besiyerinde inkübe edildiklerinde 10 µg/L arseniti 2 saat içinde; inorganik fosfattan yoksun besiyerinde ise 10 µg/L arsenatı 2 saatten kısa bir sürede floresan sinyalindeki artış ile tespit edebilmektedir. Her iki besiyerinde de artan arsenik miktarlarına karşı biyoraportörler doza ve zamana bağlı floresan sinyal artışı göstermektedir. Ayrıca arsenik biyoraportörünün diğer metallere cevap vermediği ve arseniğe özgü olduğu görülmüştür. Kontamine yer altı su örneği ile yapılan testte ise biyoraportör hücrelerin kuyu suyundaki arseniği kimyasal yöntem ile kıyaslandığında yüksek doğrulukla tespit edebildiği ayrıca kuyu suyundaki biyoyararlanılabilir arsenik miktarı hakkında da bilgi verdiği görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre içme suyunda güvenli arsenik limiti 10 µg/L olup ülkemizde de bu değer kullanılmaktadır. Geliştirilen arsenik biyoraportörü yaygın ve insana zararlı formlar olan arsenit ve arsenat miktarını tespit etmekte kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Arsenik, Bakteriyel Biyoraportör, Yeşil Floresan Proteini, Yeraltı suyu

Teşekkür: TÜBİTAK ARDEB 217E115 No'lu TÜBİTAK Türkiye-Macaristan İkili İşbirliği Projesi

Sözlü Sunum

Tekstil Endüstirisinde Kullanılan Boyarmadde Gideriminde Manyetik Biyosorbentin Değerlendirilmesi

Abdulsamee M.k. Abutaha[1], Belma Nural Yaman[1,2], Hakan Çakmak[1], Seda Hoşgün[3], Pınar Aytar Çelik[2,4], Ahmet Çabuk[1,5]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*

[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Eskişehir*

[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Eskişehir*

[4]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mahmudiye Atçılık Meslek Yüksekokulu, Eskişehir*

[5]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir*

nuralbelma@gmail.com

Giriş

Global ölçekte insan popülasyonun artışı ve endüstriyel gelişme beraberinde su, toprak, hava gibi yaşam kaynaklarının ciddi oranda kirlenmesine yol açmaktadır. Artan taleple birlikte sayıları her geçen gün artış göstermekte olan tekstil fabrikaları, kimyasal ve fiziksel iyileştirmeye dirençli ve doğada biyolojik olarak bozunabilirliği az olan sentetik kompleks organik boyarmaddeleri yasal standartların üstünde deşarj etmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada; demir çelik fabrikasının proses atığı olan tufaldan izole edilen fungusun moleküler identifikasyonu yapılmıştır. Fungus biyosorbenti, işlem sonrası manyetik ayrıma izin verecek şekilde manyetik kaplanmıştır. Elde edilen manyetik fungal nanopartikülün titreşimli örnek manyetometresi analizi yapılmıştır. Reaktif Turuncu 13 (RT13) boyarmaddesinin elde edilen fungal manyetik biyosorbent ile biyosorpsiyonun optimizasyon deneyleri, süreçte etkili olabilecek biyokütle miktarı, sıcaklık, reaksiyon süresi, boyarmadde konsantrasyonundan oluşan parametreler açısından merkezi kompozit tasarım ile gerçekleştirilmiştir. Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri, termodinamik ve kinetik modelleri incelenmiştir. FTIR, XRD ve SEM-EDX ile biyokütle ve boyarmadde etkileşimi analiz edilmiştir . Yüzey alan analizi ve zeta potansiyeli ölçümü yapılmıştır.

Bulgular

Fungusun *Mucor circinelloides* (MN503306) olduğu tespit edilmiştir. Deneysel tasarım uygulanarak gerçekleştirilen optimizasyon deneyleri ile en yüksek 400 mg/g biyosorpsiyon kapasitesine ulaşılabilmiştir. İzoterm çalışmaları, boyarmaddenin adsorpsiyonun Langmuir izoterm modeline uygun olduğunu göstermiştir. Biyosorpsiyon sürecinin endotermik olduğu ve kinetik hesaplamalar sonucunda, manyetik fungal biyosorbenti ile RT13 biyosorpsiyonunun yalancı ikinci derece kinetik modeline uyum sağladığı gösterilmiştir. İzoleketrik noktasının 3 olduğu; FTIR analizi ile boya yüklü manyetik biyokütlede C-H metilen grubu, karakteristik aromatik grupların varlığı tespit edilmiştir. XRD, Fe3O4'ün 6 karakteristik pikinin varlığını göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Boyarmadde kirliliğini gidermeye yönelik separasyonu kolay, çevre dostu, etkili bir biyosorbent elde edilmiştir

Anahtar Kelimeler: Manyetik biyosorbent, boyarmadde giderimi, merkezi kompozit tasarım

Teşekkür: Belma NuralYaman TUBİTAK BİDEB Burs Programı ile desteklenmektedir.

Sözlü Sunum

Polietilen Tereftalat Türü Plastiği Depolimerize Eden Enzimin Biyoteknolojik Olarak Yeniden Tasarımı ve Üretimi

Begüm Esra Aytan[1,2], Şule Arı[2]

[1]*Geneon Biyoteknoloji, Yıldız Teknopark, İstanbul*

[2]*İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul*

begumaytan@gmail.com

Giriş

PET (Polietilen tereftalat) günümüzde en geniş kullanım alanına sahip plastik ham maddesidir. Her yıl kullanımı artan ve doğada kaybolması yüzyıllar süren PET türü plastiğin birikmesi çevre kirliliğini artırmakta ve ekolojik dengenin bozulmasına sebep olmaktadır. PET türü plastiğin geri dönüşümü için kullanılan yöntemler bulunsa da bunlar ekipman gereksinimi, yüksek ısı ve kimyasal kullanımı gibi nedenlerle verimsiz ve yüksek maliyetlidir. Bu çalışmada PET türü plastiği depolimerize edebilen PETaz enziminin aktivitesinin ve *Escherichia coli*'de üretim düzeyinin genetik mühendisliği yaklaşımıyla artırılması ve endüstride geri dönüşüm için kullanılabilecek hale getirilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Aktivite artırma işlemleri için mutasyonel sıcak nokta analizleri HotSpot Wizard; genetik tasarımlar, görselleştirme işlemleri ve rekombinant DNA'nın simülasyonu ise Benchling biyoinformatik araçları ile gerçekleştirilmiştir.
Aktivite arttırmak üzere yeniden tasarlanmış ve *E.coli*'ye göre kodon optimizasyonu yapılmış PETaz geni (Sentegen, Ankara), sentetik olarak pTZ57R/T plazmidi içinde üretilmiştir. PETaz geni pET26b (+) (Novagen) ekspresyon plazmidine *Hind*III ve *Nde*I enzimleri ile gerçekleştirilen yapışkan uç ligasyonu yöntemi ile klonlanmıştır. Oluşturulan rekombinant DNA molekülü *E.coli* SHuffle (NEB) suşuna ısı şoku ile transforme edilerek gen anlatımı yapılmıştır.

Bulgular

pTZ57R/T plazmidi içerisindeki sentetik PETaz geni, *Hind*III ve *Nde*I enzimleri ile kesim sonrası 873 bp'lik DNA fragmenti olarak agaroz jelde beklenen boyutta elde edilmiştir. pET26b (+) ekspresyon plazmidi de aynı enzimler ile kesildikten sonra, ekspresyon plazmidi ile PETaz gen bölgesinin ligasyonu sonucu 6.125 bp'lik rekombinant DNA molekülü oluşturulmuştur. Oluşturulan rekombinant DNA molekülünün *E.coli* SHuffle hücrelerine transformasyonu sonrası transformasyon Kanamisinli LBA besiyerinde doğrulanmıştır. Protein kantitasyonu için IPTG ile indüklenen rekombinant *E.coli* SHuffle hücre kültürünün 5 ml'sinden nikel-bağımlı protein izolasyonu yapılmış ve Nanodrop ölçümü 0,213 mg/ml olarak bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada *in silico* olarak tasarlanan ve *E.coli*'de klonlanan PETaz, 6,7g/L verimle üretilmiştir. Elde edilen yüksek verim ve enzim aktivitesi; PETaz'ın PET geri dönüşümünde kullanılabilecek biyoteknolojik bir ürün olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: PET, Escherichia coli, PETaz

Teşekkür: TÜBİTAK 1512 Desteği Proje No:2170481, 02.02.18 İ.Ü. BAP Desteği Proje No:FYL-2019-33841, 07.05.19

Sözlü Sunum

Omik Teknolojiler ve Uygulama Alanları

Tamay Şeker[1]

[1]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Merkez Laboratuvar, Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Ar-ge Merkezi*

tseker@metu.edu.tr

Giriş

Omik teknolojiler hücre, doku veya organizmayı meydana getiren moleküllerin bütüncül bir yaklaşımla incelenmesini konu edinir. Omik yaklaşımlarının odaklandığı konular, gen, metabolit, protein gibi canlı bilimi kaynaklarının haritalanması, bu alanların arasındaki etkileşimlerin bulunması ve bu disiplinlerin birbirleriyle olan bağlantılarının anlaşılmasıdır. Günümüzde Sistem Biyoloji olarak ifade edilen yaklaşım, canlı bilimi ile igili herhangi bir konunun incelenmesinde birden fazla "omik" yaklaşımın kullanılması ve sonuçların entegresyonudur.

Gereçler ve Yöntemler

Biribirine entegre ve çok-disiplinli bir çalışma alanı olan Omik teknolojilerde Genomik, Transkriptomik, Proteomik ve Metabolomik biribirini besleyen temel alanlardır. Genomik, genlerin yapı, fonksiyon, haritalama ve düzenlenmesini kolektif bir karakterizasyon olarak ortaya koyarken, Transkriptomik, bir organizmanın transkriptomlarını yani tüm RNA transkriptlerini çalışır. Proteomik bu sıralamanın genel bir sonucu olarak bir organizmanın tanımlı bir şartta sentezlenen tüm proteinlerini konu edinir ve Metabolomik ise organizmanın belli bir sisteminin tüm metabolit kompozisyonunun gelişmiş analitik platformlar yardımıyla karakterize edilmesidir. Farklı 'omik' alanları, karmaşık moleküler düzenleyici sistemlerin deşifre edilmesini amaçlar. Spesifik alanların bu yaklaşımla incelenmesinde ilgili alan adı sonuna "omik" ifadesinin eklenmesi bir çok disiplin için söz konusudur.

Bulgular

Geçtiğimiz son on yıl içinde PubMed'de 36.000'den fazla omik konulu yayının yer alması omik teknolojilerin modern çalışma alanlarında logaritmik bir şekilde artarak yer aldığını göstermektedir. Omik teknolojiler gıda, çevre, tıp, moleküler biyoloji ve diğer doğal bilimleri içeren bir çok alanda uygulama bulmuştur. Peptidomik, Lipidomik, Glikomik vb. omik yaklaşımlara ek olarak gıda ve beslenme kaynaklarının omik teknolojilerle incelendiği "Foodomik", genom teknolojilerin ekolojik risk değerlendirmesinde kullanıldığı "Ekotoksigenomik", bitkilerde arsenik metabolizmasını entegre omik yaklaşımlarla inceleyen "Arsenomik", çevresel araştırmalarda kullanılan "Metagenomik" vb. oldukça geniş ve farklı alanlarda uygulamalar mevcuttur.

Sonuç ve Tartışma

Omik yaklaşımlar, hipotez çıkışlı geleneksel çalışmalardan farklı olarak, aksine hipotezin bilinmediği veya tahmin edilmediği fakat tüm datanın hipotezi tanımlamak üzere işlendiği ve analiz edildiği, hipotez üreten bütüncül yaklaşımlardır.

Anahtar Kelimeler: Omik, Genomik, Transkriptomik, Proteomik, Metabolomik, Sistem Biyoloji

Teşekkür: Prof. Dr. Hüseyin Avni Öktem, Prof. Dr. Füsun İnci Eyidoğan

Poster Sunumu

Farklı Fenol Konsantrasyonlarında Gelişebilen Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Belirlenmesi

Nilgün Poyraz[1], Suat Sezen[2]

[1]*Kütahya Dumlupınar Üniversitesi,fen Edebiyat Fakültesi,biyoloji Bölümü,kütahya*

[2]*Eskişehir Teknik Üniversitesi,fen Fakültesi,biyoloji Bölümü,eskişehir*

suatsezen@eskisehir.edu.tr

Giriş

Artan miktarlarda atık su, sınırlı alan, daha sıkı düzenlemeler ve kalite kontrolleri ile yeni atıksu arıtma işlemlerine olan talep artmaktadır. Birçok kimyasal, biyolojik ve gıda işleme endüstrisi, toksik özellikli atık su üretmekte ve atık sular çevre ve insanlara zararlı olduklarından doğrudan dış ortama deşarj edilememektedir. Biyofilm teknolojisinin kullanımı, bu tür atık su akıntılarının arıtılmasında başarıyla kullanılan bir alandır. Bunun gibi uygulamalar da yüksek kapasiteye sahip yeni biyofilm-bazlı tekniklerin geliştirilmesini sağlamaktadır. Bu sebeplerden dolayı çalışmanın amacı, atık su arıtımı için önemli niteliklere sahip, fenolü de arıtabilen bakteri suşlarının biyofillm oluşturma özellikleri ile ilgili veri sağlamaktır.

Gereçler ve Yöntemler

Belediyeye ait bir atık su arıtma tesisinden daha önceki çalışmalarda izolasyon yapılmış ve mikroorganizmalar tanımlanmıştır. Tanımlanan mikroorganizmaların fenollü ortamda, farklı fenol konsantrasyonlarına maruz kaldıklarında biyofilm üretim durumları incelenmiştir. Çalışma için 8 mikroorganizma seçilmiştir (*Pseudomonas nitroreducens*, *Pseudomonas linyingensis*, *Ideonella sp.*, *Burkholderia multivorans*, *Pseudomonas denitrificans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas citronellolis* ve *Pseudomonas sp.*).Biyofilm oluşumu kristal viyolet boya ile mikrotitrasyon petrisi analizi kullanılarak incelenmiştir.

Bulgular

Yapılan deneyler sonucunda 8 izolattan *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas linyingensis*, *Ideonella sp.* ve *Pseudomonas sp. NBUS11* türlerinin yoğun biyofilm ürettiği saptanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak atık sularda fenol arıtımında kullanılabilecek mikroorganizmalardan bazılarının yoğun biyofilm ürettiği ve bu mikroorganizmaların yeni arıtma tekniklerinin geliştirilmesinde son derece yüksek potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Atık su,biyofilm,Pseudomonas,fenol

Poster Sunumu

Bjerkandera adusta'nın Boyar Madde Renk Giderim Yeteneğinin Araştırılması

Arife Atik[1], Özfer Yeşilada[2]

[1] *Sakarya Üniversitesi, Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya*

[2] *İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Malatya*

destiny_guzel@hotmail.com

Giriş

Tekstil ve boyama endüstrileri yoğun olarak boyar madde kullanmakta ve atık sularının içeriğinde de yüksek miktarda boyar madde kalmaktadır. Bu atık sular alıcı ortamlara verildiklerinde alıcı su ortamlarının renklenmesine neden olurlar. Renk, alıcı su ortamlarında güneş ışığının geçmesini engeller ve bu da fotosentez ve solunum dengesini bozarak ekosistemin bozulmasına yol açar. Pek çok boyar maddenin toksik ve genotoksik etkileri de diğer bir dezavantajdır. Bu nedenle araştırıcılar alıcı su ortamlarında probleme yol açacak renk kirliliğini gidermek için boyar maddelerin rengini çeşitli yöntemlerle gidermeye çalışmaktadır. Bu yöntemlerden birisi beyaz çürükçül fungusların kullanıldığı biyoteknolojik yaklaşımdır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada doğadan izole edilmiş olan *B. adusta*'nın renk giderim yeteneği araştırılmıştır. Bunun için öncelikle çalkalamalı koşullarda fungus pelletleri üretilmiş ve çalışmalar boyar madde içeren distile su ortamlarında steril olmayan koşullarda 30 °C'de ve 150 rpm'de yürütülmüştür. *B. adusta* pelletlerin RB171, Indigo Karmin, RBBR, Astrazon Mavi ve Astrazon Siyah boyalarının rengini giderim yeteneğini saptamak için çalışmalar farklı konsantrasyonlarda boyar madde içeren ortamlarda hem kesikli ve hem de tekrarlı kesikli süreçte yürütülmüştür.

Bulgular

RB171 içeren ortamlarda (100-200 mg/L) kesikli süreçte 1. saatte %90 civarında renk giderimi elde edilirken, tekrarlı kesikli süreçte 100 mg/L RB171 içeren ortamda ilk kullanımda %88'in üzerinde renk giderimi elde edilmiştir. İndigo Karmin içeren ortamlarda kesikli süreçte yürütülen çalışmalarda da %90'nın üzerinde renk giderimi gerçeklemiş ve pelletler renk giderim aktivitelerini 72 saat korumuştur. Tekrarlı kesikli süreçte de Indigo Karminin rengi %94 oranında giderilebilmiştir. Kesikli koşullarda RBBR'nin rengi 72. saatte %50 civarında giderilirken tekrarlı kesikli süreçte 3. kullanımda bile %60'ın üzerinde renk giderilmiştir. Astrazon Mavi ve Astrazon Siyah boyalarının rengi de etkili bir şekilde giderilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

B. adusta pelletleri kullanılarak çeşitli boyar maddelerin rengi hem kesikli hem de tekrarlı kesikli süreçlerde steril olmayan koşullarda etkili bir şekilde giderilebilmiştir. Bu da, steril olmayan koşullarda atık su arıtımı için önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Bjerkandera adusta, Tekstil boyası, Renk giderimi

Teşekkür: Çalışma İnönü Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimince desteklenmiştir (Proje No: 2014-30).

Poster Sunumu

İnsektisit Olarak Kullanılan Deltametrin'in Bakterisidal Etkilerinin İncelenmesi

Mert Sudağıdan[1], Hakan Eligül[2], Veli Cengiz Özalp[1,3]

[1]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Kit-argem*

[2]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Sargem*

[3]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü*

msudagidan@gmail.com

Giriş

Deltametrin sivrsinek, karasinek ve böcek mücadelesinde etkin şekilde kullanılan en önemli piretroidlerdendir. Böcekler üzerindeki nörotoksik etkisi sodyum kanallarını açık tutarak nöronlarda depolarizasyon ile oluşmaktadır. Karasineklerin patojen mikroorganizmaların taşınmasında en önemli vektörlerdendir. Özellikle yüzey ve dışkıları ile bakterileri taşıyarak gıdaları kontamine edebilmektedirler. Çalışmamızda ev sineği (*Musca domestica*) kontrolünde kullanılan Deltametrin'in Gram pozitif ve Gram negatif referans bakteri suşları (n:10) ve sinek yüzeylerinden izole edilen *Staphylococcus saprophyticus* suşu gelişimi üzerindeki etkileri buyyon dilüsyon testi kullanılarak ve bakterilerin gelişim profilleri çıkarılarak incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada Deltametrin (Sigma 45423) DMSO içerisinde çözündürülmüş %0.1 Tween80 eklenmiştir. En yüksek konsantrasyon olarak Mueller Hinton Broth Cation-adjusted içerisinde 0.6 mg/ml Deltametrin kullanılmıştır. CA-MHB içerisinde 0.6-0.0047 mg/ml seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Test edilen bakteriler *S. aureus* N315, ATCC29213, ATCC25923, ATCC43300, *B. cereus* NRRL B-3711, *E. coli* ATCC25922, *E. faecalis* ATCC29212, *P. aeruginosa* ATCC9027, ATCC27853, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC14028 ve ev sineği yüzeyinden izole edilen *S. saprophyticus* F4E/S1 suşu 1 gece TSA besiyerinde 37°C'de üretilmiş ve %0.9 NaCl içerisinde bakteri yoğunlukları McFarland 0.5'e densitometre ile ayarlanmıştır. Buyyon dilüsyon testi için 200µl CA-MHB içerisinde Deltametrin dilüsyonu ile 20µl bakteri 96-kuyucuklu mikroplakada karıştırılmış, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve her 15 dakikada 600 nm'de absorbans değerleri mikroplaka okuyucuda ölçülerek büyüme eğrileri elde edilmiştir.

Bulgular

24 saat sonunda bakterilerin büyüme eğrileri incelenmiş tüm test edilen Deltametrin konsantrasyonlarında bakterilerin gelişim gösterdiği gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar sadece CA-MHB ve CA-MHB+Tween80 içerisindeki bakteri gelişimleri ile karşılaştırılmış ve anlamlı bir değişim tespit edilememiştir. Karasinek mücadelesinde yoğun şekilde kullanılan Deltametrin'in test edielen Gram pozitif ve Gram negatif referans bakteri şuşları ile sinek yüzeyinden izole edilen *S. saprophyticus* suşu üzerinde bakterisal bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Mikroorganizma vektörlerinden olan karasineklerin, Deltametrin ile öldürülmesine karşın bakteriler üzerinde bir inhibisyon etkisinin olmaması ölü sineklerin rüzgar ve çevresel etkenlerle mikroorganizmaları taşıyabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Deltametrin, bakterisal, Musca domestica

Teşekkür: Bu çalışma, KGTU-BAP-2019/0026 Nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Poster Sunumu

İnorganik Kadmiyum Tayini İçin Floresan Tam Hücre Bakteriyel Biyoraportörünün Geliştirilmesi

Evrim Elçin[1], Hüseyin Avni Öktem[1,2]

[1]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara*

[2]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

evrimelcin@gmail.com

Giriş

Kadmiyum son 50 yılda endüstriyel faaliyetler sonucu çevresel kirliliğe sebep olup, düşük dozlarda bile yüksek toksik etki gösteren bir ağır metaldir. Çevreye karışan kadmiyum kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi toplum sağlığını tehdit eden ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Suda çözünürlüğü yüksek olan kadmiyumun birinci sınıf kanserojen grubunda olduğu rapor edilmiştir. Bu sebeple, çevresel kadmiyum seviyelerinin hızlı ve sıkça izlenmesi önemlidir. Fizikokimyasal analiz metotlarına alternatif yöntem olarak, ağır metal tayini için çeşitli biyosensör sistemleri önerilmektedir. Bu çalışmada, inorganik kadmiyumu tespit edebilen floresan tam hücre bakteriyel biyoraportörü geliştirilip ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, kadmiyum, civa ve kurşun gibi metaller ile kontrol edilebilen bakteriyel genomik promotör bölgesi ile yeşil floresan proteini kodlayan gen birleştirilerek sensör plazmitler elde edilmiş ve nonpatojenik Escherichia coli bakteriyel hücrelere aktarılarak biyoraportör hücreler oluşturulmuştur. Elde edilen kadmiyum biyoraportör hücreleri farklı besi ortamlarında belli aralıktaki kadmiyum derişimlerinde 16 saat boyunca inkübe edilip doza ve zamana bağlı değişen rölatif floresan değerleri mikroplaka okuyucuda ölçülerek kadmiyum tayin limitleri belirlenmiştir. Biyoraportörün metal özgünlüğünü test etmek için farklı ağır metaller ile hücreler indüklenerek floresan değerleri ölçülmüştür. Ayrıca, biyoraportör hücrelerinin farklı büyüme fazlarındaki kadmiyum tayin becerisi de değerlendirilmiştir.

Bulgular

DNA sekanslama yöntemi ile klonlama işlemi doğrulandıktan sonra kadmiyum sensör plazmidi bakterilere aktarılmış ve raportör hücreler oluşturulmuştur. Kadmiyum biyoraportör hücreleri minimal besiyerinde inkübe edildiklerinde 5 µg/L kadmiyumu 3,5 saat içinde; inorganik fosfattan yoksun besiyerinde inkübe edildiklerinde ise 2 µg/L kadmiyumu 1,5 saatte tespit edebildiği floresan sinyalindeki artış ölçülerek gösterilmiştir. Her iki besiyerinde de artan kadmiyum miktarlarına karşı biyoraportörün doza ve zamana bağlı floresan sinyal artışı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kadmiyum biyoraportörünün kadmiyuma karşı diğer metallerden daha hassas olduğu görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Dünya Sağlık Örgütü standartlarına göre içme suyundaki güvenli kadmiyum limiti 3 µg/L; Türkiye'de ise 5 µg/L olarak değerlendirilmektedir. Geliştirilen kadmiyum biyoraportörü çevresel oalarak güvenli kadmiyum miktarını tespit etmekte kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Bakteriyel Biyoraportör/Biyosensör, Yeşil Floresan Protein

Teşekkür: TÜBİTAK ARDEB 217E115 No'lu TÜBİTAK Türkiye-Macaristan İkili İşbirliği Projesi

Poster Sunumu

Arsenik Tam Hücre Biyoraportörlerinin Farklı Biyopolimerlerle İmmobilizasyonu

Evrim Elçin[1], Hüseyin Avni Öktem[1,2]

[1] *Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara*

[2] *Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

evrimelcin@gmail.com

Giriş

Arsenik bütün dünyada öncelikli tehlikeli maddeler sıralamasında birinci sırada olup insanlar için kanserojen olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle çevresel arsenik seviyelerinin hızlı ve sıkça izlenmesi, birikimine engel olmak ve derhal uzaklaştırılmasında tedbir almak açılarından önemlidir. Standart laboratuvar tekniklerine alternatif ve tamamlayıcı yöntem olarak, ağır metal saptamak için çeşitli biyosensör sistemleri önerilmektedir. Bu çalışmada, taşınabilir biyosensör cihaz geliştirmek için tarafımızca geliştirilen arsenik biyoraportörünün agar ve aljinat biyopolimerlerinde immobilizasyonu çalışılmıştır. İmmobilize edilen arsenik biyoraportörünün çeşitli tutuklama parametreleri optimize edilerek karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada arseniğe özgü patojenik olmayan Escherichia coli bakteriyel floresan biyoraportör hücreler elde edildikten sonra farklı biyopolimerler ile immobilizasyonu yapılmıştır. Arsenik biyoraportör hücreleri farklı besi ortamlarında, farklı agar ve aljinat jel konsantrasyonlarında ve farklı hücre yoğunluğu parametrelerine göre immobilize edilip değerlendirilmiştir. Agar ve aljinata hapsedilmiş biyoraportör hücreleri belli aralıktaki arsenit ve arsenat derişimlerinde 16 saat boyunca inkübe edilip doza ve zamana bağlı değişen floresan değerleri mikroplaka okuyucuda ölçülerek arsenik tayin limitleri belirlenmiştir. İmmobilize arsenik biyoraportör hücrelerinin metal özgünlüğünü test etmek için farklı metaller ile inkübe edilerek rölatif floresan değerleri ölçülmüştür.

Bulgular

Arsenik biyoraportörü için en uygun agar konsantrasyonu %1,5 (w/v) ve hücre yoğunluğu OD600 = 0,1 olarak; en uygun aljinat konsantrasyonu % 1 (w/v) ve hücre yoğunluğu OD600 = 0,4 olarak belirlenmiştir. Optimize edilmiş tutuklama parametrelerinde oluşturulan biyoraportör sistemleri arsenit ve arsenatı, 25 µg/L ve 150 µg/L derişimlerinde sırasıyla 5 ve 2 saatte belirleyebilmektedir. Her iki besiyerinde de artan arsenik iyon derişimlerine karşı biyoraportörler doza ve zamana bağlı olarak floresan sinyalinde artış göstermektedir. Ayrıca, optimize edilmiş immobilize arsenik biyoraportörlerinin diğer metallere cevap vermediği ve inorganik arsenik formlarına özgü olduğu gösterilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre sulardaki güvenli arsenik limiti 10 µg/L olup ülkemizde de bu değer kullanılmaktadır. İmmobilize edilen arsenik biyoraportörü sulardaki insana zararlı formlar olan arsenit ve arsenat miktarını belirlemekte kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Arsenik, Agar, Aljinat, Bakteriyel Biyoraportör, İmmobilizasyon

Teşekkür: TÜBİTAK ARDEB 217E115 No'lu TÜBİTAK Türkiye-Macaristan İkili İşbirliği Projesi

Poster Sunumu

UV-koruyucu Pigment Üreten Fungusların İzolasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu

Ayşe Yenilmez[1,1]

[1] *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Van*

yenilmez2014@gmail.com

Giriş

Güneş ışığından kaynaklanan ultraviyole radyasyon entomopatojenik fungusların canlılığını etkileyen en önemli faktördür. Mikrobiyal ajanların doğada kalıcılığını arttırmak için yapılan çoğu uygulamada formüle edilen konidilere UV koruyucular ilave edilir. Bu uygulamalara rağmen, birçok durumda formüle edilen konidilerin alan etkinlikleri zararlıların kontrolü için hala tam olarak yeterli değildir. Bu nedenle pigmentler gibi UV koruyucu yeni doğal ürünlerin keşfine ihtiyaç vardır.

Gereçler ve Yöntemler

Yukarıda bahsedilen amaç doğrultusunda Erzurum ilinde farklı noktalardan toprak örnekleri alındı. Laboratuvarda yapılan izolasyonlarda pigment ürettiği tespit edilen 2 filementöz fungus ve 6 maya saflaştırıldı. Yapılan ön seleksiyonda bu pigment üretici funguslar içerisinden sadece A2 ve A3 kodlu maya izolatları pigment ekstrasyonuna yatkın olmasından dolayı seçildi ve pigmentler saflaştırıldı. Ardından bu iki izolata ait pigmet örnekleri 0,5 mg/ml, 1 mg/ml ve 2,5 mg/ml olacak şekilde B. bassiana spor süspansiyonlarına ilave edildi. Pigment ilave edilen süspansiyonlar 15, 30 ve 60 dakika boyunca UV ışınları ile muamele edildi.

Bulgular

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda pigment ilavesi bütün denemelerde UV ışınlarına karşı koruma sağlayarak konidi çimlenmesini arttırdı. En iyi sonuçlar A2 izolatına ait pigmentin ilavesi ile elde edildi. PaF04 kodlu B. bassiana izolatı 30 dakikalık UV muamelesi sonucunda konidi çimlenme oranı %39.58'e düşerken, 0,5 mg/ml konsantrasyonunda A2 pigment ilavesi sonucunda bu oran %99.16 olarak kaydedildi. Bu nedenle A2 pigmentinin ayrıca antimikrobiyal özelliği, antioksidan aktivitesi ve mayanın moleküler karakterizasyonu gerçekleştirldi.

Sonuç ve Tartışma

Yapılan çalışmaların sonucunda, pigmentin UV koruyucu özelliğinin yanında antioksidan aktivite ve antibakteriyal özellik gösterdiği belirlendi. A2 kodlu izolat, yapılan ITS sekans analizi sonucu Sporobolomyces roseus olarak tanımlandı.

Anahtar Kelimeler: Pigment, UV koruyucu, Sporobolomyces roseus

ENDÜSTRİYEL BİYOTEKNOLOJİ

Sözlü Sunum

Türkiye'de Biyoetanol Üretimine Yönelik Güncel Yaklaşımlar

Taner Şar[1], Meltem Yeşilçimen Akbaş[1]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 41400, Kocaeli, Türkiye*

tsar@gtu.edu.tr

Giriş

Fosil kökenli yakıtların zararlı sera gazı emisyonları nedeniyle yenilenebilir ve temiz enerji olarak ifade edilen biyoyakıtlara olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Bir biyoyakıt türü olan biyoetanol bakteri, maya ve mantar gibi mikroorganizmaların karbon kaynağı olarak çeşitli tarımsal ve gıda ürünleri ile şekerlerin fermantasyonu sonrası oluşur. Türkiye'de etanol üretimi yapılan 12 tesiste buğday, mısır, şeker pancarı ve melas kullanılmaktadır. Bu üretim tesislerinde üretilen etanol gıda, sağlık, ısınma ve ulaşım endüstrisi gibi farklı sektörlerde kullanılmaktadır. Yapılan bu çalışmada geniş kullanım alanına sahip etanolün üretiminde alternatif yeni karbon kaynaklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, etanol üretiminde süt işleme ve çeşitli meyve atıklarının da dahil olduğu gıda endüstrisi yan ürünleri karbon kaynakları olarak kullanılmıştır. Etanol üretimi için ise etanolojenik *E.coli* FBR5 suşu kullanılmıştır.

Bulgular

Elde edilen sonuçlar ile en etkin biyoetanol üretiminin laktoz şekeri içeren süt işleme atıkları ile daha etkili olduğu belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

Elde edilen bulgular, özellikle süt işleme endüstrisi atığının biyoetanol üretiminde alternatif bir karbon kaynağı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoetanol, peynir altı tozu, gıda işleme ürünleri, Türkiye

Teşekkür: Bu çalışma Gebze Teknik Üniversitesi (2016-A-13 ve 2017-A102-19) tarafından desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Rhizopus oryzae ile Patates Kabuğu Atıklarından Etanol Üretimi

Deniz Bozkurt[1], Gülsüm Ebru Özer Uyar[2]

[1]*Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Umuttepe, Kocaeli*

[2]*Kocaeli Üniversitesi, Arslanbey Meslek Yüksek Okulu, Kartepe, Kocaeli*

deniz_umut_83@hotmail.com

Giriş

Dünya biyoetanol üretiminin çoğu mısır, şeker kamışı ve şeker pancarından elde edilen nişasta ve sükrozun fermentasyonu ile üretilmektedir. Hammadde olarak gıda sanayi atıklarının ucuz, yenilenebilir olması nedeniyle oetanol üretiminde kullanılması için araştırmalar yapılmaktadır. Patates cipsi üreticileri kabuk şeklinde atık çıkarmaktadır. Patates kabuğunun %50si nişastadan oluşmaktadır. Bu nedenle organik asit ve etanol üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. *Rhizopus oryzae* optik olarak saf L-laktik asit üreticisi olarak bilinir ancak sadece laktik asit değil etanol de üretebilir. Bu çalışmada *R. oryzae*'nin patates kabuklarını kullanarak eş zamanlı sakkarafikasyon ve etanol fermentasyonu ile etanol üretimi yapması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

R. oryzae "potato dextrose agar" içeren katı besiyerlerine ekilip, 30 °C'de üç gün inkübe edildikten sonra plaklardan sporlar toplanarak spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan spor süspansiyonundan (a/h olarak) % 4 kurutulmuş ve öğütülmüş patates kabuğu, % 0.2 glikoz, % 0.2 $(NH_4)_2SO_4$, % 0.065 KH_2PO_4, % 0.025 $MgSO_4.7\ H_2O$ ve % 0.005 $ZnSO_4.7H_2O$ içeren sıvı besiyerine ekim yapılmış, çalkalamalı inkübatörde 35°C'de, 150 rpm de inkübe edilmiştir. Belli aralıklarla 93 saat boyunca örnek alınarak besiyerindeki glikoz, laktik asit ve etanol derişimleri HPLC ile belirlenmiştir.

Bulgular

Yapılan bu çalışmada ortamdaki glikoz derişimi *R. oryzae*'nin amilaz aktivitesi ile inkübasyonun 12-24 saati arasında artmış ve en fazla % 0.74 olarak ölçülmüştür. Etanol üretiminin en çok % 0.78, laktik asit üretiminin ise en çok % 0.21 olduğu tespit edilmiştir. Ortamdaki başlangıç glikoz derişiminin *R. oryzae* fizyolojisi üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Özellikle düşük glikoz derişimlerinde piruvat derişiminin de düşük olmasından dolayı piruvat dekarboksilaz enzimi laktat dehidrojenaz enzimine göre daha hızlı çalışmaktadır. Bu nedenle etanol üretimi düşük glikoz derişimlerinde daha fazla olmaktadır. Bu çalışma *R. oryzae*'nin ortamda glikoz bittiği zaman C kaynağı olarak öncelikli laktik asiti kullandığını da göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak *R. oryzae* hem nişastayı fermente edebildiği hem de etanol üretebildiği için biyoetanol üretimi için alternatif bir organizma olabilir.

Anahtar Kelimeler: Rhizopus oryzae, etanol, patataes kabuğu atığı

Sözlü Sunum

Özgün Bir İki Vektörlü Işık Kontrollü T7-promotoru-gfp İfade Sisteminin Geliştirilmesi ve Gfp İfadesinin İncelenmesi

Ege Soydemir[1], Evren Doruk Engin[2]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

[2]*Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara*

ege.soyd@gmail.com

Giriş

Rekombinant proteinlerinin üretimi günümüz biyoteknoloji alanlarında yoğunlukla çalışılan bir konudur. Mikrobiyal hücre fabrikaları bu noktada üretim kolaylığı ve verimi açısından odak noktası haline gelmiştir. Bu çalışmada sentetik biyoloji araçları kullanılarak pDawT ve pATG adı verilen iki farklı vektör üretilmiştir. pDawT vektörü ile ~400nm UV ışığı ile T7 RNA polimeraz enzimi üretimini indüklemekte ve pATG vektörü P_{T7} kontrolünde EGFP üretimi sağlamaktadır. Bu çalışmada bu iki vektör aynı E. coli DH5α bakterisine kotransforme edilmiş, hücreler ~400nm UV ışığı ile indüklenmiş ve üretilen EGFP floresan mikroskop kullanılarak görüntülenmiştir. Görüntü analizleri ile ise üretilen EGFP miktarı ve kültür içerisindeki dağılımı incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

pDawT vektörü pDawn vektör omurgası ve E. coli BL21 genomundan çoğaltılan T7RNAP geni, pATG vektörü ise pACYC184 vektör omurgası ve EGFP geni kullanılarak SLiCE klonlama yöntemi ile klonlanmıştır. Elde edilen vektörler E. coli DH5α'ya kotransforme edildikten sonra, ~400nm UV ışık sisteminde 0,78W, 1,56W, 3,13W ve 3,91W ışık güçlerinde indüklenmiştir. 2 saatte bir hücrelerin OD600 değerleri ölçülerek üreme eğrileri ortaya çıkartılmış, 6, 12 ve 24. saatlerde ise protein izolasyonu gerçekleştirilmiş, hücrelerin 1:100 dilüsyonlarının lama fiksasyonu gerçekleştirilmiştir. Lamlara fikse edilen hücreler Zeiss Axio Imager M1 floresan mikroskopunda 40X büyütmede FITC filtresi ile görüntülenmiştir. Karşılaştırma için indüklenmemiş hücrelerle, EGFP geni içermeyen E. coli DH5α hücreleri ile ve pozitif kontrol olarak pET28aGFP ve pGLO içeren hücreler ile karşılaştırılmıştır. Görüntülerin RGB ve HSV analizleri için ise ImageJ yazılımı ve Python dilinde Computer Vision 2 kütüphanesi kullanılmıştır.

Bulgular

Çalışmadaki deney grupları pozitif kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, FITC filtresindeki floresan mikroskop görüntülerinin RGB analizlerine göre deney grupları arasındaki en verimli EGFP üretimi 0,8 OD'den itibaren 3,13W UV ile 12 saat indüklenen E. coli DH5α hücrelerinde gerçekleşmiştir. 3,13W ve 3,91W ışık yoğunluklarında indüklenen hücrelerin üreme OD'leri sırasıyla ~4 OD600 ve ~2 OD600 iken, 0,78W ve 1,56W yoğunluklarında ise ~11 OD600'dir. HSV analizleri ise EGFP üretiminin kültür içerisindeki dağılımını göstermiştir ve pozitif kontrol gruplarında tek bir şekilde üretim sağlayan hücreler görünürken, deney gruplarında saf kültür olmasına ragmen farklı miktarlarda üretim yapan hücreler görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Üretilen genetik devre ile EGFP proteininin P_{T7} kontrolünde, T7 sistemleri için konvansiyonel bir hücre fabrikası olarak kullanılmayan bir hücre olan E. coli DH5α hücresinde üretimi, 3,13W ~400nm UV ile 12 saat indüklenerek sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Genetik devre, pDawn, GFP, mikrobiyal hücre fabrikaları

Sözlü Sunum

İlmiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma (lamp) ile Gdo Tespitinde Üç Farklı Basit-hızlı Dna İzolasyon Metodunun Karşılaştırılması

Ayça Nazlı Moğol[1], Remziye Yılmaz[2], Hüseyin Avni Öktem[3,4]

[1]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara, Türkiye*

[2]*Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye*

[3]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara, Türkiye*

[4]*Nanobiz Teknoloji A.ş. Odtü Teknokent, Galyum Blok. No:218, Ankara, Türkiye*

aycanazli.mogol@gmail.com

Giriş

Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) Dünya genelinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Her ülkenin izin verilen GM evenleriyle ilgili farklı bir mevzuatı ve farklı bir eşik değeri vardır. Genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) seviyelerinin belirtilen limitler dahilinde olduğunu belirlemek için hızlı, hassas ve doğru GDO tespiti gerekir. İlmiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma (LAMP) testi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır ve en popüler izotermal tespit tekniğidir. Bu yöntem, temel olarak duyarlılığı, hızlılığı, özgüllüğü ve sadeliği nedeniyle kullanılır. Ayrıca, LAMP uygun maliyetli bir yöntemdir ve bilinen PCR inhibitörlerinin yanı sıra, ortamda yabancı DNA varlığına da toleranslıdır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada level 5 Bt11 Mısır (nominal %5 GDO içeren), level 1 Bt11 Mısır (nominal %100 GDO içeren), blank Bt11 Mısır (nominal %0 GMO içeren) , GT73 Roundup Ready canola (nominal %100 GMO içeren) kullanıldı. Ayrıca, yabani tip ve transgenic (double enhanced CaMV35S içeren) tütün (Nicotiana tabacum) kullanıldı.
35S promoter primerleri Kiddle ve ark. (2012)'nın çalışmasından ve FMV primerleri Randhawa ve ark. (2013)'nın çalışmasından alındı.

Üç farklı DNA izolasyon metodu test edildi. Bunlar;
I. Kim ve ark. (2018) tarafından geliştirilen Basit DNA Hazırlama Metodu
II. Klimyuk ve ark. (1993) tarafından geliştirilen Bitki Materyallerinin Hızlı Hazırlanması İçin Alkali Uygulaması
III. Li ve ark. (2017) tarafından geliştirilen Bitki Dokusunun Direkt Çoğaltılması İçin Evrensel Metot

Bulgular

Basit DNA hazırlama yöntemi, DNA'yı taze transgenik Nicotiana tabacum yapraklarından 20 dakika içinde başarıyla izole etti ve bu DNA'lar LAMP analizinde verimli bir şekilde kullanıldı. Bitki Materyallerinin Hızlı Hazırlanması İçin Alkali Uygulaması DNA'ları Bt11 mısır level 1, transgenik *Nicotiana tabacum* ve GT73 Roundup Ready kanoladan 10 dakika içinde hızlı bir şekilde izole etti ve bu DNA'lar LAMP analizlerinde başarıyla kullanıldı. Doğrudan LAMP analizi (Bitki Dokusunun Direkt Çoğaltılması İçin Evrensel Metot), 35S promotör genini taze transgenik Nicotiana tabacum yapraklarından 2 dakika içinde başarıyla izole etti.

Sonuç ve Tartışma

Her üç metot da DNA'yı başarıyla izole etti ve bu DNA'lar LAMP analizinde verimli bir şekilde kullanıldı. Bu metotlar arasında Bitki Dokusunun Direkt Çoğaltılması İçin Evrensel Metot minimum zaman, emek ve maliyet gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: LAMP, GDO Tespiti, hydroxy naphtol blue, hızlı DNA izolasyonu

Teşekkür: Nanobiz Teknoloji A.Ş. TUBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlar Burs Programı (Ayça Nazlı Moğol'a)

Sözlü Sunum

Şeker Atığı Melastan Selüloz Üretebilen Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Yaren Nida Tiryaki[1], Gülçin Alp Avcı[1]

[1]*Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çorum*

yarennida05@gmail.com

Giriş

Son yıllarda, biyoteknolojideki gelişmelerle birlikte, selüloz üretiminde alternatif yollar araştırılmakta olup selüloz üreten bakteriler üzerinde yoğun çalışmalar sürdürülmektedir. Bakteriyel selüloz, birçok avantaja sahiptir ve odundan elde edilen selüloza karşı güçlü bir alternatif oluşturmaktadır. Ayrıca, bakteriyel selüloz fibrilleri, bitki selülozundan daha küçük yapılı ve hidrofiliktir. Aynı zamanda koruyucu bir tabaka görevi görmektedir. Lignin ve hemiselüloz içermemesi nedeniyle de çevre dostudur. Bu sebeple endüstriyel kullanım için çok daha avantajlıdır. Çalışmamızda şeker atığı melastan selüloz üreten mikroorganizmaların elde edilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda kullanılan şeker atığı Melas yoğun ve kıvamlı olduğundan değişen oranlarda NaCl ile seyreltildi. Seyreltilen melas daha sonra Hestrin-Schramm (HS) agara ekilerek 30°C de 5-7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası renk ve morfolojik özelliklerine göre seçilen koloniler, HS brotha aktarılarak 30°C de 5 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası gram boyama yapılarak ışık mikroskobunda gözlendi. Işık mikroskobunda gram negatif basil morfolojisinde gözlenen bakteri kolonileri seçilere aktifleştirildi ve stok alınarak -20°C' de saklandı. Bakterilerin identifikasyonu için, biyokimyasal testlerde 10 farklı karbon kaynağı (glukoz, sükroz, maltoz, fruktoz, mannitol, laktoz, arabinoz, inülin, galaktoz, sorbitol) kullanıldı.
Selülozik zar oluşumu için, aktif bakterilerin 30°C de 4-10 günlük inkübasyonu tercih edildi. 5.günden itibaren tüplerdeki selülozik zar oluşumları kontrol edildi. Selülozik zarların ıslak ve kuru yapısı gözlemsel olarak incelenerek değerlendirildi.

Bulgular

HS agarda 5-7 günlük inkübasyon sonrası oluşan krem ve şeffaf koloniler sıvı besiyerinde alınarak 5 gün 30°C de geliştirilen kültürlerin gram boyanmasında gram negatif basiller morfolojisine sahip 17 bakterinin seçimi gerçekleştirildi. İdentifikasyon testlerine dahil edilen suşların identifikasyon veri analizine göre gram negatif 11 basilin, Gluconacetobacter sp. türleri ile benzerlik oranı %85 olarak tespit edildi.
Bakterilerin 30°C de 4-10 günlük inkübasyonu sonrası elde edilen selülozik zarın nemli haldeki yapısının kaygan, kalın ve sert olduğu ancak, inkübatörde nemi giderildikten sonraki halinin ise incelendiğinde kırılgan ve daha ince bir tabaka yapısında olduğu gözlemlendi.

Sonuç ve Tartışma

Çalışmamızda şeker içeriği yüksek olan yerli melastan, selüloz üreticisi 11 bakterinin izolasyonu yapılmıştır. Bakteriyel selüloz üreticisi bakterilerin ticari olarak üretilmesi ve birçok alanda kullanılması için çalışmalarımız devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel selüloz, Gluconacetobacter spp., Melas

Sözlü Sunum

Eynal Termal Kaplıcasının Prokaryotik Çeşitliliği

Osman Erdönmez[1], Serap Gedikli[2], Belma Nural Yaman[1,3], Pınar Aytar Çelik[3,4], Ahmet Çabuk[1,5]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*

[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir*

[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Eskişehir*

[4]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mahmudiye Atçılık Meslek Yüksekokulu, Eskişehir*

[5]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir*

ahmetcabuk@gmail.com

Giriş

Ülkemiz jeolojik yapısı nedeniyle pek çok sıcak su kaynağına sahiptir. Jeotermal potansiyeli açısından Avrupa'nın birinci ve Dünyanın yedinci ülkesi konumundadır. Ancak bu kaynakların mikrobiyolojik profillerini belirleyen kapsamlı bir çalışma açısından eksikliklerin olduğu bilinmektedir. Ayrıca termofilik mikroorganizmalar sadece biyolojik nedenlerle değil biyoteknolojik süreçler için de ilgi çekicidir. Ekstremofillerle yapılan çalışmalar bu mikroorganizmaların kendileri ya da ürünlerinin potansiyel biyoteknolojik uygulamaları üzerine yoğunlaşmıştır. Yeni mikrobiyal suşların izolasyonu, bileşiklerin ve yol izlerinin bulunuşu, hücresel bileşenlerin moleküler ve biyokimyasal karakterizasyonu ile potansiyeli de giderek artmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışma kapsamında Eynal (Kütahya) termal kaplıcasında bulunan termofilik mikrobiyal komünite; fluoresan in situ hibridizasyon (FISH), 16S rRNA geninin polimeraz zincir reaksiyonu ve Amplifiye edilmiş ribozomal DNA restriksiyon analizi gibi moleküler yaklaşımlar ve klasik mikrobiyal (kültürel) tekniklerin kombinasyonu ile değerlendirilmiştir. Elde edilen izolatlar ile proteaz tarama çalışması yapılmıştır.

Bulgular

Üç farklı besi ortamından 14 mikroorganizma izole edilmiştir. İzolatların 16S PCR ürünleri *Hae*III restirksiyon enzimi kesilmiş ve dört profil gözlenmiştir. E2.2, E3.1, E3.5 ve E3.2 izolatlarının16S rRNA genleri 27F primeri ile dizilenmiştir. Dizilerin BLAST'da align edilmesi ile *Paenibacillus naftalinovorans, Paenibacillus lactis, Paenibacillus* sp., *Brevibacillus borstelensis* türleri tanımlanmıştır. Diziler GeneBank'a yüklenmiş ve accession numaraları alınmıştır. FISH ve DAPI analizleri sonucunda Arke ve Bakteri domainlerinin varlığı tespit edilmiştir. Temsilci olarak seçilen 4 izolat arasında yapılan proteaz taraması ile *Paenibacillus lactis* E3.1'in en yüksek spesifik aktiviteye (300 mg/U) sahip olduğu belirlenmiştir

Sonuç ve Tartışma

Paenibacillus lactis E3-1, *Brevibacillus borstelensis* E3-2, *Paenibacillus naphthalenovorans* E2-2 ve *Paenibacillus* sp. E3-5 izolatları tanımlanmıştır.En yüksek proteaz aktivitesi *Paenibacillus lactis* E3-1 kodlu izolatta görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Termofil mikroorganizma, Eynal, proteaz

Teşekkür: Belma NuralYaman TUBİTAK BİDEB tarafından desteklenmektedir.

Sözlü Sunum

Termofilik Bir Mantar Olan *Scytalidium thermophilum*'dan Proteaz Üretiminin Optimizasyonu

Gülen Sinem İnci[1]

[1]*Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

guleninci@gmail.com

Giriş

Termofilik mantarlar sıcağa en fazla dayanabilen ökaryotik canlılardır. Isıya adaptasyon sonucu, mezofilik atalarından evrimleştikleri iddia edilmektedir. Bunlardan, özellikle S. thermophilum, yemeklik mantar Agaricus bisporus'un üretilmesinde verimi artırıcı önemli bir role sahiptir ve lignoselülozik maddelerin parçalamasında rol oynayan termostabil enzimlerin üretimi yönünden endüstriyel önem taşımaktadır. Bu enzimlerden biri olan alkalen proteazlar, yüksek katalitik aktivitesi, substrat özgünlüğü ve büyük miktarlarda çalışılabilme özelliğinden dolayı endüstriyel alanda ekonomik olarak tercih edilmektedir. Bu çalışmada S. thermophilum'dan proteaz enzim üretimi için optimum koşullar belirlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Proteaz enzim aktivitesinin en yüksek olduğu besi ortam koşullarını belirlemek için öncelikle %1 (w/v) glukoz içeren YpSs (Yeast Powder Soluble Starch) besi ortamında 45°C ve 155 rpm'de inkübe edilen *S. thermophilum* mantarı 24 saat sonunda farklı glukoz konsantrasyonları (ile farklı azot (%1-4, w/v maya özütü, %1-4 pepton, %1 sığır özütü, %1 yağsız süt) ve metal kaynaklarını (5 mM NaCl, KCl, MgCl2, FeCl2, MnCl2, CaCl2) içeren besi ortamlarına aktarılmış ve aynı sıcaklık ve çalkalama hızında 3 gün boyunca inkübe edilmiştir (Ögel ve diğ.,2002). Her gün örnek alınarak hem hücre sayı ölçümü gerçekleştirilmiş hem de proteaz aktivite ölçümleri yapılmıştır.

Bulgular

Yapılan çalışmalar sonucunda en yüksek enzim aktivitesinin %4 (w/v) glukoz ve %1 (w/v) maya özütü içeren besiyerinde olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Elde edilen bulgular *Bacillus caseinilyticus* bakterisinden proteaz eldesi üzerine yapılan çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir (Mothe ve diğ.,2016). Metal ölçüm denemeleri halen devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Scytalidium, proteaz, termofilik mantar, optimizasyon

Sözlü Sunum

Şilempenin Yerel Micractinium Sp. Me05 Suşunun Kültivasyonunda Kullanımı ve Biyodizel Üretimi

Işkın Engin[1], Deniz Çekmecelioğlu[2], Ayşe Meral Yücel[1,3], Hüseyin Avni Öktem[1,3]

[1]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Ankara*

[2]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara*

[3]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara*

iskinkose@gmail.com

Giriş

Gün geçtikçe artan dünya nüfusu ve bu nüfusun enerji ihtiyacını karşılamak için kullanılan fosil bazlı yakıtlardan salınan CO2 gazının atmosferde birikmesi küresel iklim değişikliğine sebep olmakta ve bu durum alternatif enerji kaynaklarına yönelimi gündeme getirmekedir. Bu kaynaklardan bir tanesi mikroalgal biyokütle olup, karbon kaynağının maliyeti engel teşkil etmektedir. Diğer yandan, maliyetsiz oluşu ve yüksek organik madde içermesinden ötürü, şeker fabrikalarının atık maddesi olan şilempenin mikroalg kültivasyonunda karbon kaynağı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada şilempenin Micractinium sp.ME05 suşunun kültivasyonunda kullanımı ve biyodizel açısından uygunluğu araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada kullanılan Micractinium sp. ME05 suşu Haymana'dan izole edilmiş olup, daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda ısıya dayanıklı suş olarak tanımlanmıştır. Logaritmik artış fazındaki hücrelerden, farklı oranlarda şilempe (%2-%5-%10 ve %20) içeren Bold Bazal büyüme ortamına %10 (hacim/hacim) oranında inoküle edilmiş, tamamen karanlık ve 16 saat ışık-8 saat karanlık ortamda, 25±1ºC de 0.5L/dk. hava verilerek inkübasyon gerçekleştirilmiştir. 5-L reaktör deneyleri, %10 şilempe ile 16 saat ışık-8 saat karanlık ortamda gerçekleştirilmiştir. Bu hücrelerden Bligh-Dyer metodu ile lipit ekstrasksiyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen lipitlerin yağ asidi kompozisyonları biyodizele uygunluğu açısından ele alınmıştır

Bulgular

500-mL erlenmayer deneylerinde, miksotrofik ortamda elde edilen biyokütle verimi (0.16±0.01 g.L^{-}1 .gün-1), heterotrofik ortamda elde edilen biyokütle veriminden (0.13±0.01 g.L^{-}1 .gün-1) fazla olmuştur. 2-L erlenmayer deneylerinde en yüksek biyokütle miktarı (1.38±0.095 g/L) ve biyokütle verimi (0.27±0.019 g.L^{-}1 .gün-1) %10 şilempe (hacim/hacim) ile elde edilmiştir. 5-L reaktörde, elde edilen biyokütle miktarı 1.95±0.2 g/L, biyokütle verimi 0.32±0.2 g.L-1.gün-1 olmuştur. Lipid miktarı ise % 4.90±0.5 , lipid verimi % 1.30±0.15g.L-1.gün-1 olmuştur. Yağ asidi kompozisyonları incelendiğinde palmitik asit (C16:0) (% 21.03±0.62) ve linoleik asidin (C18:2)(% 49.98±1.07) yüksek oranda bulunduğu gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Şilempe içeren büyüme ortamında *Micractinium sp.*ME05 hücrelerinden yüksek lipid verimi alınması ve biyodizele elverişli yağ asitlerinin elde edilmesi, şilempenin mikroalglerden biyodizel üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Şilempe, Micractinium sp., reaktör, biyodizel

Teşekkür: TÜBİTAK 1001 (Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı-Proje no:114Z487)

Poster Sunumu

Yeni İzole Edilmiş *Trametes versicolor*'un Lakkaz Üretim Yeteneğinin Araştırılması

Tülay Tutal[1], Özfer Yeşilada[2]

[1]*İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya*
[2]*İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Malatya*

ozfer.yesilada@inonu.edu.tr

Giriş

Bir oksidoredüktaz enzimi olan lakkaz; lignin giderimi, ksenobiyotik yıkımı, tekstil atıksuyu ve boyar madde renk giderimi, biyosensör yapımı ve madde sentezi gibi pek çok uygulamada kullanılmaktadır. Beyaz çürükçül funguslar bu enzimin en iyi üreticileridir. Lakkaz üretim potansiyeli ve üretilen enzimlerin özellikleri türden türe hatta suştan suşa değiştiğinden dolayı araştırıcılar yüksek miktarda ve uygulama potansiyeli de yüksek olan lakkaz enzimleri üreten yeni funguslar izole etmeye çalışmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Hatay bölgesinden izole edilmiş *T. versicolor*'un farklı koşullarda enzim üretim yeteneği araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle fungus Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) plaklarında 30 °C'de üretilmiş ve daha sonra da aynı besiyerini içeren yatık agar ortamlarına ekim yapılarak 30 C 'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası distile su eklenerek hazırlanan misel süspansiyonundan 100mL Sabouraud Dekstroz Broth/250 mL erlen ortamlarına ekim yapılmıştır. Bu kültürler 30 °C'de inkübe edildikten sonra düşük devirde homojenize edilmiş ve stok ekim kültürü olarak kullanılmıştır. Lakkaz üretim çalışmaları kesikli, tekrarlı kesikli ve katı faz fermentasyonu sürecinde yürütülmüş ve fungusun lakkaz üretim yeteneği zaman bağlı olarak araştırılmıştır.

Bulgular

Farklı fermentasyon işlemleri karşılaştırıldığı zaman indükleyici içeremeyen ortamda en düşük lakkaz aktivitesi kesikli koşulda izlenmiştir. Ortama bakır eklenmesi 9. günde enzim üretimini 2000 kattan fazla artırmıştır. Tekrarlı kesikli süreçte ise bakır eklenmesi enzim üretimini 15 kat artırmıştır. Bakır eklenmemiş fermentasyon süreçlerinde en yüksek lakkaz üretimi katı faz fermentasyonu sürecinde gözlenmiş ve bakır eklenmesi katı faz fermentasyonu sürecinde de enzim üretimi 2.6 kat artmıştır. Bakır eklenmemiş ortamlarda en yüksek enzim aktivitesi katı faz fermentasyonu sürecinde gözlenirken bakır içeren ortamlarda kesikli fermentasyonda gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Lakkaz üretim yeteneği ilk kez araştırılan bu suşun fermentasyon sürecine bağlı olarak enzim üretim potansiyelinin değiştiği ve bakır eklenmesi ile lakkaz üretiminin indüklenerek yüksek oranda enzim üretilebileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beyaz çürükçül fungus, Lakkaz üretimi, Trametes versicolor

Teşekkür: Çalışma İnönü Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimince desteklenmiştir (Proje No: FYL-2019-1756).

Poster Sunumu

Yerel ve Özgün Mikroalg Suşu *Scenedesmus sp.*me02'ye Stabil Genetik Transformasyonun Gerçekleştirilmesi

Dilan Akın[1], Çağla Sönmez[2], Meral Yücel[1,3], Hüseyin Avni Öktem[1,3]

[1]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara*

[2]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya*

[3]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

dilanakin6200@gmail.com

Giriş

Genetik mühendisliği yönteminin mikroalgler üzerinde uygulanması, özellikle bazı mikroalg türlerinden biyodizel eldesinde verimi artırmaya yönelik olarak önem arz etmektedir. Bunun yanı sıra, endüstriyel açıdan önemli ürünlerin geliştirilmesi ve üretilmesi için de mikroalg tabanlı bir sistem oldukça avantajlıdır. Şimdiye kadar, en etkili genetik transformasyon yöntemlerinden biri olan 'elektroporasyon' bazı mikroalg türünde denenmiş ve başarıya ulaşılmıştır. Bu çalışmada özgün, yerel ve termal dirençli bir mikroalg olan *Scenedesmus sp.* ME02 suşuna laboratuvarımız koşullarında elektroporasyon yöntemiyle stabil genetik transformasyon çalışmaları yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Transformasyon öncesi rekombinant plazmit oluşturmak amacıyla pCAMBIA1302 vektöründen kesilen *mgfp5* gen bölgesi pChlamy_3 vektörüne aktarılmıştır. Oluşturulan vektör konstrüktü ve pCAMBIA1302 vektörü farklı voltaj-kapasitans değeri, farklı transformasyon solüsyonları ve farklı DNA miktarları kullanılarak *Scenedesmus sp.* ME02 hücrelerine transforme edilmiş ve bu sayede transformasyon koşullarının optimizasyonu sağlanmıştır. Belirlenen optimum koşullarda oluşan transformant kolonilerden total DNA izolasyonu ve total RNA izolasyonu yapılıp sonrasında sırasıyla PCR ve RT-PCR yöntemleri kullanılarak pozitif transformantlar doğrulanmıştır. Doğrulaması yapılan pozitif transformantların, GFP protein ekpresyonunun verifikasyonu amacıyla transformasyondan hemen sonra ve bir yıl sonra konfokal mikroskop altında görüntülemesi yapılmıştır.

Bulgular

Scenedesmus sp. ME02 hücrelerine yapılan elektroporasyon esnasında farklı parametreler uygulanarak optimum transformasyon koşulları belirlenmiştir. Optimize koşullar altında gerçekleştirilmiş olan pChlamy_3-GFP ve pCAMBIA1302 vektörlerinin transformasyonu sonucu elde edilen transformant hücreler PCR ve RT-PCR yöntemleri ile doğrulanmıştır. Bunun yanısıra, pCAMBIA1302 transformantlarında GFP proteini görsel olarak konfokal mikroskop altında gösterilmiştir. Ayrıca, transformasyondan bir yıl sonra GFP ekspresyonunun halen devam ettiği konfokal mikroskop altında görülebilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma ile DNA miktarının, voltaj-kapasitans değerlerinin ve özellikle solüsyon içeriğinin transformasyon başarısını etkileyen önemli faktörler olduğu ve transformasyon yapılacak türe göre vektör seçiminin önemli olduğu sonucuna varılmıştır

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, Scenedesmus sp. ME02, biyodizel, elektroporasyon

Teşekkür: Doç. Dr. Çağdaş Devrim Son ODTÜ Merkez Laboratuvarı ODTÜ-BAP

GIDA BİYOTEKNOLOJİSİ

Sözlü Sunum

Tibet Sığırı Kimozin Enziminin *Pichia pastoris* mayasında Hücre Dışında Rekombinant Üretimi

Fatma Ersöz[1,3], Mehmet İnan[2,4]

[1]*Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya*

[2]*Akdeniz Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya*

[3]*Ardahan Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ardahan*

[4]*Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir*

fatmaersoz@akdeniz.edu.tr

Giriş

Kimozin enzimi sütün pıhtılaştırılması amacıyla kullanılan bir aspartik proteazdır. Sütün yaklaşık %80'ini oluşturan kazein proteininin Phe105 ve Met106 aminoasitleri arasında bulunan peptit bağını kırarak, stabil olmayan kazein misellerini oluşturur ve sütün pıhtılaşmasını sağlar. Kimozin enzimi çeşitli bitkisel, hayvansal ve mikrobiyal kaynaklardan izolasyon yoluyla elde edilmektedir. Ancak farklı kaynaklardan elde edilen bu enzimlerin pıhtılaştırma etkinlikleri birbirlerinden farklı olup düşük verim gibi problemlerle karşılaşılmaktadır. Bu problemlerin üstesinden gelmek amacıyla kimozin enzimi bakteri veya maya gibi ekspresyon sistemlerinde rekombinant olarak üretilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada kimozin enzimi (EC 3.4.23.4) *Pichia pastoris* metilotrofik mayasında yapısal *GAP* (gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenaz) promotoru kontrolünde *Saccharomyces cerevisiae* α-MF sinyal sekansı kullanılarak hücre dışında rekombinant olarak üretilmiştir. Bu amaçla sentetik Tibet sığırı (YAK-*Bos grunniens*) pro-kimozin geni pGAPZαA vektörüne klonlanarak *P. pastoris* X33(yabanıl tip) suşuna elektroporasyon yöntemi ile transforme edilmiştir. Kimozin enzimini kodlayan genin kopya sayısı Southern Blot metodu ile belirlenen klonda erlenmayer ölçeğinde ekspresyon gerçekleştirilmiştir. Hücre dışında aktif kimozin üretimi glukoz içeren pH 3 değerindeki BYED besiyerinde, 28°C sıcaklıkta yaklaşık 72 saat sürdürülmüş ve süpernatant örneklerinde SDS-PAGE ve enzim aktivitesi analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Belirli aralıklarla alınan süpernatant örneklerinde SDS-PAGE analizi gerçekleştirilmiş ve kimozin enziminin moleküler ağırlığı beklenildiği gibi yaklaşık 40kDa olarak tespit edilmiştir. Erlenmayer ölçeğinde gerçekleşen üretimin 72. saat süpernatant örneklerinde protein miktarı 78.5 mg/L olarak bulunmuş olup bu süpernatant örneği 30kDa büyüklükte ayırma boyutuna sahip ultrafiltrasyon sisteminden geçirilerek 5 kat konsantre edilmiştir. Konsantratör sistemlerinden geçirilen süpernatant örneğinde enzim aktivitesi 11.2 IMCU/ml olarak bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma ile peynir endüstrisinde artan kimozin enzimi ihtiyacını karşılamak üzere sanayi üretiminde kullanılma potansiyeli bulunan, yapısal *GAP* promotorunda enzimi aktif halde hücre dışında üretebilen bir maya klonu geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bos Grunniens, Pichia Pastoris, Protein Ekspresyonu, Rekombinant Kimozin

Teşekkür: Çalışma, Akdeniz Üniversitesi BAP FBA-2018-3308 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Boyut Dışlama Kromatografisi Yöntemi ile Filtre Kahveden Eksozom İzolasyonu

Gülşen Yıldırım[1], Deniz Yurtsever Sarıca[1], Serpil Yanbakan[2], Murat Kantarcıoğlu[2], Ahmet Emin Kürekçi[2], Seçkin Öztürk[2], Serpil Taşdelen[3], Üstün Ezer[2]

[1]*Lösemili Çocuklar Vakfı (lösev), Gıda Araştırma Laboratuvarı, Ankara*

[2]*Lösante Çocuk ve Yetişkin Hastanesi, Ankara*

[3]*Odtü Merkez Laboratuvarı, Ankara*

gulsenyildirim@losante.com.tr

Giriş

Dünyada en fazla tüketilen içecek olan kahve, 1000'den fazla madde içermektedir ve kahvenin ana bileşeni kafein değildir. (1) Düzenli kahve tüketiminin diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik hastalıkların insidansını azalttığı, çeşitli epidemiyolojik çalışmalarla bildirilmiştir. Son 20 yılda yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, kahvenin kronik karaciğer hastalıkları üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir. (2) Kahvenin bu faydalı etkilerinden sorumlu mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Mevcut bilimsel veriler, kahve ile ilgili etkilerde potansiyel aktörün eksozomlar olduğunu göstermektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Eksozomlar, çeşitli memeli hücreleri tarafından salgılanan küçük (30-100nm) membranöz nanovesiküllerdir. Eksozomların, çoğu izolasyon yöntemi ultra santrifüj metoduna dayanmaktadır. Fakat yüksek hızlarda yapılan ultra santrifüj, protein agerasyonu ve hücre kümelenmesine neden olmakta ve saf ekzosomlar elde edilmesini engellemektedir. Eksozom izolasyonu için daha basit ve hızlı protokollere ihtiyaç duyulmuştur. Bu nedenle ultra santrifüj ve boyut dışlama kromatografisi karşılaştırılmış ve yapılan çalışmalar sonucunda, boyut dışlama kromatografisinin daha hızlı bir metot olduğu ve iyi geri kazanım ile eksozom elde edildiği gösterilmiştir. Ultra santrifüj metodunda gözlenen protein agerasyonu ve hücre kümelenmesinin gözlemlenmediği bildirilmiştir (4).

Bulgular

Literatürde, bazı yenilebilir bitkilerin eksozomları ve metabolik moleküler etkileri ile ilgili çalışmalar mevcuttur fakat henüz kahveye ait eksozomlarla ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmamızda, hızlı ve güvenilir bir yöntemle kahveden eksozomları izole etmek için yöntem geliştirilmiştir. Geliştirilen boyut dışlama kromatografisi yöntemi, eksozom izolasyon kiti ile karşılaştırılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmamızın nihai sonuçları, kahve eksozomlarından ilaç geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, Boyut dışlama kromatografisi, filtre kahve.

Teşekkür: Bu çalışma Türk Gastroenteroloji Derneği tarafından desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Screening Of Genetically Modified Organisms In Starches Used In Food Industry

Gözde Türköz Bakırcı[1,1], Ezgi Yağmur[2,2], Aynur Zeyrek[2,2], Melih Temel[3,3]

[1]*Dokuz Eylul University, Seferihisar Fevziye Hepkon Applied Sciences School, Department Of Gastronomy And Culinary Arts, İzmir*

[2]*Food Control And Research Laboratory, Edge, İzmir*

[3]*Altıgenbıo Lıfe Scıence, İzmr*

gozde.turkoz@deu.edu.tr

Giriş

Since GMO is not allowed in food products in Turkey, it was investigated whether starch samples were obtained from genetically modified plants in this study. By considering the Implementation Instructions of Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry, for GMO Analysis Strategy, not only CaMV 35S Promotor (p35S), NOS Terminator (tNOS), FMV 35S Promotör (pFMV) regions were screened, but also the type identification studies of GM types which not included these promoter and terminator regions were done. Now, there are 8 types belongs to soy, 1 type belongs to corn and 3 types belongs to cotton. By screening of related plant genes, it is proved that these types did not contain GMO in terms of related types.

Gereçler ve Yöntemler

In this study, between January 2019-September 2019, GMO screening (p35S, tNOS, pFMV) and analyzes including GMO screening scope (plant specific, soy, cotton, corn screening analyzes ve type identification analyzes for related plant) were done in 20 potato and corn starches with real time PCR (Roche Light Cycler 480 II, Swıtzerland). Kit method (Biotecon foodproof® Sample Preparation Kit) was used in DNA isolation. Purities and concentrations of isolated samples were determined in nanophotometer (Implen Pearl, Germany) by making DNA measurements. Biotecon foodproof® GMO Screening Kit 5' Nuclease was used for GMO screening analysis. In analyzes of plant specific, soy, cotton, corn gene screening and GM type determination for the related gene, primers and probes were designed (Microsynth, Switzerland) according to method stated in the European Union Reference Laboratory (EURL).

Bulgular

In all of 20 samples which were analysed with the real-time PCR, negative results were obtained in term of p35S, tNOS, pFMV regions. For this reason, GMO Screening scope analyzes were continued and plant specific, soybean, cotton and corn gene screening analyzes were performed on 13 potato starch samples and negative results were obtained for all of these plants. Therefore, GMO type determination analyzes were not continued and the analyzes were terminated. In 7 corn starch samples, soybean and cotton plant specific analyzes were performed and corn gene analysis was not done because the samples contained corn. Study were continued with DAS-40278-9 corn type determination analysis and all of it were negative in terms of related gene.

Sonuç ve Tartışma

In order to realize conscious consumption in Turkey, GM type analyzes should be performed along with screening analyzes in foods and their suitability should be checked and submitted to the market.

Anahtar Kelimeler: GMO, Starch, Real Time PCR, GMO Screening Analysis

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Culturomics: A New Approach To İdentify The *Lactococcus* And *Enterococcus* Species Isolated From the Dairy Plant

Zeynep Görkem Cerit[2,3], Mehmet Cengiz Baloğlu[4], Remziye Yılmaz[1]

[1]*Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara*

[2]*Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*

[3]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu*

[4]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Culturomics may be defined—by analogy with metagenomics—as an approach allowing an extensive assessment of the microbial composition by high-throughput culture. Such very high-throughput identification was only possible because identification was only possible because of the availability of MALDI- TOF MS (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry), which not only represents a revolution in clinical diagnostic laboratories, but also represents a revolution in microbial ecology. Culturomics is a method allowing the description of the microbial composition by high-throughput culture with use of various selective and/or enrichment culture conditions coupled to MALDI-TOF MS identification.

Gereçler ve Yöntemler

The aim of this study was isolation of lactic acid bacteria from the dairy product and dairy plant by culturomics. In this study, 10 samples were collected from a dairy plant in Kastamonu province during white cheese production. f5 samples were; raw milk, starter culture added milk, curd, curd after draining and white cheese. Other 5 of them were the surface samples from the equipment that contacts with milk during the production. raw milk truck, cheese vessel, stirrer, cutting wire and cheesecloth. We used classical cultural methods to isolate LAB from all samples. 10 samples inoculated to the selective mediums by spread plate method. After incubation at optimum conditions, colonies were selected based on morphology of target microorganisms and inoculated to the selective medium by streak plate method. After the isolation, we performed MALDI- TOF mass spectrometry with VITEK ® MALDI- TOF MS (bioMérieux SA, Marcy- I'E´toile, France) analysis to identify bacteria on colonies.

Bulgular

In total, 60 pure cultures were isolated from the samples and analyzed with MALDI- TOF mass spectrometry. According to these results, 33 microorganisms were identified as Enterococcus species and 27 of them identified at species level. In addition, 6 microorganisms were defined as Lactococcus lactis.

Sonuç ve Tartışma

This study demonstrates that culturomics is fast and economically affordable method for bacteria identification. And it provides an advantage by allowing for further studies with microorganisms by combining the cultural methods and MALDI-TOF MS.

Anahtar Kelimeler: Culturomics, MALDI-TOF MS, white cheese, lactic acid bacteria, metagenomics

Teşekkür: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü TAGEM/18/AR-GE/31 tarafından desteklenmektedir.

Mon87701 Gd Soya Çeşidi Dna İzolasyonu ve Rt-pcr ile Analiz Yönteminin Verifikasyonu ve Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Taha Turgut Ünal[1], Remziye Yılmaz[2]

[1]*Bursa Uludağ Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa*

[2]*Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*

tahaunal.gm@gmail.com

Giriş

Gıda ve yem kontrol laboratuvarları denetim, özel istek ve ihracat-ithalat numunelerinde GDO içeriğini test etmek amacıyla GDO analizleri gerçekleştirmektedir. Bu testler için ilk aşamada belirlenen GD çeşidi için labotuvar içi verifikasyon çalışma esastır. Bu testlerin yapılması ile laboratuvarlar metotlarının doğruluğu ve ilgili analizde yetkinliği konusunda yeterli bilgi sağlarlar. Bu çalışmada, bir laboratuvarın yeterliliğinin değerlendirilmesi amacıyla Avrupa GDO Analiz Laboratuvarları Ağı (ENGL) tarafından yayınlanmış referans metot ile tek laboratuvar verifikasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Sertifikalı referans malzeme (CRM) olarak Amerikan Petrol Kimyacıları Birliği (AOCS) tarafından sağlanan AOCS 0906-A kodlu MON87701 çeşidi içeren soya ve AOCS 0809-A kodlu GD içermeyen soya unları laboratuvar içi verifikasyon çalışmaları için kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu Biotecon foodproof Sample Preperation Kit III kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Primer ve problar EU-RL GMFF'in "Event-spesific Method for the Quantification of Soybean MON87701 Using Real-time PCR – Protocol" adlı dokümanında kullanılan dizilerden oluşmaktadır. PCR mastermix için Roche LightCycler® 480 Probes Master (2x) kullanılmıştır. DNA ekstraksiyon sonuçları Nanodrop 2000c ile okunmuş ve tüm deneyler Roche Lightcycler 96 RT-PCR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Bu çalışmada, MON87701 soya çeşidi için verifikasyon sertifikalı referans materyale dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda ilk aşama olarak DNA izolasyonu yapılmış ve kalite kriterleri kapsamında değerlendirilmiş, RT-PCR metodunda spesifiklik, dinamik aralık, R2 katsayısı, amplifikasyon etkinliği, doğruluk, RSDr, değerleri türetilmiş ve son kısımda bu ölçüm sonuçlarına dayalı bir ölçüm belirsizliği ve laboratuvar sapması hesaplanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

DNA ekstraksiyonu konsantrasyonları ve kalite parametreleri uygun bulunmuştur. RT-PCR sonuçlarından hesaplanan verifikasyon değerleri beklenen değerler arasında kalmıştır. MON87701 için %1 ± 0,149 ve %0,1 ± 0,016 ölçüm belirsizliği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: GDO, MON87701 soya, lec, CRM, Verifikasyon

Sözlü Sunum

Midye Dolma Örneklerinden İzole Edilen Stafilakok Türlerinin Ekstrasellüler Enzim Üretimlerinin Araştırılması

Orhan Yavuz[1], Mert Sudağıdan[2], Ali Aydın[3]

[1]*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Burdur*

[2]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Kıt-argem, Meram, Konya*

[3]*İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, Istanbul*

orhan.yavuz.23@gmail.com

Giriş

Ekstrasellüler enzimler günümüz biyoteknoloji endüstrisinin en önemli çalışma alanlarından biridir. Genelde patojen olmayan bakteri, maya ve küfler ekstrasellüler enzim üreticisi olarak kullanılmaktadır. Fakat patojen mikroorganizmalarında ekstrasellüler enzim ürettiği bilinmektedir. Patojen mikroorganizmaların ekstrasellüler enzim üretmesinin biyoteknolojik öneminin yanında gıda ürünlerinde bozunmaya neden olduğu bilinmektedir. Bu sebeple çalışmamızda farklı illerde sokak satıcılarından alınan midye dolmalardan izole edilen stafilakoklar araştırılmıştır. Elde edilen stafilakok türlerinde; lipaz, proteaz, amilaz ve DNase enzimlerinin varlığı kültürel yöntemlerle araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

İzole edilen suşların Gram boyanma, katalaz testleri ve nuc, spA, coa genleri taranarak stafilakok olarak tespit edilen 28 suş çalışmaya dahil edilmiştir. Ekstrasellüler enzim aktivitesi için özel besi ortamları hazırlanmıştır. Bu besiyeriler lipaz için "Tween 80 Agar", proteaz için "Skim Milk Agar", amilaz için "Starch Agar", DNase için "DNase Agar" olaerak belirlenmiştir. Aktif mikroorganizma kültürü %0,09 NaCl içinde 0,5 Macfarland yoğunluğunda çözülerek agar plakalarına spotlanır. 37oC' de 48 saat inkübasyona bırakılırlar. İnkübasyon sonucu lipaz için beyaz çökelek görünümü, proteaz için besiyerinde oluşan şeffaf zon, amilaz için yüzey Iyodine-Mordant ile kaplanması sonucu oluşan şeffaf zon, DNase için şeffaf zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilir.

Bulgular

Toplam suşların % 46,4'ü lipaz pozitif, % 71,4'ü proteaz pozitif, %39,2'si DNase pozitif olarak bulunmuştur. Çalışmamızda amilaz pozitif suşa rastlanmamıştır.

Sonuç ve Tartışma

Patojen olarak bilinen stafilakok suşlarında tespit edilen protez, lipaz ve DNase enzimleri kontamine ettikleri gıdalarda bozunmaya neden olacak enzimlerdir. Aynı zamanda biyoteknolojik olarak kullanılabilirlik potansiyeli olan enzimlerdir.

Anahtar Kelimeler: Stafilakok, Ekstrasellüler, Enzim, Midye

Sözlü Sunum

Gıda Sanayi İşleme Atıklarının Potansiyel Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

Sezin Adınır[1], Merve Balaban[1], Taner Şar[1], Meltem Yeşilçimen Akbaş[1]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 41400, Kocaeli, Türkiye*

sezin_adinir@hotmail.com

Giriş

Gıda işleme sanayinin oldukça ilerlemesi ortaya çıkan meyve atıklarının da çeşitlenmesine sebep olmuştur. Meyvelerin kabuk, çekirdek gibi yapılarından oluşan atıkların, içerdikleri biyoaktif bileşenler nedeniyle geri kazanılması sağlanmalıdır. Gıda güvenliğini sağlamada kullanılan kimyasal dezenfektanların yerine doğal antimikrobiyallerin kullanılması önemlidir. Süt ve süt ürünleri zengin içeriğinden dolayı mikroorganizmaların üremesi için elverişlidir. Süt ve süt ürünlerinin kontaminasyonunda sıklıkla izole edilen *Streptococcus uberis* ineklerde meme bezlerinde iltihaba dolaylı olarak süt ve süt ürünlerinin kalitesinin düşürmesine ve ekonomik zarara neden olmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Yapılan çalışmada, meyve atıklarından elde edilen çeşitli ekstraktların, disk difüzyon metodu ile *S. uberis* suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Ekim yapılmış besiyerleri 1 gece 37°C inkübasyona bırakılmış ve daha sonra oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirmeye alınmıştır.

Bulgular

Elde edilen verilere göre, meyve işleme atıkları ile hazırlanan ekstraktların *S. uberis* suşunun üremesini önemli ölçüde inhibe ettiği belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Disk difüzyonu metoduna göre hazırlanan ekstraktların kimyasal dezenfektanlar kadar etkili olduğu ve bu kimyasallara alternatif olarak kullanılabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Meyve atığı, Biyoaktif bileşenler, Doğal antimikrobiyaller.

Teşekkür: Bu çalışma, Gebze Teknik Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Detection Of Suc2 Gene By Real Time PCR in *Saccharomyces cerevisiae*

Elif Bircan Muyanlı[1,1], Remziye Yılmaz[1,1]

[1]*Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Invertase hydrolyzes sucrose, a disaccharide, to glucose and fructose. This transformation is desired in the food industry. *Saccharomyces cerevisiae* is used which naturally secretes the enzyme. In this study, it is aimed to detection of SUC2, the gene responsible for the production of invertase enzyme in *Saccharomyces cerevisiae* strain.

Gereçler ve Yöntemler

Saccharomyces cerevisiae HUF16M1C0004 was grown at 25°C in YPD Broth medium (1% yeast extract, 2% peptone and 2% glucose, pH 5.3) for 48 hours. Samples were taken at the end of the 4th, 8th, 24th and 48th hours of growth. Total DNA extractions from 24 hours growth *Saccharomyces cerevisiae* HUF16M1C0004 were performed using the Eurx GeneMATRIX Bacterial and Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURxLtd,Poland). Nucleic acid amount of DNA templates and A260 / 280 values were obtained with Thermo Scientific NanoDrop 2000 Spectrophotometer. For detection of SUC2 gene, RT-PCR analysis was carried out using LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I kit according to the manufacturer's protocol with primers which were designed by using Primer 3 software.

Bulgular

In this study, Cq values of 1/4 and 1/8 dilutions, positive, negative controls and technical repeats were determined by using RT- PCR. To evaluate the PCR efficiency, standard curve was created with log-concentration of dilution series versus known Cq values. The PCR efficiency was calculated by the equation Yield= (10-1/- slope-1) x 100. When the slope obtained from the graph was replaced in the equation, the yield was found to be 72.25%. This low yield value may be due to inhibitor PCR or failure to achieve optimal primer design.

Sonuç ve Tartışma

As a result, it was determined that there was no cross-contamination, no primer-dimer or other non-specific substance was formed, and the DNA template contained the SUC2 gene due to amplification.

Anahtar Kelimeler: Invertase, SUC2, Real Time Polymerase Chain Reaction

Teşekkür: The study was carried out with dear technical assistants Büşra Bostan, Nilhan Beyza Erkeç.

Aromatic Amino Transferase I Gene (aro8) in The *Saccharomyces cerevisiae* Strains

Elif Bircan Muyanlı[1,1], Remziye Yılmaz[1,1]

[1]*Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Saccharomyces cerevisiae is a commonly used microorganism in the food industry as it produces the desired taste and aroma properties in brewing, winemaking and bread production. High alcohols formed by the metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*, esters, carbonyl compounds, sulfur-containing compounds, etc. Aroma ingredients give the desired sensory properties to the products. Aroma agents are formed by various metabolic pathways such as Ehrhlic pathway. The activity of aromatic aminotransferase I catalyzing the transamination step, which is the initial step of the Ehrhlic pathway, was investigated by real time polymerase chain reaction method for *Saccharomyces cerevisiae* HUF16M1C0004.

Gereçler ve Yöntemler

Saccharomyces cerevisiae HUF16M1C0004 was grown at 25°C in YPD Broth medium (1% yeast extract, 2% peptone and 2% glucose, pH 5.3) for 48 hours. Samples were taken at the end of the 4th, 8th, 24th and 48th hours of growth. Cell number of dilutions (10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5}) which were prepared from sample were calculated by using Thoma chamber and spectrophotometer. Absorbance of dilutions measured at 640 nm with Spectrophotometer by using cell-free YPD broth as reference. Culture whose initial concentration is 1 x 10^{7} cfu / ml were incubated at 25 °C for 24 hours. DNA extraction was performed with the Eurx GeneMATRIX Bacterial and Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURxLtd,Poland). At the end of the DNA extraction, nucleic acid amount of DNA templates and A260 / 280 values were obtained with NanoDrop Spectrophotometer. Primers were designed at Primer 3 software. LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I was used for the RT-PCR analysis.

Bulgular

The Cq value which are a fractional number of cycles, is threshold amount of fluorescence at the PCR kinetic curve. In this study, Cq values of dilutions (1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) were determined by using RT- PCR. Standard curve graph was formed by logarithm of nucleic acid concentrations and Cq values obtained by RT-PCR method. Equation of standard curve graph was calculated as $y= -5.0205x + 35.808$ and R^2 value was found as 0.99.

Sonuç ve Tartışma

Nucleic acid concentration of unknown samples was calculated by using standard curve graph equation and Cq values. This method can be used to identify the activity of the ARO8 gene in other *Saccharomyces cerevisiae* strains for further studies.

Anahtar Kelimeler: Aromatic aminotransferase, ARO8, Real Time Polymerase Chain Reaction

Teşekkür: The study was carried out with dear technical assistants Merve Ezeroğlu, Fatma Kelkitli.

Poster Sunumu

Gıda Kaynaklı Stafilokok Suşlarının Farklı Besiortamlarında Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Araştırılması

Özge Can[1], Mert Sudağıdan[2], Veli Cengiz Özalp[2,3]

[1]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Meram-konya*

[2]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Kit-argem, Meram-konya*

[3]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Meram-konya*

ozge.can9719@gmail.com

Giriş

Bakteriler farklı ortamlarda metal/polimer yüzeylerinde çoğalmaya başladığında yapışkan bir madde salgılayarak yüzey ile bağlantı oluşturur. Biyofilmlerin işlevsel, yapısal bütünlüğünü oluşturan ve fizyokimyasal özelliklerini belirleyen hücre dışı polimerik maddeler, mikroorganizmalar tarafından salgılanan doğal polimerlerdir. Gıda endüstrisinde, biyofilmlerin oluşumu ürününün kontaminasyon kaynağı olabilir, bu da ürün kalitesini ve tüketici sağlığını tehlikeye atabilir. Stafilokokların biyofilm yapmaları antimikrobiyal maddelere ve dezenfektanlara karşı direnç kazanmasına yardımcı olur. Çalışmamızda gıdalardan izole edilen ve stafilokok olarak tanımlanan bakterilerin farklı besiortamlarında biyofilm oluşturma yetenekleri araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada çiğ süt ve süt ürünlerinden (n:59) ISO 6888-1 (2003) yöntemi ile stafilokoklar izole edilmiştir. Baird Parker Agar'da pozitif sonuç veren izolatlar biyokimyasal tanımlama ve DNA ekstraksiyonu ardından PZR ile stafilokok olarak genus düzeyinde tanımlanmıştır. Stafilokok suşlarının Brain Heart Infusion, Tryptone Soya Broth+%1 sükroz, TSB+%0.6 maya ekstraktı, Cation Adjusted-Mueller Hinton Broth içerisinde biyofilm oluşturma yetenekleri, 96-kuyucuklu mikroplakalarda 37°C'de 24 saat inkübasyon ardından biyofilm oluşturan bakterilerin kristal viyole ile boyanarak ve 595 nm'de absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Stafilokok suşlarının cam ve polipropilen yüzeylerde biyofilm oluşturması Christensen yöntemi ile belirlenmiştir. İnkübasyon sonunda cam ve PP tüpler yıkanarak biyofilm yapmayan suşlar uzaklaştırılmış ve biyofilm tabakası kristal viyole ile boyanmıştır. Suşların slime oluşturma yetenekleri ise congo red agar besiortamında koloni renklerine göre belirlenmiştir.

Bulgular

Çalışma kapsamında izole edilen 29 stafilokok suşunun test edilen tüm besiortamlarında geliştiği gözlemlenmiştir. Mikroplaka test sonucunda 2 suşun (PY012 ve L04A) test edilen 4 besiyerinde de yüksek biyofilm oluşturduğu OD595≥0.5 ve 7 suşun en az bir besiortamında biyofilm yaptığı tespit edilmiştir. Christensen testi sonucunda 16 suşun cam yüzeyinde biyofilm oluşturduğu ve 5 suşun ise polipropilen tüp yüzeyinde biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir. CRA sonuçlarına göre yüksek biyofilm yapan suşlar bordo koloniler oluştururken, farklı biyofilm yapma yeteneklerine sahip suşlar pembe ve kırmızı koloniler oluşturmuşlardır. Pozitif kontrol *S. epidermidis* YT-169a ise siyah koloni rengi oluşturmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Farklı besiortamlarının bakterilerin gelişmesinde ve biyofilm oluşturmalarında çevresel etken olarak önemli olduğu gözlemlenmiştir. Gıda kaynaklı bakterilerin biyofilm oluşturmaları toplum sağlığı ve gıda güvenliği açısından risk oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Stafilokok, biyofilm, besiortamı, gıda güvenliği

Teşekkür:

Poster Sunumu

Rekombinant Kimozin Enzimi Kullanılarak Üretilen Beyaz Peynirlerin Fizikokimyasal Özellikleri

Firuze Ergin[1], Taner Erkaymaz[1,2], Fatma Ersöz[1], Mehmet İnan[1,3], Ahmet Küçükçetin[1]

[1]*Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya*

[2]*Süleyman Demirel Üniversitesi, Gül ve Gül Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Isparta*

[3]*Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir*

fergin@akdeniz.edu.tr

Giriş

Peynir, sütün çeşitli enzimler veya organik asitlerle pıhtılaştırılması sonrasında süzme, şekillendirme, tuzlama ve olgunlaştırma gibi işlemlerden geçmesiyle elde edilen bir süt ürünüdür. Kimozin geviş getiren hayvanların midelerinin dördüncü bölümünden (şirden) elde edilen, peynir endüstrisinde kullanılan ve sütün pıhtılaşmasını sağlayan proteolitik bir enzimdir. Sütü pıhtılaştırmak için çeşitli kaynaklardan elde edilen enzimlerin pıhtılaştırma etkilerinin birbirinden farklı olması ve hayvansal kaynaklı kimozinin üretiminin düşük miktarlarda olması araştırmacıları alternatif yöntemler geliştirmeye teşvik etmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, rekombinant DNA teknoloji ile yüksek miktarlarda kimozin üretilebileceğini göstermektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Beyaz peynir üretiminde kullanılmak üzere çiğ süt, kurumaddesi ve yağ oranı standardize edilerek 65°C'de 30 dakika ısıl işleme tabi tutulduktan sonra mayalama sıcaklığına (32°C) soğutulmuştur. Süte, %2 $CaCl_2$ eklenip, % 1 oranında peynir starter kültürü aşılandıktan sonra pH değeri 6.2'ye gelene kadar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda süt, ticari kimozin ve rekombinant kimozin enzimleri (glikozile ve glikozile olmayan) ile 32°C'de 1 saatte pıhtılaşacak şekilde mayalanmıştır. Oluşan pıhtı, kesildikten sonra peynir kalıplarına aktarılarak 16°C'de 18 saat baskıda tutulmuştur. Baskılama işleminden sonra peynir, steril bıçaklarla kesilmiş ve salamura içinde tuzlama yapılmıştır. Üretilen beyaz peynirlerde kurumadde, yağ, tuz, titrasyon asitliği, pH, protein, suda çözünür azot, TCA'da (trikloroasetikasit) çözünür azot, pH 4.6'da çözünür azot miktarları ile serbest aminoasit grupları ve yağ asidi profilleri belirlenmiştir.

Bulgular

Beyaz peynir örneklerine ait kurumadde, peynir kurumaddesindeki yağ, protein ve tuz oranlarının sırasıyla ortalama % 41.27 ile 43.21, % 38.76 ile 41.20, %11.96 ile 15.15 ve % 9.96 ile 10.26 arasında değiştiği belirlenmiştir. Glikozile formdaki rekombinant kimozin enzimi ile üretilen beyaz peynirlerin suda çözünür azot, TCA'da çözünür azot, pH 4.6'da çözünür azot, doymuş yağ asitleri, tekli doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri miktarları sırasıyla ortalama % 0.39, 0.15, 0.039, 9.76, 4.40 ve 0.38 olarak belirlenirken, ticari kimozin enzimiyle üretilen beyaz peynir örneklerindeki söz konusu değerler sırasıyla ortalama % 0.45, 0.16, 0.044, 9.51, 4.27 ve 0.39 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Çalışmanın sonuçları dikkate alındığında; rekombinant kimozin enziminin beyaz peynir üretiminde kullanabileceği değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beyaz peynir, rekombinant, kimozin,

Teşekkür: Bu bildiri Akdeniz Üniversitesi BAP Birimi tarafından FBA-2018-3308 nolu proje ile desteklenmiştir.

Poster Sunumu

The Effect Of Dna Isolation Methods On PCR Inhibition In Gmo Analysis Of Vegan Foods

Yeşim Taşkın[1], Utku Cem Yılmaz[1], Begüm Zeynep Hançerlioğulları[1], Remziye Yılmaz[1]

[1]*Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*

yesimtaskin@hacettepe.edu.tr

Giriş

Real Time Polymerase Chain Reaction Technique (RT-PCR) is a method that allows the observation of the logarithmic increase of the target region and the ability to perform quantitative analysis accordingly. RT-PCR is one of the most common molecular techniques used to determine the content of genetically modified organism (GMO) in food biotechnology. Processed foods; drinks, desserts or vegan foods; include several complex components such as protein and fat found in foods do an inhibition effect on DNA. The presence of PCR inhibitors in the food samples influence the amplification efficiency of the PCR, thereby reducing the detection limit.

Gereçler ve Yöntemler

The samples included processed vegan foods which purchased in a local market. These are meatless ball, tofu and soy milk. One soy flour sample and Certified Reference Material (AOCS 0906-A Sample Number 779) were used for control purposes. In this study, DNA isolation was carried out by using two different methods which are traditional and commercial. In addition, the obtained DNAs were subjected to inhibition test by RT-PCR technique for plant specific, 35S and tNOS gene regions. The PCR inhibitors and isolation techniques to minimize inhibition were discussed.

Bulgular

The obtained results explain the effect of both the GMO content of vegan foods and the DNA isolation method on reaction inhibition. Also, this study showed that extraction of DNA from complex materials such as vegan foods could be better achieved by the traditional method. However, further optimization of the CTAB protocol is required in order to improve the quality and concentration of the extracted DNA.
In the second stage of GMO analysis, two of the most common primers used for the detection of GMO's, 35S promoter and NOS terminator have been tested if they present in the gene sequence.At the end of the PCR analysis, no amplification of these genes was found in any food samples.

Sonuç ve Tartışma

CTAB has a time consuming protocol although, has the advantage of being a modifiable Commercial kit has the advantages of time-saving and less manual operation but needs to take into account its cost despite its limited number of reactions.

Anahtar Kelimeler: Genetically modified organism, Real time polymerase chain reaction

Poster Sunumu

Structural Bioinformatics Analysis Of Enzymes Involved İn The Biosynthesis Pathway Of Flavonoids İn Bread Wheat

Ayşegül Bilge Uğuz[1], Remziye Yılmaz[1]

[1]*Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Wheat is one of the major components of nutrients for the human diet. Besides providing proportions of proteins and carbohydrates, recent studies on the health benefits of functional substances, such as phenolic compounds, carotenoids from wheat have become important. Therefore, biosynthesis of flavonoid compounds is one of the most studied plant metabolic pathways. The recent development of molecular and genomics methods has led to considerable progress in understanding the molecular-genetic basis of the flavonoid biosynthesis in bread wheat (*Triticum aestivum L.*).

Gereçler ve Yöntemler

The aim of this study was to determine the enzymes as well as the pathway of key flavonoid biosynthesis in bread wheat (*Triticum aestivum*), demonstrate the role of enzymes in flavonoid biosynthesis and identify their coding genes by using databases. For this purpose, several databases were used: flavonoid biosynthesis pathway enzymes, their reactions, KEGG Orthology numbers and E.C numbers were analysed from KEGG database, their molecular functions and responsible genes were analysed by using Uniprot and BRENDA.

Bulgular

A summary of flavonoid biyosynthesis enzymes related bioinformatics (with categorization and description) were presented. Flavonoid biosynthesis enzymes in wheat which are chalcone synthase, chalcone isomerase, flavon hydroxylase, dihydroflavanonol reductase, anthocyanidin synthase and glucosoflavonoidglycosyl transferase were found and structurally analysed by using databases. Their molecular functions, responsible genes, E.C numbers, KO numbers and were summarized in charts.

Sonuç ve Tartışma

Through search of flavonoid biosynthesis enzymes by databases; their responsible genes were detected. Identified genes which are responsible for flavonoid biosynthetic pathway represent potential sources for future biotechnological applications.

Anahtar Kelimeler: Flavonoids biosynthesis pathway, wheat

HAYVANSAL BİYOTEKNOLOJİ

Sözlü Sunum

Eskişehir Bölgesi Özel Çiftliklerinde Yetiştirilen Damızlık Türk Arap Atlarında SCID Geni Varlığının Araştırılması

Muhammet Kaya[1,1], Mustafa Doğan[1,1]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü*

muhammetkaya@ogu.edu.tr

Giriş

Eskişehir ili, Türkiye yarış atı yetiştiriciliğinde önemli yerlerden biridir. Eskişehir ili Mahmudiye ilçesinde ağırlıklı olmak üzere ilimizde toplam 73 adet özel harada safkan at yetiştiriciliği yapılmaktadır.
SCID (Şiddetli Kombine İmmun Yetmezlik) kalıtsal kusuru, otozomal resesif kalıtım modeline sahip olup SCID'li doğan tayların bağışıklık sistemleri oldukça zayıf olmaktadır. Bu nedenle fırsatçı enfeksiyonlar sonucu ölüm görülmektedir. SCID; atların 9'uncu kromozomun DNA-PKcs geninde 9480 kodonu ile başlayan 5 baz (TCTCA) çiftlik bir delesyon sonucu proteinin erken sonlanmasına neden olur.

Gereçler ve Yöntemler

Eskişehir ve çevresindeki özel çiftliklerde yetiştirilen farklı dokuz özel işletmeden alınan toplam 115 baş Türk Arap atı materyalinde SCID geninin varlığı araştırılmıştır. SCID kalıtsal kusuruna sebep olan mutasyonlar DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Kandan izole edilen DNA örneklerinde DNA-protein kinaz katalitik altünite (DNA-PKcs) geni PCR ile çoğaltılarak DNA dizi analizi yapılmıştır.

Bulgular

DNA-PKcs genindeki delesyon dizilerini kapsayan primerler kullanarak yapılan PCR işlemi sonucunda oluşan PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde kontrol edilerek DNA dizi analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre araştırılan 115 arap atı örneklerinin SCID bakımından normal genotipe sahip olduğu ve mutant allele sahip at tespit edilmemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Eskişehir'de yetiştirilen Arap atlarında SCID mutant alleline ve taşıyıcısına rastlanılmamıştır. Türkiye'de yapılan iki araştırma sonucunda Türk Arap atı popülasyonlarında SCID genetik kusurunun olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arap Atı, Kalıtsal Hastalık, DNA Dizi analizi, SCID

Teşekkür: Bu araştırma, ESOGÜ Bilimsel Araştırma Komisyonu (Proje No:2018-2033) tarafından desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Ekstrem İşitme ve Görme Fonksiyonlarının Hayvan Modellerinde Karşılaştırılmalı Transkripsiyonel Analizi

Tuba Yağcı[1,1], Rafig Gurbanov[1,1], Uygar Kabaoğlu[1,1]

[1]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik*

uygarka.mbg@gmail.com

Giriş

Ekolokasyon yarasalara ses yardımıyla karanlıkta görmeyi sağlayan bir adaptasyondur. Moleküler çalışmalarda görme fonksiyonları ile ilgili genlerin ekspresyonu azalırken, işitme ve ekolokasyon ile ilgili genlerin ekspresyonlarının arttığı tespit edilmiştir. Evrimsel olarak böyle bir adaptasyon görme keskinliğinin kaybolması hatta gözün yapısal gerilemesine yol açar. Yarasalardaki gibi toprak altında yaşayan körfarelerin de gerileyen görme fonksiyonlarına karşı, işitme ve ekolokasyonu artıran moleküler bir adaptasyon geliştirmeleri olasıdır. Körfarelerde ilk kez yapılacak olan bu araştırma, körfarelerin karanlığa adaptasyonunu açıklamayı ve ekolokasyonun toprak altında nasıl kullanıldığını moleküler seviyede belirlemeyi amaçlamaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Körfarelerde karanlığa adaptasyonun ekolokasyonla ilişkisinin anlaşılabilmesi için yüzey üzerinde yaşayan rat örnekleri körfareler ile karşılaştırılmıştır. Görme, işitme ve ekolokasyonla ilgili belirlenen bazı genler (22 gen) gerçek zamanlı kantitatif PCR (qRT-PCR) yöntemi ile mRNA seviyesinde incelenmiştir. Analiz edilecek genler 6 türden alınan mRNA dizilerinin 'Clustal Omega Multiple Sequence Alignment' (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) tekniği ile ortak korunmuş bölgeler tespit edilmiştir.

Bulgular

Nannospalax xanthodon (Körfare)' da işitme, görme ve ekolokasyonla ilişkili 8 genin ekspreyon seviyesi belirlenmiş ve yüzey üzerinde yaşayan Rattus rattus örnekleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.
Elde edilen verilere göre;
- İşitme ile ilişkili Coch ve Necap genleri Körfare'lerde Rat'lara göre düşük oranda eksprese olmaktadır.
- Görme ile ilişkili Pax6 ve Impg genleri Körfare'lerde Rat'lara göre düşük oranda eksprese olmaktadır.
- Ekolokasyonla ilişkili Kcnq4, Tmc1, Foxp2 ve Bmp7 genleri ise Körfare'lerde Rat'lara göre oldukça yüksek oranda eksprese olmaktadır.

Sonuç ve Tartışma

Körfarelerin karanlık yaşama adaptasyonunda yarasalara benzer olarak ekolokasyon sistemini kullandıklarını "azalan işitme ve görme - artan ekolokasyon" şeklinde açıklamak mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Körfare, Gen ekspresyonu, Görme, İşitme, Ekolokasyon

Teşekkür: Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü no: 2019-01.BŞEÜ].

Yaşlanma ile İlişkili Alfa2-makroglobulin Gen Ekspresyon Profillerinin Hayvan Modellerinde İncelenmesi

Uygar Kabaoğlu[1], Tuba Yağcı[1]

[1] *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik*

uygarka.mbg@gmail.com

Giriş

Alpha-2 makroglobulin (*A2M*) insanlarda yaşa bağlı ekspresyonu azalan bir gendir. Körfarelerin yaşam uzunluğu (21 yıl) rat'lara (5 yıl) göre oldukça uzundur. Yeraltı hayatı bu türde uzun ömürlülüğün gelişimini destekleyen bir faktör olabilir. Bu araştırmada *N. xanthodon* ve *R. norvegicus* türlerinde *A2M* geninin ekspresyon profilleri karşılaştırılarak uzun ömür ile ilişkisinin hayvanlarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Nannospalax xanthodon ve *Rattus norvecicus* örneklerinin karaciğer dokusunda *A2M* geni'nin ekspresyon profilleri gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) tekniği ile mRNA seviyesinde araştırılmıştır. Analiz için Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Laboratuvarında -80 °C'de depolanan karaciğer örneklerinden 100 gr alınarak homojenizasyonu gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonu, Trizol (Invitrogen, Carlsbad, ABD) kullanılarak üretici firmanın tanımladığı protokole göre yapılmıştır. Agilent AriaMx Software programı kullanılarak gen ekspresyonu sırasında değişen Cq (ΔRn) değerleri standart grafiği yardımı ile Quantity (relative) değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerler uzun ömre ve kısa ömre sahip rodent türlerinde karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

A2M geni, *R. norvecicus* örneklerinin karaciğerinde düşük seviyede eksprese edilirken, *N. xanthodon* örneklerinde yüksek bir ekspresyon profili sergilemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Uzun ömürlü türlerdeki araştırmalar yaşlanmayı geciktirici mekanizmaların keşfedilmesine yardımcı olmaktadır. Türkiye' de yayılış gösteren *N. xanthodon* türü yaşlanma ve uzun ömür ile ilgili araştırmalara model organizma olarak katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Alfa2-makroglobulin, yaşam ömrü, Nannospalax xanthodon, Rattus norvecicus

NANOBİYOTEKNOLOJİ

Sözlü Sunum

Mycobacterium Tuberculosis'in Tanısında Aptasensör Uygulamaları

Erkan Mozioğlu[1], Nihan Ünübol[2]

[1]*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoteknoloji Anabilim Dalı*

[2]*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*

erkan.mozioglu@acibadem.edu.tr ; erkanmozioglu@yahoo.com

Giriş

Verem (tüberküloz), dünya genelinde, 10 milyondan fazla kişinin ölümüne yol açan, en önemli sorunların başında gelmektedir. Bu nedenle, Dünya Sağlık Örgütü, ucuza elde edilebilen, duyarlı, özgün, kolay uygulanabilir, hızlı, yerinde tanı (point-of-care) araçlarına gereksinim olduğunu duyurmaktadır. Bu bağlamda, aptasensörler güzel seçeneklerden birisi olarak görülmektedir. Bilim yazınında (literatürde), verem etkeni M .tuberculosis bakterisine özgü seçilmiş pek çok aptamer yayımlanmış ve bunların uygulamalarına ilişkin sonuçlar bildirilmiştir. Bu sunumda, M. tuberculosis tanısında kullanılan aptasensör uygulamalarına ilişkin bilim yazınında yer alan gelişmeler ele alınmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

DNA aptamerleri, SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) olarak adlandırılan, hedefe bağlanmış DNA moleküllerinin çoğaltılmasını ve bağlanmayanların ayıklanmasını içeren döngüsel bir yöntem kullanılarak seçilirler. Bu amaçla, her iki ucunda tanımlı primer bölgelerini içeren, ortasında rastgele nükleotitlerden oluşan 20-60 nükleotit uzunluğunda aptamer kütüphaneleri tasarlanmaktadır. Bu kütüphanelerde, kuramsal olarak 10^15 farklı, tek zincirli DNA molekülü bulunmaktadır. Aptamer kütüphaneleri önce karşıt seçim ile sonrasında da hedef ile karıştırılıp bağlanmaları sağlanmaktadır. Bu seçim döngüsü sonunda, iyi bağlanan aptamerler diğerlerinden ayıklanarak elde edilmektedir. Seçilmiş aptamerler, elektrokimyasal, floresan ve renk ölçümüne dayalı biyosensörlerin geliştirilmesinde kullanılmak üzere değiştirilmektedir. DNAzimler ve nanozimler de sinyal arttırıcı moleküller olarak, aptasensör uygulamalarında kullanılmaktadır.

Bulgular

Veremin tanısında yaygın olarak balgam örnekleri kullanılmaktadır, ancak bu örneklerin eldesi, özellikle çocuklarda ve bazı durumlarda oldukça zordur. Bunun yerine, kan gibi, kolay elde edilebilecek örneklerde vereme özgü moleküllerinin saptanması için aptamerler seçilmiştir. Bunlardan bazıları, M. tuberculosis'e özgü MPT64, ESAT 6 gibi salgı proteinlerdir. MPT64'ün tanısı, elektrokimyasal temelli sensörler ile gerçekleştirilmiştir. Bakteri yüzeyinde yüksek miktarda bulunan HspX proteinleri için de aptamerler seçilmiş ve proteinler, hem ALISA hem de elektrokimyasal yöntemeler kullanılarak saptanmıştır. Ayrıca, tüm bakterilere özgü aptamerlerin kullanıldığı floresan temelli aptasensör uygulamaları geliştirilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Veremin tanısında aptamerlerin kullanımları olanaklı görünmektedir. Bununla birlikte bu veya benzeri yeni aptamerlerin, ticari ürünlere dönüşümü için henüz yeterince ilerleme kaydedildiğini söyleyebilmek kolay değildir.

Anahtar Kelimeler: Aptamers, biosensors, Mycobacterium tuberculosis, aptasensors.

Sözlü Sunum

Kolorektal Kanser Tedavisinde Anti-kanserojenik Lisinoprilinin Kullanımı İçin Yeni Nano Boyutlu Formülasyon Geliştirilmesi

Emre Avcı[1], Aslı Kara[2] Gamze Namalır[1], Gülçin Alp Avcı[1]

[1]*Hitit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çorum*

[2]*Hitit Üniversitesi, Sungurlu Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Teknikler ve Hizmetler Bölümü, Çorum*

aslicaplikara@gmail.com

Giriş

Son zamanlarda kanser tedavisinde antikanser ilaçların yan etkilerini azaltmak amacıyla alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan antihipertansif ilaçlardan olan ve anjiotensin dönüştürücü bir enzim inhibitörü olarak değerlendirilen Lisinopril, hipertansiyon tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaç olup, meme ve karaciğer gibi çeşitli kanser türleri üzerinde antikanser etkinliği literatürler ışığında bilinmektedir. Bu düşünceden yola çıkarak çalışmamızda antihipertansif bir ilaç olan Lisinoprilin daha önce nanopartiküle hapsedilmiş etkinliği değerlendirilmemiş olan kolorektal kanser tedavisinde etkinliğinin tayin edilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda biyouyumlu ve biyoparçalanabilir bir polimer olan PLA-PEG-PLA blok kopolimeri ile su/yağ/su emülsiyon yöntemi ile boş ve 3 farklı miktarda lisinopril yüklü nanopartiküller hazırlanmış ve karakterizasyonları yapılmıştır. Biyouyumluluk çalışmaları kapsamında boş formülasyonların sağlıklı hücre hattı olan murine fibroblast (L929) hücrelerindeki canlılıkları tayin edilmiştir. İnsan epitelyal kolorektal adenokarsinoma hücre hattı olan Caco-2 hücrelerinde ise lisinopril ilacı, lisinopril yüklü ve boş nanopartiküllerin antikanserojen etkinlikleri tayin edilmiştir.

Bulgular

Sonuçlar, düşük konsantrasyonlarda lisinopril yüklü nanopartiküllerin Caco-2 hücrelerinde az miktarda antitümör aktivite sergilediğini ortaya koymuştur. Bu çalışma ile antihipertansif bir ilaç olan lisinopril yüklü nanopartiküller başarılı bir şekilde elde edilmiştir .

Sonuç ve Tartışma

Yüklenen ilaç miktarının arttırılması ile birlikte antihipertansif özellikteki bir ilacın kolorektal kanser tedavisinde kullanımına alternatif bir tedavi yöntemine yönelik umut verici bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: kolorektal kanser, antihipertansif, polimerik nanopartikül

Teşekkür: Çalışmamız Hitit Üniversitesi BAP Birimi FEF19008.19.003 kodlu proje kapsamında yapılmıştır.

DNA-protein Kompleksleri Nasıl Ayrışır?

Aykut Erbaş[1], Monica Olvera De La Cruz[2], John F Marko[2], Ramsey Kamar[2], Edward Banigan[3]

[1]*Unam Bilkent Üniversitesi*

[2]*Northwestern Üniversitesi*

[3]*M.I.T.*

aykut.erbas@unam.bilkent.edu.tr

Giriş

Proteinler ve DNA arasındaki etkileşimler hücre içindeki tüm yaşamsal operasyonların temelini oluşturur. Hücre içinde bir protein kendine özel hedef DNA bölgesini difüzyon ile bulabilir. Bu operasyonun başarı şansı ilgili proteinin konsantrasyonu artıkça artar. Proteinin bağlı olduğu DNA sekansından ayrılması ise konsantrasyondan bağımsız bir reaksiyon olarak düşünülür. Lakin, son yıllarda ardı ardına sunulan deneysel ve hesaplamalı çalışmalar, başta transkripsiyon faktörleri olmak üzere pek çok proteinin artan konsantrasyonla daha hızlı bir şekilde DNA'dan ayrıldığını rapor etmiştir. Bu konuşma, bu çalışmaların en günceli ve kapsamlısı üzerine olacaktır.

Gereçler ve Yöntemler

Tek molekül flörosans deneyleri, moleküler dinamik simülasyonları ve kuramsal modelleme.

Bulgular

Deneyler artan konstrastonla beraber Fis (Factor for İnversion Stimulation) proteinlerinin bağlı olduğuı DNA sekanslarından ayrılımını tanımlayan off rate'in hızlandığını göstermiştir. Bu hızlanma başta çizgisel olmakla beraber daha sonra bir satürasyon rejimini işaret etmiştir. Moleküler dinamik simülasyonları bu bulguları doğrulamış, ve ortaya çıkan olgunun sadece protein-DNA etkileşimleri için değil, çoklu bağ yapabilen tüm ligand-reseptör etkileşimleri için geçerli olabileceğini göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Elde edilen sonuçlar bir proteinin DNA ile olan etkileşimini kendi konstrasyonu üzerinden kontrol edebileceğini göstermiştir. Bulgular tüm protein ağlarını ve reseptör ligand etkileşimlerine yeni bir kontrol makenizması getirebilir.

Anahtar Kelimeler: protein dna etkileşimleri, reaksiyon kinetiği, transkripsiyon faktörleri

Sözlü Sunum

Biyosentezlenmiş Levan Kaplı Altın Nanoparçacıkların Meme Kanseri Hücreleri Üstündeki Antikanser Etkinliğinin Araştırılması

Ömer Aktürk[1]

[1]*Kırıkkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kırıkkale*

omerakturk@kku.edu.tr

Giriş

Bu çalışmanın temel hedefleri; fermantasyonla *Bacillus subtilis* bakterisi kullanılarak sentezlenen ekzopolisakkarit levan molekülü ile altın nanoparçacık sentezlenmesi (AuNP) ve üretilen biyopolimer-AuNP kompleksinin kolloid kararlılığı, *in vitro* biyouyumluluk ve antikanser etkinlik testlerinin yapılmasıdır.

Gereçler ve Yöntemler

Levan polisakkariti, fermantasyonla *B. subtilis* bakterisinin sükroz molekülünü levan molekülüne dönüştürmesi ile sentezlenmiştir. Sentezlenen levan molekülünün kimyasal karakterizasyonu Nükleer Manyetik Rezonans ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile yapılmıştır. Levan molekülünün varlığında, UVC ışığı altında AuNP sentezlenmiştir. AuNP morfolojisi ve şekil-boyut dağılımı Geçirimli Elektron Mikroskobu ile, AuNP sentezinde görev alan kimyasal yapılar ise FTIR ile incelenmiştir. AuNP kolloid kararlılık testleri spektrofotometre (UV-Vis) ile incelenmiş, zeta potansiyel ve hidrodinamik çapları Zetasizer aleti ile analiz edilmiştir. Levan kaplı AuNP'lerin L-929 fibroblast ve MCF-7 meme kanser hücreleri üstündeki toksisitesi MTT testleri ile araştırılmıştır. Levan kaplı AuNP'lerin hücre morfolojisindeki etkileri Taramalı Elektron Mikroskobu ile, apoptotik-nekrotik hücreler ise floresan mikroskobu ile incelenmiştir.

Bulgular

Levan varlığında UVC ışığı altında sentezlenen AuNP, temel olarak küresel, 8-10 nm boyutlarında ve düzgün dağılımlıdır. %0,25 (L-AuNP0,25) ve %0,5 (L-AuNP0,5) derişimlerinde başarılı bir şekilde AuNP sentezlenebilmiştir. Levan derişiminin artışı ile nanoparçacık boyutu anlamlı oranda azalmış ve kolloid kararlılık da artmıştır. 1 mg/mL derişiminde L-AuNP0.5 hem L-929 fibroblast hem de MCF-7 meme kanseri hücrelerinde sitotoksik etki göstermiştir. Diğer uygulama dozları (0,1 ve 0,01 mg/mL) L-929 fibroblast hücreleri üstünde 7 günlük inkübasyon süresi boyunca herhangi bir toksik etki göstermezken, MCF-7 hücreleri üstünde zamana bağlı bir toksik etki görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, düşük dozlarda uygulanacak olan levan kaplı altın nanoparçacıkların meme kanseri tedavisinde güvenli ve etkili terapötik ajan olma potansiyelleri olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Levan, Altın nanoparçacık, UVC ışığı, Antikanser etkinlik

Teşekkür: Bu çalışma, Kırıkkale Üniversitesi 2017/017 No'lu BAP projesi ile desteklenmiştir.

Comparison Of Different Magnetic Nanoparticles As An Effective Gemcitabine Delivery System For Breast Cancer

Maryam Parsian[1], Pelin Mutlu[2], Serap Yalçın Azarkan[3], Ufuk Gündüz[1,4]

[1]*Middle East Technical University, Department Of Biotechnology, Ankara*

[2]*Middle East Technical University, Central Laboratory, Molecular Biology And Biotechnology R&d, Ankara*

[3]*Ahi Evran University, Department Of Molecular Biology And Genetics, Kırşehir*

[4]*Middle East Technical University, Department Of Biological Sciences, Ankara*

smaryamparsian@gmail.com

Giriş

Magnetic nanoparticles due to their nanoscale size (1-100 nm), high surface area and ability to deliver chemotherapeutics in site-specific manner are promising tools for drug delivery. Poly-amidoamine (PAMAM) dendrimer, chitosan and polyhydroxybutyrate (PHB) coating reduce the agglomeration of nanoparticles and provide surface functional groups and internal cavities for conjugation or loading of drugs. Gemcitabine is a fluorinated nucleoside analog which is used as an anticancer agent. The aim of this study was to obtain an effective targeted delivery system for Gemcitabine by using PAMAM dendrimer (DcMNPs), Chitosan (CSMNPs) and PHB (PHB-MNPs) coated magnetic nanoparticles.

Gereçler ve Yöntemler

Gemcitabine loading was verified by TEM, XPS, Zeta-potential, and FTIR measurements. Release and stability of the drug were examined by spectrophotometric analysis. Cytotoxicity analyses were performed by XTT cell proliferation assay.

Bulgular

Gemcitabine release from all magnetic nanoparticles was higher at pH 4.2. Nearly the whole drug was released within 24h from DcMNPs in pH 4.2. However, only 65% of drug from CSMNPs and 49% from PHB-MNPs. According to stability results, the drug remain in the nanoparticles were measured as 95%, 92% and 81% in DcMNPs, CSMNPs and PHB-MNPs for 36 hours respectively. The bare DcMNPs, CSMNPs and PHB-MNPs have no significant cytotoxicity on SKBR-3 and MCF-7 cells. IC50 values of SKBR-3 and MCF-7 cells lines decreased nearly 6 and 3 fold on Gem-DcMNPs when compared to free drug. Gem-CSMNPs decreased 1.4 in SKBR-3 and 2.6 fold in MCF-7 cells and Gem-PHB-MNPs decreased 2 fold in both cell lines.

Sonuç ve Tartışma

Gemcitabine was more effectively loaded and showed best release from DcMNPs. Gem-loaded DcMNPs showed most cytotoxic effect on breast cancer cell lines than CSMNPs and PHB-MNPs.

Anahtar Kelimeler: Magnetic nanoparticles, DcMNPs, chitosan, PHB, gemcitabine, breast cancer

Poster Sunumu

Proses İyileştirmede Nano Teknolojik Yöntemlerin Geçerliliğinin 6-sigma Tekniğiyle Test Edilmesi

Buket Kayabaşı[1,3], Mehmet Çakmakçı[1,3]

[1]*Dokuz Eylül Üniversitesi*

[2]*Fen Bilimleri Enstitüsü*

[3]*Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı*

[4]*İzmir*

buket.kayabasi@gmail.com

Giriş

Bu çalışma da yüzde 99 saflığın üzerinde gümüş nitrat ve yüzde 99 saflıkta sodyum borhidrid kullanılarak nano gümüş solü sentezlenmiştir. Biyouyumlu polimerik malzemelerin çözeltilerinin hazırlanması ve nano gümüş sollerin hazırlanan çözeltiye doplanması işlemi yapılmıştır. Chitosan çözeltisi hazırlanmış ve deasetillenmiş Chitosan ile selülozun kaplanması işlemi yapılmıştır. Gümüş doplanmış karboksimetilselüloz çözeltisi kumaş (selüloz) üzerine elektro eğirme metodu ile kaplanmıştır. Son ürün olan kaplanmış kumaşa Geniş Spektrumlu Antibakteriyel Testlerin Yapılması işlemi gerçekleştirilmiştir. Tüm bu deneysel çalışmaların kapsadığı nanoteknolojik yöntemlerin geçerliliği 6 sigma yöntemi ile test edilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Yüzde 99 saflığın üzerinde gümüş nitrat ve yüzde 99 saflıkta sodyum borhidrid kullanılarak nano gümüş solü sentezlenmiştir. Nano gümüş çözeltisi ultrasonik banyo da 10 dk' lık sürelerde homojenize edilmiş ve santrifüj de saflaştırılmıştır. Nano gümüş solü Hellma quartz küvetlerde UV/VIS spektrofotometre de ölçümleri yapılmıştır. Nano boyutunun karakterizasyonu Zeta-Sizer cihazında gerçekleştirilmiştir. Biyouyumlu polimerik malzemelerin çözeltileri hazırlanmış ve nano gümüş soller bu çözeltiye doplanmıştır. Selüloz hidrojen peroksit ile yükseltgenmiştir. Chitosan çözeltisi ve Chitosan-Polivinilalkol çözeltisi hazırlanmıştır. Yükseltgenen selüloz deasetillenmiş Chitosan ile kaplanmıştır.Gümüş doplanmış karboksimetilselüloz çözeltisi selüloz üzerine elektro eğirme metodu ile kaplanmıştır. Elektro eğirme metodu ile kaplanmış kumaşa Geniş Spektrumlu Antibakteriyel Testler yapılmıştır.

Bulgular

Antibakteriyel maddde olarak nanoteknolojik metodla ve belirlenen nano boyutlarda sentezlenen nano gümüşün boyut dağılım eğrileri incelenmiş ve verimlilikleri 6- sigma test tekniği ile test edilmiştir. Söz konusu nano gümüş ile kaplanmış selülozun, Staphylococcus aureus ATCC 6538, Klebsiella pneumoniae ATCC 10031 bakterileri ve Candida albicans ATCC 10231, Aspergillus brasiliensis ATCC 16404 mantarları üzerindeki etkinliği tespit edilmiş edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Geniş spektrumlu antibakteriyel test sonuçları nano teknoloji ile üretilen antibakteriyel maddenin çalışılan mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etkinliğinin geçerli standart koşullarını sağladığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nanobiyoteknoloji ,Selüloz,Nanoteknoloji, Nanogümüş, Mikrobiyoloji,6-sigma

Teşekkür:

Poster Sunumu

Listeria monocytogenes Tanısına Yönelik Aptamer Kapılı Silika Nanopartikül Tasarımı

Behiye Büşra Taşbaşı[1], Buket Çakmak Güner[1], Mert Sudağıdan[1], Samet Uçak[2], Murat Kavruk[3], Veli Cengiz Özalp[1]

[1]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Kit-argem, Konya*

[2]*Altınbaş Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul*

[3]*Türk Standartları Enstitüsü Kalite Kampüsü, Gebze, Kocaeli*

behiye.tasbasi@ogr.gidatarim.edu.tr

Giriş

Bu çalışmada yüksek duyarlılıkta ve direk bakteriye bağlanabilen aptamer hedefli silika nanopartiküller tasarlanmıştır. Aptamerler, patojenik bakterilerin yüzey antijenleri dahil olmak üzere yüksek afiniteli ve özgüllükle hedeflere bağlanan kısa, tek sarmallı oligonükleotitlerdir ve hastalık teşhisi veya tedavisinde kullanılma potansiyeline sahiptir. *Listeria monocytogenes* gram pozitif, gıda kaynaklı fakültatif bir patojendir. *L. monocytogenes*, küresel gıda kaynaklı salgınlarında veya nadiren ortaya çıkan vakalarla ilişkilendirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Silika nanoparçacıklar, sol-jel yöntemine göre hazırlanan bir karışım N-setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) çözeltisi ile sentezlendi. Silika nanoparçacıklarının morfolojik karakterizasyonu için Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) yöntemi uygulandı. Parçacıkların boyutu Zetasizer kullanılarak dinamik ışık saçılımı ile belirlendi. Aptamer ile immobilize edilmiş epoksi modifiye nanopartiküller,Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) analizi ile incelenerek afinite parametreleri belirlendi. Biotin etiketli A15 ve A15-HP kapı dizileri avidin kaplı altın sensör çiplerinde immobilize edildi.

Bulgular

Aptamer saç tokası yapılarının (aptamer kapısı) afinitesinde azalması beklenildi. Bununla birlikte, aptamer kapısı dizilerinin özgüllüğünde herhangi bir azalmaya neden olmadı.

Sonuç ve Tartışma

Bununla birlikte, aptamer kapısı dizilerinin özgüllüğünde herhangi bir azalmaya neden olmadı.

Anahtar Kelimeler: Aptamer, Mezoporus Silika Nanopartikül, Sinyal Molekül

Teşekkür: Yeni Nesil Gıda ve Kit Referans Madde Araştırma Geliştirme Merkezi,Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi

Selüloz Asetat Nanofiber Kaplı Bakır Yüzeylerin Yapay Tuzlu Su Ortamında Antikorozif Etkinliğinin Belirlenmesi

Furkan Deniz[1,2], Hasan Nazır[3], Nalan Oya San Keskin [1,4]

[1]*Ankara Hacıbayram Veli Üniversitesi, Polatlı Fen ve Edebiyat Fakültesi, Nanosan Laboratuvarı, Ankara*

[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fen ve Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı*

[3]*Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi,kimya Anabilim Dalı,ankara*

[4]*Ankara Hacıbayram Veli Üniversitesi, Polatlı Fen ve Edebiyat Fakültesi,biyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

11furkandeniz@gmail.com

Giriş

Bakır yaklaşık 700 yıldır insanların kullandığı bir metaldir ve yüksek elektrik iletkenliği, yüksek korozyon direnci ve kolay işlenebilmesi nedeniyle çok fazla tercih edilmektedir. Korozyon, kullanılan metal veya metal alaşımının doğada kimyasal ve elektrokimyasal reaksiyonlar sonucu termodinamik açıdan kararlı olduğu bileşiklere dönme eğilimidir. Korozyona uğramış metal veya metal alaşımın kullanım ömrü azalır ve bu durum önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Deniz suyu içerdiği yüksek tuzluluk, çeşitli denizsel mikroorganizmalar ve farklı fiziksel etkenler nedeniyle birçok metal ve metal alaşımı üzerinde korozyona neden olmaktadır. Günümüzde korozyonun önlenmesi amacıyla nanomalzemelerin kullanılması umut vaat edicidir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada elektrospin yöntemi ile eş zamanlı bakır disk yüzeyler kaplanmıştır. Bu çalışmada öncelikle sentetik deniz suyu (ASW) ortamında bakırın korozyon özellikleri belirlenmiş, sonraki aşamada farklı kalınlıklarda nanofiber ile kaplanmış bakırın sentetik deniz suyu ortamındaki korozyon davranışı araştırılmıştır. Selüloz asetat nanofiberinin korozyon önleyici selüloz asetat nanolifleri için SA polimeri, aseton/diklorometan (1/4-v/v) çözücü karışımında %12 (w/v) polimer konsantrasyonunda, çözünmüşlerdir. Polimerin homojen bir şekilde çözünmesi ile elde edilen çözeltiler ikinci aşama olarak elektrospin sistemine (Nanoweb) yüklenmişlerdir. Bunun için, her bir polimer çözeltisi ayrı olarak, 1 mL`lik şırıngaların (iğne ucu: 0,6 mm) içine doldurulmuştur. Voltaj güç kaynağının elektrotlarından biri metal iğnenin ucuna diğeri de topraklanmış metal levhaya bağlanmış ve optimal voltaj ve uzaklıkta uygulanarak üzerinde alüminyum folyo sarılmış toplayıcıya,toplanmıştır.

Bulgular

Korozyon analizinde 3 elektrotlu korozyon hücresi kullanılmıştır. Çalışma elektrotu olarak bakır (Cu) disk, karşıt elektrot olarak platin (Pt) ve referans elektrot olarak Ag/AgCl kullanılmıştır. Elektrokimyasal analizlerde, potansiyel tarama hızı 1 mV s-1 olarak seçilmiştir. OCP deneyi denge potansiyeline ulaşana kadar takip edilmiş ve LSV deneylerinde denge potansiyelinden 200 mV anodik yönde ve katodik yönde tarama yapılmıştır. Elde edilen OCP değerlerine bakıldığında, bakır diskin EOCP değeri -0,12 V iken, nanofiber ile bakır diskin 5 dakika kaplanması sonucunda EOCP değeri daha pozitif değerlere (-0,11 V) kaymıştır. Bakır disk yüzeyinde nanofiber kaplamanın kalınlığı arttırıldığında ise EOCP değeri en düşük -0,10 V değerine ulaşmıştır.

Sonuç ve Tartışma

İ/cm^2 değerleri, cu disk ASW içinde Log i/cm2 15,01x10^{-5}, kaplamalar sonrası değerler sırası ile 14,66x10^{-5} (5dk) ve 4,21x10^{-5} A/cm^2 (15dk) bulunmuştur.Akım yoğunluklarının azalması SA nanofiber kaplamaların korozyondan koruduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakır,korozyon,nanofiber,antikorozif

Teşekkür: Bu çalışmada araştırmalar, TÜBİTAK 218M508 numaralı proje desteği ile yapılmıştır.

Poster Sunumu

Aptamer Hedefli Silika Nanopartiküllerde Verilen Servikal Kanser Hücrelerinde Karbendazimin Anti-tümör Aktivitesi

Elif Esma Acar[1], Pınar Buket Atalay[2], Gamze Kuku[3], Veli Cengiz Özalp[1]

[1]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Kit-argem, Konya*

[2]*Maltepe Üniversitesi,tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

[3]*Yeditepe Üniversitesi,tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul*

[4]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Kit-argem, Konya*

elif.acar@ogr.gidatarim.edu.tr

Giriş

Yoğun şekilde devam eden araştırma ve ilaç geliştirme çalışmalarına rağmen, bazı kanser türlerinde mortalite, prevalans ve yinelenme oranları hala çok yüksektir. Hedefleme kabiliyetine sahip ilaçların kullanılması, ilaç etkinliğini artırarak ve yan etkileri sınırlandırarak kanser tedavisi için umut vaat eden potansiyel teknolojilerden biridir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada karbendazimin servikal kanser hücreleri üzerindeki antitümör aktivitesini artırmak için aptamerler ve silika nanoparçacık konjugatları ile kontrollü ve hedefli ilaç salınımına dayanan bir yaklaşım araştırılmıştır. Karbendazim, geniş spektrumlu bir fungisittir ve ayrıca faz II preklinik safhada olan, üreme ve gelişimsel safhalarda toksik madde olarak kullanılabilecek ümit vaat eden deneysel bir antitümör ilaçdır.

Bulgular

Nükleolin (AS1411) bağlayıcı aptamerler, uyarıcı-bağımlı bir salım sistemi elde etmek için MCM-41 tipi silika nanopartiküllerinin nanoporları içindeki karbendazim moleküllerini hapsetmek için kullanıldı. Karbendazim yüklü aptamer silika kompleksinin etkisi test edildi ve HeLa hücreleri üzerindeki serbest karbendazim muamelesiyle karşılaştırılarak, sistemimizde hedef hücrelerde toksisitenin 3,3 kat arttığını gösterildi.

Sonuç ve Tartışma

Kompleksin sitotoksisitesinin,çoğunlukla apoptozisin artmasına ve nekrozla ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aptamer, ilaç dağıtım sistemleri, kontrollü salım, silika nanoparçacık

Teşekkür: KIT-ARGEM, Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

Sözlü Sunum

Ağır Metal Stresine Maruz Kalmış Fasulye Çeşitlerinde *Camta* ve *Yabby*genlerinin Gen İfadesi Düzeyinde İncelenmesi

Evrim Köseoğlu[1,1], Şeyma Gökdemir[1,1], İlker Büyük[1,1], Sümer Aras[1,1]

[1]*Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Abd Ankara*

evrim.kocaman@crm-cro.com

Giriş

Dünya nüfusundaki hızlı artış ve paralelinde gelişen gıda talebi doğrudan ekilebilir alanlarda verimlilik kontrolünün sağlanmasındaki etkenlerin incelenmesini ve bu değişkenlerle birlikte ortaya çıkan ve çıkabilecek olan problemlerin çözümü için yeni çalışmalar yapmanın gerekliliğini de beraberinde getirmektedir.

Ağır metallerin bitkilerde çeşitli mekanizmalar üzerinde toksik etkilerinin olduğu bilinmektedir ve bu toksik etkilere bağlı gelişen cevaplarda stres koşullarına yönelik tepkilerin oluşmasında ve bu koşullara adaptasyon sürecinde transkripsiyon faktörlerinden bahsetmek bir zorunluluk halini almaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu tez çalışmasında CAMTA ve YABBY genleri (transkripsiyon faktörleri) seçilerek, kurşun (Pb), bakır (Cu) ve kadmiyum (Cd) stresine maruz kalmış iki farklı fasulye çeşidinin (Akman-98- Önceler-98) gen ifade profillerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Farklı derişimlerde bakır (Cu), kurşun (Pb) ve kadmiyum (Cd) stresleri uygulanmış iki farklı fasulye çeşidi yaprak örneklerinde ilgili genlerin, qRT-PCR metodu ile ifade düzeyleri belirlenmiş ve housekeeping gen olan aktin (ACT) genine göre normalizasyonu sağlanmıştır.

Bulgular

iki farklı fasulye çeşidine ait yaprak dokularında farklı derişimlerde bakır (Cu), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) stresi uygulaması sonrasında hedef genlerin ifadesinde kontrole göre önemli farklılıklar meydana geldiğini ortaya koymuştur. Kurşun (Pb) derişiminde artışın Akman-98 çeşidinde CAMTA gen ekspresyonu üzerinde çok etkili olmadığı, belirlenmiştir. Bakır (Cu) derişiminin Akman-98 çeşidinde gen ifade düzeyinde artışa, Önceler-98 fasulye çeşidinde ise azalışa neden olduğu saptanmıştır. Kadmiyum (Cd) stresi uygulanan örneklerde, Akman-98 fasulye çeşidinde her iki gende de ifade artışı gözlenmiştir Önceler-98 çeşidinde ise YABBY-7 genine ait ifade seviyesinde azalış, CAMTA-4 geninin ifade düzeyinde ise artış meydana geldiği tespit edilmiştir

Sonuç ve Tartışma

Bu bulgulardan yola çıkılarak, *CAMTA* ve *YABBY* genlerinin bitkilerin çok değişkenli stresler altındaki rollerinin belirlenmesi ve potansiyel genetik belirteçler olarak kullanılabilmesi de mümkün görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, CAMTA, YABBY , gen ifadesi.

Teşekkür: Değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. E. Sümer ARAS'a teşekkür ederim.

Sözlü Sunum

Buğdayda Bor Toksisitesinin Tuzluluk Stresi ile Etkileşimi

Burak Tunçbaş[1], Hande Mutlu[1], Bahar Yıldız Kutman[1], Ümit Barış Kutman[1]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

btuncbas@gtu.edu.tr

Giriş

Gerek tuzluluk gerekse bor (B) toksisitesi ülkemizde ve dünya genelinde tarımsal üretimi olumsuz etkileyen başlıca abiyotik stres faktörleri arasındadır. Özellikle tuz ve B içeriği yüksek, kalitesiz su kaynaklarının sulama amaçlı kullanımı ile yaygınlaşan ve şiddetlenen bu stresler sıklıkla bir arada görülmektedir. Buna rağmen, başta bu streslerden yaygın olarak etkilenen yarı-kurak alanlarda çokça yetiştirilen buğday olmak üzere önemli tarımsal türlerde bu streslerin etkileşiminin doğurduğu sonuçlar ve bunların fizyolojik sebepleri net olarak bilinmemektedir. Bu stres etmenleri arasındaki etkileşimin antagonistik olabileceği hipotezi çelişkili bulgular nedeniyle sağlam bir fizyolojik zemine oturtulamamıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Kontrollü koşullarda yürütülen toprak ve su kültürü denemelerinde, bitkiler farklı tuzluluk ve toksik B düzeylerinde yetiştirildi. Çalışmada bir ekmeklik (*T. aestivum* cv. Nusrat) bir de makarnalık (*T. durum* cv. Sarıçanak) buğday çeşidi kullanıldı. Streslerin tek başlarına ve bir arada çimlenmeye ve vejetatif büyümeye etkileri ve yapraklarda toksisiteye bağlı nekrozun şiddeti belirlendi. Genç ve yaşlı yapraklarda ve köklerde ICP-OES ile yapılan mineral analizleri ile B ve Na birikimi ve dokulardaki dağılımı ile ilgili veri toplandı. Evapotranspirasyon (ET) ölçümü yapılarak, ET ile toksik element birikimi arasındaki korelasyon incelendi. Streslerin membran bütünlüğüne verdikleri zarar bağıl elektrolit sızıntısı analizi ile saptandı. Streslerin ayrı ayrı ve birlikte sebep oldukları oksidatif yükün tespiti için yapraklarda lipid peroksidasyonu analizi yapıldı ve katalaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz ve süperoksit dismütaz enzimlerinin toplam ve spesifik aktiviteleri belirlendi.

Bulgular

Tuzluluğun esasen yeşil aksam, B toksisitesinin ise kök büyümesini etkilediği, büyüme üzerinde tuzluluk-B etkileşiminin anlamlı bir etkisi olmadığı görüldü. Toksik düzeyde B'nin kök büyümesini etkilemesine rağmen kökte değil, yaprakların uç kısımlarında biriktiği ve bu birikimin ve buna bağlı nekroz ile membran zararının tuzluluk ile azaldığı saptandı. Seçilen çeşitlerin yeşil aksamlarında benzer B konsantrasyonları bulunurken, makarnalık çeşidin dokularında daha yüksek Na konsantrasyonları ölçüldü. Tuzluluğun yeşil aksam B konsantrasyonu üzerindeki azaltıcı etkisinin evapotranspirasyonu azaltıcı etkisi ile açıklanabileceği belirlendi. Tuzluluk olsun veya olmasın, B toksisitesinin yeşil aksamın oksidatif yüküne katkı yapmadığı görüldü.

Sonuç ve Tartışma

Buğdayda tuzluluk ile B toksisitesi arasında vejetatif büyümeye ve oksidatif strese etki açısından bir etkileşim olmasa dahi, toksik element birikimi ve buna bağlı nekroz açısından ET etkileri ile açıklanabilecek bir antagonizma bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bor toksisitesi, buğday, çoklu abiyotik stres, oksidatif stres, tuzluluk

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Buğday (*Triticum aestivum* L.) Anterlerinin Krayoprezervasyonunda Vitrifikasyon Tekniğinin Kullanımı

Nur Koyuncu[1], Elif Yetilmezer Koçak[1], Gülden Çetin Özkan[1], Yusuf Coşkun[1], Meryem Sağkol[1]

[1] *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Biyoteknoloji Araştırma Merkezi, Ankara*

nur.koyuncu@tarim.gov.tr

Giriş

Anter kültürü tahıllarda doubled haploid bitki üretiminde en çok kullanılan tekniklerden biridir. DH bitki üretimi ile homozigot bitkilerin bir generasyonda elde edilmesi sağlanarak ıslah süreci hızlandırılmaktadır. Ancak anter kültürü için, tarlada yetişen bitkilerin çiçeklenme zamanına bağlı kalınması çalışmaları kısıtlayan en önemli etkendir. Bu çalışma ile tarladan alınacak anterlerin ultra soğuk koşullarda muhafaza edilerek yıl boyu kullanılabilme imkanı araştırılmıştır. Bunun için birçok bitki türünde ve dokusunda başarılı olduğu bildirilen vitrifikasyon tekniği kullanılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada materyal olarak ekmeklik buğday çeşidi Bayraktar-2000 kullanılmıştır. Vitrifikasyon öncesi anterler 0.3 M sukroz içeren sıvı ortamda 3 gün (25 °C) inokule edilmiş, ardından 0.4 M sukroz ve 2 M gliserol içeren yükleme solüsyonunda 20, 60, 90, 120 dakika (25 °C) bekletilmiştir. Çalışmada soğuktan koruyucu solüsyon olarak PV2 ve PVS3 kullanılmıştır. Anterler bu solüsyonlarda 45, 60, 90, 120, 150, 180 dakika süresince (25 °C) bekletilmiş ve steril alüminyum folyo içerisinde sıvı azota daldırılarak hızla dondurulmuştur. Sıvı azotta 1 saat bekletilen örnekler su banyosunda (40 °C) bekletilerek çözdürülmüş, 1.2 M sukroz içeren sıvı ortamda 30 dakika tutularak (25 °C) koruyucu solüsyonlardan arındırılmıştır. Vitrifikasyon çalışması tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış, her başaktaki anterler bir petriye alınmıştır. Üç tekerrürlü kurulan denemede her petri bir tekerrür olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Çözdürülen anterlere % 0.8 TTC ile canlılık testi uygulanmış ve canlı bölgelerde kırmızı renk oluşumu gözlenmiştir. Anterlerde canlılık oranının artırılmasında yükleme solüsyonu (60-90 dk) ve soğuktan koruyucu solüsyonda (120-150 dk) bekletme sürelerinin uzatılması ve su banyosunda hızlı çözdürme işlemi başarıyı artırmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Literatürde tahıl anterlerinde yapılan az sayıdaki krayoprezervasyon çalışmasında başarı oranı % 3-15 arasında değişmektedir. Yapılan bu çalışmada buğday anterlerinde canlılık yaklaşık olarak PVS2 ile % 15, PVS3 ile % 25 düzeyinde elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, anter, vitrifikasyon, PVS2, TTC

Teşekkür: Bu araştırma Tarım ve Orman Bakanlığı, TAGEM tarafından desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Bisküvilik Buğday Hatlarının Kısa Sürede Geliştirilmesinde Anter Kültürü Uygulamaları

Ayten Salantur[1], Nur Koyuncu[2], Cuma Karaoğlu[2]

[1] *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Islah ve Genetik Bölümü, Ankara*

[2] *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Biyoteknoloji Araştırma Merkezi, Ankara*

[3] *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Biyoteknoloji Araştırma Merkezi, Ankara*

nur.koyuncu@tarim.gov.tr

Giriş

Bisküvi sektörünün en önemli sorunlarından biri standart kalitede hammadde sağlanamamasıdır. Günümüzde başta topbaş (*Triticum compactum* L.) türleri olmak üzere ekmeklik (*Triticum aestivum* L.)türlerin yumuşak çeşitlerinden elde edilen zayıf unlar kullanılmaktadır. Kalite ve teknolojik özellikleri yeterli olmayan undan üretilen ürünler iç ve dış pazarda işletmelerin rekabet gücünü düşürmekte, pazar payını azaltmaktadır. Bu nedenle bisküvi üretiminde kullanılacak özellikte un potansiyeline sahip çeşitlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmanın ilk yılında (JaguarxEser; EserxJaguar; CarismaxEser; EserxCarisma; RudoxEser; RudoxJaguar; Bayraktar 2000xJaguar; Bayraktar 2000xAtay-85; AK-702xBayraktar 2000; Bayraktar 2000xAK-702) melezlemeler yapılmış, ikinci yıl F_2 popülasyonlarının anter kültürüne tepkileri araştırılmış, üçüncü yıl ise elde edilen doubled haploid bitkiler tarla koşullarında değerlendirilmiştir. Anter kültürü çalışmasında oluşan kallus sayısı, yeşil bitki sayısı, albino bitki sayısı, steril bitki sayısı ve doubled haploid bitki sayısı özellikleri incelenmiştir. Bitkilerin doubled haploid oldukları Ploidi Analyzer (Sysmex-Partec) cihazı ile belirlenmiştir.

Bulgular

Buna göre en yüksek doubled haploid bitki sayısı (Bayraktar 2000xAK-702, Bayraktar 2000xAtay-85, AK-702xBayraktar 2000, Bayraktar 2000xJaguar) hatlarından alınmıştır. Üçüncü yılda tarlaya ekilen doubled haploid hatların bitki boyu, alt dış kavuz gaga uzunluğu ölçümleri alınmış, başak tane sayısı ve başak tane ağırlığı belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Başak tane sayısı ve ağırlığı bakımından en yüksek değerler (EserxCarisma, EserxJaguar, RudoxEser ve Bayraktar 2000xAtay-85) hatlarından elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anter kültürü, kallus, doubled haploid, ıslah

Teşekkür: Bu araştırma TÜBİTAK tarafından 1003/113O115 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Keten (*Linum usitatissimum*) Genomunda Ekspansin Genlerinin Karakterizasyonu ve Biyoinformatik Analizleri

Ferhat Ulu[1], Büşra Özkan[1], Aslı Uğurlu Bayarslan[2], Yasemin Çelik Altunoğlu[1], Mehmet Cengiz Baloğlu[1]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*

[2]*Kastamonu Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kastamonu*

fulu@kastamonu.edu.tr

Giriş

Keten (*Linum usitatissimum*) lif, yağ ve tıbbi olarak değerli bileşiklerin kaynağı olarak yaygın şekilde yetiştirilen antik bir bitkidir. Ekspansinler, bitkilerde geniş bir aile oluşturan pH'a bağımlı hücre duvarı gevşetici proteinlerdir. Çeşitli gelişimsel süreçlerde yer aldıkları, bitkilerin topraktan besinleri absorbe etme, biyotik ve abiyotik strese direnç yeteneklerini sağlamada rol oynadıkları bilinmektedir. Bu çalışmada, keten genomundaki ekspansin genlerinin (*LusExp*) tespit edilmesi ve biyoinformatik yöntemlerle karakterizasyonu hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Ekspansin genlerinin spesifik domain 'leri kullanılarak keten ekspansin gen ailesi üyelerinin protein sekansları PHYTOZOME v12.1 veritabanından elde edilmiştir. Ekzon-intron bölgelerinin tespiti için GSDS (Gene Structure Display Server) programı kullanılmıştır. Keten ekspansin proteinlerinde bulunan motiflerin kompozisyonları MEME-SUITE veri tabanı kullanılarak belirlenmiştir. LusExp proteinlerinin, 3 boyutlu yapılarını tahmin etmek için PHYRE2 programında analiz yapılmıştır. Filogenetik ağaç, MEGA7 programı kullanılarak Neighbor-Joining metoduile oluşturulmuştur.

Bulgular

PHYTOZOME veritabanında yapılan BLASTP taraması sonucunda ketende toplam 59 ekspansin geni tespit edilmiş ve fiziksel ve biyokimyasal bazı özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen filogenetik ağaç analizine göre, keten ekspansin proteinleri 2 büyük ana gruba ayrılmıştır. MEME analiz sonucuna göre ise keten ekspansin proteinlerinde 20 farklı motif tanımlanmıştır. LusExp genlerinin ekzon-intron bölgelerine bakıldığında ise genlerin ikisinde (*LusExp-20, LusExp-28*) intron olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu proteinlere ait 3 boyutlu yapıları, % 90 doğruluk ile belirlenmiştir ve ağırlıklı olarak β-plaka yapıda olduğu görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, *LusExp* genleri biyoinformatik araçlarla tanımlanmış ve olası fonksiyonel karakterizasyonları vurgulanmıştır. Bu sonuçlar karşılaştırmalı ve fonksiyonel genom araştırmalarında ekspansin genleri hakkındaki bilgilerimizi genişletebilir.

Anahtar Kelimeler: Keten (Linum usitatissimum), ekspansin, biyoinformatik, filogenetik analiz

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Mikroalg Kültürü ile Hidroponik Kültürün Birleştirilmesinin Bitki Gelişimine Etkisinin Belirlenmesi

Nurdan Mısmıl[1], Gülsüm Ebru Özer Uyar[2]

[1]*Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Anabilim Dalı, Kartepe, Kocaeli*

[2]*Kocaeli Üniversitesi, Arslanbey Meslek Yüksek Okulu, Kartepe, Kocaeli*

ebruozeruyar@gmail.com

Giriş

Günümüzde hem alglerin hem de hidroponik kültürlerin ticari ve endüstriyel uygulama alanları giderek artmaktadır. Alglerin gıda ve kozmetik, yağ asiti üretimi gibi uygulama alanları bulunurken, hidroponik kültürler özellikle toprağın bitki yetiştiriciliği için uygun olmadığı koşullarda alternatif bitki büyütme uygulamasıdır. Bu çalışmada alg kültürü ile hidroponik sistem birleştirilerek hem algin hem de bitki gelişiminin iyileştirilmesi hedeflenmiştir. Algin bitkinin büyümesinde olumlu katkılarda bulunduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Algin fotosentez sonucu ürettiği oksijen, bitkinin köklerinde gerçekleşebilecek anaerobiosisi engellemektedir. Ayrıca algin büyüme ortamına bitki büyüme hormonlarını salgıladığı gösterilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada alg olarak *Chlorella vulgaris*, bitki olarak nane (*Mentha* spp.) kullanılmıştır. *C. vulgaris* için BG 11 besiyeri kullanılmıştır. Nane ise saksılarda yetiştirilmiştir. Nane fideleri boy ve yaprak sayıları eşit olacak şekilde hasat edilmiştir. Hidroponik kültüre alınmadan önce nane fidelerinin ağırlığı, kök ve gövde uzunluğu ölçülmüş ve yaprakları sayılmıştır. Hidroponik ortam 80 mL BG11 besiyeri içeren beherler olarak hazırlanmıştır. Aydınlatma kabini içine yerleştirilen beherlere hava pompası ile havalandırma sağlanmıştır. Kurulan deneme düzeneği 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak ortalama 1550 lux şiddetinde aydınlatılmıştır. Aydınlatma, düzeneğin altından ve yanlardan şerit LED ile, üstünden ise LED ampülle sağlanmıştır. Deneyler üç tekrarlı dört grup (HNK1: Alg+ Hidroponik Sistem+ Havalandırma, HNK2: Alg+ Hidroponik Sistem, HNK3: Hidroponik Sistem+Havalandırma, HNK4: Hidroponik Sistem) halinde yapılmış, her denemede 12 adet nane bitkisi ile çalışılmıştır.

Bulgular

Alglerin naneyle birlikte gelişimlerine bakıldığında havalandırmalı HNK1 ve havalandırmasız HNK2 ortamlarda çok fark olmadığı gözlenmiştir. Havalandırma uygulanan HNK1 ve HNK3 gruplarında daha hızlı kökler ve yan kökçükler oluşmuş, bitki boy uzaması havalandırmasız gruplara göre daha fazla olmuştur. Ağırlık artışı en çok HNK4'te, uzunluk artışı en çok HNK3'te, kök gelişimleri en iyi algli ortamlarda (HNK1-HNK2) bulunan nanelerde olmuştur. Nanelerdeki renk değerleri ve klorofil değerleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Çözünmüş oksijen miktarlarındaki azalma havalandırmalı olan deneme gruplarında (HNK1-HNK3) diğer gruplara göre daha fazla olmuştur. Çalışmalar süresince tüm gruplarında herhangi bir kontaminasyon görülmemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak hidroponik sistemde maksimum fayda sağlanmış, sistem içinde hem mikroalg gelişimi ve üretimi sağlanmış hem de nane üretimi yapılabildiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, Hidroponik sistemler, Chlorella vulgaris, Mentha piperita

Teşekkür: Bu çalışmayı Kocaeli Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü 2018/055 Nolu proje ile desteklemiştir.

Sözlü Sunum

Alternanthera reineckii Briq.'nin *in vitro* Mikroçoğaltımı

Muhammet Doğan[1]

[1] *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye*

mtdogan1@gmail.com

Giriş

Mikroçoğaltım teknikleri, modern bitki doku kültürü metotları kullanılarak çok sayıda bitki üretmek için iyi bir alternatif sağlar. Bu teknik, ticari amaçlı çok sayıda bitki türünün çoğaltılmasında kullanılmıştır. Bu çalışmada, *Alternanthera reineckii* Briq.'nin boğum eksplantlarından *in vitro* mikroçoğaltımı hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Boğum eksplantları in vitro sürgün rejenerasyonu için farklı konsantrasyonlarda (0,10, 0.20, 0.40, 0,80 ve 1,60 mg/L Thidiazuron (TDZ) içeren Murashige ve Skoog (1962) (MS) besin ortamlarında sekiz hafta süre ile inkübe edilmiştir. Tüm MS besin ortamlarında ayrıca % 3 sükroz ve % 0,65 agar kullanılmıştır. Besin besiyerinin pH'ı, 1N NaOH ve 1N HC1 kullanılarak 5.7 ± 1 e ayarlanmış, ardından 1.2 atmosfer basıncında ve 20 dakika 120 °C'de sterilize edilmiştir.

Bulgular

Kültür ortamında elde edilen rejenere sürgünlerin sayısı 16,67-31,67 adet arasında sıralanmıştır. Genel olarak kullanılan TDZ konsantrasyonunu arttıkça sürgün sayısı da artış göstermiştir. Eksplant başına maksimum sürgünler 31,67 adet ile 1,60 mg/L TDZ içeren MS besin ortamında, ardından 26,67 adet ile 0,80 mg/L TDZ içeren MS besin ortamında tespit edilmiştir. Sürgün uzunlukları 0,87-1,13 cm arasında değişmiştir. En uzun rejenere sürgünler 1,13 cm ile 0,40 mg/L TDZ eklenmiş kültür ortamında elde edilmiştir. Rejenre sürgünler indol-3-asetik asit (IAA) içeren MS besin ortamında köklendirilmiş ve ardından akvaryum koşullarına başarıyla alıştırılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

A. reineckii'nin boğum eksplantlarından in vitro mikroçoğaltımı TDZ uygulaması ile başarıyla sağlanmıştır. Bu çalışma ileride bu bitkinin ticari üretimine yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: İn vitro çoğaltım, boğum eksplant, doku kültürü, A. reineckii

Sözlü Sunum

Bitkilerde GABA Yolunun Tarımsal Biyoteknoloji Açısından Değerlendirilmesi

Melike Bor[1]

[1] *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı*

melike.bor@ege.edu.tr

Giriş

Bitkiler değişen çevre koşullarına ve stres faktörlerine hızlı bir şekilde uyum sağlayabilmek için çok çeşitli ve karmaşık savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Savunma ile ilgili süreçlerde sinyal iletim yollarının ve bileşenlerinin anlaşılması tarımsal biyoteknolojik yaklaşımlar açısından önemlidir. Sürdürülebilir tarım için değişen iklim ve çevre koşullarına adapte olabilecek yeni çeşitlerin geliştirilebilmesi stres savunma mekanizmalarının aydınlatılmasıyla mümkün olabilir.

Gereçler ve Yöntemler

Protein yapısına katılmayan amino asitler içinde yer alan Gamma amino bütirik asit (GABA) tüm canlılarda bulunması ve görevleri nedeniyle özel bir öneme sahiptir. İlk kez 1949 yılında patates (Solanum tuberosum) yumrularında saptanmıştır. GABA hayvanlarda nörotransmitter inhibitörü olarak görev almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar sinir sistemi hastalıkları ile beyindeki GABA seviyelerinin ilişkili olduğunu göstermektedir. Bitkilerde serbest aminoasit havuzunun temel bileşeni olan GABA, biyotik ve abiyotik stres koşullarında yüksek düzeylerde birikmesi nedeniyle stres yanıtları ve savunma süreçleriyle ilişkilendirilmektedir. Bugüne kadar labotaruvarımızda farklı tarım bitkilerinde GABA ve GABA-yolu bileşenleri ile ilgili çeşitli çalışmalar yaptık. Elde edilen sonuçların büyük bir bölümünün biyoteknolojik yaklaşımlar ile geliştirilerek uygulamaya aktarılma potansiyeli mevcuttur.

Bulgular

Susam bitkisinde yüksek sıcaklık, selenyum, kuraklık ve tuz streslerinin GABA miktarını arttırdığını, *Nicotiana sylvestris* CMSII mutantında ise tuz stresi koşullarında GABA düzeylerindeki artışın, GAD aktivitesi ile bağlantılı olmadığı gözledik. Tütün bitkisinde yaptığımız harpinle oluşturulan biyotik stres koşullarında GABA birikiminin ve sentez yolunun H_2O_2 ile ilişkili olmadığını saptadık. Yine tütün bitkisinde yaptığımız iki farklı çalışmada ağır metal ve kuraklık stresi koşullarında GABA yolunun farklı şekillerde aktive olduğunu tespit ettik. Son çalışmamızda tuz stresi koşullarında Beta vulgaris (şeker pancarı) bitkisinde fotorespirasyon ve GABA-yolunun etkileşiminin stres yanıtları açısından önemli olduğu gözledik.

Sonuç ve Tartışma

Çalışmalarımızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre GABA yoluyla ilişkili düzenleyici genlerin belirlenerek biyoteknolojik yaklaşımlar aracılığıyla bu genlere müdahele edilmesinin tarımsal verimin arttırılması açısından önemli potansiyeli bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: GABA, Abiyotik Stres, Biyotik Stres, Sürdürülebilir Tarım

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Yeni Bitki Bazlı Biyostimülantlar Olarak Söğüt Özütleri

Hande Mutlu[1], Burak Tunçbaş[1], Ümit Barış Kutman[1], Bahar Yıldız Kutman[1]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

handemutlu@gtu.edu.tr

Giriş

Tuzluluk, bitki üretimini ve dolayısıyla küresel gıda güvenliğini tehdit eden abiyotik streslerden biridir. Biyostimülantlar, sürdürülebilir tarıma yönelik mevcut zorlukları gidermek için yenilikçi ve ümit verici ajanlar olarak kullanılabilir. Bitkisel olarak da adlandırılan bitki bazlı biyostimülantlar, güvenilir, yenilenebilir ve düşük maliyetleri nedeniyle cazip seçeneklerdir, ancak etki mekanizmaları tam olarak araştırılmamıştır.
Söğüt ağacı (*Salix* spp.) özütleri salisilatlar da dahil birçok biyoaktif bileşik bakımından zengindir. Söğüt kabuğunun özleri, fitohormon olan salisilik aside dönüştürülebilen ve geleneksel tıpta sıkça kullanılan önemli miktarlarda salisin içerir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada söğüt kabuğu ve yaprak özütlerinin biyostimülant potansiyeli mısırın (*Zea mays* cv. Caramelo) tuz stresine karşı büyümesi açısından ele alınmıştır. Deneyler iklimlendirme odası koşullarında perlit, toprak ve su çözeltisi ortamlarında yürütülmüştür.Toprak ve perlit deneyleri, tohum uygulama maddesi olarak söğüt kabuğu ve yaprak özütlerinin kontrol ve tuzlu koşullar altında tohum çimlenmesi ve fide performansı üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamıştır. Su kültürü deneylerinde ise bitki büyümesi ve tuzluluk toleransı üzerindeki etkilerini araştırmak için besin çözeltisine söğüt özütleri eklenmiştir.

Bulgular

Perlit ve toprak deneyleri sonuçları, bir tohum uygulama maddesi olarak söğüt ağacı özütlerinin hem kontrol hem de tuzlu koşullarda mısırın biyokütle üretiminin yanı sıra sürgün ve kök uzunlukları dahil olmak üzere çeşitli büyüme parametrelerini arttırabileceğini göstermektedir. Bu uygulamalar mineral içeriği ve protein konsantrasyonunu arttırıp ve erken dönemde tuzluluğun olumsuz etkilerini azaltmıştır. Su kültürü deneylerinde, özellikle söğüt kabuğu özütünün, kök büyümesini ve gelişimini arttırdığı görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Söğüt özütlerinin kontrol ve tuz stresi altında mısır performansını arttırmak için biyostimülant olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Söğüt özütünü olumlu etkilerinin, içerdikleri zengin biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: biyostimülant, tuz stresi, tohum uygulamaları, söğüt özütleri

Teşekkür: Tohum materyali tedariği konusundaki katkılarından dolayı May Tohum Şirketine teşekkür ederiz.

Sözlü Sunum

Arabidopsis thaliana'da Sülfat Taşıyıcısı Genlerin İfadelerinin Bor Toksisitesi Altında Değişimi

Ceyhun Kayıhan[1], Su Naz Mutlu[1], Irmak Yılmaz[1]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

ckayihan@baskent.edu.tr

Giriş

Bitkiler için esas mikro-elementlerden olan bor, yüksek seviyede olduğunda bazı morfolojik ve fizyolojik bozukluklara yol açarak tahıl verimini sınırlandırmaktadır. Bir önceki yaptığımız çalışmada sülfür assimilasyon yolağının bor toksitesine karşı toleransta önemli rol oynayabileceği önerilmiştir. Bu nedenle, bu çalışmamızda bor toksitesi altında *Arabidopsis thaliana*'da sülfat taşıyıcıları ile ilişkili 9 genin (sulfate transporter 1;3, sulfate transporter 91, sulfate transporter 2;2, sulfate transporter 4;2, sulfate transporter 3;1, sulfate transporter 2;1, sulfate transporter 4;1, sulfate transporter 3;5, sulfate transporter 3;4) ifade (ekspresyon) seviyeleri belirlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Arabidopsis thaliana cv. Columbia bitkisine ait tohumlar, 2 dakika boyunca %70 etanol içinde, 10 dakika boyunca %15 NaOCl içinde bekletildikten sonra 3 kez steril dH2O ile durulanarak yüzey sterilizasyonu gerçekleştirildi. Ardından tohumlar, normal (100 µM) ve toksik seviyelerde (1 mM ve 3 mM) borik asit içeren MS ortamına aktarıldı. Bu besiyerlerinde büyüyen 14 günlük bitkilerden total RNA'lar, TRİzol yöntemiyle izole edildi. Genlerin ekspresyon seviyesi qRT-PCR (quantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile tespit edildi. Elde edilen veriler, ACT2 referans genine göre normalize edildi ve kontrole göre ekspresyon seviyesi değişim 2-deltaCt hesaplaması ile karşılaştırıldı.

Bulgular

Arabidopsis bitkilerinin sulfate transporter 91, sulfate transporter 2;2, sulfate transporter 4;2, sulfate transporter 3;1, sulfate transporter 2;1, sulfate transporter 4;1, sulfate transporter 3;5 genlerinin ifade seviyeleri, 1mm borik asit (1B) ve 3mm (3B) borik asit uygulamaları altında, anlamlı bir şekilde değişmemiştir. Diğer yandan, sulfate transporter 1;3 geninin ifade seviyesi, 1B uygulaması altında 8 katlık anlamlı bir değişime uğrarken, 3B uygulaması altında ifade seviyesi artmıştır ancak bu değişim anlamlı bulunmamıştır. Sulfate transporter 3;4 geninin ifadesi, 1B uygulaması altında 6 katlık anlamlı bir değişime uğrarken, 3B uygulaması altında ifade seviyesi artmıştır ancak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç ve Tartışma

Sulfate transporter 1;3 ile sulfate transporter 3;4 genlerinin özellikle orta seviyede borik asit stresine karşı önemli roller oynayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Arabidopsis thaliana, bor toksisitesi, gen ifadesi, sülfat taşıyıcısı

Teşekkür: -

Sözlü Sunum

Tuz Stresi ile İlişkili Uzun Kodlama Yapmayan Rna'ların Biyoinformatik Analizleri

Elif Karlık[1,1], Nermin Gözükırmızı[1,1]

[1] *İstinye Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul*

elif.karlik@istinye.edu.tr

Giriş

Uzun kodlama yapmayan RNA'lar, (long non-coding RNAs, lncRNAs) tuz stresi gibi stres yanıtını da içeren birçok biyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynayan önemli düzenleyicilerdir. Bu çalışmada, daha önce tuz stresi ile ilişkisi olduğu bilenen mısır (CNT0018772) ve çeltik (CNT0031477) lncRNA'ların homologlarının arpa genomundan izolasyonu ve dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Hasat ve Tarm 92 olmak üzere 2 farklı arpa varyetesinden DNA izolasyonu CTAB protokolüne göre gerçekleştirildi. Mısır (CNT0018772) ve çeltik (CNT0031477) lncRNA homologlarının arpa genomundan izolasyonu, CNT0018772 ve CNT0031477 lncRNA'na özgün primerler kullanılarak PCR reaksiyonu ile gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünleri, dizi analizi için dizilemeye gönderdi. Dizi analizleri MEGA7 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular

Dizileme sonuçlarına göre, CNT0018772 lncRNA'sının arpadaki homologları Hasat kökte ve sürgünde sırasıyla 1370 ve 1393 bç olarak bulunurken Tarm92 kökte ve sürgünde sırasıyla 1303 ve 1350 bç olarak bulunmuş; bu lncRNA bir natural-antisense RNA'dır. Bununla birlikte, CNT0031477 lncRNA'sının Hasat kökte ve sürgünde sırasıyla 2496 ve 1451 bç bulunurken Tarm92 kökte ve sürgünde sırasıyla 1378 ve 1345 bç olarak bulunmuş; bu lncRNA'da sno-lncRNA ailesinin bir üyesidir.

Sonuç ve Tartışma

Dizileme ve biyoinformatik çalışmalar lncRNA'ların hızlı bir evrim altında olduğunu aynı türün farklı varyetelerinde bile çok çeşitli olabildiklerini göstermiştir. Bu çalışma, lncRNA'ların fonksiyonlarının anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Uzun Kodlama Yapmayan RNA'lar, Dizi Analizi, Arpa

Teşekkür:

Poster Sunumu

Mısır-*P. sorghi* Patosisteminde Ekspresyonu Değişim Gösteren Genlerin Tanımlanması ve Savunmada Rollerinin Değerlendirilmesi

Hatice Çilkol[1], Mehmet Ali Südüpak[1,2]

[1] *Yozgat Bozok Üniveristesi, Fen-bilimleri Enstitusü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yozgat*

[2] *Yozgat Bozok Üniveristesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Yozgat*

haticecilkol@gmail.com

Giriş

Bitki-patojen interaksiyonlarında ekspresyonu değişim gösteren genlerin tanımlanması, gerçekleşen fizyolojik olaylar, konukçu savunması ve patojen virülansında rol oynayan faktörlerle ilgili önemli bilgiler sağlamaktadır. Mevcut çalışma, mısır (*Zea mays*) ve mısır pası (*Puccinia sorghi*) uyumlu interaksiyonunda ekspresyonu değişim gösterengenlerin tanımlanması ve bitki savunmasında rollerinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Bilinen pas ırklarına duyarlı A188 inbredi ve Türkiye'den toplanan pas izolatı, T09'un kullanıldığı DDRT-PCR çalışmasında, dokuz rastgele ve üç ankor primer kombinasyonuyla 98 transkript derivativi fragment (TDF) tanımlanmıştır. Klonlanarak sekanslanan 72 TDF ile gerçekleştirilen GenBankası taramaları, münferit etiketler için bir veya daha fazla benzer kayıt bulunduğunu göstermiştir. Tanımlanan genler arasından seçilen *ZmBip2*, *ZmCA*, *ZmcALDH*, *ZmARP* ve *ZmARPP3* genleri için primerler tasarlanarak kontrol ve infekte materyalde ekspresyon değişim teyitleri 0, 6, 12, 24, 48,72, 96 saat örneklerinde duplike paralel RT-qPCR deneyleriyle çalışılmıştır.

Bulgular

Oluşturulan veri setinde, genler, fonksiyonlarına göre gruplandırıldıklarında, TDF'lerin yaklaşık yarısının fonksiyonu bilinen genlerden orijine oldukları, bunların yarısının ise, bitki-patojen interaksiyonlarında ekspresyonu değişim gösterenler oldukları bulunmuştur. Bunlar arasında, SA ile savunma ilişkili, protein sentezi ve sekresyonu ilişkili, fitohormon sentezi ve hormonlarla stres toleransı ve hastalık direncinde rol oynayan proteinleri kodlayanlar bulunmaktadır. Etiketlerin önemli bir bölümü ise, diğer stres yanıtlarıyla ilgili olan ve karakterize edilmemiş/hipotetik protein kodlayan sekanslara benzerlik göstermektedir. Ekspresyon teyidi yapılan genlerden, CA hariç diğerlerinde, tespitlerindeki modülasyon doğrulanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Sınırlı sayıda TDF karakterize edilmiş olmasına rağmen, belirli fonksiyonlarla ilişkili olanlarla birlikte fonksiyonu bilinmeyenler, çalışılan patosistem uyumlu interaksiyonunda ekspresyonu modülasyon gösterenler olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zea mays, Puccinia sorghi, uyumlu interaksiyon, gen ekspresyonu, RT-qPCR

Teşekkür: Çalışma 209T002 nolu TÜBİTAK ve YBÜ BAP 6601-FBE/19-256 projeleri desteğinde gerçekleştirilmiştir.

Poster Sunumu

Arabidopsis thaliana'nın Tuz Stresine Cevabında Gigantea'nin Askorbat-Glutatyon Metabolizması Üzerindeki Düzenleyici Etkisi

Elif Ekeroğlu[1], Azime Gökçe [1], Cemre Tatlı[1], Uğur Burak Toğo[1], Aşkım Hediye Sekmen[1], İsmail Türkan[1]

[1]*Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bornova, İzmir/Türkiye*

hediye.sekmen@ege.edu.tr

Giriş

Bitkiler yaşamak için çevresel değişimlere uyum sağlamak zorundadır. Örneğin tahıllar, farklı ışık yoğunlukları-periyotları, sıcaklık ve toprak tipleri altında büyümek için değişirler. Bitki modeli Arabidopsis, tahıl bitkileri gibi uzun gün bitkisi olup 12 saatten fazla ışık aldığında çiçeklenip üreme dönemine geçer ve gün uzunluğunu ölçer. Bu sirkadyen saat, fotoperyodizmin temelini oluşturur. Arabidopsis Gigantea(GI) bu saatin devamlılığını sağlayıp çiçeklenmeyi kontrol eder aynı zamanda abiyotik stres cevaplarına aracılık eder. Ancak bu genin bitki direncinde önemli olan AsA-GSH döngü metabolizması üzerindeki etkisi bilinmediğinden bu çalışmada tuz stresi altındaki *A. thaliana* GI mutantları ile Col yabani tipinin AsA-GSH yolakları karşılaştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

MS ortamında 10 gün çimlendirilen *A. thaliana* GI mutantları ve Col, torf/perlit/vermiculite ortamına aktarılıp 14 gün büyütülmüştür. Daha sonra Hoagland besin çözeltisine dereceli olarak 100 ve 200 mM NaCl eklenerek 7 gün boyunca tuz stresine maruz bırakılmışlardır. Hasat edilen örneklerde büyüme, lipid peroksidasyon, H_2O_2 miktarı ve AsA-GSH döngü enzimlerinden Askorbat peroksidaz (APX) (Nakano ve Asada, 1981), Glutatyon Redüktaz (GR) (Foyer ve Halliwell, 1976), Askorbat (Queval ve Noktor 2007), Glutatyon (Queval ve Noktor 2007), Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) enzim ve izoenzim aktiviteleri spektrofotometrik ve elektroforetik olarak tanımlanmıştır.

Bulgular

200mM NaCl, erken-çiçeklenen GI-OX'ların büyümesinde %40, geç-çiçeklenen gi-4'te %31 inhibisyona neden olurken 200mM ve 100mM NaCl'de en yüksek H_2O_2 miktarı GI-OX'da gözlenmiştir. GI'nın azlığı tuz stres toleransını arttırırken artışı ise strese duyarlılığı arttırmıştır. gi-4'lerin aksine GI-OX'ların H_2O_2 seviyesindeki artış, GI'nın aşırı ifadesinin tuz stresine duyarlılığı arttırdığının kanıtıdır. GI azlığı, APX ve GR'nin konstitüf seviyelerini farklı etkilemiştir. Kontrol koşulları altında bu mutasyon, APX aktivitesini arttırırken, GR'ninkini azaltmıştır. Bu nedenle GI geni, APX'un negatif, GR'nin pozitif düzenleyicisi olabilir. Hücre redoks dengesinde GSH/GSSG oranı gi-4'de değişmezken GI-OX'da normal ve stres koşullarında azalmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Bu araştırma ile tuz stresine karşı gi-4'ün artan, GI-OX' un ise azalan toleransı ilk kez gösterilmiştir. GI, stres altında hücre redoks düzenlenmesinde fonksiyon gösterir ve APX'un negatif, MDHAR ve GR 'nin ise pozitif düzenleyicisi olabilir.

Anahtar Kelimeler: askorbat, glutatyon, oksidatif stres, tuz stresi , sirkadyen saat

Teşekkür: Bu araştırma, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Kom. (17/Fen/030) tarafından desteklenmiştir.

Poster Sunumu

Bazı Kayısı Çeşitlerine Kurutma Öncesi Ultraviyole-c Uygulamasının Kurutma Süresince Mikroorganizma Gelişimi Üzerine Etkisi

Ceylan Koçkan[1], Gülsüm Ebru Özer Uyar[2]

[1]*Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Anabilim Dalı, Kartepe, Kocaeli*

[2]*Kocaeli Üniversitesi, Arslanbey Meslek Yüksek Okulu, Kartepe, Kocaeli*

ceylanskockan@gmail.com

Giriş

Kayısı (*Prunus armeniaca* L.) ılıman bölgelerde yetiştirilen klimakterik bir meyvedir. Türkiye, Dünyada hem yaş hem kuru kayısı üretiminde lider konumundadır. Yüksek solunum hızı ve çabuk olgunlaşmasından dolayı raf ömrü çok kısadır. Raf ömrünü uzatabilmek için çeşitli muhafaza yöntemleri geliştirilmiştir, bunlardan biri kurutmadır. Fakat kurutma yavaş olduğunda kurutma süresince mikroorganizma gelişimi kaçınılmazdır. Bu çalışmada m/o gelişimini engellemek için kurutmaya başlamadan önce kayısılara UVC uygulaması yapılmıştır. UVC yüzey dekontaminasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkiye uygulandığında biyolojik stres ve savunma metabolizmasını uyarmaktadır. Bu nedenle UVC, hasat sonrası muhafaza uygulamalarından biri olmuştur.

Gereçler ve Yöntemler

Bu araştırmada kullanılan 3 farklı kayısı çeşidi (Kabaaşı, Hacıhaliloğlu, Şekerpare) Malatya Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünden temin edilmiştir. Kayısılar etüvde 70 °C de 72 saat tutularak kurutulmuştur. Etüve koymadan önce her çeşit için kontrol ve UVC grupları oluşturulmuştur. UVC gruplarında kayısılar 5 dk boyunca UVC'ye maruz bırakılmıştır. Daha sonra her gruptan birer tane alınan kayısılar steril 100 mL Saline pepton çözeltisi (8,5 g/L NaCl ve 1 g/L pepton) içinde 10 dk. bekletilmiştir. Steril enjektör yardımıyla torbalardan alınan örnekler onar kat seyreltilerek PCA (plate count agar) ve PDA (potato dextrose agar) plaklarına yayma yöntemiyle ekilmiştir. Psikrofilik ve mezofilik bakteriler için PCA plakları, sırasıyla 7 °C'de 15 gün, 25 °C'de yedi gün, aerobik maya ve küf için PDA plakları 25 °C'de 10 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda koloni sayımı yapılmıştır. Kurutma sonunda su kaybını tespit etmek için taze ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür.

Bulgular

Yapılan koloni sayımlarına göre kurutma işlemi başlamadan önce UVC uygulanan grupların hepsinde kontrol gruplarına göre mikrobiyal yük azalmıştır. Kabaaşı ve Hacıhaliloğlu çeşitlerinin kontrol gruplarında kurutmadan sonra yapılan ekimlerde mikrobiyal yükün arttığı gözlenirken, Şekerpare çeşidinin kontrol gruplarında ise mikrobiyal yük azalmıştır. Kurutmadan sonra Şekerpare ve Kabaaşı çeşitlerinin UVC gruplarında mikrobiyal gelişimin hiç olmadığı gözlenmiştir. Hacihaliloğlu çeşidinde ise UVC gruplarında kurutma süresince mikrobiyal yük azalmış ancak tamamen engellenmemiştir. Kullanılan her çeşitte su kaybı oranı ortalama %76 olmuştur, UVC uygulamasının su kaybı üzerine etkisi olmamıştır.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak UVC uygulaması ile kurutma öncesi yıkama işlemi yapılamayan kayısılarda yüzeyde bulunan doğal flora azaltılabilir ve uygun depo koşullarında saklandığında kuru kayısılarda mikrobiyal bozulma olmayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kayısı, UVC, kurutma

Teşekkür: Malatya Kayısı Araştırma Enstitüsüne kullanılan kayısıları sağladıkları için teşekkür ederiz.

Poster Sunumu

Bitkilerde Bor Toksisitesi Altında İfadelenme Düzeyleri Değişen Ortak Genlerin Mikrodizin Verileri Kullanılarak Belirlenmesi

Ceyhun Kayıhan[1,1], Berfin Doğa Koçkaya[1,1], Merve Gündoğdu[1,1], Mehmet Alp Güner[1,1]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

ckayihan@baskent.edu.tr

Giriş

Bor bitkilerin büyümesi için gerekli bir mikro-elementtir. Bor miktarının toksik seviyesi bitkilerin büyümesini sınırlandıran bir faktördür. Bor toksisitesi Türkiye ve Dünya genelinde hasat verimini etkilemektedir. Bu nedenle bitkideki bor toksisitesi sonucunda değişim gösteren yolakların ve bu yolaklarda yer alan hücresel komponentlerin anlaşılması bir hayli önem arz etmektedir. Bor toksisitesi sonucunda değişim gösteren yolakların anlaşılması için başta bitki model organizması olan *Arabidopsis thaliana*, *Populus nigra* ve *Hordeum vulgare*'ye ait literatürde bulunan mikrodizin verileri karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma ile ilk olarak ortak olarak değişim gösteren genler belirlenmiş ve ardından bu genlerin ontolojik analizi yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada 5 mM borik asite maruz bırakılmış *Arabidopsis thaliana* (Aquea F. ve ark., 2011), 5 mM borik asit ve 10 mM borik asit olmak üzere iki farklı konsantrasyonda borik aside maruz bırakılmış *Hordeum vulgare* (Öz M.T. ve ark., 2009) ve 15 ppm bor içeren toprakta yetiştirilmiş olan *Populus nigra*'dan (Yıldırım K. Ve ark., 2016) elde edilen mikrodizin verileri kullanılmıştır. Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanından alınan mikrodizin verileri, Transcriptome Analysis Console (TAC) yazılımı kullanılarak biyolojik tekrarlar arasındaki, gen ifadelerinde değişim gözlemlenen ortak genlerin tespit edilmesinde kullanıldı. Ardından tespit edilen ortak genlerin ontolojisinin araştırılması için Agricultural Gene Ontology (agriGO) paket yazılımı kullanılmıştır.

Bulgular

Bor toksisitesi altında *A. thaliana*'da biyolojik tekrarların arasında ortak olarak değişen 14 gen tespit edilmiştir. Bu genler, ATCTH transkripsiyon faktörü, nodülin proteini, ABC transporter, lakkaz ve ERF107 transkripsiyon faktörünün etkilendiği görülmüştür. Kavak'taki biyolojik tekrarların arasında ortak olarak değişen 10 gen tespit edilmiştir. Bu genler, Fes1, Ornitin karbamoyil transferaz, Mikrotübül ilişkili protein,gibi genlerin etkilendiği görülmüştür. Arpadaki biyolojik tekrarların arasında ortak olarak değişen 25 gen bulunmuştur. Bu genler, sükroz sentaz ve sistein proteinaz gibi genlerin etkilendiği görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

ABC transporter ve lakkaz bu üç bitkide bor toksisitesine ortak cevap veren genler olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Arabidopsis thaliana, kavak, arpa, bor toksisitesi, mikrodizin

Teşekkür: -

Poster Sunumu

Glikosinolat Hidroliz Ürünlerinin *Brassica napus* Bitkisinin Büyüme ve Gelişme Süreçleri Üzerindeki Etkisi

Gülçin Sevim[1], Merve Kahraman[1], Melike Bor[1]

[1]*Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir*

gulcinssevim@gmail.com

Giriş

Bitkiler yaşam döngüleri boyunca farklı çevresel stres etmenlerine maruz kaldıkları için evrimsel süreçte çok çeşitli savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Brassicacecae familyasına özgü glikosinolat mirosinaz savunma sistemi de bu spesifik sistemlerden biridir. Glikosinolatlar ve mirosinaz enziminin etkileşimi sonucu oluşan parçalanma ürünleri temelde böcek zararı, mikrobiyal zarar ve yaralanma gibi durumlar için geliştirilmiş olsada sıcaklık, kuraklık, tuzluluk gibi abiyotik streslere karşı da rollerinin olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Ancak, özellikle glikosinolat parçalanma ürünlerinin bitki büyümesi ve gelişimi üzerindeki etkileri henüz net bit şekilde aydınlatılmamıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Brassica napus bitkisine ait tohumlar çimlendirildikten saksılara aktarılmıştır. Bitkiler dört haftalık büyüklüğe ulaştıklarında allil ve benzil-izotiyosiyanat uygulamaları yapılmıştır. Bitkiler, kontrol; 250 ve 500 mM allil-izotiyosiyanat; 150 ve 300 mM benzil-izotiyosiyanat olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Belirtilen izotiyosiyanat konsantrasyonları 1 defaya mahsus olmak üzere ½ oranında seyreltilmiş Hoagland karıştırılarak bitkilere verilmiştir. Kontrol ve izotiyosiyanat uygulanan gruplar deneme süresi sonuna kadar 2 günde bir ½ oranında seyreltilmiş Hoagland ile sulanmıştır. Bitki örnekleri uygulama sonrası 0., 3., 7. ve 10. günlerde yapılmıştır. Yaprak örnekleri hasat edilip sıvı azotta dondurulduktan sonra -80 °C de saklanmıştır. Denemeler farklı zamanlarda birbirinden bağımsız olarak kurulan 3 seri şeklinde tekrarlanmıştır. Çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal parametreler incelenmiştir.

Bulgular

Çalışmamızda ticari ve tarımsal öneme sahip Brassica napus bitkisinde dışarıdan uygulanan glikosinolat parçalanma ürünleri allil ve benzil izotiyosiyanatların çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal süreçler üzerindeki etkilerini incelemeyi hedefledik. Her iki glikosinolat parçalanma ürününün artan konsantrasyonlarının fizyolojik süreçleri etkilediğini, Fotosistem II nin maksimum kuantum verimi, primer kök uzunluğu ve hipokotil uzunluğunu ve biyokütlesini azaltırken kök tüyü yoğunluğunda arttırdığı gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Glikosinolat parçalanma ürünleri allil izotiyosiyanat ve benzil izotiyosiyanatın bitkilere üzerinde önemli etkileri olduğu gözlenmiştir. Bu etkiler oksin ve brassinosteroid gibi bitki büyüme düzenleyicilerinin etkilerine benzerlik göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kök gelişimi, Brassica napus, izotiyosiyanat, glikosinolat

Teşekkür: Ege Üniversitesi BAP Komisyonu tarafından 18-FEN-023 nolu proje ile desteklenmiştir.

Poster Sunumu

Tuz Stresi Koşullarında *Beta vulgaris* Bitkisinde fotorespirasyon ve Gaba-yolu İlişkisinin Belirlenmesi

Merve Kahraman[1], Gülçin Sevim[1], Melike Bor[1]

[1]*Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir*

merv.kahraman@gmail.com

Giriş

Tuz stresi dünya çapında çoğu bitki türünün büyüme, gelişme ve verimliliği üzerinde olumsuz etkisi olan bir çevresel stres türüdür. *Beta vulgaris*, dünyadaki şeker üretiminde önemli etkisi olan ayrıca yakıt olarak da kullanılabilen bir bitkidir. Çalışmamızda pancar bitkisinde bitkisinde tuz stresine verilen yanıtlarda fotorespirasyon ve GABA-yolu arasında bir etkileşimin olup olmadığını araştırmayı hedefledik. Bu amaçla iki metabolik yol arasındaki etkileşimi fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde inceledik.

Gereçler ve Yöntemler

Bitki materyali olarak *Beta vulgaris* Felicita kültür çeşiti kullanılmıştır. Sterilizasyon sonrası tohumlar perlit ve sıkıştırılmış Cocopeat (1:3) karışımı içeren saksılara aktarılmıştır. Çimlenen bitkiler 16 saat ışık/ 8 saat karanlık periyodunda 25/23 ^{o}C'de nem oranı % 70 olan 350 µmol m^{-2} s^{-1} ışık yoğunluğunda büyütülmüş, ½ oranında seyreltilmiş Hoagland ile sulanmıştır. Bitkiler 6 haftalık olduktan sonra tuz stresi 300 mM NaCl olarak uygulanmıştır. Uygulama sonrasında 0., 7., 14., 21. ve 28. günlerde alınan yaprak örneklerinde tuz stresi ile etkilenen fizyolojik parametrelerin (büyüme, bağıl su içeriği, yaprak iletkenliği, fotosentez ve fotorespirasyon oranı vb.) yanı sıra GABA miktarı, GDH, GAD ve CAT enzim aktivitesi belirlenmiştir.

Bulgular

Tuz uygulanan bitkilerde kontrol grupları ile karşılaştırıldığında stresin 14. gününden itibaren büyüme, bağıl su içeriği, iletkenlik ve fotosentez hızında belirgin bir azalma görülmekle birlikte fotorespirasyon oranında artış kaydedilmiştir. Stres süresi ile ilişkili olarak GABA miktarı ve ilişkili enzim aktivitelerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. GDH ve GAD aktivitelerinin GABA miktarına paralel olarak artması bu GABA biyosentez yolunun çalıştığını göstermektedir. Fotosentetik verim ile ilgili parametrelerin tuz stresinden çok etkilenmemesinin ve fotorespirasyonel yolağın fotoinhibisyonu önlemesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Beta vulgaris bitkisinde tuz stresi koşullarında büyüme ve gelişmenin sürdürülebilmesinin fotosentez hasarının en aza indirgenmesi ile ilişkili olduğunu ve bunun fotorespirasyon ve GABA-yolunun etkileşimine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Beta vulgaris, Tuz stresi, GABA, Fotorespirasyon

Teşekkür: Ege Üniversitesi BAP Komisyonu tarafından 18-FEN-022 nolu proje ile desteklenmiştir.

TIBBİ BİYOTEKNOLOJİ

Sözlü Sunum

Karbapenem Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Metallo-beta-laktamaz Sıklığının Araştırılması

Enis Fuat Tüfekci[1], Anfal Alkateeb[2], Melahat Gürbüz[3], Çetin Kılınç[4], Yasemin Çelik Altunoğlu[2], Mehmet Cengiz Baloğlu[2], Muammer Kiraz[1], Nilay Çöplü[1,4]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kastamonu*

[2]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kastamonu*

[3]*Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon*

[4]*Kastamonu Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kastamonu*

etufekci@kastamonu.edu.tr

Giriş

Pseudomonas aeruginosa suşlarında metallo-beta-laktamaz (MBL) üretiminden kaynaklanan karbapenem direnci dünya genelinde ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Çünkü, MBL üreten *P. aeruginosa* suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavi başarısı düşüktür. Bu çalışmada 2018 – 2019 yılları arası Kastamonu Devlet Hastanesi'nde yatan hastalardan izole edilen karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarında MBL sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmaya Nisan 2018 – Eylül 2019 yılları arasında Kastamonu Devlet Hastanesi'nde yatan hastalardan izole edilen 36 farklı karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşu dahil edilmiştir. Klinik örneklerden izole edilen suşların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları konvansiyonel bakteriyolojik yöntemlerin yanı sıra MicroScan WalkAway Plus otomatize identifikasyon sistemi ve EUCAST (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi) standartlarına göre belirlenmiştir. Suşların MBL üretimi fenotipik olarak kombine disk diffüzyon yöntemi ile tespit edilmiştir. MBL üretiminden sorumlu genlerin (bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{GIM}) varlığı ise polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular

Fenotipik olarak 24 suşta (%67) MBL pozitifliği tespit edilirken hiçbir suşta bla_{IMP}, bla_{VIM}, bla_{GIM} genleri saptanmamıştır. Karbapenemlere dirençli suşların en fazla kolistine (%69, n=25), en az siprofloksasine (%8, n=3) duyarlı oldukları, fenotipik olarak MBL üreten suşların da benzer olarak en fazla kolistine (%67, n=16), en az siprofloksasine (%8, n=2) duyarlı oldukları belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Suşlarımızda görülen karbapenem direnci muhtemelen OprD porin proteini kaybı gibi farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Karbapenemler, metallo-beta-laktamaz, Pseudomonas aeruginosa, PZR

Teşekkür: Çalışma Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerince (KÜBAP-01/2018-37) desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

İdrarda Okratoksin A ve Okratoksin Alfa'nın Hplc-fld ile Kantitatif Tayini

Gülşen Yıldırım[1], Deniz Yurtsever Sarıca[1], Okan Has[1], Serpil Taşdelen[1], Üstün Ezer[1]

[1]*Lösemili Çocuklar Vakfı (lösev), Gıda Araştırma Laboratuvarı, Ankara*

[2]*Lösante Çocuk ve Yetişkin Hastanesi*

gulsenyildirim@losante.com.tr

Giriş

Okratoksin A (OTA), Aspergillus ve Penicillium mantarının çeşitli türleri tarafından üretilen bir mikotoksindir. Çeşitli araştırmalar OTA'nın karsinojenik, genotoksik, immunotoksik ve nefrotoksik olduğunu ortaya koymaktadır. OTA, DNA kırılmaları, protein sentezinin inhibisyonu, mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun bozulması, kanın pıhtılaşmasını engellemesi ve apoptotik etkisi nedeniyle maruziyetinin araştırılması gereken bir toksindir. Toksinin bir bölümünün eliminasyona uğradığı ilk organ karaciğerdir, daha sonra safrayla atılır ve kan dolaşımına girer. Eliminasyonun diğer önemli bir organı böbrektir. OTA, bütün nefron segmentlerinden geri emilir, bu süreç toksinin böbrekte birikmesine ve toksisitesinin artmasına neden olur.

Gereçler ve Yöntemler

Mikotoksin maruziyeti, gıdadaki mikotoksin miktarı ve populasyonun tükettiği gıda ile ilişkilendirilerek hesaplanmaktadır. Bireysel düzeyde gerçek toksin maruziyetini doğrudan belirlemek için, biyolojik sıvılarda biyolojik belirteçlerin tayinin yapılması alternatif bir yöntemdir.
Okratoksin A maruziyetinin değerlendirilmesi için gerçekleştirilen çalışma öncesinde, literatürde yer alan analiz metotlarından modifikasyonlar ile iyileştirmeler yapılarak yeni bir metot geliştirilmiştir. Örnekler, 37 °C'de pH 5.5 asetat tamponu ve enzim (B-Glucuronidase/Arylsulfatase) varlığında 16 saat inkübe edildikten sonra NaHCO3 ile muamele edilerek olası asidik girişimlerden uzaklaştırılmış, kloroform ile OTA ve OTα örneklerden özütlenmiştir. OTA ve OTα, HPLC'de kromatografik olarak ayrılmış; FLD ile tayin edilmiştir.

Bulgular

Otuz kişiden alınan idrar örneklerinde yapılan çalışmalar sonucunda 28 kişinin (%93) OTA'ya maruz kaldığı görülmüştür. OTA ve OTα değerleri sırasıyla 0.173-3.155 ng/ml ve 0.194-1.176 ng/ml arasında dağılım göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, OTA'ya maruziyetin yüksek olduğunu göstermekte ve bu toksine maruziyetin ve maruziyete neden olan gıdaların düzenli olarak kontrol edilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Türkiye gibi okratoksin A oluşma potansiyeli yüksek gıdaların üretimi/tüketimi yapılan bir ülkede halk sağlığı için önem taşımaktadır.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma; hem gelecekte yapılacak çalışmalar için yeni bir metot sunmakta hem de Türkiye'de idrarda aynı anda OTA ve OTα için yapılan ilk araştırma olarak öncü kaynak olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Okratoksin A, Okratoksin alfa, HPLC-FLD, idrar, OTA, OTα

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Meme Kanseri Hücrelerinin Migrasyonunda Çay Ağacı Yağının Etkisi

Fulya Doğaner[1]

[1] *Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Aksaray*

doganerfulya@gmail.com

Giriş

Myrtaceae familyasına ait *Melaleuca alternifolia* bitkisinden damıtılarak elde edilen ve Çay ağacı yağı (Tea tree oil (TTO)) olarak bilinen uçucu yağın antifungal, antibakteriyel, antiviral ve antienflamatuar etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda bitkinin tamamı ya da bazı bileşenlerinin antikanser aktiviteleri araştırılmasına rağmen, kanser metastazı üzerindeki etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir. Embriyogenez, yara iyileşmesi, immün yanıtlar, doku gelişimi ve kanser metastazı gibi pek çok çeşitli biyolojik işlemlerde hücre göçü (migrasyon) kritik bir rol oynamaktadır. Bu çalışmanın amacı da, meme kanseri hücrelerinde çay ağacı yağının sitotoksik aktivitesini ve hücre göçü üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereçler ve Yöntemler

Meme kanseri hücre hattına (MCF-7), 24-48 saatlik sürelerde 0-800 μM aralığındaki konsantrasyonlarda çay ağacı yağı (TTO) uygulanarak MTT yöntemi ile sitotoksik dozu belirlendi. TTO'nun hücre göçü üzerindeki inhibe edici etkisini belirlemek için kültür hücrelerine eklenen 0- 500 μM aralığındaki konsantrasyonların 0-24 saatlik sürede wound healing yöntemi ile yara iyileşmesi üzerine etkisi belirlendi.

Bulgular

MTT yöntemi ile ≥ 600 μM TTO konsantrasyonunun, hücre canlılığını ve MCF-7 hücrelerinin hücre proliferasyonunu azaltarak sitotoksik aktivite gösterdiği belirlendi. Yara iyileşmesi sonuçları mevcut MCF-7 meme kanseri hücrelerinin göçünü ve istilasını azalttığını ve bu etkilerin konsantrasyona bağlı olduğunu gösterdi. Bu bulgular, çay ağacı yağının meme kanserinde yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Hücrelerde migrasyon ve invazyonunun baskılanmasında birçok farklı mekanizma kullanıldığı için, TTO uygulamasının bu mekanizmalardan hangisini kullandığı konusunda daha başka çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Çay ağacı yağı, TTO, Meme kanseri, MCF-7, Migrasyon

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Kanser-ilişkili Miyeloid Hücreleri Hedeflemede Cxcl Kemokinlerinin Özgün Küçük Peptit Dizilerinin Kullanımı

Diğdem Yöyen Ermiş[1,2], Utku Horzum[2], Güneş Esendağlı[2]

[1]*Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı*

[2]*Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı*

dyoyenermis@lokmanhekim.edu.tr

Giriş

Günümüzde pek çok kanser tipi için gerek bilimsel literatür gerekse biyoinformatik veritabanları kullanılarak yeni hedefli molekül tedavileri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu hedeflemelerde sadece kanser hücreleri değil kanserin prognozunu destekleyici miyeloid hücrelerin de hedeflenmesi gerekliliği tartışılmaktadır. Bu hücreler kanser gelişiminde bire bir etkili kilit immün hücreler olup, hedeflenmeleri hastalığın seyri açısından oldukça önemlidir. Yaptığımız çalışmalarda bilinen 17 adet CXCL kemokin molekülünün öncül dizileri rasyonel ve özgün bir algoritma ile irdelemiş ve aday peptit dizileri belirlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Literatürde tanımlanmış 17 adet kemokin molekülü incelenmiş olup, öncül dizilerden türevlenen küçük peptit molekülleri belirlendi ve in vitro kullanıma uygun olan peptitler özgün bir biyoinformatik algoritma kullanılarak seçildi. Peptitlerin olası toksik etkileri MTT yöntemi ile belirlendi. En umut vaad eden peptitler floresan (FITC) takısı ile sentezletilerek etkileşim analizleri yapıldı. İmmün hücre etkileşim analizleri anti insan-CD3,CD16,CD56,CD19,CD14 monoklonal antikorları ile akım sitometri cihazında değerlendirildi. Farklı olgunlaşma basamaklarında bulunan miyeloid hücreleri in vitro olarak modellemek için, KG-1,Kasumi-1,HL-60,THP-1veU937 hücre hatları kullanıldı. İlgili peptitlerin endositoz mekanizmalarının aydınlatılması için kloropromazin hidroklorür,metil-beta siklodekstrin,amilorid hidroklorür hidrat endositoz inhibitörleri kullanıldı. Tüm etkileşim sonuçları floresan mikroskopi yöntemi ile de doğrulandı.

Bulgular

İlgili peptitlerin farklı düzeylerde model hücre hatlarına alınabildiği ve bu alımda farklı endositoz mekanizmalarının (Makropinositoz, Klatrin-aracılı endositoz ve Kaveol aracılı endositoz) kullanıldığı görülmüştür. Özellikle monositik hücreler ile yüksek etkileşime sahip bir peptit dizisi belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar ile, özgün sekansını belirlediğimiz küçük peptitlerin farklı olgunlaşma basamaklarında bulunan ‘’kanser ilişkili miyeloid-hücreleri’’ tespit etmek için hedefleyici sistemler olduğunu önermekteyiz. Bu sayede ilgili miyeloid hücreler hedeflenerek ‘’kanser ilişkili miyeloid hücreler’’ aracılı baskılanmış immün yanıt ekarte edilerek immün sistemin tekrar kanseri yok etme yönünde aktive edilmesi hedeflenmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Literatürde birçok küçük peptit molekülü tanımlanmıştır. Fakat, özellikle monositik hücreleri hedefleyebilen bir peptit bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız ile oldukça özgün ön sonuçlar elde etmiş bulunmaktayız.

Anahtar Kelimeler: CXCL kemokinler, Tümör ilişkili miyeloid hücreler, hedefli küçük peptitler

Teşekkür: TUBITAK/KBAG 1001 projesi (Proje no: 113Z061).

Sözlü Sunum

Schizosaccharomyces pombe'nin Hücre Ölüm Modeli Olarak Geliştirilmesi ve Alfa-thujone-bağımlı Ölümün Mekanistik İncelemesi

Hızlan Hıncal Ağuş[1], Gizem Kök[1], Ezgi Derinöz[1]

[1]*İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul*

hizlanhincal.agus@yeniyuzyil.edu.tr

Giriş

S. pombe'de programlı hücre ölüm yollarını kontrol eden genlerin anlaşılması ile bunların etki mekanizmalarının aydınlatılması literatürdeki eksikliği giderecektir. Bu çalışmanın amacı, *S. pombe*'nin hücre ölümü çalışmalarında kullanılmak üzere hücresel model olarak geliştirilmesi ve *S. pombe* metakaspazı olarak kabul edilen Pca1 ile bir endonükleaz olan Pnu1 (memeli endonükleaz G ortoloğu) genlerinin bu mekanizmalardaki potansiyel rollerinin mekanistik kanıtlar ortaya konarak anlaşılmasıdır. Bunun yanında, bu çalışmada, bazı toksik etkileri bilinen ve örnek bir materyal olan alfa-thujone molekülünün tetiklediği hücresel ölüm mekanizmalarının moleküler genetik ve biyokimyasal açıdan aydınlatılması hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

S. pombe yabanıl tip (*ED666 h- ade6-M210/ura4-D18 leu1-32*) ve mutant hücreler (*pca1* ve *pnu1*) B. Palabıyık'tan alınmıştır (İstanbul Üniversitesi). pSLF273-Pca1 aşırı ifade plazmidi gene özgü klonlama primerleri ve PCR ile elde edilerek *E. coli DH5 alfa* hücresinde çoğaltılmış, ardından *S. pombe* hücresine aktarılmıştır. Hücreler, destekleyici amino asitler varlığında minimal besi yerinde büyütülmüş ve tüm muameleler 24 saat boyunca 30 °C'de 180 rpm hızda çalkalamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Aşırı ifade plazmidi tiamin ile kontrol edilmiştir. Alfa-thujone muamelesi 0,1-1,6 mg/ml aralığındaki dozlarda gerçekleştirilmiştir. Apoptotik nükleer morfoloji DAPI ve akridin turuncusu/etidyum bromür boyamaları ile görüntülenmiştir. ROS seviyeleri DCFDA ve NBT redüksiyonu deneyleriyle, mitokondriyel membran potansiyeli ise Rhodamine 123 floresan metotları kullanılarak analiz edilmiştir. Spot ve koloni oluşturma deneyleri amino asit destekli katı agar besiyeri kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

0,4-1,6 mg/ml aralığında alfa-thujone, doz bağımlı olarak, hücre ölümüne neden olmuştur. Apoptotik hücrelerin sayısı spot ve koloni deneylerinden elde edilen verilerle çok yakın bulunmuştur (%17-%55). DAPI boyamada nükleer parçalanma/dağılma tespit edilmiştir. Doz artışıyla hücre ölümü ve ROS seviyeleri (2,5-3 kat artış) pozitif korelasyon gösterirken, rhodamine floresansında 2-4 katlık dramatik azalışlar kaydedilmiştir. Spot ve koloni deneyinde *pnu1* mutantlarında yabanıl tipe benzer hücre ölümü gözlenirken (%85-%90), *pca1* mutant hücrelerinde ölüm minimum düzeyde (%10) kalmış, *pca1* aşırı ifadelenmesinde ise hücre ölümü yabanıl tiptekine yakın bulunmuştur. *pca1*'in yabanil tipte gen ifadesi seviyelerinde 2,5 katlık artış tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Alfa-thujone kaynaklı hücre ölümünün oksidatif stres, mitokondriyal bozulma ve metakaspaz-bağımlı (Pca1) bir yolla gerçekleştiği gösterilmiştir. Ayrıca, *S. pombe*, hücre ölüm çalışmalarında kullanılabilecek hücresel organizma olarak geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: S. pombe, apoptoz, Pca1, alfa-thujone

Teşekkür: Bu çalışma, 1919B011701447 no'lu 2209-A TÜBİTAK projesi ve İYYÜ mütevelli heyetince desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

α-l-gluronik Asit İçeren Ultrasaf Aljinat Kullanılarak Mikroenkapsüle Edilen Paratiroit Hücrelerinin Zenotransplantasyonu

Beyza Servet Göncü[1], Emrah Yücesan[2]

[1]*Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi*

[2]*Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Enstitüsü*

bgoncu@bezmialem.edu.tr

Giriş

Zenotransplantasyon immünolojik açıdan değerlendirildiğinde organ/hücre nakillerinde majör rejeksiyon sebebidir. Polimer teknolojisinin gelişmesiyle, yarı-geçirgen bir bariyer oluşturularak kapsül içerisine alınan dokunun/hücrenin bu etkilerden korunması sağlanabilmektedir. Klinik anlamda çalışmalar yapılması, polimer malzemenin biyo-uyumluluğunun artırılması ile gerçekleştirilir. Bu çalışmada paratiroit hücrelerinin zenotransplantasyon etkinliği, *in vivo* olarak >%60 oranında α-L-gluronik asit içeren ultrasaf aljinat ile mikroenkapsülasyonu açısından değerlendirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

BVÜ Genel Cerrahi AD tarafından sekonder hiperparatiroidi tanısı ile subtotal paratiroidektomi uygulanan bir olgudan alınan paratiroit dokularının 1/3'üne histopatolojik değerlendirme yapıldı. Kalan 2/3'lük kısmına enzimatik hücre izolasyonu uygulandı. Hücre/ultrasaf aljinat oranı %28 olacak şekilde 300 mOsm $CaCl_2$ çözeltisi ile kapsüller oluşturuldu. Kapsüllerin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu ile gözlendi. Elde edilen kapsüller paratiroidektomi uygulanan 10 Wistar albino sıçana intraperitoneal yolla nakledildi. Kontrol grubu olarak da yine 10 Wistar albino sıçana intraperitoneal yolla boş kapsül nakli yapıldı. 52 hafta boyunca parathormon takibi ve sonrasında nakledilen mikroenkapsüller histolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular

Makroskopik inceleme de, omentuma yapışan ve serbest olarak yüzen kapsül grupları toplandı. Mikroenkapsüllerde morfolojik olarak hasar tespit edilmedi. Mikroskopik değerlendirmede, omentuma yapışan kapsüllerin fibrotik hücre ile kaplandığı, peritonda serbest haldeki kapsüllerin fibrotik hücre kılıflarının ise çok daha az olduğu gözlendi. Parathormon seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$ anlamlılık değeri olarak kabul edildi).

Sonuç ve Tartışma

Biyouyumluluğu yüksek bu polimerin, zenotransplantasyon gibi immünolojik açıdan en zor nakil yönteminde dahi başarılı olması,kullanılabilirliğini göstermiştir.İlerleyen dönemde klinik çalışmalarla ve çok örnekle ilerletilmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: mikroenkapsülasyon, ultrasaf aljinat, zenotransplantasyon

Teşekkür: Çalışma BVU BAP Birimi tarafından desteklenmiştir (9.2016/1 ve 4.2018/11).

Sözlü Sunum

Biyoteknoloji Destekli Biyosensör Teknolojileri ve Yeni Bir Çevirici Tipi: Kuvars Akord Çatalı

Kübra Kırali[1], Dilek Çökeliler Serdaroğlu[1], Aylin Dedeoğlu[1], İsmail Cengiz Koçum[1]

[1]*Başkent Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Bağlıca Kampüs, Ankara*

kubrak@baskent.edu.tr

Giriş

Biyosensörler, biyolojik element içeren tanıyıcı yüzey / tabaka ile hedef analitleri algılayan, dönüştürücü ile bu maddelerin derişimlerine bağlı sinyaller üretebilen analiz sistemleridir. Burada, analit ile tanıyıcı kısım arasında yüksek afinite ve özgünlüğü sağlamak oldukça önemlidir. Geleneksel olarak kullanılan biyolojik algılayıcı moleküller: enzim, antikor vb gibidir.Biyoteknolojik gelişmeler sayesinde aptamer gibi moleküllerin üretilebilmesi ve bu yapıların biyosensörlerde görev almasıyla, daha kararlı ve özgün etkileşimler sağlanmıştır. Biyosensörlerin, biyoteknolojiye olan katkısı ise; gıda, medikal gibi alanlarda, takip gerekliliği olan belirteçlerin hızlı, direkt, taşınabilir, kolay niteliklerle ölçümlerini sağlayabilmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Kuvars akort çatalı (Quartz Tuning Fork - QTF), yapısındaki kristal sayesinde piezoelektrik etki göstermekte ve kütle hassas sensör olarak kullanılabilmektedir.Fakat, biyosensör olarak yapılandırılmasında oldukça az sayıda çalışmalara rastlanmaktadır. Çünkü, QTF'lerden gelen sinyallerin ölçülmesi için günümüzde ağır ve taşınması zor sistemler kullanılmaktadır.Bu çalışmada, taşınabilir özellikte geliştirdiğimiz QTF ölçüm sisteminin detayları sunulmuştur.Ayrıca, biyosensör olarak yapılandırmadaki ilk basamak olan tanıyıcı tabaka ile entegrasyon denemeleri tamamlanmıştır. Antikorların tutunmalarını sağlamak amacıyla, aktivasyon ajanı (tiyofen 3 boronik asit -T3BA) kullanılmıştır. Bu kimyasal yapı ile antikor yönlendirme stratejisi, ilk defa altın bazlı QTF üzerinde denenmiştir. T3BA, metanol içerisinde çözdürülmüştür(derişim:1mM, süre:3 saat). Yüzeyi aktive edilmiş olan QTF'lere antikor (anti-transferrin) tutuklamak adına dört farklı konsantrasyon (0,0625- 1- 1,25-2 µg/µL) denenmiştir.

Bulgular

Sonuç olarak, T3BA ajanıyla aktive edilmiş QTF'ler kurutulup ölçüme alındıklarında, frekanslarında ± 26.05 Hz'lik bir kayma meydana gelmiştir. Ayrıca, antikor (anti-transferrin) tutuklanması aşamasında da frekans kaymaları elde edilmiştir. Bu değerlere göre, optimum antikor derişimi 1,25 µg/µL olarak belirlenmiştir (frekans kayması: 8,19 Hz).Bu frekans kaymaları, QTF sisteminin tanıyıcı tabaka ile entegre edilebildiğini, üzerinde kütle biriktiğini gösterir niteliktedir. Ayrıca yüzey karakterizasyon testleri ile (Taramalı elektron mikroskobisi: SEM-EDX) yüzey kimyası değişimleri de tanımlanarak doğrulama yapılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Sinyallerde, pik noktalarında kayma, aktivasyon yapılabildiğini ve antikorların yüzeye entegre edilebildiğini göstermektedir. Üretilen QTF bazlı prototipin, biyoteknolojik alanında birçok farklı analitin ölçümünde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, QTF (Kuvars Ayar Çatalı), Antikor Tutuklama

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Ekzopolisakkaritlerin Yapısal Özellikleri ile Fonksiyonel Özellikleri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi

Seda Şirin[1], Belma Aslım[1]

[1]*Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye*

sdasirin@hotmail.com

Giriş

Alzheimer hastalığı (AH) yaşlılarda demansın en yaygın görülen şeklidir. Son yıllarda, fizikokimyasal özellikleri ve potansiyel sağlığa faydalı etkilerinden dolayı probiyotikler tarafından üretilen ekzopolisakkarit (EPS)'ler yaygın olarak çalışılmaktadır. EPS'lerin yapısal özellikleri ile fonksiyonel özellikleri arasında bir ilişki bulunduğu saptanmıştır. Bu sebeple, probiyotiklerden elde edilen EPS'lerin yapısal karakterizasyonu oldukça önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı, AH tedavisinde kullanım potansiyeline sahip probiyotik kaynaklı EPS'lerin yapısal özellikleri ile fonksiyonel özellikleri arasındaki ilişkinin belirlenmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, probiyotik suşlardan (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 ve *Lactobacillus plantarum* GD2) elde edilen EPS'ler kullanılmıştır. EPS'lerin içerdiği azot, karbon, hidrojen, kükürt ve oksijen yüzdeleri elemental analiz, fonksiyonel grupların varlığı FTIR analizi, yüzeylerinin üç boyutlu görüntülenmesi AFM analizi, yüzey morfolojilerinin yüksek çözünürlükte görüntülenmesi SEM analizi ve kristalografik özelliklerinin belirlenmesi ise XRD analizi ile belirlenmiştir.

Bulgular

EPS'lerin azot, karbon, hidrojen, kükürt ve oksijen yüzdeleri ve FTIR spektrumları belirlenmiştir. 800-1200 cm-1 arasındaki dalga sayısı, polisakkaritlerin parmak izi bölgesidir ve farklı polisakkaritlerin karakterize edilmesi için kullanılabilmektedir. 1200 cm-1'deki bantlar, şeker monomerlerinin germe titreşimini temsil etmektedir. 3300 cm-1'deki geniş bant, hidroksil gruplarının germe titreşimini temsil etmekte olup, bir karbonhidrat halkasının karakteristik pikidir. EPS'lerin AFM ve SEM görüntülerine göre yüzey morfolojisinin pürüzlü ve gözenekli bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. EPS'lerin XRD desenlerine göre büyük ölçüde amorf karaktere veya zayıf bir mikro düzenlenme (zayıf kristalin) yapısına sahip oldukları görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Polianyonik fonksiyonel grupların (hidroksil, amino, karbonil ve karboksi grupları) varlığı, EPS'lerin sahip olduğu pürüzlü ve gözenekli yüzey morfolojisi ve amorf karaktere sahip olmaları AH tedavisindeki kullanım potansiyelini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Ekzopolisakkarit, karakterizasyon, probiyotik.

Teşekkür:

Sözlü Sunum

Böbrek Hasarı Oluşturulan Sıçanlarda Ellagik Asit'in Bazı Apoptotik Protein Markerlerinin Ekspresyonuna Etkisi

Özlem Gök[1], Seda Beyaz[1], Abdullah Aslan[2], Orhan Erman[1]

[1]*Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ*

[2]*Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, Elazığ*

ozlemgok938@gmail.com

Giriş

Böbrek birçok ksenobiyotiğin hedefidir. Ksenobiyotiklerden biri olan karbon tetraklorür (CCl_4)'ün böbrek hasarına neden olduğu ortaya koyulmuştur. Birçok antioksidan molekülün CCl_4'e karşı koruyucu etkileri bulunmaktadır. Bitkilerde fenol yapısında doğal olarak bulunan antioksidan, antiapoptotik, antidiyabetik ve antidepresan özelliğe sahip olan maddelerden birinin Ellagik asit (EA) olduğu belirtilmiştir. Çalışmanın amacı; CCl_4 ile sıçanlarda oluşturulan böbrek hasarına karşı EA'in koruyucu bir rolünün olup olmadığının araştırılmasıdır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, 36 adet Wistar albino (n=36, 8 haftalık) erkek sıçan kullanılmıştır. Çalışmanın hayvan deneyleri bölümü, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 14.03.2018 toplantı tarihli ve 61 karar nolu izni ile Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür. Sıçanlar 4 gruba ayrılmış ve her grupta 9 sıçan yer almıştır. Gruplar: (1) Kontrol Grubu; (2) EA Grubu: EA (10 mg/kg CA, ip) verilen grup; (3) CCl_4 Grubu: CCl_4 (1,5 ml/kg CA, ip) verilen grup; (4) EA ± CCl_4 Grubu: CCl_4 (1,5 ml/kg CA, ip) ve EA (10 mg/kg CA, ip) verilen grup. Hayvanlar 8 hafta sonra dekapite edilerek böbrek dokuları incelenmiştir. Böbrek dokusunda kaspaz-3, Tnf-alfa, Cox-2, Nrf-2, NF-kB ve VEGF (vasküler endotel büyüme faktörü) ekspresyon düzeyleri western blotlama tekniğiyle, lipit peroksidasyonu MDA (malondialdehit) analizleri ile katalaz aktivitesi ve GSH (glutatyon) düzeyi spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Bulgular

Elde ettiğimiz bulgulara göre; EA uygulamasıyla; CCl_4 grubuna kıyasla EA±CCl_4 grubunda; Nrf-2, kaspaz-3 ve VEGF protein ekspresyonu ile katalaz aktivitesi ve GSH düzeyinde artış, NF-kB, Tnf-alfa ve Cox-2 protein ekspresyonu ile MDA seviyelerinde azalış görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Bu sonuçlar, EA'nin sıçanlarda böbrek hasarı oranını azalttığını ve ayrıca EA'in gelecekte böbrek hasarına karşı koruyucu potansiyel bir ilaç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, Böbrek hasarı, Ellagik Asit, Karbon tetraklorür, Nrf-2, Tnf-alfa

Teşekkür: Bu çalışma FÜBAP tarafından F.F. 16.42 nolu proje ile desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

Ellagik Asitin Akciğer Hasarına Karşı Koruyucu Etkisinin Bazı Protein Sinyal Yolakları Vasıtasıyla Araştırılması

Yousif Taha Hussein [1,2], Seda Beyaz[1], Özlem Gök[1], Abdullah Aslan[3], Orhan Erman[1], Serpil Başpınar[4]

[1]*Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye*

[2]*Süleymaniye Politeknik Üniversitesi, Halabja Teknik Enstitüsü, Hemşirelik Bölümü, Süleymaniye, Irak*

[3]*Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı, Elazığ, Türkiye*

[4]*Fırat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Elazığ, Türkiye*

beyazseda23@gmail.com

Giriş

Ellagik asit (EA), antioksidan olarak tanımlanmış ellagitanninler (ET) ailesinden polifenolik bir bileşiktir. EA, nar, çilek, ahududu, böğürtlen, yaban mersini gibi meyvelerde ya da ET'ler içinde bir kompleks halinde ortaya çıkabilen gallik asidin bir dimerik formudur. EA'in çeşitli tümör modellerinde antikanser potansiyele sahip olduğu ortaya konulmuştur. EA, akciğer hasarının yanı sıra karaciğer, pankreas, testis, kas ve beyin vb. hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. Bu çalışmada, Wistar albino erkek sıçanlarda ellagik asidin akciğer hasarı üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmanın hayvan deneyleri bölümü, F.Ü. Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 13.02.2019 tarihli ve 36 numaralı kararın alındığı izni ile F.Ü. Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde (FÜDAM) yürütülmüştür. Çalışmada 36 Wistar albino erkek sıçan (n = 36, 8 haftalık) kullanılmış ve bu sıçanlar 4 gruba ayrılmış ve her grupta 9 sıçan yer almıştır. Gruplar: (i) Kontrol Grubu; (ii) EA Grubu; (iii) CCl_4 Grubu; (iv) EA±CCl_4 Grubu. Sıçanlar 8 hafta sonra dekapite edilmiş ve akciğer dokuları alınarak incelenmiştir. Akciğer dokusunda Nrf-2, kaspaz-3, NF-kB, TNF- alfa, Cox-2 ve Bcl-2 proteinlerinin ekspresyon düzeyleri Western blotlama tekniğiyle, lipit peroksidasyonu MDA (malondialdehit) analizleri ile katalaz ve GSH düzeyi spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Bulgular

Ellagik asit uygulaması ile, EA±CCl_4 grubunda NF-kB, TNF-a, Cox-2, Bcl-2 protein ekspresyon düzeyleri ve MDA seviyeleri CCl_4 grubuna kıyasla düşmüş, Nrf-2, kaspaz-3 protein ekspresyon düzeyleri ile GSH ve katalaz aktivitelerinde ise artış gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, EA'in Wistar albino sıçanlarında akciğer hasarı oranını düşürdüğünü ve gelecekte tedavi için potansiyel bir ilaç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Ellagik Asit, Akciğer hasarı, Apoptoz, Nrf-2, kaspaz-3

Teşekkür: Bu çalışma FÜBAP FF.16.42 nolu proje ile desteklenmiştir.

Sözlü Sunum

DNA Metilasyonunun Dna Yapısı ve Dna-doksorubisin Etkileşimleri Üzerindeki Etkileri

Gözdem Çavdar[1,2], Özgül Persil Çetinkol[1,3]

[1] *Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara*

[2] *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Niğde*

[3] *Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara*

cavdar.gozdem@metu.edu.tr

Giriş

Epigenetiğin, kanser dahil olmak üzere birçok hastalıkta rol oynadığı bilinmektedir. Epigenetik modifikasyonlardan DNA metilasyonunun, her zincirde birer tane olmak üzere 2 metillenmiş sitozin içeren DNA'ların kararlılığını artırdığı kanıtlanmıştır. Artan kararlılık DNA'nın esnek yapısını değiştirip transkripsiyonda görev alan proteinlerin DNA'ya bağlanmasını engelleyerek gen ifadesini değiştirebilir ve hastalık oluşumuna yol açabilir. Bu çalışmada DNA kararlılığının ve ikincil yapısının metil sayısı ve pozisyonuna bağlı değişimi sistematik olarak incelenmiştir. Hiper/hipometilasyonun kanser ile ilişkilendirilmesinden dolayı, DNA metilasyonunun kemoterapi ajanı Doksorubisinin DNA'ya bağlanma özellikleri üzerindeki etkisi de incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

İkili sarmal oluşturan Dickerson Dodecamer (DDD) dizinindeki normal sitozin'ler (dC) sistematik olarak 5-metil sitozin (d5mC) ile değiştirilmiş ve farklı pozisyonda ve sayıda d5mC içeren dizinler elde edilmiştir. Sodyum fosfat tampon çözeltisinde hazırlanan, 60 µM nükleik asit bazı içeren dizinler (pH:7.0), 15-85 ºC aralığında ısıtılıp soğutulurken 260 nm'de UV-Visible spektrumları toplanarak, termal denatürasyon eğrileri elde edilmiş ve termal denatürasyon sıcaklıkları belirlenmiştir. Aynı örneklerin 5-95 ºC, 215-500 nm aralığında Dairesel Dikroizm (CD) spektrumları elde edilerek DNA'nın ikincil yapısındaki değişimler gözlemlenmiştir. DNA metilasyonunun Doksorubisin-DNA etkileşimi üzerindeki etkilerini belirlemek için, UV-Vis ve CD termal denatürasyon deneyleri 8 adet d5mC içeren (DDD8) ve d5mC içermeyen (DDD) DNA sarmalları ile 15 µM Doksorubisin kullanılarak tekrarlanmıştır.

Bulgular

Termal denatürasyon çalışmaları, metil pozisyonu ve sayısı ile DNA kararlılığı arasında güçlü bir ilişki olmadığını göstermiştir. 8 adet d5mC içeren DDD8'in termal denatürasyon sıcaklığı DDD'ye göre sadece birkaç derece fazladır. Ayrıca, metilasyonun ikincil yapıyı da önemli ölçüde değiştirmediği, sadece 245 nm'deki CD bandında 4 nm kırmızı kaymaya, bu bandın yerel maksimum eliptisitesinde 4 mdeg artışa neden olduğu belirlenmiştir. Doksorubisinin DDD'nin erime noktasını yaklaşık 3.5 ºC, DDD8'inkini 6 ºC artırdığı, DDD'nin CD spektrumunda 263, 275 ve 301 nm'de yerel maksimum eliptisitesi olan uyarılmış bantlar oluşturup 250 nm'deki bandın neredeyse kaybolmasına yol açarken, DDD8'in CD spektrumunda önemli değişim oluşturmadığı gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

DNA metilasyonu az da olsa DNA kararlılığını artırıp DNA-Doksorubisin etkileşimini etkilemiş; Doksorubisin, DDD8 kararlılığını DDD'den fazla artırırken, ilaç bağlanmasıyla oluşan ikincil yapıdaki değişimin DDD8'de az belirgin olmasına yol açmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dickerson Dodecamer, DNA metilasyonu, Doksorubisin, Epigenetik

Teşekkür: Bu çalışmayı 118Z339 no'lu araştırma projesi kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Sözlü Sunum

Farklı Metotlar ile Elde Edilen *Heracleum humile* Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal ve DNA Koruma Aktivitesinin İncelenmesi

Mustafa Öçal[1], Yasemin Çelik Altunoğlu[1], Enis Fuat Tüfekçi[2], Gökhan Zengin[3], Mehmet Cengiz Baloğlu[1]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*

[2]*Kastamonu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Kastamonu*

[3]*Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya*

mocal@kastamonu.edu.tr

Giriş

Bitkisel ürünler, geçmişten günümüze tedavi edici veya koruyucu etkileri sebebiyle kullanılmaktadır. Günümüzde, sentetik ilaçların olumsuz etkilerinin olduğunun anlaşılması ile beraber doğal tıbbi bitkilerden daha güvenli ilaçlar sentezlenebilmesi için geniş çaplı araştırmalar yapılmaktadır. Apiaceae ailesi grubuna dâhil Heracleum cinsi bitkilerin de tıbbi önemi bulunmaktadır. Bu çalışmada, Heracleum cinsi bitkilerden *Heracleum humile* türünün biyolojik aktivitesi test edilmiştir. Bu kapsamda bitkinin maserasyon ve ultrasonikasyon gibi farklı metotlar ile elde edilen metanol, etilasetat ve su ekstraklarının değişik dozlarda in vitro olarak antimikrobiyal ve DNA koruma özellikleri incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Heracleum humile bitkisinin toprak üstü kısımlarının farklı ekstraktları, etilasetat, su ve metanol gibi çözücülerde stok solüsyon olarak hazırlanmıştır ve seyreltme yapılmıştır. Bitki ekstraktlarının DNA koruma aktivitesinin belirlenebilmesi için pUC19 plazmiti kullanılmış olup Fenton reaksiyonu ile DNA hasarı oluşturulmuştur. 5 mg/ml ve 10 mg/ml konsantrasyonunda hazırlanan bitki ekstraktlarının Fenton reaktifine karşı DNA koruma aktivitesi incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizi ise mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile toplam 10 farklı tür Gram negatif ve Gram pozitif bakteri üzerinde antimikrobiyal aktiviteye bakılmıştır. Mikrodilüsyon analizi, 1 mg/ml konsantrasyondan başlanarak 2 kat seri dilüsyon ile yapılmıştır.

Bulgular

Elde edilen sonuçlara göre, *H. humile* bitkisinin maserasyon yöntemi ile elde edilen etilasetat, su ve metanol ekstraklarının yaklaşık %30 oranında DNA koruma aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Ultrasonikasyon yöntemi ile elde edilen bitki ekstraklarında koruma aktivitesi saptanmamıştır. Yapılan antimikrobiyal analiz sonucuna göre her iki yöntem ile elde edilen etilasetat ve metanol bitki ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK) belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak levofloxacin antibiyotiği kullanılmış olup Gram negatif bakterilerde daha düşük konsantrasyonda MİK değeri belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre en iyi etki, maserasyon yöntemi ile elde edilen etilasetat ekstraktında Gram negatif bakteriler için gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Çalışma bulguları, *Heracleum humile* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin bulunduğunu ve DNA koruma aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, daha ileri biyolojik aktivite testleri için öncü niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: H. humile, DNA koruma, antimikrobiyal etki, maserasyon, ultrasonikasyon

Teşekkür: Çalışmayı, KÜ-BAP01/2019-20 No'lu Kastamonu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi desteklemiştir.

Sözlü Sunum

Mikroorganizmaların Aşı ve Biyobelirteç Hedefleri; Virülans Faktörleri

Sinem Öktem-Okullu[1]

[1]*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Abd, İstanbul*

sinem.oktem@acibadem.edu.tr

Giriş

İnsan vücudunda bulunan mikroorganizmaların tamamına "mikrobiyota", mikroorganizmaların genomuna "mikrobiyom" adı verilmektedir. Bakterilerin mikrobiyom analiz sonuçlarında görülen virülans genleri bakterilerin patojenik özelliklerini artıran en önemli faktörlerdir ve bu faktörler bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tanısı, tedavisi ve prognozunda yol gösterecek hedef faktörlerdir. Son yıllarda literatürde yer alan çalışmalar ile bakterilerin sahip olduğu virülans faktörlerinin sebep oldukları hastalıkların tedavisinde aşı ve tanısında biyobelirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Virülans genlerinin hastalık durumu ile ilişkili olup olmadığının anlaşılması için izolasyon sonrasında spesifik primerler ile gen bölgesi çoğaltılarak incelenebilmektedir. Çoğaltılan gen bölgesinin klonlanması ile protein düzeyinde elde edilerek konak ile etkileşime girdiği reseptörlerde tespit edilebilmektedir. İlgilenilen virülans faktörüne sahip olan ve olmayan mikroorganizmalar ile hücre kültür ortamlarında ya da hayvan deneylerinde çalışmalar yapılarak biyobelirteç ve aşı geliştirme çalışmalarıda yapılabilinmektedir.

Bulgular

Son dönemde yapılan literatür çalışmaları mikroorganizmaların virülans faktörlerini kimlikleri gibi kullanılıp onların hakkında bilgi edinmenin oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Salgın hastalıkların tedavisi, gelişen ilaç direnci, farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini ön plana çıkarmış ve bu noktada virülans genlerinin yol gösterici olabileceğini göstermiştir. Aynı bakteri ile nfekte iki bireyde hastalığın farklı seyrinin sebeplerinden birinin bakterinin virülans geninin olabileceği düşünülmüştür. Bakterinin enfeksiyon başlatabilmesi için virülans faktörlerini ve bunların ürettiği proteinleri kullandığı gösterilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Özellikle kanser ve bulaş riski yüksek olan, tedavisi güç hastalıklar ile ilşkilendirilen, çok hızlı direnç geliştiren mikroorganizmaların virülans faktörlerinin tanımlanması ve bunların aşı ya da biyobelirteç olarak kullanılması oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: mikroorganizma, virülans genleri, aşı, biyobelirteç

Teşekkür:

Poster Sunumu

Pea3 Transkripsiyon Faktörünün Nörol Devre Oluşumundaki Rolü

Mustafa Doğukan Metiner[1], Başak Kandemir[2], Işıl Kurnaz[1,3]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü*

[2]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü*

[3]*Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı*

mdmetiner@gtu.edu.tr

Giriş

ETS(E-twenty-six) transkripsiyon faktörü ailesi üyelerinden Pea3, Erm ve ER81 proteinleri sinir sisteminde motor nöron devrelerinin oluşmasında ve akson uzanmasında rol almaktadırlar. Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda bu proteinlerin akson uzama mekanizmalarını hangi genler üzerinden kontrol ettikleri tanımlanmış olup, nöron devre oluşumundaki seçiciliğin mekanizması aydınlatılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada ise, mikroakışkan sistemi kullanılarak Pea3 fosfo-mutantlarının NSC-34 motor nöron hücrelerinde devre oluşumuna etkileri incelenmiştir. Buradaki amaç Pea3 ifade eden nöronal hücre modellerinin birbirine doğru akson uzatmalarını incelemek ve bu akson uzamasına doğrudan etkisi olan Pea3 fosforlanma motiflerini tespit etmektir.

Gereçler ve Yöntemler

NSC-34 (fare motor nöron) hücreleri DMEM High Glucose besiyerinde (%10 FBS VE %1 Penicilin Streptomycin), 37°C ve %5 CO_2 ortamında büyütüldü. Pea3-VP16/Pea3-pCDNA3, Pea3-VP16/mPea3, Pea3-VP16/mPea3 S90A-pCDNA3, mPea3/mPea3, (sol kuyucuk/sağ kuyucuk) plazmidleri ile transfekte edilen NSC-34 hücreleri karşılıklı kuyulara farklı plazmidler gelecek şekilde ekilerek akson uzatmaları incelenmiştir. 24 saat inkübasyondan sonra görüntüleme işlemleri Leica Dmi8 inverted floresans mikroskobu kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

Çalışmalarımızda, Pea3-VP16 plazmidi verilmiş hücrelerin mPea3 ile karşılaştığında karşıya göç ettikleri ve akson uzaması yaptıkları görüldü. Bunun aksine, karşısına hücre gelmeyen bölgelerde bu iki durum gözlenmedi. Karşı tarafında Pea3-S90A mutantı verilen hücre olduğu zaman Pea3-VP16 içeren hücrelerin akson uzaması diğer gruplara göre daha geç gerçekleşti ve karşıya geçen hücrelerin akson uzamaları kendi taraflarına doğru oldu. Pea3-S90A mutantı verilen hücrelerin diğerlerine kıyasla daha az ve geç uzantı oluşturduğu gözlemlendi. mPea3/mPea3 ile kurulan deney düzeneğinde karşı tarafta yoğun olan bölgelere doğru uzama gerçekleşti ve göç eden hücreler yine yoğun tarafa doğru uzama gösterdi.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada akson uzamasında görev alan Pea3'nin fosfo-mutantlarının yabani türe kıyasla nöral devre oluşturma potansiyelleri incelendi. Ayrıca, kullanılan mikroakışkan akson uzama ve nöral devre inceleme sistemi laboratuvarımızda geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pea3, Akson uzaması, Mikroakışkan, Nöral devre, NSC-34

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 1002 217Z210 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Poster Sunumu

Pea3 ve Gcm1 Transkripsiyon Faktörlerinin Oluşturduğu Gen Regülasyon Ağının İncelenmesi

Ekin Sönmez[1], Başak Kandemir[1,3], Angela Giangrande[4,5], Işıl Kurnaz[1,2]

[1]*Gebze Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

[2]*Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli*

[3]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

[4]*Institut De Génétique Et De Biologie Moléculaire Et Cellulaire, 67400 Illkirch, France*

[5]*Centre National De La Recherche Scientifique, Umr7104, 67400 Illkirch, France*

ekinsonmez@gtu.edu.tr

Giriş

Gcm transkripsiyon faktörünün hücrelerde anlatımı sağlandığından astrositik belirteçlerin arttığı, nörojenik farklılaşmanın baskılandığı ve nöroepitel hücrelerine kök hücre özellikleri kazandırdığı gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda, tavukta omurilikte bulunan sinir hücrelerinin Gcm tarafından farklılaştırıldıkları gösterilmiştir. ETS transkripsiyon faktör ailesine ait olan PEA3 süperailesi proteinleri (Pea3, Erm, Er81) sinir sistemi gelişiminde, sinir hücresi farklılaşmasında rol oynamakla beraber nörojenezde ve kök hücrelerin çoğalmasında rol oynamaktadır. Bu çalışmada sinir hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasında PEA3 ve Gcm1 transkripsiyon faktörlerinin oluşturduğu gen regülasyon ağı incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

NSC-34 fare motor nöron hücreleri *Pea3, Erm, Er81* ve *Gcm1* genlerinin aşırı anlatımı için uygun olan plazmidlerle transfekte edilmiştir. Anlatım seviyelerinin teyidi ve potansiyel hedef genlerin (*Ngn1-3, Sox1-3, Hes1, Hes5, Hes7* ve *Notch1*) ifadelerini incelemek için qPCR yöntemi uygulanmıştır. EPD (Eukaryotic Promoter Database) kullanılarak hedef genlerin promotör bölgeleri belirlenmiş ve bu bölgeler PEA3 süperailesi üyelerinin veya Gcm1 transkripsiyon faktörünün bağlanma potansiyelleri açısından analiz edilmiştir. Daha önce laboratuvarımız tarafından yapılmış olan *Pea3, Erm* ve *Er81* genlerinin SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde aşırı anlatıldığı mikrodizin çalışmasındaki sonuçlar elde edilen qPCR sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Daha sonra genlerin ifade değişimleri ve bağlanma bölgeleri göz önünde bulundurularak, sinir hücrelerinde çoğalma ve farklılaşma esnasındaki PEA3 ailesi üyeleri ve Gcm1 arasında oluşan olası protein- protein etkileşim haritası Cytoscape ile oluşturulmuştur.

Bulgular

Pea3, Erm, Er81 ve *Gcm1* genlerinin aşırı anlatımı sağlanan NSC-34 hücrelerinde hedef genlerinin anlatımında anlamlı değişim olduğu gözlemlenmiştir. Gcm1'in potansiyel Pea3 hedefleri arasında olduğu gösterilmiş olan ve *Pea3, Erm* ve *Er81* genlerinin SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde aşırı anlatıldığı bir mikrodizin çalışmasındaki sonuçlarda ise hedef genlerinin anlatımının anlamlı değişmediği görülmüştür. SH- SY5Y ve NSC-34 hücrelerinden elde edilmiş sonuçların karşılaştırılması ve promotör analizleri sonuçlarına göre oluşturulmuş olan potensiyel protein-protein etkileşim haritası, hücre çoğalması ve farklılaşmasında PEA3 ve Gcm1 transkripsiyon faktörleri arasında gen regülasyon ağının var olduğu gösterilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Genlerin farklı ifadelerinin olması PEA3 ve Gcm1 transkipsiyon faktörlerinin hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında oluşturabileceği gen regulasyon ağından kaynaklanıyor olabilir. Bu ağın incelenmesi nörorejenerasyon çalışmalarında önemli olacaktır.

Anahtar Kelimeler: nörorejenerasyon, transkripsiyon faktörü, gen regülasyon ağı

Npas2 ve *Per2* İfadelenmelerinin Doksorubisin Dirençli ve Parental Mcf-7 Hücre Hatlarında İncelenmesi

Canan Bayraktar[1], Mehmet Alp Güner[1], Erkan Ermiş[2], Erkan Yurtcu[2], Özlem Darcansoy İşeri[1]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

[2]*Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

oiseri@gmail.com

Giriş

NPAS2 (Neuronal PAS domain protein 2) sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde önemli rolü olan bir transkripsiyon faktörüdür. PER2 (Period Circadian Regulator 2) sirkadiyen saati koordine eden geri besleme döngülerinde rol alan proteinlerdendir. Farklı kanser tiplerinde yapılan çalışmalar, sirkadiyen ritim genlerinde meydana gelen ifadelenme düzeyindeki veya yapısal değişiklikleri kanser hücre proliferasyonu ve apoptoz ile ilişkilendirmiştir. Kemoterapiye karşı gelişen çoklu ilaç dirençliliği birden fazla yolak üzerinden gelişen ve hücrelerde global fenotipik değişikliklerin olduğu bir durumdur. Bu çalışmada, doksorubisin dirençli ve parental duyarlı MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında *NPAS2* ve *PER2* genlerinin ifadelenmesi değerlendirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, meme adenokarsinomu MCF-7 hücreleri ile bu hücrelerin daha önce ekibimizce geliştirilen 160 dirençlilik endeksine sahip, 1000 nM doksorubisine dirençli alt hücre hattı (MCF-7/DOX) kullanıldı. Hücrelerin sirkadiyen ritim açısından senkronizasyonunun sağlanması için serum şoklama optimize edildi ve senkronizasyon belirteci olarak *p21* gen ifadelenmesi değerlendirildi. Hücreler, içerisinde fötal dana serumu bulunmayan bazal besiyeri ile 18 saat ve ardından %50 FBS ile muamele edildi. Hücreler 2 saatlik serum şokunun ardından kaldırıldı ve kaldırılma anı 0. saat olarak kabul edildi. Daha sonraki 4., 8., 20. ve 24. saatlerde hücrelerden RNA izole edildi. cDNA sentezinin ardından *NPAS2* ve *PER2* genlerinin ifadelenmesi yarı kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) ile analiz edildi. Referans gen olarak *TBP* (TATA-binding protein) geni kullanıldı. qPCR sonuçları, $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre değerlendirildi.

Bulgular

Parental MCF-7 ile karşılaştırıldığında; dirençli hücrelerde *NPAS2* ifadelenmesinin 4 kat arttığı, *PER2* ifadelenmesinin ise 320 kat azaldığı bulunmuştur. Serum şoklama sonucunda hücre hatlarında *NPAS2* gen ifadelenmesi senkronize edilmeyen hücrelere göre azalırken PER2 ifadelenmesi artmıştır. *NPAS2* ve *PER2* ifadelenmelerinin 24 saatlik periyottaki değişimlerinin değerlendirilmesi için 4., 8., 20. ve 24. saatlerde hücrelerdeki ifadelenme düzeyleri 0. saat referans alınarak analiz edilmiştir. MCF-7 hücrelerinde, *NPAS2* ifadelenmesi tüm saatlerde artmıştır. MCF-7/DOX hücrelerinde 4., 8. ve 20. saatlerde *NPAS2* ifadelenmesi azalırken, 24. saatte önemli düzeyde artmıştır. *PER2* ifadelenmesi 4., 8. ve 20. saatlerde azalırken, 24. saatte artmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Doksorubisine dirençli hücrelerde sitotoksik etkinin bertaraf edilmesi birden fazla yolak üzerinden gelişen bir durumdur. *PER2* ifadelenmesindeki azalmanın ve *NPAS2* artışının bu hücrelerde sağkalım mekanizmalarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sirkadiyen ritim, PER2, NPAS2, doksorubisin direnci, MCF-7

Teşekkür: Bu çalışma, 1919B011800565 no'lu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Poster Sunumu

İkincil Yapılar Oluşturma Özelliği Yüksek *H.pylori* Oipa Virülans Geninin Ligasyondan Bağımsız Klonlama Yöntemiyle Klonlanması

Elif Kılıç[1], Nesteren Mansur-özen[1], Sümeyye Akçelik[1], Sinem Öktem-Okullu[2]

[1]*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoteknoloji Lisansüstü Programı, İstanbul*

[2]*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

elif.klc.47@gmail.com

Giriş

Virülans genleri bakterilerin patojenik özelliklerini artıran, bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tanısı, tedavisi ve prognozunda yol gösterecek hedef faktörlerdir *H.pylori*'nin virülans faktörleri bakterinin mide epitel yüzeyine tutunup kolonize olması ve devamında enfeksiyon oluşturması için oldukça önemlidir. *H.pylori* dış zar inflamatuar protein A (OipA) mide epitel hüclerine tutunmada rol alır. OipA'nın görevleri tanımlanmış olsa da henüz literatürde 3 boyutlu yapısı ve ilişki mekanizmaları ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Çalışmanın hedefi *oipA* virülans geni ile ilgili bilinmezliklerin ortadan kaldırılabilmesi için OipA'nın rekombinant olarak üretilmesi ile başlayıp protein düzeyinde *in vivo* ve *in vitro* analizlerin yapılmasıdır.

Gereçler ve Yöntemler

oipA virülans gen dizisinin ikincil yapı oluşturma eğilimi bilgisayar simülasyon yöntemleri kullanılarak hesaplanmıştır. oipA geni, bu geni içerdiği bilinen *H. pylori* G27 referans suşunda konvansiyonel PZT yöntemi ile gene özel dizayn edilen primerler ile çoğaltılmıştır. Dizileme analizleri ile doğrulanan PZT ürünü ligasyondan bağımsız klonlama (LBK) yöntemi kullanılarak klonlanmıştır. Klonlama öncesinde insert eldesi için farklı PZT yöntemleri denenmiştir. Klonlama sürecinde İnsert-vektör molar oranı, T4 DNA polimeraz çalışma sıcaklığı ve süresi ile bağlanma deneylerinin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. T4 DNA polimeraz'ın farklı çalışma sıcaklıkları kademeli olarak süre ile birlikte artırılarak denenmiştir.

Bulgular

Optimizasyon çalışmalarına rağmen *oipA* geninin LBK yöntemi ile klonlanamaması ile dizi bilgisayar simülasyon yöntemleri ile incelenmiş ve kendi üzerine katlanarak ikincil yapılar oluşturduğu, bununda T4 DNA polimerazın çalışmasını kısıtlayan bir faktör olduğu belirlenmiştir. LBK yöntemindeki T4 DNA polimerazın çalışma koşullarında kullanılan ve literatürde önerilen optimal sıcaklık değeri 25 °'C 'den 50 ˚C'ye yükseltilmiş ve reaksiyon süresi 15 dk dan 30 sn'ye indirilmiştir. Optimizasyon çalışmaları sonucunda oipA virülans geninin klonlanması için optimal koşullar elde edilmiştir. Klonlanan gen evrensel primerler kullanılarak çoğaltılıp dizi analizi ile doğrulanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Literatürden farklı olarak *oipA* 'nın klonlanması için LBK yöntemi kullanılmış, T4 DNA polimerazın çalışma koşulu 25˚C 15 dk dan 50˚C 30 sn'ye değiştirilerek ikincil yapı oluşturma eğilimi yüksek olan bir dış zar proteininin klonlanması başarılmıştır.

Anahtar Kelimeler: H. pylori, OipA, DNA ikincil yapı, klonlama, virülans faktör, LBK

Teşekkür: TUBİTAK 3501 kariyer Destekleme projesi-SBAG 217S384 ve ACU Ar-Ge Laboratuvarı

Meme Kanseri Hücre Hatlarında Egfr Gen Ekspresyonunun Plazmid-bazlı Mikrorna-7/kitozan Kompleksleri ile Baskılanması

Pelin Bulut[1]

[1]*Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

pelingmsz@gmail.com

Giriş

mikroRNAlar, protein kodlamayan RNA molekülleri olup, gen ekspresyonunu kontrol eden RNA regülatörleri olarak tanımlanırlar. Çok sayıda miRNA'nın etkinlik gösterdiği meme kanserinde, miR-7 ailesi tümör supresör etkinliğe sahip önemli bir gruptur. Ancak miRNA'ların hücreler tarafından alımlarının zor olmasından dolayı hücrelere uygun bir taşıyıcı sistemle taşınmaları tedavi açısından önemlidir. Bu çalışmadaki amaç, doğal katyonik yapıda bir biyopolimer olan ve yapılan çeşitli çalışmalarda gen taşıyıcı sistem olarak başarılı sonuçlar elde edilen kitozan kullanılarak hazırlanan plazmid-bazlı miRNA-7/kitozan komplekslerinin in vitro ortamda meme kanseri hücre hatlarında EGFR gen ekspresyonunun baskılanmasına ilişkin etkisini araştırmaktır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda prokaryotik organizmalarda (E.coli) amplifiye olabilen ve ökaryotik hücrelerde eksprese olabilen plazmid bazlı hsa-miR- 7 vektörü kullanıldı. Stoğa alınmış pDNA içeren uygun bir E. coli suşundan plazmid DNA izolasyonu gerçekleştirildi ve sonrasında spektrofotometrik ve elektroforetik kontroller yapıldı. Farklı formülasyonlarda (w/w) (0.5/1, 1/1, 2/1, 5/1) plazmid-bazlı miRNA-7/kitozan kompleksleri hazırlanarak, in vitro ortamda partikül boyutu, zeta potansiyeli, TEM çalışması, serum stabilitesinin incelenmesi gibi çeşitli karakterizasyonları yapıldı. Meme kanseri hücre hatlarında her hücre ve her miRNA-7 için uygun doz, Relatif Kantitatif Real Time PCR yöntemi kullanılarak belirlendi. Belirlenen uygun dozlarla kitozan/miRNA-7 komplekslerinin meme kanseri hücre hatlarına transfeksiyonu sonrası hücrelerdeki EGFR miktarları ELISA ile ölçülerek invazyon, apoptoz ve hücre proliferasyon testleri yapıldı.

Bulgular

miRNA-7'nin çeşitli oranlardaki kitozan solüsyonlarıyla, farklı formülasyonlarda tam kompleks oluşumu sağlandı. Komplekslerin in vitro transfeksiyonu ile epidermal büyüme faktörü (EGFR) gen ekspresyonu, anjiyogenez ve invazyonun baskılandığı saptandı.

Sonuç ve Tartışma

miRNA-7/kitozan kompleksleriyle hücreye internalize olarak kanser hücrelerinde bozulan miRNA regülasyonu tedavisiyle kanser hücrelerinin invazivliğinin azaldığı, kitozan komplekslerinin miRNA için güvenilir bir taşıyıcı sistem olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: plazmid DNA, miRNA-7, kitozan, meme kanseri, miRNA taşıyıcı sistem

Teşekkür: Değerli hocalarım Prof. Dr. Jülide AKBUĞA ile Doç. Dr. Suna ÖZBAŞ TURAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Poster Sunumu

Yeni Sentezlenmiş Benzimidazol Türevlerinin Akciğer Kanseri Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması

Mustafa Uçkun[1], Elif Apohan[2], Hasan Küçükbay[3]

[1] *İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilimdalı, Malatya*

[2] *Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Malatya*

[3] *İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Malatya*

elif.apohan@ozal.edu.tr

Giriş

Tüm dünyada her geçen gün artan hasta sayısıyla kanser önemli bir halk sağlığı sorunu olarak birinci sırayı almıştır. Tüm kanser çeşitleri içerisinde erkeklerde akciğer kanseri, kadınlarda ise meme kanseri başı çekmektedir. Her geçen gün daha da yaygınlaşan kanserle mücadele edebilmek için kanser hücrelerini seçen yeni kimyasal ajanların keşfi önem kazanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, sentezlenen on yeni benzimidazol türevi bileşiğin, akciğer kanser hücreleri (A549) ve sağlıklı akciğer epitel hücreleri (BEAS2B) üzerine sitotoksik aktiviteleri, MTT analiz yöntemi ve kaspaz 3 aktivitesine bakılarak incelenmiştir. Kontrol için kanser ilacı olarak kullanılan cisplatinle karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Çalışmada kullanılan bileşiklerden dört tanesi (2c, 3a, 3b ve 5) A549 hücrelerine karşı daha yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir. Cisplatinin IC50 değeri, 72. saatte A549 hücreleri için 6.75 µg/mL iken, bileşik 2c, 3a, 3b ve 5'in IC50 değerleri sırasıyla 24.35, 28.49, 38.51 ve 60.70 µg/mL olarak hesaplanmıştır. BEAS2B hücreleri için bu bileşiklerin IC50 değerleri A549 için IC50 değerlerinden daha yüksektir. BEAS2B hücreleri için IC50 değerleri sırasıyla 87.63, 49.32, 57.89 ve 68,53 µg/mL iken, cisplatinin IC50 değeri 2.75 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Çalışmadaki dört bileşiğin yapılan analiz sonucuna göre hücrelerdeki Kaspaz 3 aktivitesini artırdığı belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu dört yeni bileşiğin sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu yeni benzimidazol türevi bileşikler üzerine detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, Benzimidazol, Kaspaz 3 aktivitesi, Sitotoksik etki

Teşekkür: Çalışmayı 2019/1596 no'lu proje ile destekleyen İnönü Üniversitesi BAP Birimine teşekkür ederiz.

Ekzopolisakkaritlerin Alzheimer Hastalığı Modelinde Apoptoz Üzerine Etkisinin Flow Sitometre ile Belirlenmesi

Seda Şirin[1], Belma Aslım[1]

[1]*Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye*

sdasirin@hotmail.com

Giriş

Alzheimer hastalığı (AH), bilişsel, davranışsal ve motor fonksiyonlarda azalma, kişilikte bozukluk, çeşitli nöropsikiyatrik kronik bir hastalıktır. Son yıllarda Alzheimer tipi nörodejenerasyona, beyindeki apoptoz sinyal yolağında meydana gelen bozulmaların neden olduğu görüşü öne çıkmaktadır. Apoptozu baskılayan ilaçlar bilişsel fonksiyonlarda ve Alzheimer tipi nörodejenerasyonda koruyucu ya da iyileştirici olarak oldukça umut vaadeden yeni tedavi yaklaşımları gibi görülmektedir. Bu çalışmanın amacı amiloid beta 1-42 ($A\beta_{1-42}$) ile SHSY-5Y nöroblastoma hücrelerinde oluşturulan AH modelinde probiyotik kaynaklı ekzopolisakkarit (EPS)'lerin apoptoz üzerine etkisinin flow sitometre ile belirlenmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, probiyotik suşlardan (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 ve *Lactobacillus plantarum* GD2) elde edilen EPS'ler kullanılmıştır. Suşların EPS üretim kapasiteleri fenol sülfirik asit yöntemine göre spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir. EPS'ler farklı süre ve konsantrasyonlarda SHSY-5Y hücrelerine uygulanmış, sitotoksik etki MTT yöntemi ile mikroplaka okuyucuda tespit edilmiştir. $A\beta_{1-42}$ ile oluşturulan toksisite AH için geçerli *in vitro* nöral dejenerasyon modellerinden biridir. $A\beta_{1-42}$ ile oluşturulan AH modelinde EPS'lerin apoptoz üzerine etkisi Annexin V-FITC ve PI, mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etkisi ise JC-1 ile ACEA NovoCyte flow sitometrede belirlenmiştir.

Bulgular

Çalışmada kullandığımız bütün suşların yüksek miktarda EPS ürettiği belirlenmiştir. Tüm suşların EPS'lerinin çok düşük oranda sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. $A\beta_{1-42}$'nin canlı hücre yüzdesini kontrol grubuna göre azalttığı ve erken apoptoz (EA), geç apoptoz (GA) ve nekroz (N) safhasındaki hücre yüzdesini kontrol grubuna göre arttırdığı, EPS'lerin ise canlı hücre yüzdesini arttırdığı ve EA, GA ve N safhasındaki hücre yüzdesini azalttığı tespit edilmiştir. $A\beta_{1-42}$'nin hasarlı mitokondri yüzdesini kontrol grubuna göre arttırdığı ve hasarsız mitokondri yüzdesini kontrol grubuna göre azalttığı, EPS'lerin ise hasarlı mitokondri yüzdesini azalttığı ve hasarsız mitokondri yüzdesini arttırdığı tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

AH'nda meydana gelen bellek bozukluğunun düzeltilmesi amacıyla yapılan çalışmalar arasında hastaların beyinlerinde oluşan patolojilerin EPS'ler ile önlenmesi ve/veya yavaşlatılması olasılığı alanda önemli bir ilerleme olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Amiloid beta 1-42, ekzopolisakkarit, SH-SY5Y insan nöroblastoma hücreleri.

Teşekkür: Gazi Üniversitesi BAP Birimi tarafından 05/2018-19 kodlu proje ile desteklenmiştir.