

BİLDİRİLER KİTABI

TÜBİTAK BİDEB 2223-B kapsamında desteklenmiştir.

SPONSORLAR

BİLDİRİLER KİTABI

www.biyoteknoloji.org.tr

www.biyoteknolojikongre.com

İÇİNDEKİLER

Bilimsel Program……V

Onur Kurulu……..…XI

Düzenleme Kurulu……XI

Bilim Kurulu……XII

Davetli Konuşmacı Bildirileri…….1

Biyomühendislik Sözlü Sunumlar……..5

Biyomühendislik Poster Sunumları ……14

Endüstriyel Biyoteknoloji Sözlü Sunumlar…….....19

Endüstriyel Biyoteknoloji Poster Sunumları…….....31

Gıda Biyoteknolojisi Sözlü Sunumlar……..41

Gıda Biyoteknolojisi Poster Sunumları……...56

Tarımsal Biyoteknoloji Sözlü Sunumlar…….61

Tarımsal Biyoteknoloji Poster Sunumları……...74

Tıbbi Biyoteknoloji Sözlü Sunumlar ……...83

Tıbbi Biyoteknoloji Poster Sunumları ……96

BİLİMSEL PROGRAM

20 EKİM 2023 CUMA (BİRİNCİ GÜN)

Cumhuriyet'in 100. Yılında Biyoteknoloji Derneği Paneli

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Ahmet Çabuk

- Prof. Dr. Hüseyin Avni Öktem
- Prof. Dr. Haluk Hamamcı
- Prof. Dr. Füsun Eyidoğan

DAVETLİ KONUŞMACI

- **Prof. Dr. Tibor A. Rauch**

  "Biotechnology Meets Glioblastoma Multiforme: Novel Therapeutic Strategies"

SÖZLÜ SUNUM I. OTURUM

Endüstriyel Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Ali Osman Beldüz

- *Jiangella aurantiaca'ya* Ait Peroksidaz (DyP) Enkapsülin Sisteminin Karakterizasyonu
  - *Ali Osman Beldüz*
- Anaerobik Çürütücüde Lignin Parçalayan Anaerobik Mikrobiyal Konsorsiyumun Biyo-değerlendirilmesi
  - *İbrahim Cem Özsefil*
- Probiyotik Preparat Geliştirilmesi için Endüstriyel Strain Eldesi ve Prototip Üretimi
  - *Serhat Özdemir*
- Keratinaz Üretimi ve Karakterizasyonu: Doğal İzolat *Bacillus proteolyticus*
  - *Aboubacar Sıdiki Dansako*
- Bitkisel Ekstre Yüklü Lipozomal Salım Sistemi ve Yara İyileştirmeye Yönelik Biyolojik Aktiviteleri
  - *Özlem Erdal Altıntaş*

Gıda Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Remziye Yılmaz

- Üniversite-Sanayi İş birliği Çerçevesinde Probiyotik Kültür İçeren Kapsül Üretimi
  - *Yekta Göksungur*
- Et Türlerinin Belirlenmesi İçin İlmiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma (LAMP) Temelli Tespit Yöntemi Geliştirilmesi
  - *Dilara Özden*
- *S. cerevisiae* ve *S. boulardii* Kullanılarak Elde Edilen Soya Takviyeli Fermente Ürünlerde Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi
  - *Beyza Sayman*
- *Clostridium sporogenes*'in Otolizinden Sorumlu *Sleb* Geninin *Escherichia coli*'de Rekombinant İfade Edilmesi
  - *Dicle Dilara Akpınar*
- Genetik Modifiye Mon810 Mısır Ununun Birincil Metabolit Profilinin Belirlenmesi
  - *Begüm Zeynep Hançerlioğulları*

21 EKİM 2023 CUMARTESİ (İKİNCİ GÜN)

PANEL– Cumhuriyet'in 100. Yılında Türkiye'de Biyoteknoloji Paneli

Moderatör: Prof. Dr. Hakan Yardımcı

- Konuşmacı: Filiz Alemdar, Pakmaya Fermentasyon Sektöründe 50 yıl
- Konuşmacı: Doç. Dr. Tijen Talas Oğraş, Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Çalışmalarında Hayata Dokunan Uygulamalar
- Konuşmacı: Ramazan Bülbül-Türkiye'de Biyogüvenlik Düzenlemeleri
- Konuşmacı: Emrah İnce (TTGV İklim Teknolojileri Elçisi)- Türkiye ve Tarımda Biyoteknoloji Serüveni

DAVETLİ KONUŞMACI

- **Prof. Dr. Gerardo Corzo**

*"*Heterologous Expression of Animal Neurotoxins as Immunogens for Producing Antivenoms: Pros and Cons*"*

WORKSHOP

Fermantasyon ve Biyoproses Geliştirme (BİLİMLAB)

SÖZLÜ SUNUM II. OTURUM

Tıbbi Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Erkan Yurtcu

- Kolorektal Kanserli Hastalarda Kemoterapinin Fekal Mikrobiyota Üzerine Etkisinin Metagenomik Analizi
  - *Sedef Hande Aktaş*
- P-glikoproteinini Hedefleyen Yeni Tasarlanmış Modülatör Öncüllerinin Sitotoksik ve Hücre İçi Doksorubisin Birikimine Etkileri
  - *Öykü Irmak Dikkatli*
- *Eupatorium cannabinum* (L.) Ekstraktlarının Antikanser Aktivitelerinin Araştırılması
  - *Kübra Seyhan*
- *Hypericum salsolifolium* Ekstraktlarının Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkinliği
  - *Gamze Akıllı*
- Reserpine: Kolon Kanserlerin Tedavisinde Yeni Bir Umut Işığı Olabilir mi?
  - *Cevriye Yıldırım*

Biyomühendislik

Oturum Başkanı: Dr. Serap Gedikli

- Kombucha Anasından (SCOBY) Nanoseluloz Eldesi ve Bakteri Tutma Kapasitesinin Araştırılması
  - *Özge Kahraman Ilıkkan*
- Halofil Mikroorganizmaların Tuz Adaptasyon Stratejilerinde Ecta'nın Rolünün Araştırılması
  - *Benay Çolak*
- Halofillerden Ekstrasellüler Veziküllerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu
  - *Dilan Barut*
- Hidrojel Bazlı Biyomürekkep Kullanılarak *İn-vitro* Damar Modellerinin 3D Koaksiyel Biyobaskısı
  - *Bilge Toraman*

Endüstriyel Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Pınar Aytar Çelik

- Halofilik Mikroorganizmalardan Biyoplastik Eldesi ve Gıda Filminde Kullanılabilirliği
  - *Gonca Gülfem Turan*
- Gıda Endüstrisi Atık Suyunun Genotoksisitesinin Belirlenmesi
  - *Ferhan Korkmaz*
- *Tenebrio molitor*'un Büyüme ve Gelişimindeki Besin Etkisi ile Bağırsak Mikrobiyota İlişkisinin Kültüre Bağlı Analizi
  - *Ebru Ceren Fidan*
- Tunrs İki Bileşenli Sistemin Streptomyces clavuligerus'ta Sefamisinc ve Klavulanik Asit Üretimi Üzerindeki Düzenleyici Etkisi
  - *Çiğdem Otur*
- Yüksek Verimde Polihidroksibütirat Üreticisi *Halomonas halmophila* 18H Suşunun Tüm Genom Analizi
  - *Kübra Erdoğan-Göver*

SÖZLÜ SUNUMLAR III. OTURUM

Tıbbi Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Arzu Çöleri Cihan

- *Diplotaxis tenuifolia* Ekstraktlarının Antimikrobiyal, Antibiyofilm ve Anti-Quorum Sensing Aktivitelerinin Araştırılması
  - *Enis Fuat Tüfekçi*
- Farklı Yüzeyler, Tek Çözüm: Argon Jet Plazmasının Antibiyofilm Etkinliğinin Araştırılması
  - *Ethem Serhat Yavaş*
- *Vipera ammodytes* Alt Türü Yılan Zehirlerine Karşı At Kaynaklı Antivenomunun Çapraz Nötralizasyon Kapasitesinin Belirlenmesi
  - *Figen Çalışkan*
- Türk Fındık Çeşitlerinde Antikanser Taksanların Biyoteknolojik Üretimi İçin Optimize Edilmiş Model Hücre Kültür Sistemi
  - *Ahmet Doğan*
- *Hsa-mir-144-3p/hsa-mir-30d-5p*: Ortak Dmxl2 Üzerinden, Diyabet ve Eşlik Eden Nöropati İçin Biyobelirteç Paneli Olabilir mi?
  - *Pelin Kılıç*

Gıda Biyoteknolojisi

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Yekta Göksungur

- Mikroalg ve Probiyotik Katkılı Yenilebilir Fonksiyonel Kaplamanın Depolama Sırasında Çilek Kalitesi Üzerindeki Etkisi
  - *Elif Şeyma Bağdat*
- Fermente Gıda Ürünlerinden İzole Edilen Probiyotik Bakterilerin Ekstrüzyon Yöntemi ile Mikroenkapsülasyonu
  - *Benay Çolak*
- *Bacillus coagulans* Üreme Kinetiğinin Farklı Besiyerlerinde İncelenmesi
  - *Eylem Ece Ayyıldız*
- Hurda İncirden *Gluconacetobacter xylinus* ile Mikrobiyal Selüloz Üretimi
  - *Merve Yılmaz*
- Laktik Asit Bakterileri Kullanılarak Elma Posasından Mannitol Üretimi
  - *Furkan Demirgül*

Tarımsal Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Dr. Tamay Şeker

- *Arabidopsis thalliana*'da Sıcalık Hafızasında Isı Şoku Proteinlerinde Spermidinin H3k27me3'ün Demetilasyonu Üzerindeki Rolü
    - *Dilek Ünal*
- Şeker Pancarı Genomunda *BHLH* Gen Ailesinin Belirlenmesi ve Biyoinformatik Analizler
    - *Pınar Baloğlu*
- Yerel Entomopatojen Fungusların Kırmızı Tavuk Akarının Biyolojik Mücadelesinde Kullanılma Potansiyellerinin Araştırılması
    - *İsmail Demir*
- Türk Fındık (*Corylus avellana* L.) Çeşitlerinin Hızlı Üretimi İçin Geliştirilmiş Mikropropagasyon Yöntemi
    - *Baki Yaman*
- Vernalizasyon Modellerine Göre Kolza (*Brassica napus*) Tohumlarının Yağ Kompozisyonu Değişiminin Moleküler Düzeyde İncelenmesi
    - *İrem Çağlı*

PANEL- Tarımda CRISPR Uygulamaları Paneli

Moderatör: Ramazan Bülbül, Tarım ve Orman Bakanlığı, TAGEM, Hayvan Sağlığı, Gıda ve Yem Araştırmaları Daire Başkanı

- Konuşmacı: Dr. Hümeyra Yaman, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürü
- Konuşmacı: Doç. Dr. Musa Kavas, Bahçe Bitkilerinde CRISPR Genom Düzenleme Uygulamaları (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Öğretim Üyesi)
- Konuşmacı: Doç. Dr. Kubilay Yıldırım, Tarla Bitkilerinde CRISPR Genom Düzenleme Uygulamaları (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğretim Üyesi)
- Konuşmacı: Prof. Dr. M. Cengiz Baloğlu (Kastamonu Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Öğretim Üyesi)
- Konuşmacı: Doç. Dr. Ceyhun Kayıhan (Başkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğretim Üyesi)

22 EKİM 2023 PAZAR (ÜÇÜNCÜ GÜN)

PANEL- Biyoteknoloji'de Biyogirişimcilik Paneli

Moderatör: Öğr. Gör. Arzu Fırlarer (ICCD Türkiye Yönetim Kurulu Üyesi)

- Konuşmacı: Dr. Cangül TOSUN, Hamle programı ile Akıllı Yaşam ve Sağlık Ürün ve Teknolojileri Programı
- Konuşmacı: Dr. Nur Yazgan, NFS Global
- Konuşmacı: Prof. Dr. Ahu Altınkut Uncuoğlu
- Konuşmacı: Prof. Dr. Şule Arı
- Konuşmacı: Prof. Dr. Dilek Kazan
- Konuşmacı: Dr. Öğr. Üyesi Pelin Kılıç

DAVETLİ KONUŞMACI

- **Prof. Dr. Umut Toprak** (Oxford Nanopore Technologies, Oxford / United Kingdom

"Nanopore Sequencing-Based Approaches for Oncology Diagnostics Applications"

SÖZLÜ SUNUM IV. OTURUM

Tarımsal Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. İsmail Demir

- Dünya'da ve Türkiye'de Biyogüvenlik Politikaları
  - *Selda Türkoğlu Coşkun*
- Sükroz Taşıyıcılarının Kuraklık Stresi Altındaki *Arabidopis thaliana*'nın Ros-ilişkili Redoks Düzenlenmesi Üzerindeki Rolü
  - *Aşkım Hediye Çetinel*
- Safran Yetiştiriciliğinde Korm Büyüklüğünün Verim ve Biyoaktif Bileşenlere Etkisi
  - *Gülşah Çalık Koç*
- NAC Transkripsiyon Faktör Ailesi Üyelerinin Şeker Pancarı (*Beta vulgaris*) Genomunda Biyoinformatik Araçlarla Karakterizasyonu
  - *Ferhat Ulu*

Gıda Biyoteknolojisi

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Ömer Şimşek

- Peynirden İzole Edilen İki Laktik Asit Bakterisinin Vitek Ms MALDI-TOF ve Tüm Genom Sekanslama ile Analizi
  - *Özge Kahraman Ilıkkan*
- *Saccharomyces cerevisiae* Suşlarının *Adh2* ve *Adh5* Gen İfade Profili ve Teknolojik Özellikleri
  - *Elif Bircan Muyanlı*
- Gıda Ürünlerinde Likopen ve Pektin Etkileşimleri
  - *Alev Emine İnce*
- Hücre İçi Giriş Peptidi ile CRISPR/Cas9 Vektörünün *N. benthamiana* Yapraklarına Transfeksiyonu ve *GSH2* Geninin Editlenmesi
  - *Oğuzhan Yaprak*

PANEL- Biyopolimer Paneli

Moderatör: Prof. Dr. Hatice Korkmaz Güvenmez

- Konuşmacı: Prof. Dr. Dilek Kazan
- Konuşmacı: Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş
- Konuşmacı: Gökhan Aygün (Sunar Mısır)-Biyoplastik Endüstrisinde Hammaddeler, Üretim, Pazar ve Trendler
- Konuşmacı: Berna Oruç- Kordsa

SÖZLÜ SUNUMLAR V. OTURUM

Biyomühendislik

Oturum Başkanı: Dr. Ferhan Korkmaz

- *Escherichia coli* Rekombinant Ekspresyon Sisteminde Peynir Altı Suyunun İndükleyici Olarak Değerlendirilmesi
    - *Seyhan İçier*
- Keratin, Pektin ve Aljinat İçeren Hidrojellerinin Üretimi ve Karakterizasyonu
    - *Özge Erdemli*
- Yara Durumunun İzlenmesi ve Kontrollü İlaç Salımı İçin pH Duyarlı Aljinat/Jelatin Bazlı Kompozit Yara Örtüsü Geliştirilmesi
    - *Ayşenur Acuner*
- Meme Kanseri Teşhisinde MR Destekli Uygulamalar İçin Mangan Ferrit Nanotaşıyıcıların Geliştirilmesi
    - *Sıla Nur Öz*

Tıbbi Biyoteknoloji

Oturum Başkanı: Prof. Dr. Özlem Darcansoy İşeri

- Theranostics-Enabling High-Tech Centers: The Value of Centralizing Resources in Countries in Development
    - *Pascal Kahlem*
- Karakılçık Buğdayına Farklı Koşul ve Konsantrasyonlarda Uygulanan Tuz Stresinin Oluşturduğu Tepkiler
    - *Alperen Doğan*
- Labetalolün Doksorubisin Duyarlı ve Dirençli MCF-7 Meme Kanseri Hücreleri Üzerindeki Etkileri
    - *Gökçe Nur Çitler*
- Şeker Pancarında AP2/ERF Transkripsiyon Faktörü Ailesinin Karakterizasyonu
    - *Necdet Mehmet Ünel*

ONUR KURULU

Prof. Dr. Mehmet HABERAL

Prof. Dr. İ. Haldun MÜDERRİSOĞLU

Prof. Dr. Hüseyin Avni ÖKTEM

DÜZENLEME KURULU BAŞKANI

Prof. Dr. Füsun EYİDOĞAN	Başkent Üniversitesi

DÜZENLEME KURULU ÜYELERİ

Prof. Dr. Ahmet ÇABUK	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Prof. Dr. Remziye YILMAZ	Hacettepe Üniversitesi
Prof. Dr. Özlem DARCANSOY İŞERİ	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU	Kastamonu Üniversitesi
Prof. Dr. Pınar AYTAR ÇELİK	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Dr. Serap GEDİKLİ	Microbiota Biyoteknoloji San. ve Tic. AŞ.
Araş. Gör. Dr. Belma NURAL YAMAN	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Dr. Öğr. Üyesi Aliye Ezgi GÜLEÇ	Başkent Üniversitesi
Öğr. Gör. Dr. F. Şeyma GÖKDEMİR	Başkent Üniversitesi
Araş. Gör. Dilara ÖZDEN	Başkent Üniversitesi
Araş. Gör. Halis Batuhan ÜNAL	Başkent Üniversitesi
Araş. Gör. Berfin Doğa KOÇKAYA	Başkent Üniversitesi

BİLİM KURULU

Prof. Dr. Agostinho ANTUNES
Prof. Dr. Ahmet ÇABUK
Prof. Dr. Ahu ALTUNKUT UNCUOĞLU
Prof. Dr. Arzu ÇÖLERİ CİHAN
Prof. Dr. Aykut ÖZKUL
Prof. Dr. Aysel UĞUR
Prof. Dr. Bülent İÇGEN
Prof. Dr. Cengizhan ÖZTÜRK
Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ
Prof. Dr. Damla ARİSAN
Prof. Dr. Demet CANSARAN DUMAN
Prof. Dr. Dilek KAZAN
Prof. Dr. Ebru TOKSOY ÖNER
Prof. Dr. Ekrem GÜREL
Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ
Prof. Dr. Erkan YURTÇU
Prof. Dr. Ertan ANLI
Prof. Dr. Fatih DEMİRCİ
Prof. Dr. Fazilet VARDAR SÜKAN
Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN
Prof. Dr. Füsun EYİDOĞAN
Prof. Dr. Gamze TORUN KÖSE
Prof. Dr. Gerardo CORZO
Prof. Dr. Gökalp İŞCAN
Prof. Dr. Gülay ÖZCENGİZ
Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI
Prof. Dr. Haluk HAMAMCI
Prof. Dr. Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ
Prof. Dr. Hilal ÖZDAĞ
Prof. Dr. Hüseyin Avni ÖKTEM
Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
Prof. Dr. Işıl KURNAZ
Prof. Dr. İhsan GÜRSEL
Prof. Dr. İsmail DEMİR
Prof. Dr. İsmail KARABOZ
Prof. Dr. İsmail TÜRKAN
Prof. Dr. Kıymet GÜVEN
Prof. Dr. Mehmet AKAN
Prof. Dr. Mehmet Burçin MUTLU
Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU
Prof. Dr. Melek ÖZKAN
Prof. Dr. Meral YÜCEL
Prof. Dr. Mithat BOZDAYI
Prof. Dr. Muralee NAIR
Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK
Prof. Dr. Necdet SAĞLAM
Prof. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN
Prof. Dr. Nezih HEKİM
Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ
Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL
Prof. Dr. Ömer ŞİMŞEK
Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA
Prof. Dr. Özlem DARCANSOY İŞERİ
Prof. Dr. Remziye YILMAZ
Prof. Dr. Robert Bradley DAY
Prof. Dr. Sedef TUNCA GEDİK
Prof. Dr. Semra İLHAN
Prof. Dr. Semra MİRİCİ
Prof. Dr. Sezen ARAT
Prof. Dr. Sümer ARAS
Prof. Dr. Şebnem HARSA
Prof. Dr. Şule ARI
Prof. Dr. Ufuk BAKIR
Prof. Dr. Vasıf Nejat HASIRCI
Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP
Prof. Dr. Yekta GÖKSUNGUR
Prof. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ
Prof. Dr. Yeşim EKİNCİ
Prof. Dr. Yeşim SOYER
Prof. Dr. Yusuf BARAN
Doç. Dr. Burak DERKUŞ
Doç. Dr. Ceyda Tuba ŞENGEL-TÜRK
Doç. Dr. Ceyhun KAYIHAN
Assoc. Prof. Dr. David MOTA-SANCHEZ
Doç. Dr. Figen ÇALIŞKAN
Doç. Dr. İlker BÜYÜK
Doç. Dr. Kubilay YILDIRIM
Doç. Dr. Muralee NAIR
Doç. Dr. Musa KAVAS
Doç. Dr. Pınar AYTAR ÇELİK
Doç. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ACAR
Dr. Öğr. Üyesi Abdullah Tahir BAYRAÇ
Dr. Öğr. Üyesi Bahar SOĞUTMAZ ÖZDEMİR
Dr. Öğr. Üyesi Barış KUTMAN
Dr. Öğr. Üyesi Başak KANDEMİR
Dr. Öğr. Üyesi Ceren BAYRAÇ
Dr. Öğr. Üyesi Emre AKSOY
Dr. Öğr. Üyesi Ferhan KORKMAZ
Dr. Öğr. Üyesi Pelin KILIÇ
Dr. Laszlo SZABADOS
Dr. Sean LAWRIE
Dr. Serap GEDİKLİ
Dr. Şeyma GÖKDEMİR
Dr. Tamay ŞEKER
Dr. Tibor Attila RAUCH
Dr. Yalın YILDIRIM

*Kurul üyeleri alfabetik sıraya göre sıralanmıştır.

DAVETLİ KONUŞMACI BİLDİRİLERİ

Biotechnology Meets Glioblastoma Multiforme: Novel Therapeutic Strategies

Prof. Dr. Tibor Atilla Rauch

Institute of Biochemistry and Medical Chemistry Medical School, University of Pécs, Hungary.

tibor.rauch@aok.pte.hu

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common primary central nervous system tumor in adults. It is also the highest grade and worst prognosis variant of all gliomas. Currently, the primary clinical treatment options for GBM include surgical resection, radiotherapy, and chemotherapy. Although intensive treatment is available, nearly all patients with GBM will experience a recurrence, and their 5-year survival rate is approximately 5%. Challenges to effective treatment of GBM include tumor heterogeneity, the blood-brain barrier and DNA damage repair mechanisms. Accordingly, new technologies and approaches are needed to more effectively treat GBM. The molecular and pathological understanding of GBM has opened up new treatment options and strategies. The practical translation of these new therapeutic options is advancing rapidly, and some are already in preclinical trials.

The blood-brain barrier (BBB) is a protective shield that safeguards the central nervous system (CNS) against blood-borne pathogens and other harmful agents. At the same time, the presence of the BBB complicates pharmacotherapy for CNS disorders because most chemical drugs and biopharmaceuticals cannot enter the brain. Extracellular vesicles are lipid membrane bilayer particles that are naturally released and carry various cargo, including RNA, DNA, and proteins. EVs are potential vehicles that can cross the BBB and deliver their therapeutic cargo to the brain.

We are developing a complex system involving EVs carrying constructs that efficiently downregulate tumor-promoting and/or upregulate anti-tumor factors in tumor cells. Efficient and selective packaging into EVs is a crucial feature of the system. We have identified sequences that are involved in efficient cargo packaging into EVs. In regard to the therapeutic cargo of EVs, we identified a novel non-coding RNA gene involved in GBM pathogenesis, the down-regulation of which may have therapeutic potential. Our current *in vitro* data demonstrate that this approach efficiently neutralizes a tumor-promoting factor in cell culture. Experiments are ongoing to demonstrate the effectiveness of the system in preclinical animal studies. Although the first steps have been taken, we still have a long way to go to make clinical application both feasible and safe.

Heterologous Expression of Animal Neurotoxins as Immunogens for Producing Antivenoms: Pros and Cons

Prof. Dr. Gerardo Corzo

Instituto De Biotecnoloıa-Unam Dpt. Medicina Molecular, Mexico.

gerardo.corzo@ibt.unam.mx

Proteins in venoms of spiders, scorpions, viperids and elapids are the subject of research in our research group; so, we first obtain their venom by "milking", electrically or manually, and subsequently, we fractionate it to know the types of proteins they are composed. Once we have elucidated a protein (peptide) of interest, our work focuses on knowing its primary structure, and then we focus on generating enough quantities of proteins by chemical synthesis, or by recombinant expression. Interestingly, most of the relevant proteins that we find in animal venoms have structures rich in disulfide bridges (i.e., insecticidal neurotoxins, neurotoxins that act on ion channels, phospholipases, proteases, hyalurodinases, disintegrins, etc). So, a large part of the effort in our research group is to know which amino acids in the biological activity or in the folding of these proteins are crucial for such. Two of several recombinant neurotoxins that we have successfully expressed and folded are the toxins CssII and ScNtx from scorpion and elapid venoms, respectively. Contrary to those scorpion and elapid neurotoxins, the viperid enzymes that we have expressed heterologously have not been satisfactorily folded, although for certain purposes they have been valuable for demonstrating that they can generate useful antibodies for the neutralization of their native counterparts, and of the viperid venoms in which they were found; therefore, with a point of view to contribute to the clinical toxicology of anti-venoms.

Returning to neurotoxins, the toxin CssII was the first scorpion neurotoxin that we were able to express recombinantly, and successfully fold its four disulfide bridges. Since, the CssII has been a model to understand the importance of its amino acids in its interaction with voltage-dependent sodium channels. With it, it was possible to obtain the structure in which the connection of the same disulfide bridges was confirmed, as in the native toxin. Furthermore, ScNtx, an elapid neurotoxin, was created de novo by consensus alignment to similar neurotoxins from various elapid venoms (i.e. coral snakes, mambas, cobras, and taipans, as well as marine elapids), which affects ligand-dependent acetylcholine channels. ScNtx has been a neurotoxin model to complement elapid antivenoms deficient in the neutralization of these types of neurotoxins. On the other hand, unfortunately we have had several drawbacks in the folding of recombinant enzymes (phospholipases, serine, and metallo-proteases, and hyalurodinases), in which we have not been able to obtain biological activities similar to their corresponding native enzymes. Even so, we have shown that they may have alternative applicability in animal immunization for the generation of viperid anti-venoms.

Nanopore Sequencing-Based Approaches for Oncology Diagnostics Applications

Umut Toprak, PhD

Oxford Nanopore Technologies plc,

Gosling Building, Edmund Halley Road

Oxford Science Park, Oxford OX4 4DQ. United Kingdom.

www.nanoporetech.com

High-throughput omics techniques such as methylome analysis and genome sequencing allows the definition of precise cells of origin and driver mutations which together define cancer types and subtypes. This not only leads to a comprehensive and data-driven understanding of cancer biology, but it also brings great opportunities for cancer diagnostics.

In my talk, I will cover aspects of cancer biology in terms of cancer cells of origin, driver mutations, the fundamentals of cancer type and subtype classification by histopathology and modern molecular pathology. I will continue by introducing the advances in molecular pathology of central nervous system tumours developed by DKFZ and Uni. Heidelberg. I will then introduce my company Oxford Nanopore Technologies and the capabilities of its platform to do direct targeted DNA sequencing, allowing simultaneous readout of methylation and mutation information from a same sample and how this could be an ideal solution replacing multiple assays for molecular pathology of diverse cancer types starting from CNS tumours. I will cover research of our academic partners as well as our in-house development towards a diagnostic solution that is precise, data-driven, accessible and reduces burdens on reference pathology centres.

BİYOMÜHENDİSLİK
SÖZLÜ SUNUMLAR

Yara Durumunun İzlenmesi ve Kontrollü İlaç Salımı İçin pH Duyarlı Aljinat/Jelatin Bazlı Kompozit Yara Örtüsü Geliştirilmesi

Ayşenur Acuner[1], Dila Ada Hızal[1], Filiz Kara[2], Emir Baki Denkbaş[1,3]

[1]Başkent Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, 06790 Bağlıca, Ankara.
[2]Başkent Üniversitesi, Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı, 06790 Bağlıca, Ankara.
[3]Başkent Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 06790 Bağlıca, Ankara.

aysenuracuner06@gmail.com

Giriş

Yara iyileşmesi, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme gibi karmaşık bir dizi olayı içerir. Bu sürecin kontrollü gerçekleşmemesi yara iyileşmesini yavaşlatır. İyileşmeyen veya iyileşmesi zor olan yaralar iltihaplanmaya ve enfeksiyona eğilim göstermektedir. Bunu önlemek için özellikle kronik yaralarda enfeksiyonun zamanında tespiti, yaranın doğru yönetimi ve etkili tedavi açısından çok önemlidir. Yaraların enfeksiyon durumunun izlenmesi için yara eksüdasının yüksek pH değerlerinin, yara enfeksiyonu için potansiyel belirteç olduğu ve tedavinin zamanında uygulanmasını mümkün kıldığı gösterilmiştir. Bu amaçla tıbbi pansumanlara entegre edilebilen ve yara durumunun eş zamanlı izlenebildiği malzemeler geliştirilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Sunulan bu çalışmada birincil amaç; yara ortamının pH'ının sürekli izlenmesi için pansuman formülasyonlarına ortamın pH değişimine tepki olarak renk değiştiren (sarıdan mavi/mor renge) halokromik malzeme olan bromokrezol moru dahil edilmesi ve enfeksiyon gelişiminin eş-zamanlı olarak takip edilmesidir. İkincil amaç ise; iyileşme sürecini destekleme konusunda pH duyarlı kontrollü salım uygulamalarında kullanmak için model antibiyotik olan siproflaksasin yüklenmesidir. Biyouyumluluk, biyobozunurluk, özelliğine sahip olan aljinat, jelatin gibi doğal polimerler, hekzametilen diizosiyanat ile çapraz bağlanarak dondurarak-kurutulmuştur. Bu sayede yara durumunun pH değişikliğinde tayini, yara iyileşmesi sürecine katkı sağlaması ve kontrollü ilaç salımı çalışmaları için antibiyotik yüklü kompozit membranlar geliştirilmiştir.

Bulgular

Köpük yapıdaki Aljinat/Jelatin bazlı yapının morfolojik değerlendirmesi SEM ile görüntülenmiştir, Yapıların düzenli ve oldukça yüksek gözenekliliğe sahip olduğu görülmüştür. Polimer bileşimi oranına (Aljinat/Jelatin 4:1, 2:1w/w) göre en yüksek şişme oranının 2:1 w/w örneğinde gerçekleştiği görülmüştür. Çapraz bağlama süresi arttıkça her iki yapının da (2:1, 4:1 w/w) su alım değerlerinin azaldığı görülmektedir. Farklı pH değerlerindeki su alımına bakıldığında; pH:4 sevilerinde her iki örnek için de (2:1, 4:1) su alım değeri düşük, pH:9 seviyelerinde su alımının daha yüksek olduğu görülmüştür. Son olarak pH değerine bağlı olarak ilaç salım deneyi gerçekleştirilmiştir. pH seviyesinin artmasıyla ilaç salım değerinin de arttığı gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

pH duyarlılığı sayesinde yaranın kontrolü, antibiyotik ajanının ve boyar maddenin kullanılması yara örtüsünün fonksiyonelliğini artırmaktadır. Yara pansumanı olarak yaraya etkin koruma sağlanabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Yara örtüsü malzemesi, halokromik ajan, kontrollü ilaç salımı

Halofil Mikroorganizmaların Tuz Adaptasyon Stratejilerinde *Ecta*'nın Rolünün Araştırılması

Benay Çolak[1], Meriç Atar[2], Belma Nural Yaman[3], Pınar Aytar Çelik[1,4], Ahmet Çabuk[1,5]

[1]*Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir*
[2]*Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir*
[3]*Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir*
[4]*Eskişehir Meslek Yüksekokulu, Çevre Koruma Teknolojileri, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir*
[5]*Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir*
benaycolak26@gmail.com

Giriş

Sıcaklık, basınç, tuzluluk ve pH değerlerinin uç noktalarında yaşayan mikroorganizmalar ekstremofiller olarak tanımlanır. Ekstremofil sınıfından halofiller, genellikle aşırı alkali ortamlarda yaşayan ve büyümeleri için tuza ihtiyaç duyan organizmalardır. Ilımlı halofiller, geniş tuz konsantrasyonu aralığında (%3-15 NaCl) gelişebilir ve ürettikleri tuza dayanıklı hücre dışı enzimler sayesinde endüstriyel çalışmalar için önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Tuza adaptasyonları için osmoregülasyonda rol alan uyumlu çözünen metabolitlerin varlığı bilinmektedir. En fazla etki ektoinden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada, ektoin biyosentezinde görevli olan aciltransferazı kodlayan *Ect*A geninin ekspresyonunun tuzlulukla ilişkisi araştırılmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Halofil bakterilerin izolasyonu için Akdeniz Bölgesinde yer alan 5 farklı noktadan deniz suyu ve deniz dibi örnekleri toplanmıştır. Örnekler 4 farklı tuz konsantrasyonu içeren besiyerlerinde geliştirilmiş ve izole edilmiştir. İzolatların moleküler tanımlanması için; genomik DNA izolasyonu, 16S rRNA amplifikasyonu, ARDRA ve dizi analizi aşamaları gerçekleştirilmiştir. *Ect*A geninin mRNA seviyesinde ekspresyonunun belirlenmesi için *Ect*A genini kodlayan gen bölgesi amplifiye edilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri diziletilmiştir. Çoklu sekans alignment analizi yapılarak *Ect*A'ya ait katalitik bölgelerin farklılıkları ortaya çıkarılmış ve izolatlar arasından farklı aminoasit diziliminde olan gen bölgelerine sahip suşlar seçilmiştir. *Ect*A geni içeren *Chromohalobacter* spp. ve *Halomonas* spp. türlerinin gen ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. En yüksek RQ seviyesini gösterenler farklı tuz konsantrasyonlarında geliştirilerek tuz konsantrasyonunun *Ect*A geninin ekspresyonuna etkisi belirlenmiştir.

Bulgular

Deniz suyu ve deniz dibinden alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışması sonucunda; 5 adet *Pseudoalteromonas*, 3 adet *Halobacillus*, 3 adet *Marinobacter*, 2 adet *Chromohalobacter*, 2 adet *Vibrio*, 1'er adet *Cobetia*, *Bacillus*, *Halomonas*, *Spongiibacter*, *Marinimicrobium*, *Alteromonas*, *Marinomonas*, *Catenovulum* cinslerine ait türler elde edilmiştir. Asiltransferaz enzimini kodlayan *Ect*A geninin amplifikasyonu sonucu *Chromohalobacter* ve *Halomonas* türlerinde varlığı belirlenmiştir. Bu türlerin *ect*A geninin ekspresyon seviyeleri kontrol grubu olan *Chromohalobacter canadensis* kullanılarak belirlenmiş ve *Halomonas* spp.'nin daha yüksek RQ değeri verdiği belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuçta, ülkemizin kültür koleksiyonuna yeni türler eklenmiştir. Ayrıca halofil mikroorganizmaların tuz adaptasyonunda uyumlu çözünen olan ektoinin biyosentezinde sorumlu olan aciltransferaz enzimini kodlayan *Ect*A geninin etkisi belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ektoin, gen ekspresyon, halofil bakteri, ılımlı halofil bakteri

Teşekkür: Bu çalışma ESOGÜ BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje Kodu: FBA-2022-2564)

Hidrojel Bazlı Biyomürekkep Kullanılarak *in vitro* Damar Modellerinin 3D Koaksiyel Biyobaskısı

Bilge Toraman[1], Elif Kutluer[1], Şeyma Yanar[1], Orhan Erdem Haberal[1]

[1]*Başkent Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara*

toramanbilge@icloud.com

Giriş

İstikrarlı şekilde artan hasta sayısına, teşhis ve tedavideki ilerlemelere bağlı olarak vasküler hastalıklar genel ve klinik uygulamalardaki önemini her geçen gün artırmaktadırlar. Gelişen 3 boyutlu (3D) baskı teknolojisi *in vitro* modelleme, farmasötik geliştirme ve klinik rejeneratif tıp alanlarındaki yeteneklere önemli ölçüde katkıda bulunacağı düşünülmektedir [1]. Biyobaskı tekniğinin önemli bir özelliği, doku ve organa analog olabilecek yapılar oluşturma yeteneğidir [2]. Koaksiyel biyobaskı tekniği ile perfüze edilebilen ve fonksiyonel damar ağı üretilmesi mümkün hale gelmektedir ve tek adımlı bir üretim sürecinde vasküler eşdeğerleri doğrudan yazdırarak bağımsız bir *in vitro* vasküler model oluşturmak amacıyla kullanılabilir.

Gereçler ve Yöntemler

Proje kapsamında koaksiyel biyobaskı yöntemi için gerekli olan eşmerkezli nozül literatürdeki benzerlerinden örnek alınarak CAD programları ile tasarlandı ve 3D yazıcı ile üretildi [3]. Kullanılacak biyomürekkepler için bir hidrojel olan aljinat ve damar benzerliğini sağlamak amacıyla deselülerize aort ECM'i kullanılmıştır. Deselülerizasyon (Hücresizleştirme), kasaptan temin edilen sığır aortu ile 24 saat %2 SDS çözeltisi muamelesi ile yapılmıştır [4]. Ardından ECM jeli, liyofilize ECM'in 0.5M asetik asit içinde 100 mg dECM için 10 mg pepsin ile 48 saat sindirilmesiyle hazırlandı. Koaksiyel biyobaskı yönteminin doğası gereği biyomürekkeplere bir destek malzemesinin eşlik ederek içi boş yapının korunması gerekir. Bu çalışmada destek malzemesi için %2jelatin kullanılmıştır. Ayrıca hidrojelin çapraz bağlanma süreci için %5 $CaCl_2$ çözeltisi kullanılmış ve bu çözelti destek malzemesine de ilave edilmiştir. Biyobaskı çalışmaları laboratuvarda bulunan biyoyazıcı ile yapılmıştır.

Bulgular

Yapılan 3D biyobasımlarda, çapraz bağlama işleminin ardından içi boş yapı elde edilmiştir. Üretilen içi boş damar yapısının çapları birkaç milimetre olduğundan bulgular mikroskop görüntüleriyle saptanmıştır. 3 farklı reçete ile yapılan basım çalışmalarında her 3 reçetenin de içi boş damar yapısının üretilmesine olanak sağladığı görülmüştür. Yaptığımız incelemelerde üretilen yapıların çapları, yapı boyunca düzgün ve ihmal edilebilir farklılıklarla benzer olduğu görülmüştür. Basımı gerçekleştirilen yapıların perfüze edilebilirliği test edildiğinde de kanal boyunca sürekli akışın sağlanabildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, kullanılan deselülerize aort ECM'inin yapıya stabilite kazandırdığı saptanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma, hidrojel bazlı biyomürekkeplerin ve *in vitro* modellerin biyobaskısı ve koaksiyel biyobaskı tekniklerine yönelik olumlu sonuçlar sunmuştur. Elde edilen vasküler doku modelinin yararlanılabileceği yerler özellikle preklinik çalışmalardır.

Anahtar Kelimeler: Biyobaskı, *in vitro* model, hidrojel, doku mühendisliği, desellülerizasyon.

Teşekkür: Bu çalışma, TUBİTAK 2209A Programı kapsamında 1919B012203422 No'lu Proje ile desteklenmektedir.

Halofilik Bakteriden Ekstrasellüler Veziküllerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Dilan Barut[1], Blaise Manga Enuh[2], Burak Derkuş[3], Ülkü Güler[4], Bekir Salih[4], Pınar Aytar Çelik[5]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*
[2]*University Of Wisconsin-Madison, Madison Deparment, Usa*
[3]*Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Ankara*
[4]*Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Ankara*
[5]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Çevre Koruma Programı, Eskişehir*

b.dilan62@gmail.com

Giriş

Ekstrasellüler veziküller, farklı hücre tiplerinden salgılanan lipit çift katmanlı nanometrik yapılardır. Veziküller, salgılandıkları bakteri hücrelerinin patogenezi ve çevreye adaptasyonu ile ilişkilendirilmiştir ancak halofilik mikroorganizmalara ait veziküllerin tuz stresine adaptasyonundaki rolü bilinmemektedir. Aynı zamanda veziküllerin biyoteknolojik kullanımı da hız kazanmıştır ve de bu kapsamda biyoteknolojik öneme sahip ekstremofil mikroorganizmalara ait vezikül yapılarının araştırılması önemlidir.

Gereçler ve Yöntemler

Halomonas caseinilytica KB2 suşu %6, %12 ve %18 olmak üzere 3 farklı tuz konsantrasyonlarında geliştirilmiştir. Aynı zamanda mezofilik bakteri olarak *Escherichia coli* geliştirilmiştir. Gelişen kültürlerden vezikül izolasyonu yapılmıştır. Karakterize edilmeleri için SEM görüntüleri alınmış ve DLS ile boyutları analiz edilmiştir.

Bulgular

Farklı tuz konsantrasyonlarında geliştirilen halofilik bakterilere ait veziküller karakterize edilmiştir. SEM ile vezikül yapılarının doğruluğu tespit edilmiştir ve DLS ile farklı tuz oranlarında izole edilen vezikül yapılarında boyut değişimleri değerlendirilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmayla ilk kez *H. caseinilytica*' dan vezikül izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda bu çalışma ile ekstrasellüler veziküllerin tuzlu ortama adaptasyonundaki fiziksel değişimleri ilk kez bildirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ekstrasellüler vezikül, Halofilik mikroorganizma, Adaptasyon

Teşekkür: Çalışma, YL tez çalışmamın bir parçası olup FYL20211568 proje ESOGÜ BAP komisyonunca desteklenmiştir.

Keratin, Pektin ve Aljinat İçeren Hidrojellerinin Üretimi ve Karakterizasyonu

Özge Erdemli[1], Hasan Efe Mıhçı[1], Bengi Yılmaz[2]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*
[2]*Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyomalzeme Anabilim Dalı, İstanbul*

ozgeerdemli@gmail.com

Giriş

Keratin, yün, kıl, tüy, gaga, toynak ve boynuz gibi yapıların temel bileşenidir. Kuaför salonları, kümes hayvanı çiftlikleri, mezbahalar, yün ve deri endüstrisi gibi sürekli büyüyen bazı endüstriler, milyonlarca ton keratin içeren biyokütle üretmektedir. İnsan saçı, hiçbir endüstride yoğun bir şekilde kullanılmadığından birçok çevre sorununa neden olabilmektedir. Bu nedenle, insan saçı atıklarının keratin elde etmek için yararlı bir kaynağa dönüştürülmesi biyomedikal alandaki ürünlerin üretimine önemli katkılarda bulunabilir. Bu çalışmada, atık insan saçlarından elde edilen keratin, gıda katkı maddesi pektin ve doğal bir polimer olan aljinat kullanılarak hidrojellerin geliştirilmesi ve karakterize edilmesi planlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Hidrojellerin üretilmesinde kullanılan keratinin insan saçından izolasyonu için delipidizasyon ve renk açma işlemleri yapılan saç örnekleri 0,125 M sodyum sülfit, 0,500 M sodyum bisülfit, 8,00 M üre ve 0,100 M sodyum dodesil sülfat içeren ekstraksiyon çözeltisinde 50°C'de 6 saat boyunca karıştırılarak bekletilmiştir. Diyaliz ve liyafilizasyon işlemi sonunda elde edilen keratin örneklerine FTIR ve SDS-PAGE analizleri yapılmıştır. Kütlece %4 keratin, %8 pektin ve %1 veya %2 gibi farklı yüzdelerde aljinat içeren hidrojel grupları kalsiyum klorür çapraz bağlayıcısı kullanılarak hazırlanmıştır. Üretilen hidrojellerin mikroyapısı, kimyasal bileşimi, su tutma kapasitesi, *in vitro* bozunma özellikleri, enjekte edilebilirliği ve antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Ek olarak, hidrojel yapısından ortama çıkan protein miktarı ve hidrojellerin L929 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Bulgular

İzole edilen keratin, keratine özgü karakteristik FTIR piklerine sahitpir. Keratinin yapısında denatürasyon olmadığı belirlenmiş ve 45 ve 63 kDa civarında sırasıyla alfa ve beta keratin SDS-PAGE bantları elde edilmiştir. Bütün hidrojel gruplarında bileşenlere ait karakteristik FTIR pikleri görülmüştür. %2 aljinat içeren hidrojellerin daha gözenekli iç yapıya, daha yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu ve enjekte edilebilirliğinin arttığı görülmüştür. 15 gün sonunda, aljinat yüzdesi arttıkça hidrojellerin yapısı daha çok korunmuş ve keratin salımı daha yavaş gerçekleşmiştir. Hidrojel grupları bir miktar antibakteriyel aktivite göstermiş ve hidrojel grupları ile etkileştirilen L929 hücrelerinin canlılığı 7 gün boyunca korunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Atık saçlardan izole edilen keratin yapısındaki alfa ve beta keratin beklenen kDa değerlerinde görülmüştür. Aljinat yüzdesi arttıkça hidrojeller uygun enjekte edilebilirlik, gözeneklilik ve yavaş keratin salımı özellikleri kazanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Keratin, pektin, aljinat, hidrojel.

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

Kombucha Anasından (SCOBY) Nanoseluloz Eldesi ve Bakteri Tutma Kapasitesinin Araştırılması

Özge Kahraman Ilıkkan[1], Işınay Ebru Yüzay[2], Elif Şeyma Bağdat[1]

[1]*Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Myo, Gıda İşleme Bölümü, Ankara.*
[2]*İzmir Ekonomi Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İzmir.*

okilikkan@baskent.edu.tr

Giriş

Kombucha, bir çay türü olan siyah veya yeşil çayın fermantasyonuyla elde edilen bir içecektir. Özel bir mikroorganizma ve maya kültürü olan "kombucha anası" veya "SCOBY" (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) kullanılarak üretilir. Kombucha anası, temel olarak selüloz adı verilen bir polisakkaritten oluşur. Mikroorganizmalar tarafından üretilen bu seluloz, gıda, tekstil, biyomedikal uygulamalar, ambalaj malzemeleri gibi çeşitli alanlarda kullanım potansiyeline sahiptir. Bu çalışmada da, kombucha anasından üretilen nanoselulozun bakteri tutma kapasitesi araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Kombucha anasının üretimi için, 1L içme suyuna 250 ml demlenmiş siyah çay ve % 10 sukroz eklenmiş kombucha anası bu çözeltiye bırakılmıştır. Fermentasyon sonucunda yüzeyde oluşan ana toplanmış, steril distile su ve 0.1M NaOH ile yıkanmıştır. Daha sonra, oda sıcaklığında kurutularak nanoseluloz elde edilmiş ve su absorblama kapasitesi hesaplanmıştır. Karakterizasyon için FTIR ve SEM analizleri yapılmıştır. FTIR'da karşılaştırma amacı ile mikroselüloz ve kâğıt kullanılmıştır. JR 0.9.2 programı kullanılarak fibril ve por çapları ölçülmüştür. Nanoselülozun bakteri tutma kapasitesini ölçmek için, 1cm2 boyutunda hazırlanan nanoselüloz örnekleri ve kontrol filtre kâğıdı, 37°C'de MRS Broth içerisinde büyütülmüş *L. plantarum* 299v içeren solüsyonda 1 saat, 2 saat ve 3 saat tutularak tüm örnekler 2 paralel olacak şekilde MRS agara yerleştirilmiştir. Petriler 37°C'de anaerobik jarda 48 saat inkübe edilerek bakteri büyüme oranları gözlemlenmiştir.

Bulgular

Elde edilen nanoselülozun su absorblama kapasitesi %93 olarak bulunmuştur. FTIR incelemesi sonucu kontrol selüloz örneklerindekine benzer karakteristik pikler elde edilmiştir. SEM görüntülerinde nanofibriller görüntülenmiş ve fibril boyutları 0,12±0,04 µm olarak bulunurken, whatman no 1 fibril boyutları 14,29±3,91 µm olarak bulunmuştur. Por çapları ise, whatman no 1'in 14,24±5,58 µm olarak bulunurken, nanoselulozun ise, 0,28±0,08 µm olarak bulunmuştur. Nanoselülozun bakteri tutma kapasitesi incelendiğinde, bakteri solüsyonunda 1 saat, 2 saat ve 3 saat bekletildiğinde petride büyüyen bakteri miktarı kademeli olarak artarken, kontrol olarak kullanılan filtre örneğinde ise bakteri miktarında herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bakteriyel selülozun bakteri taşıyıcı olarak biyosensör ve biyofarmasötiklerin üretiminde kullanılabileceği ayrıca mikroorganizmaların stabil bir ortamda tutulmasını sağlayarak verimliliği artırabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nanoselüloz, kombucha, scoby

Escherichia coli Rekombinant Ekspresyon Sisteminde Peynir Altı Suyunun İndükleyici Olarak Değerlendirilmesi

Seyhan İçier[1], Burcu Kaplan Türköz[2], Yekta Göksungur[2]

[1]*Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı, İzmir*
[2]*Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir*

s.icier70@gmail.com

Giriş

Peynir altı suyu (PAS), laktoz, protein, lipit, vitamin ve mineraller bakımından zengin bir içeriğe sahip olan değerli bir yan üründür. Biyoteknoloji endüstrisinde PAS çeşitli mikroorganizmaların endüstri için değerli ürünler üretmesinde substrat olarak kullanılmaktadır. *E. coli* rekombinant ekspresyon sisteminde indükleyici olarak allolaktozun yapısal analoğu olan İzopropil β-D-1-tiogalaktopiranosid (IPTG) kullanılmaktadır. Ancak IPTG hücreler üzerinde yüksek metabolik yüke neden olduğu, toksik etki gösterdiği ve yüksek maliyetli olduğu için alternatifler aranmaktadır ve PAS bu açıdan öne çıkmaktadır. Bu çalışmada tatlı PAS tozunun indükleyici olarak potansiyeli yeşil floresan protein üretimi üzerinden araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

İlk olarak HPLC ile PAS'ın laktoz konsantrasyonu belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (2 mM-200 mM aralığında) laktoz içeren PAS kullanılarak *E. coli* Rosetta 2 hücrelerinden pETM11-SUMO3-eGFP plazmidi üzerinden rekombinant yeşil floresan protein (YFP) üretimi taranmıştır. LB besiyeri ortamında 37°C 180 rpm hızda çalkalamalı inkübatörde OD600 değeri 0.6-0.8 aralığına gelmesi beklenen hücrelere sonrasında belirlenmiş konsantrasyonlarda PAS ilavesi ile indüksiyon yapılmıştır ve sıcaklık 20 °C'ye düşürülerek gece boyu inkübasyona devam edilmiştir. Belirli saat aralıklarında OD600 ölçümleri yapılmıştır ve protein karakterizasyon çalışmaları için örnek toplanıştır. Ekspresyon sonrasında afinite saflaştırma, SDS-PAGE analizleri ve ayrıca YFP proteininin kantitatif olarak belirlenmesi için florometre analizleri yapılmıştır.

Bulgular

HPLC sonuçları demineralize PAS'ın %60 laktoz içerdiğini göstermiştir. Bu çalışmada en düşük 2 mM laktoz içeren proteinlerinden ve minerallerinden uzaklaştırılmış PAS tozu kullanımında hücre miktarı ve protein miktarının 0.5 mM IPTG kullanımına oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Yapılan konsantrasyon taramaları sonucunda 20 mM laktoz içeren PAS ile yapılan indüksiyon sonucunda en yüksek protein miktarı elde edilmiştir. Saflaştırma sonucunda IPTG ile yapılan üretime kıyasla indükleyici olarak PAS kullanımı sonucunda yaklaşık 2.5 kat daha fazla YFP proteini üretildiği gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak literatürde ilk defa PAS kullanılarak pETM11-SUMO3-eGFP plazmidi ile yüksek protein verimlilikle YFP üretilmiştir. Rekombinant protein üretiminde PAS'ın güvenli, ekonomik ve güçlü bir alternatif indükleyici olabilmesi için umut vericidir.

Anahtar Kelimeler: Peynir altı suyu, rekombinant protein ekspresyonu, YFP.

Meme Kanseri Teşhisinde MR Destekli Uygulamalar için Mangan Ferrit Nanotaşıyıcıların Geliştirilmesi

Sıla Nur Öz[1], Berfin Betül Sarısaray[1], Duygu Dikmen[1], Beyzanur Çakar[1,2], Özlem Darcansoy İşeri[2], Emir Baki Denkbaş[1]

[1]Başkent Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara.
[2]Başkent Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara.

silaanuroz@gmail.com

Giriş

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre meme kanseri kadın kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir. WHO, erken teşhis sayesinde vakaların en az %60'ının erken evre hastalık olarak teşhis edilmesi ve tedavi edilmesini hedef olarak göstermektedir. Klinikte yaygın olarak kullanılan non-invasiv bir yöntem olan manyetik rezonans (MR) ile tümörlü dokuyu görüntülemek mümkündür. MR kontrast ajanlarından metal oksit nanopartiküller (NP) yaygın araştırılanlardır ve $MnFe_2O_4$)/Mn-Ferrit NP'lerin yüksek verim sağladığı belirlenmiştir. NP yüzeyleri kanser hücresini aktif hedefleyebilmek için antikor, peptit veya aptamer ile resöptörü seçici tanıyan ajanlarla tümörlü dokuda biriktirilerek teşhis/tedavi amacıyla kullanılır.

Gereçler ve Yöntemler

Sunulan proje kapsamında; Mn-ferrit NP'ler birlikte çöktürme yöntemi ile hazırlanmıştır Sentez için, MnSO4 ve $FeCl_3$'ün equimolar çözeltileri stokiyometrik oranlarında karıştırılmış, ve oda sıcaklığında homojenize edilmiştir. İlk olarak çözeltinin pH'ı 1M NH_3 çözeltisi eklenerek ayarlanmış, ve karışım daha sonra yaklaşık bir saat boyunca 80°C'de ısıtılmış, ve NP'ler, istenmeyen tuz kalıntılarını gidermek için birkaç, kez deiyonize su ile yıkanmış, çöktürme yöntemi kullanılarak kovalent olarak bağlanıp modifiye edilmiştir. Fizikokimyasal testleri ve morfolojik değerlendirme çalışmaları tamamlanan Mn-Ferrit NP'ler antikor ile birleştirilerek MCF-7 meme kanseri hücre hattı ile etkileştirilmiştir. Bu kapsamda, MCF-7 hücreleri ile etkileştirilen ve NP'ler ile etkileştirilmeyen hücrelerin MR'da ayrı ayrı görüntüleri alınmıştır. Yapılan değerlendirmelerde Mn-Ferrit NP'lerin meme kanseri erken teşhisinde hedefli nanotaşıyıcı olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.

Bulgular

Elde edilen Mn-Ferrit NP'lerin ortalama 20 nm çapında olduğu ve BSA ile kaplandıktan sonraki NP'lerin ortalama büyüklükleri ise 60-70 nm dolayında olduğu belirlenmiştir. NP'lerin içerdiği Mn-Ferrit sayesinde MR kontrast ajanı özelliğinin yanı sıra aynı zamanda NP yüzeyindeki HER-2 antikoru sayesinde seçici olarak meme kanseri hücrelerini tanıması için yapılan çalışmada sadece Mn-Ferrit NP'ler ile etkileştirilen hücre kültür kaplarından MR sinyali alındığı ve NP içermeyen hücre kültür kaplarından herhangi bir sinyal alınmadığı belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

HER-2 antikoru kaplı Mn-Ferrit NP'lerin MCF-7 hücre hattı ile seçimli olarak etkileştirildiğinde, MR uygulamalarında gerekli sinyali sağladığı ve meme kanseri erken teşhisinde kullanım potansiyeli olan nanotaşıycının geliştirildiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mangan ferrit nanopartikül, albümin kaplama, HER-2 antikoru, erken teşhis

Teşekkür: TÜBİTAK TEYDEB'in 2209 programı tarafından 1919B012207444 No'lu Proje ile desteklenmiştir.

BİYOMÜHENDİSLİK
POSTER SUNUMLARI

Kendiliğinden Sıkılaşan (Self-stiffening) 4-boyutlu Hidrojel: Kök Hücre ve Kanser Mekanotransdüksiyonu için Bir Biyomalzeme

Nuriye Nazet Güngör[1], Tuğçe Derkuş[1], Yavuz Emre Arslan[1], Burak Derkuş[1]

[1]Kök Hücre Araştırma Laboratuvarı (scrlab), Kimya Bölümü, Fen Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Ankara
[2]Rejeneratif Biyomalzemeler Araştırma Laboratuvarı, Biyomühendislik Bölümü, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.

nuriyenazetgungor@gmail.com

Giriş

Mekanotransdüksiyon, hücrelere uygulanan stres sonucu hücrelerde meydana gelen sinyalizasyon farklılığı olgusudur. Bu durum, vazodilatasyondan dengeye, kas kasılması ve dokunmaya kadar birçok kritik biyolojik tepkide rol oynamaktadır. Bu çalışmada, ipek fibroinin rasgele sarmal ve alfa-heliks yapılarının zamanla b-tabakalı yapıya dönme eğiliminden yararlanılarak ipek fibroin bazlı, çok-bileşenli, zamanla sıkılaşan ve bu özelliğinden dolayı mekanotransdüksiyon çalışmalarında kullanım potansiyeli bulunacak bir biyomalzeme geliştirilmiştir. Elde edilen hidrojeller mezenkimal kök hücre mekanotransdüksiyonunda test edilmiştir ve kanser mekanotransdüksiyonunda kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bombyx mori'den elde edilen ipek fibroini (SF) 9,3M LiBr ile indirgeme yöntemi ile elde edilmiştir. Çok-bileşenli ve kendiliğinden sıkılaşan hidrojellerin hazırlanması için hyaluronik asit-tiramin (HA-Tyr) ve SF, HRP enzimi ve H2O2 ilavesi ile tirozin/tiramin fonksiyonel grupları üzerinden birbirine ortogonal kovalent çapraz bağlama işlemi ile bağlanmıştır. Hazırlanan jellerin 4D özelliklerinin, yani zamanla sıkılaşma ve konformasyonel transformasyon özelliklerinin belirlenmesi için PBS içerisinde 28 güne kadar 37°C'ta inkübe edilmiştir. Jeller bu süre boyunca SEM, XRD, FTIR, CD gibi yöntemlerle karakterize edilmiştir. İçerisinde insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinin (huMSCs) bulunduğu jeller 14 güne kadar kültür edilmiş ve mekanotransdüktif etki gen ekspresyon seviyesinde RT-qPCR ile incelenmiştir.

Bulgular

XRD ve CD teknikleri SF/HA-Tyr hidrojellerinde zamanla rasgele sarmal ve alfa-helikal yapının azaldığını, b-tabakalı yapının arttığını, yani hipotezin doğrulandığını göstermiştir. SEM ise hidrojellerde zamanla morfolojik farklılıkların oluştuğunu mikro düzeyde göstermiştir. Ayrıca jeller uzun süreli inkübasyona bırakıldığında transparan yapıdan translusen yapıya dönüşmüştür. huMS hücrelerinde jeller içerisinde herhangi bir toksisite gözlenmemiştir. RT-qPCR çalışması neticesinde ise huMS hücrelerinde mekanotransdüksiyon ile ilişkili gen ifadelerinde zamanla artış olduğunu göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, SF/HA-Tyr hidrojelleri kök hücre ve kanser mekanotransdüksiyon çalışmaları için, çevresel etkenlerin histogenezde ve patogenezdeki etkilerini değerlendirmek için uygun bir biyomalzeme olarak ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyomalzeme, hidrojel, 4D hidrojel, mekanotransdüksiyon, kök hücre.

Teşekkür: Bu çalışma Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından desteklenmektedir (No 22617).

Eksozom Bileşenli Rejeneratif Yara Örtü Materyalleri

Şevval Yazıcıoğlu[1], Burak Derkuş[1]

[1]*Kök Hücre Araştırma Laboratuvarı (scrlab), Kimya Bölümü, Fen Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Ankara.*

sevvalyazicioglu16@gmail.com

Giriş

Post-operatif ve travmatik yaralar, yanıklar ve diğer deri hasarlarının hızlı iyileşmesi üzerine çok sayıda çalışma yapılmaktadır ve doku mühendisliği disiplininin gelişmesiyle hem doku homeostazını yöneten hem immün-yanıtı modüle eden ve aynı zamanda yaranın hızlı bir şekilde iyileşmesini hedefleyen yara örtü materyalleri ve greftlerin geliştirilmesi güncel bir konu olarak ortaya çıkmaktadır. Eksozomlar, 30-200 nm arasında doğal kesecikler olup hücreler tarafından üretilmekte ve sinyalizasyon aracı olarak kullanılmaktadır. Eksozomlar köken aldıkları hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirebilmektedir. Bu çalışmada, bitkisel eksozom ve aselüler dermal dokudan elde edilmiş deri doku mühendisliği ürünleri geliştirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Sığır derisi hipotonik işlem ve Triton X100 ile hücrelerin elimine edilmesi ile elde edilmiştir. Ardından hücresizleştirme işleminin başarısı hidroksipprolin (HP) testi, glikozaminoglikan (GAG) testi, DNA miktar analizi ve histolojik boyamalarla teyit edilmiştir.

Eksozomlar, 250 milyon yıl ile Dünya'nın en uzun süredir yaşayan, mRNA seviyelerinin yaşlı ağaçlarda bile korunduğu, anti-aging özelliğiyle ön plana çıkan *Ginkgo biloba* bitkisinden kademeli santrifüjleme ve ultrasantrifüjleme yöntemi ile elde edilmiş; elektron mikroskopisi ve nanoapartikül takip analizi ile karakterize edilmiştir.

Aselüler dermal doku ve eksozomların kompozitleştirilmesi, nötraliasyonun sağlanması, termal indüksiyonun yapılması ve son olarak +4 °C'ta 4 gün süre ile çözücü buharlaştırma yöntemiyle eksozom içeren dermal materyaller üretilmiştir. Malzemeler üzerinde insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerin (huMSCs) davranışları test edilmiştir.

Bulgular

HP, GAG ve DNA testleri deri doku deselülerizasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermiştir. Deselülerize dokuda DNA miktarı <50 ng/mL iken HP ve GAG ise korunmuştur. TEM görüntüleri eksozomların klasik donat morfolojisini ve 30-200 nm arasındaki boyutlarını teyit etmiştir. NTA analizi ise partikül sayılarının >1 Milyar partikül/mL olduğunu göstermiştir. Elde edilen eksozom bileşenli aselüler deri doku mühendisliği ürünlerinin elektron mikroskobu görüntülerinde eksozomların yapıya entegrasyonu net bir şekilde görülmüştür. huMSC'lerin geliştirilen biyomalzeme üzerinde canlılığını ve proliferatif özelliklerini koruduğu görülmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada bitkisel eksozomlar ve aselüler dermal dokudan elde edilen tabaka şeklindeki materyal, yenilikçi bir deri doku mühendisliği ürünü olarak ön plana çıkmaktadır ve rejeneratif potansiyele de sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Deri doku mühendisliği, deselülerizasyon, eksozom

Akıllı İlaç Arabası Geliştirme

Sümeyye Zor, Ahu Gündoğar

[1]*Technopc Teknoloji Sanayi ve Ticaret Aş.*

sumeyye.zor@technopc.com.tr

Giriş

Hastaların tedavi süreci, doktorlar tarafından muayene sonrası sözlü, yazılı veya e-posta yoluyla iletişimle başlar. Ancak, bu iletişim yöntemleri hatalara ve güvenlik risklerine yol açabilir. Bu nedenle, Akıllı İlaç Arabası Geliştirme Projesi, hasta tedavisinden sorumlu personelin hata yapma olasılığını azaltmayı amaçlamaktadır. Bu projede, doktorların hasta tedavi verilerini sisteme girmesi ve Akıllı İlaç Arabası aracılığıyla hasta-tedavi eşleştirmesi yaparak ilaç uygulamasını otomatikleştirmesi hedeflenmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Proje, hastane personeli ile ihtiyaçları ve talepleri belirleyerek başlar. Bu ihtiyaçlara dayalı olarak, Akıllı İlaç Arabası'nın tasarımı ve 3D modellemesi yapılır. Prototip, hastane personelinin geri bildirimlerine dayalı olarak geliştirilir ve test edilir. Ardından, Akıllı İlaç Kutusu Projesi bir araba formatına dönüştürülerek hareket kabiliyeti kazandırılır. Araba üzerinde bulunan Yapay Zekâ Asistanı (AIO) sayesinde hasta tedavi verilerine erişim sağlanır ve ilaç çekmeceleri AIO aracılığıyla doğru dozda doğru ilaç uygulanmasını mümkün kılar. Proje kapsamında tasarım, prototip üretimi, entegrasyon, yazılım ve elektronik düzenek geliştirme işlemleri gerçekleştirilir. Prototip, hastane ortamında personel tarafından test edilir ve geri bildirimler alınır.

Bulgular

Proje sonucunda, Akıllı İlaç Arabası'nın hasta tedavisinde büyük bir başarı elde ettiği görülmüştür. AIO aracılığıyla hasta tedavi verilerine erişim sağlandığı ve ilaç çekmecelerinin doğru bir şekilde açılıp kapatılabildiği tespit edilmiştir. Bu, hasta tedavi sürecindeki hata oranını önemli ölçüde azaltmış ve hasta güvenliğini artırmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Akıllı İlaç Arabası Geliştirme Projesi, hasta tedavisinde dijital dönüşümün önemini temsil ediyor. Hasta güvenliği artırılmış ve insan kaynaklı hatalar en aza indirgenmiştir. Bu proje, gelecekteki sağlık hizmetlerine önemli bir katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Akıllı İlaç Arabası, hasta tedavisi, dijital dönüşüm, hasta güvenliği.

Teşekkür: Bu projenin başarısında emeği geçen ekibimize ve hastane personeline teşekkürlerimizi sunarız.

Osteoblast Kökenli Eksozomların İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler Üzerindeki Osteojenik Farklılaşmaya Etkisi

Vildan Torun[1], Burak Derkuş[1]

[1]*Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara.*

vildantrn@gmail.com

Giriş

Boyutları 30-150 nanometre arasında olan eksozomlar, çift katlı fosfolipid yapıdaki bir membran ile çevrili olan küçük veziküllerdir. Eksozomlar mRNA, mikroRNA, protein ve lipid içerirler, hücre dışı ortama salınırlar ve hücreler arası iletişimde, genetik bilgi ile sinyal moleküllerinin taşınmasında, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde ve hastalıkların tanısında kullanılırlar. Ayrıca eksozomlar, kemik doku mühendisliğinde büyük bir terapötik potansiyel olarak görülmektedir. Bu kapsamda çalışmamızda osteoblast hücre kökenli eksozomların rolünün, indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPSC) üzerindeki osteojenik farklılaşmaya etkisi araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmamızda indüklenmiş pluripotent kök hücre (iPSC) ve osteoblast (hFOB) hücre hatları kullanılarak hücre kültürü idamesi, osteoblast hücre kökenli eksozomların izolasyonu ve NTA (Nanoparticle tracking analysis) ile karakterizasyonu, iPSC hücrelerine eksozom uygulanması, eksozomların uygulanma sıklığının optimizasyonu, osteojenik farklılaşmasının gözlenmesi için osteojenik gen ifade profillerinin RT-qPCR ile mRNA seviyesinde araştırılması ve Immünofloresan (IF) yöntemi ile (RUNX2, OPN, COL1A1) farklılaşmanın fenotip seviyesinde karakterizasyonu yapılmıştır.

Bulgular

Gen ekspresyon çalışması sonuçları, osteoblast türevli eksozomlarla indüklenmiş iPSC hücrelerinde osteoblast markerleri olan Osp, Runx2, ALP gibi markerler için mRNA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar odluğunu göstermiştir. Bu sonuçlar immünfluoresan mikroskopisi ile fenotip seviyesinde teyit edilmiştir. Eksozomlarla indüklenen hücreler klasik koloni ve çokgen morfolojisindeki iPSCs hücrelerinde fibroblastik morfolojinin oluşmaya başladığını göstermiştir. Daha uzun süreler için kültür edilen hücrelerde hücre morfolojisi osteoblast morfolojisine dönmüştür.

Sonuç ve Tartışma

Eksozomların, indüklenmiş pluripotent kök hücrelerin osteoblastik hücrelere farklılaşmasında kullanılabilecek umut vadeden alternatif bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hücre dışı veziküller, eksozomlar, kök hücre, osteojenik farklılaşma.

ENDÜSTRİYEL BİYOTEKNOLOJİ
SÖZLÜ SUNUMLAR

Jiangella aurantiaca'ya Ait Peroksidaz (DyP)-Enkapsülin Sisteminin Karakterizasyonu

Ali Osman Beldüz[1], Miray Şahinkaya[1], Fulya Ay Şal[1], Halil İbrahim Güler[2], Sabriye Çanakçı[1], Hayrettin Saygın[3]

[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon.*
[2]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Trabzon.*
[3]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Samsun.*

belduz@ktu.edu.tr

Giriş

Enkapsülin, bakterilerde doğal olarak üretilen protein yapılı nanokompartmanlardır. Enkapsülin protomerleri, kendiliğinden bir araya gelerek 21-42 nm çapında kapsit benzeri bir yapı oluşturur[1] ve Peroksidaz, Flp, IMEF gibi katalitik aktiviteye sahip spesifik kargo proteinlerini kapsülleyerek, enzimlerin stabilitesini ve aktivitesini artırırlar[2,3]. Fizyolojik olarak, bakteriyi oksidatif strese karşı korur ve mineral depolarlar[3]. Enkapsülinlerle, ilaç hedefleme, aşı dizaynı ve biyoreaktör üretimi gibi çeşitli nanoteknolojik çalışmalar yapılmıştır[4]. Bu kapsül yapılar, ileri teknolojik gelişmeler için ümit vadeden biyoteknolojik araçlardır. Bu çalışmada, *Jiangella aurantiaca* DyP-enkapsülin (JauDyP-Enc) sistemi karakterize edilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, *J. aurantiaca* enkapsülin (*JauEnc*) ve kargo protein (*JauDyP*) genleri pET28a'ya klonlanarak, *E. coli* BL21'de ekspres edildi ve proteinler, metal iyon kromatografisi ile saflaştırılıp, SDS-PAGE ile görüntülendi. DLS ve TEM ile enkapsülinin (kapsülün) yapı analizleri gerçekleştirildi. DyP'nin kapsülasyonu, native jel ve zimogram ile görüntülendi. pH, sıcaklık, denatüre edici ajanlar, metal iyonları ve Tripsinin enkapsülin (kapsül) üzerindeki etkisi araştırıldı. DyP enziminin ABTS substratı ile yapılan spektrofotometrik analizleri ile optimum pH'sı, optimum sıcaklığı ve kinetik parametreleri belirlendi. Ayrıca organik çözücü, deterjan ve metal iyonlarının DyP enzimine etkileri araştırıldı. DyP ve enkapsülinin belirlenen fizyolojik şartları baz alınarak, DyP'nin enkapsülin ile *in vitro* kapsülasyonu sağlandı. Aynı analizler kapsüllenen DyP için de gerçekleştirilerek, kapsüllenmiş ve kapsüllenmemiş DyP enzim karakterleri karşılaştırıldı

Bulgular

JauDyP ve JauEnc protomeri, sırasıyla 36 kDa ve 29 kDa, JauEnc kapsülün çapı 24 nm olarak belirlendi. Native jel ve zimogramda kapsül içindeki JauDyP aktivitesi beklendiği gibi boş kapsülle aynı pozisyonda gözlendi. Kapsülün, JauDyP aktivitesini, metal $CuSO_4$ ve $HgCl_2$ iyonlarına karşı %100 ve %85; organik çözücü bütanole karşı ~%70 ve gliserole karşı ~%90 koruduğu belirlendi. Kapsülün, JauDyP'yi Tripsin degredasyonundan koruduğu, SDS-PAGE ile gösterildi. Kapsülsüz JauDyP, 48. saatte aktivitesinin tamamını kaybederken, kapsüllünün ise %50'sini koruduğu belirlendi. Kapsülsüz ve kapsüllü JauDyP'nin kinetik parametreleri, sırasıyla, 0,0143 mM ve 0,017 mM, V_{max} değerleri ise, sırasıyla, 7,7529E-06 U/mg ve 7,65568E-06 U/mg olarak belirlendi

Sonuç ve Tartışma

JauDyP, JauEnc protomerleriyle *in vitro'*da pH aracılı oluşturulan kapsül içine alınarak, kapsül ve JauDyP enziminin karakterizasyonu yapıldı. Enkapsülinin (kapsülün) dirençli bir yapı olduğu, DyP'yi koruduğu ve kararlılığını artırdığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Enkapsulin, nanokompartman, DyP, peroksidaz.

Teşekkür: Bu çalışma 120Z860 nolu 1002 TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.

Halofilik Mikroorganizmalardan Biyoplastik Eldesi ve Gıda Filminde Kullanılabilirliği

Gonca Gülfem Turan[1,1], Özlem Erdal Altıntaş[1,2], Belma Nural Yaman[1,3], Ahmet Çabuk[1,4], Pınar Aytar Çelik[1,5]

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

[2]Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Şuhut Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Afyonkarahisar

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

[4]Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir

[5]Çevre Koruma Kontrol Programı, Eskişehir Meslek Yüksekokulu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir

goncagulfemturan@gmail.com

Giriş

Petrol bazlı plastiklerden üretilen ambalaj malzemelerinin doğada yok olması yüzlerce yılı bulmaktadır. Buna alternatif olan en uygun adaylardan biri mikroorganizmalar tarafından da üretilen biyobozunur biyoplastiklerdir. En yaygın biyoplastiklerden polihidroksialkanoatların bir üyesi polihidroksibütiratlar (PHB) mikroorganizmalar tarafından enerji depolamak amacıyla intraselüler olarak biriktirilmektedir. Tuzcul bir ortamda PHB eldesi kontaminasyon riskini minimalize ettiğinden halofilik mikroorganizmalar PHB üretimi açısından avantajlı bir kaynaktır. Çörekotu yağı, jelatin gibi komponentler eklenerek PHB' nin yapısal özellikleri iyileştirilebilir ve antimikrobiyal, antioksidan özellik kazandırılmış bir gıda filmi alternatifi yapılabilir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada tuzcul ortamlardan izole edilmiş 29 adet halofilik bakteri, glukoz içeren %12'lik PHB üretim ortamına inoküle edilmiştir. İnkübasyona bırakılan kültürler, yüzde PHB üretim yeteneklerine göre incelenmiştir. Belirli hacimdeki kuru biyokütleler ürettikleri PHB yoğunlukları açısından değerlendirilmiştir. Üretilen PHB yoğunluğu 235 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kuru biyokütle miktarı pelletler kurutularak belirlenmiş, % PHB üretimleri hesaplanmıştır. En yüksek oranda PHB tespit edilen kültürün santrifüjü ile toplanan pelletler bir gece boyunca -80 °C' de bırakılmış ve sodyum hipoklorit çözeltisi ile 37°C' de inkübe edilmiştir. Santrifüj sonrası etanol ile yıkanan pelletler PHB eldesi için kloroformda 60°C'de bekletilmiştir. PHB jelatin ile birleştirilmiş ve antimikrobiyal, antioksidan etki için soğuk sıkım çörekotu yağı da karışıma eklenmiştir. Elde edilen film UV ile farklı sürelerde sterilize edildikten sonra *Staphylococcus aureus* üzerinde antimikrobiyal etkisi gözlemlenmiştir.

Bulgular

Taranan halofilik mikroorganizmaların her birinin PHB üretim yeteneği olduğu saptanmıştır. Aralarında en yüksek üretim gösteren #69 kodlu izolatın ürettiği PHB miktarı %30 olarak bulunmuştur. Elde edilen PHB, jelatin ve çörekotu yağı homojen şekilde karıştırılıp döküm yöntemiyle kompozit bir film oluşturulabilmiştir. Oluşan filmin sterilizasyonunda 10dk-120dk' lık süreler arasında bir fark olmadığı görülmüştür. Filmin *Staphylococcus aureus* üzerinde antibakteriyel etkisi saptanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Elde edilen sonuçlar halofilik mikroorganizmalardan sağlanan PHB'nin yapısal özelliklerinin iyileştirilmesi suretiyle, petrol bazlı plastik gıda ambalaj malzemelerine alternatif olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyobozunur plastik, polihidroksibütirat, çörekotu yağı, gıda ambalaj filmi.

Teşekkür: Çalışma, YL tez çalışmamın bir parçası olup FYL-2023-2881 proje ESOGÜ BAP komisyonunca desteklenmiştir.

Gıda Endüstrisi Atık Suyunun Genotoksisitesinin Belirlenmesi

Ferhan Korkmaz[2], Belma Nural Yaman[3], Ayşe Gül Ketencioğlu[1]

[1]Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir
[2]Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir
[3]Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Eskişehir

aysektnc.5@gmail.com

Giriş

Gıda sektörü, tarım sektöründen sağladığı hammaddeleri birden çok üretim süreci sonucunda tüketime hazır, belirli bir süre saklanabilen ürünlere dönüştüren sanayi kolu olarak tanımlanmaktadır. Gıda fabrikalarında üretimin ardından büyük miktarlarda atık su ortaya çıkmaktadır. Atık sular içeriğinde çeşitli hastalıklara sebep olan mikroorganizmalar taşımaktadır. Ayrıca zararlı kimyasallar içerebileceğinden dolayı atık su kaynaklı hastalıklar, çevre ve sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Bu çalışmada Eskişehir' de bulunan bir gıda üretim fabrikasının arıtım öncesi ve arıtım sonrası atık sularının akut toksisitesi, sitotoksisitesi ve genotoksisitesi belirlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Gıda endüstrisi atık suyunun arıtım öncesi ve arıtım sonrası atık sularına RAPD-PCR, Mikrotoks ve *Allium* testi uygulanmıştır. RAPD-PCR testinde saf su ve atık su ile hazırlanan besiyerlerinde üretilen *Klebsiella pneumoniae* DNA' ları ile 4 farklı primer (OPAR3, OPAR8, AP4 ve Primer 640) kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR sonucunda matrisler ve dendrogramlar oluşturulmuş, genomik kalıp kararlılığı (GKS) değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Image Lab ve PyElph bilgisayar programları kullanılarak değerlendirilmiştir. Mikrotoks testinde *Vibrio fischeri* bakterisi kullanılarak akut toksisite değerlendirilmiştir. *Allium* testi Fiskesjö (1985)' e göre yapılmıştır. Yöntemde belirtilen adımlar izlenerek hazırlanan preparatlardan mikroskopta görüntü alınarak hücre sayımı yapılmış, mitotik indeks hesaplanarak sitotoksisite, kromozomal aberasyon indeksi hesaplanarak genotoksisite belirlenmiştir. Sonuçlar SPSS 28.0.0.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular

RAPD-PCR analizinde arıtım sonrası atık su GKS değerlerinin, arıtım öncesi atık su değerlerine göre arttığı belirlenmiştir. Bu da genotoksik etkinin azaldığını göstermektedir. Mikrotoks testi sonucunda akut toksik etki gözlenmemiştir. *Allium* testi sonuçlarında arıtım öncesi 24 ve 48 saat uygulamalarında bazı konsantrasyonların kontrole göre mitotik indeks ve kromozomal aberasyon indeksleri arasında anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir. Arıtım sonrası 24 ve 48 saat uygulamalarında konsantrasyonların kontrole göre mitotik indeks ve kromozomal aberasyon indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Yapılan testlerin analiz sonuçlarına göre, *Allium* testinin sonuçları RAPD yönteminde elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Her iki yöntemde de arıtım sonrası atık suyun genotoksisitesinin ortadan kalktığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Gıda endüstrisi, atık su, genotoksisite, RAPD-PCR, Allium test, mikrotoks.

Tunrs İki Bileşenli Sistemin *Streptomyces clavuligerus*'ta Sefamisinc ve Klavulanik Asit Üretimi Üzerindeki Düzenleyici Etkisi

Çiğdem Otur[1], Ömer Konuksever[1], Fulya Özaydın[1], Sezer Okay[2], Sedef Tunca-Gedik[3], Aslıhan Kurt-Kızıldoğan[1]

[1] *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Samsun 55139.*
[2] *Hacettepe Üniversitesi, Aşı Enstitüsü, Aşı Teknolojisi Bölümü, Ankara 06230.*
[3] *Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli 41400.*

cigdem.tbt@gmail.com

Giriş

Dünyadaki başlıca ölüm sebepleri arasında enfeksiyon hastalıkları gelmekte olup tedavide en önemli araç sekonder metabolitler özellikle de antibiyotiklerdir. *Streptomyces clavuligerus* güçlü bir β-laktamaz inhibitörü olan klavulanik asidin (CA) ve β-laktam antibiyotiklerinden sefamisin C (CephC)'nin endüstriyel üreticisidir. İki bileşenli sistemler çevresel faktörlerdeki değişikliklere yanıt vermenin yanında, aynı zamanda *Streptomyces* sp.'de gelişmeyi ve antibiyotik üretimi gibi sekonder metabolizmayı da etkilerler. Çalışmamızın amacı, *S. clavuligerus*'ta tunRS genlerinin genomdan silinmesi ve aşırı ifadesi sonucunda iki farklı besiyerinde CA ve CephC üretimlerinde meydana gelecek değişikliklerin tespit edilmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu amaçla, *S. clavuligerus*'ta tunRS (*SCLAV_4289-4290*) genleri *Sce-I* meganükleaz stratejisiyle genomdan silinerek *S. clavuligerus* deltatunRS mutantı oluşturulmuştur. Komplementasyon için ise tunRS genleri kendi promotoru altında pSET152 vektörüne klonlanıp ilgili mutantın kromozomuna entegre edilmiştir. Southern blotla genlerin delesyonu doğrulanmıştır. Aşırı ifade için tunRS genleri gliserolle uyarılabilen *glpF* promotoru altında pSPG vektörüne klonlanmış ve ardından *S. clavuligerus* hücrelerine replikatif formda aktarılmıştır (*S. clavuligerus* pSPGtunRS). Ayrıca, *S. clavuligerus* pSPG vektör kontrolü oluşturulmuştur. Kontrolle birlikte suşların TYD ve MYM besiyerlerinde fermantasyonları yapılarak kültür süpernatanlarındaki CephC ve CA üretimleri agar kuyucuk difüzyon deneyi ile karşılaştırılmıştır. Kontrol ve manipüle suşların üreme ve antibiyotik üretimleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önem değeri iki yönlü ANOVA ve Bonferroni *post hoc* testi ile belirlenmiştir.

Bulgular

MYM ile yapılan fermantasyonda *S. clavuligerus* deltatunRS mutant suşu kontrole kıyasla (*S. clavuligerus*) daha zayıf şekilde üremiştir. Genel olarak genin delesyonu sonucunda mutant suşta kontrole kıyasla fermantasyonun 48. saatinde 83 kat daha daha yüksek spesifik CA üretimi (p<0.001) gerçekleşmiştir. Spesifik CephC üretimi ise aynı saatte yaklaşık 2,5 kat daha fazladır (p<0.01). TYD fermantasyonunda ise, genel olarak üreme 24. saatte en iyi değerlerini vermiştir. Ayrıca, *S. clavuligerus* deltatunRS mutant ve *S. clavuligerus* pSPGtunRS overekspres suşu kontrol suşuna kıyasla sırasıyla 7 kat (t_{24}) (p<0.01) ve 3,8 kat (t_{96}) (p<0.01) daha fazla spesifik CA ve CephC üretimi sağlamıştır.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, *S. clavuligerus*'ta tunRS iki bileşenli sistemin CA ve CephC üretimleri üzerinde düzenleyici etkiye sahip olduğu ilk kez bu çalışmayla ortaya konmuştur. Ayrıca, yüksek CA üreticisi bir endüstriyel suş prototipi elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Streptomyces clavuligerus*, iki bileşenli sistem, fermantasyon, antibiyotik.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 121Z821 kodlu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Tenebrio molitor'un Büyüme ve Gelişimindeki Besin Etkisi ile Bağırsak Mikrobiyota İlişkisinin Kültüre Bağlı Analizi

Osman Yüksel[1], Ceren Göç[1], Ebru Ceren Fidan[1], Belma Nural Yaman[1], Davut Ümit Şirin[1], Hülya Altuntaş[3], Pınar Aytar Çelik[4], Ahmet Çabuk[1]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.*
[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Eskişehir.*
[3]*Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.*
[4]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir Meslek Yüksek Okulu, Çevre Koruma Kontrol Programı, Eskişehir.*

ebruceren@ogu.edu.tr

Giriş

Bu çalışmada *Tenebrio molitor*'ün polietilen içeren plastikleri tüketme potansiyelinin ve polietilen ile beslenmenin böceğin gelişimine etkisinin belirlenmesinin yanı sıra polietilen tüketiminin bağırsak mikrobiyotasında bir değişime neden olup olmadığının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu amaçla normal kültür besini ile beslenen bireyler ve polietilen ile beslenen bireylerin büyüme ve gelişim parametreleri karşılaştırılmış ve polietilen ile beslenmenin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkisi araştırılmıştır. Polietilen ile beslenen ve beslenmeyen bireylerin bağırsak mikrobiyotası kültüre bağlı yöntemlerle analiz edilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışma kapsamında standart koşullarda kepek ve polietilen ile beslenen *Tenebrio molitor*'un bağırsak mikrobiyotasının kültüre bağlı analizi gerçekleştirilmiştir. Bağırsak içeriği, iki farklı besiyerinde, aerobik ve anaerobik ortamlarda 37 ve 25 °C'de kültüre edilmiştir. İzole edilen bakterilerin gram özellikleri belirlenmiştir. Genomik DNA izolasyonu yapılan izolatların 16S rRNA geni polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifiye edilmiştir. Elde dilen PCR ürünleri dizi analizine gönderilmiş ve BLAST'da align edilmiştir.

Bulgular

İki farklı besiyeri ve 2 farklı sıcaklıktan 11 mikroorganizma izole edilmiştir. Gram (+) ve Gram (-) özellikteki bakteri izolatlarının16S rRNA genleri 27F primeri ile dizilenmiştir. Dizilerin BLAST'da align edilmesi ile 11 izolat için *E. coli, T. intestinalis, L. taiwanensis, L. lactis, E. bacterium* türleri tanımlanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmanın sonucunda, kepek ve polietilen beslenen *T. molitor*'un bağırsağından sırası ile 3 ve 8 izolat edilmiştir. En sık gözlenen bakteriler, *T. intestinalis* ve *L. taiwanensis* olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tenebrio molitor, polietilen, plastik degredasyonu, bağırsak mikrobiyotası.

Teşekkür: Bu çalışma 2209 kodlu TÜBİTAK BİDEB Burs Programı ile desteklenmektedir.

Soğuk Plazma ile Aktifleştirilmiş Su: *Enterococcus faecalis* Biyofilmleri ile Mücadelede İleriye Yönelik Bir Strateji

Ethem Serhat Yavaş[1], Çağrı Durmuş[2], Pınar Aytar Çelik[1], Tamer Akan[2], Ahmet Çabuk[1]

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

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

ethemserhatyavas@gmail.com

Giriş

Diş hekimliğinde, *Enterococcus faecalis* periodontal dokularda, kök kanalları ve implant çevresinde enfeksiyonlara sebep olabilmektedir ve biyofilm oluşturabilme yeteneği nedeniyle yok edilmesi oldukça zordur. Günümüzde kimyasal kullanımına kıyasla soğuk plazma (SP) yeni bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Suyun plazma ile aktivasyonu aktif bileşenlere sahip bir sıvı oluşturur. SP ile sıvı aktivasyonunda, plazmanın gaz fazından ve plazma-sıvı arayüz etkileşiminden üretilen türler, sıvı fazda bulunan reaktif oksijen ve nitrojen türevleri üretir. Bu nedenle PAW; dental cihazların dekontaminasyonu, oral enfeksiyon hastalıkları, yara iyileştirme ve diş beyazlatmada kullanılmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Poli-lisin kaplı cam yüzeylerde büyütülen *E. faecalis* (ATCC 29212) biyofilmleri üzerine PAW uygulanmıştır. PAW, dielektrik bariyer deşarj (18.000 volt ve 15.000 Hz voltaj) plazması kullanılarak üretilmiştir. Bakteri kültürü, hücre sayısı $1x10^8$ CFU/mL olacak şekilde 24 kuyucuklu plaka içerisine eklenmiştir. Kuyucuklara 1x1 cm^2 boyutunda camlar yerleştirilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda, camlar steril PBS ile yıkanmış ve içerisinde taze besiyeri olan yeni kuyucuklara aktarılmıştır. Tekrar 24 saatlik inkübasyon sonunda, üzerinde 48 saatlik biyofilm oluşan camlar çıkarılıp PBS ile yıkandıktan sonra PAW ile 3 ve 10 dk muamele edilmiştir. Steril serum fizyolojik bulunan başka bir tüpe alınan camlara 10 dk sonikasyon işlemi uygulanmıştır ve bu sıvıdan 100 µL alınarak MRS agar üzerine yayma ekim yapılmıştır.

Bulgular

Bu çalışmada; plazma ile aktive edilmiş su uygulamasının *E. faecalis* biyofilmleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonrası plakalar incelendiğinde; 3 dakikalık uygulama ile 10 dakikalık uygulama sonrasında, kontrol plakalarına göre hücre sayısında ciddi azalmalar gözlenmiştir. Uygulama süresi uzatıldıkça, PAW'ın etkinliğinin arttığı gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Suyun soğuk plazma ile aktivasyonu, PAW olarak adlandırılan aktif bileşenlere sahip bir sıvı oluşturur. 10 dakika PAW muamelesine maruz kalan *E. faecalis* biyofilmlerinde önemli ölçüde eradikasyon meydana gelmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Enterococcus faecalis*, biyofilm, soğuk plazma, PAW.

Keratinaz Üretimi ve Karakterizasyonu: Doğal İzolat *Bacillus proteolyticus*

Aboubacar Sıdiki Dansako[1], Mete Karaboyun[2], Fatıma Masume Uslu[2], Damla Sihay[2], Hatice Korkmaz Güvenmez[3]

[1]Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana
[2]Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana
[3]Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Adana

hkorkmaz@cu.edu.tr

Giriş

Keratinazlar; suda çözünmeyen keratin substratları parçalama yeteneği ve substrat çeşitliliği nedeni ile yoğun çalışılan, enzim pazarı için kıymetli, hücre dışına salınan proteolitik enzim sınıfıdır. Deri, deterjan, tekstil, yem endüstrisinde (prionların arındırılmasında), medikal uygulamalarda (akne, nasır tedavisi, prion kontaminasyonlu materyallerin temizlenmesi), ilaç üretiminde (topikal ilaçların tırnak ve deriden geçişini arttırıcı etki) yaygın ve etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Mikroorganizma kökenli proteazlar endüstriyel enzimlerin en büyük gruplarından birini temsil eder. Bu araştırmada, doğal izolat *Bacillus proteolyticus*'tan keratinaz üretim koşullarının optimizasyonu ve keratinazın karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Keratinolitik *Bacillus proteolyticus* yoğun keratin içeren Çukurova Üniversitesi Tavuk Üretim Çiftliği atık alanından izole edilmiştir. Keratinaz üretimi için Temel Tüylü Besiyeri (NH_4Cl, NaCl, K_2HPO_4, KH_2PO_4, $MgCl_2.6H_2O$, Maya, Öğütülmüş Tavuk Tüyü) kullanılmıştır. Keratinaz aktivitesi keratin-azure yöntemi ile serbest kalan azo boyasının kolorimetrik yöntemle ölçülmesi ile belirlenmiştir. Seçilen izolatlar arasından en yüksek aktivite gösteren suş 16S rRNA analizi ile tanılanmıştır. Enzim karakterizasyonu için çeşitli tamponlar (Sitrat-Fosfat, Sodyum-Fosfat, Glisin-NaOH, Borax-NaOH), çeşitli kimyasallar (EDTA, Tween-20, Üre, SDS) ve metal iyonları ($ZnCl_2$, $MgCl_2$, $NiCl_2$, $CaCl_2$, $HgCl_2$, $CuCl_2$) tercih edilmiştir.

Bulgular

Toplam 63 Bacillus izolatından en yüksek aktivite gösteren 30 nolu suş, 16S rRNA analizi ile *Bacillus proteolyticus* (%100 benzerlik, OK605868.1) olarak belirlenmiştir. Optimum üretim koşulları pH=8,0 ve 30ºC; enzimin optimum aktivitesi pH: 9,0 ve 50 ºC'de saptanmıştır. Enzim 50-100 ºC'lerde 30 dk inkübe edildiğinde 50 ºC'lik ön inkübasyondan sonra aktivitesini yüksek oranda (%90) korumuş, 70 ºC'nin üzerinde aktivite tamamen inhibe olmuştur. Kimyasallar ve metal iyonlarının 1-5 mM konsantrasyonları ile 30 dk ön inkübasyonundan sonra; Tween 20 (%215) ve SDS'nin (%204) önemli oranda aktiviteyi arttırdığı, EDTA (%76), Üre (%40), $ZnCl_2$ (%28), $MgCl_2$ (%51), $NiCl_2$ (%24), $CaCl_2$ (%56), $HgCl_2$ (%0) ve $CuCl_2$ (%83)'ün aktiviteyi azalttığı gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

*B. proteolyticus'*un mezofil ve alkali koşullarda optimum enzim üretme yeteneğinde olduğu; üretilen alkali, termotolerant enzimin, deterjanların varlığında yüksek düzeyde aktivite artışı deterjan endüstrisi için eşsiz olduğunu kanıtlar niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus proteolyticus*, keratinaz, enzim, karakterizasyon.

Teşekkür: Çukurova Üniversitesi BAP birimi tarafından Proje No: FYL-2021-13486 ile desteklenmiştir.

Anaerobik Çürütücüde Lignin Parçalayan Anaerobik Mikrobiyal Konsorsiyumun Biyo-Değerlendirilmesi

İbrahim Cem Özsefil[1], İbrahim Halil Miraloğlu[1], Emine Gözde Özbayram[2], Bahar İnce[1], Orhan İnce[3]

[1]Boğaziçi Üniversitesi, Çevre Bilimleri Enstitüsü, İstanbul
[2]İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, İstanbul
[3]İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Mühendisliği Fakültesi

ibrahim.ozsefil@boun.edu.tr

Giriş

Lignin, doğada en bol bulunan aromatik yapılardan biridir. Her yıl atık olarak yüksek miktarlarda üretilen lignin, aynı zamanda önemli bir enerji ve değerli kimyasal kaynağı olma potansiyeline sahiptir. Ancak, inatçı yapısı nedeniyle ayrıştırılması oldukça zordur. Beyaz çürükçül mantarlar gibi biyolojik olarak lignini parçalayan organizmalar üzerinde yoğun araştırmalar yapılmasına rağmen, etkili lignin parçalanmasını gerçekleştirme potansiyeline sahip olabilecek mikroorganizmalar henüz keşfedilmemiştir. Son zamanlarda, biyolojik büyütme, seçilen kültürlere mikroorganizmalar ekleyerek mikrobiyal aktiviteyi önemli ölçüde artırabilen etkili bir strateji olarak gösterilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, İğneada taşkın yatağı ormanlarından izole edilen örneklerden zenginleştirilen mikrobiyal topluluğun anaerobik çürütücülerde lignin parçalama potansiyeli analiz edilmiştir. Bu amaçla, %20'si tohum çamuru olan 450 mL aktif hacimli reaktöre 60 mL zenginleştirilmiş mikrobiyal kültür eklenmiş ve zenginleştirme işlemiyle aynı koşul olan 25°C'de 30 gün boyunca Otomatik Metan Potansiyeli Test Sistemi (AMPTS) II'de işlenmiştir. Karbon kaynağı olarak sadece alkali lignin kullanılırken, inokulum-substrat (I:S) oranı 2 olarak elde edilmiştir.

Bulgular

Sonuç olarak, biyometan üretim miktarının boş, kontrol ve biyolojik olarak zenginleştirilmiş kültür reaktörleri için sırasıyla 73, 111 ve 167 ml gvs-1 olduğu belirlenmiştir. Böylece, zenginleştirilmiş kültür ek inokulum olarak kullanıldığında biyogaz üretim verimi %50'den fazla artmıştır. Zenginleştirme kültürünün bakteri topluluğuna *Sporomusa termitida, Desulfitobacterium hafniense, Citrobacter freundii, Citrobacter portucalensis, Alkalibacter rhizosphaerae* ve *Gudongella oleilytica* hâkim olduğundan, bu konsorsiyumun lignin parçalanmasında etkili olduğu ve lignin bakımından zengin substratı işleyen anaerobik çürütücülerde biyolojik güçlendirme kültürü olarak kullanılabileceği bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak, zenginleştirilmiş olan mikrobiyal komünitenin biyolojik güçlendirme kültürü olarak ligninin anaerobik sindiriminde kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anaerobik lignin parçalanması; biyo-yükseltme; metagenomik.

Yüksek Verimde Polihidroksibütirat Üreticisi *Halomonas halmophila* 18H Suşunun Tüm Genom Analizi

Kübra Erdoğan-Göver[1], Pınar Aytar Çelik[1], Dilan Barut[1], Blaise Manga Enuh[1], Belma Nural Yaman[2], Mehmet Burçin Mutlu[3], Ahmet Çabuk[1]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*
[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Eskişehir*
[3]*Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir*

erdgnn.kbr@gmail.com

Giriş

Biyoplastikler, geleneksel plastiklerin artan çevresel sorunlarına karşı alternatif olarak değerlendirilen, biyolojik kökenli polimerler olarak ilgi odağı haline gelmiştir. Mikroorganizmalar tarafından doğal olarak sentezlenebilen polihidroksibütiratlar (PHB), biyoplastikler arasında önemli bir yere sahiptir ve depolimerizasyon yoluyla çevreye zarar vermeden biyolojik olarak parçalanabilmesi plastik endüstrisinde tercih edilebilirliğini artırmıştır. Bu bağlamda, PHB'nin ekonomik açıdan rekabetçi bir şekilde biyosentezinin gerçekleştirilebilmesi; yüksek verimde üretim sağlayan mikroorganizmaların tanımlanması ve bu mikroorganizmaların genomik potansiyellerinin kapsamlı bir şekilde karakterizasyonunu gerektirmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Önceki çalışmamızda, yüksek verimde PHB ürettiği tespit edilen *Halomonas halmophila* 18H suşunun genomik DNA'sı Illumina NGS teknolojisi ile dizilenmiştir. Verilerin kalite analizi için FASTQc V0.11.9 kullanılmış ve ardından Unicycler V0.4.8 ile PATRIC'te toplanarak sıralanmıştır. Genom annotasyonu, PROKKA, RASTtk V3.6.9 ve PATRIC kullanılarak gerçekleştirilmiş, genler ve ortolog grup kümeleri, EggNOG aracılığıyla belirlenmiştir. Metabolik yollar KEGG otomatik annotasyon sunucusu ile tekrar yapılandırılmıştır. Protein özellikleri NCBI, UniProt ve Swiss-Prot veritabanlarında kontrol edilen açıklamalı dizilerle belirlenmiştir. Tüm sonuçlar birleştirilerek genom özelliklerini gösteren haritalar CGView genom görüntüleme aracı ile oluşturulmuştur. Halomonas türleri için tüm genom ortolog kümeleri OrthoVenn2 kullanılarak karşılaştırılmış ve sekonder metabolit kümeleri antiSMASH V6.1.1 ile belirlenmiştir. *H. halmophila* 18H suşunun filogenetik analizi MEGA X kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Yüksek verimde PHB üreticisi olan *H. halmophila* 18H suşunun tüm genom analizi sonucu, genomunun birçok *Halomonas* türlerinin genomuna kıyasla daha büyük olduğu ve %59,9 oranında GC içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Genomun çeşitli konumlarında PHB biyosentetik yolağına ait *phaA*, *phaB* ve *phaC* genlerinin varlığı saptanmıştır. Ayrıca genomunda diğer *Halomonas* türlerine kıyasla yaklaşık %20 daha fazla protein kodlayan genlerin olduğu belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Literatürde daha önce PHB ürettiği bildirilmeyen *H. halmophila* 18H, PHB ve biyoteknolojik açıdan önemli sekonder metabolitler üretmek için umut verici bir üretici olarak avantajlar sağlayabilecek benzersiz genomik özelliklere sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Polihidroksibütirat, Halofil, Tüm genom analizi

Bitkisel Ekstre Yüklü Lipozomal Salım Sistemi ve Yara İyileştirmeye Yönelik Biyolojik Aktiviteleri

Özlem Erdal Altıntaş[1,1], Pınar Aytar Çelik[2,2]

[1]*Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Şuhut Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Afyonkarahisar*
[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Afyonkarahisar*

ozlem.erdal.ege@gmail.com

Giriş

Antik çağlardan beri önemli etkileri ile bilinen tıbbi bitkiler, ciltle ilgili hastalıkların ve yaraların tedavisinde doğal ilaç olarak yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen bitkisel tedavilerin kullanımı, düşük çözünürlük, stabilite ve biyoyararlanım gibi sorunlara neden olmaktadır. Bu durum stabilizasyon platformlarının geliştirilmesini gerektirmektedir. Bu tür kısıtlamalar kolloidal dağıtım teknikleri ile aşılabilmektedir. Bu çalışma kapsamında *P. major* L. (Pm) ekstrelerinin lipozom yapıya yüklenmesi ile kontrollü bir salımın gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

P. major L. bitkisinden ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile su (Pm-dH_2O) ve etanol (Pm-EtOH) ekstreleri elde edilmiştir. Ekstrelerin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliği değerlendirilmiştir. Folin-Ciocalteu ve $AlCl_3$ kolorimetrik yöntemi ile ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid içeriği belirlenmiştir. DPPH radikaline karşı inhibisyon yüzdesi, ABTS, CUPRAC ve FRAP antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Biyoaktif özellikleri belirlenen ekstrelerin HDF hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Ekstreler, kontrollü salımın sağlanması amacıyla etanol enjeksiyon yöntemiyle lipozom yapılarına yüklenmiştir. Bitkisel lipozomların yüzey morfolojileri transmisyon elektron mikroskobu (TEM), yüzey yükleri zeta potansiyel ölçümü ve boyut dağılımı dinamik ışık saçılımı (DLS) kullanılarak karakterize edilmiştir. Lipozom yapıların santrifüj yöntemi ile yükleme etkinliği ve diyaliz yöntemi ile *in vitro* salım profili belirlenmiştir.

Bulgular

Pm-EtOH ekstresinin, Pm-dH_2O ekstresine göre düşük konsantrasyonlarda mikroorganizmaların büyümesini inhibe ettiği, DPPH radikaline karşı inhibisyon yüzdesinin, ABTS, CUPRAC ve FRAP antioksidan kapasitelerinin Pm-dH_2O ekstresinden daha yüksek olduğu ve ekstrelerin 72 saat boyunca HDF hücrelerinde sitotoksik etki göstermediği değerlendirilmiştir. Lipozom yapılarının küresel bir morfolojiye sahip olduğu ve negatif zeta potansiyel değerleri ile boyut dağılımlarının 452-537 nm arasında olduğu belirlenmiştir. Pm ekstereleri içeren lipozomların yüksek bir yükleme etkinliğine (%90,8 ve %86,3) sahip olduğu ve bitki ekstresi ile yüklü lipozomların, serbest bitki ekstrelerine kıyasla daha yavaş ve kontrollü bir salım gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Lipozom yapılar yüksek yükleme kapasitesi ile Pm ekstrelerini kapsüllemede başarılıdır. Elde edilen veriler Pm ekstreleri ile yüklenen lipozomların, yara iyileştirmeye yardımcı fonksiyonel kompozitler oluşturmada kullanılabileceği göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: antimikrobiyal, antioksidan, HDF, lipozom, *P. major* L.

Teşekkür: Bu çalışma ESOGÜ-BAP Koordinasyon Birimi tarafından FDK-2021-2174 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Probiyotik Preparat Geliştirilmesi için Endüstriyel Strain Eldesi ve Prototip Üretimi

Serhat Özdemir[1], Mehmet Buğra Güldiken[2], Serap Gedikli[2], Ahmet Çabuk[2,3]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Bölümü, Eskişehir.*
[2]*Microbiota Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret A.ş., Odunpazarı, Eskişehir.*
[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.*

serap@microbiota.com.tr

Giriş

Günümüzde mikrobiyal kaynakların kullanım alanları arasında, insan ve hayvan sağlığı için önemli bir uygulama alanı olan probiyotik gıda katkılarının üretilmesi yer almaktadır. Ülkemizde fermente ürünlerin hem endüstriyel hem de yerel olarak üretimleri oldukça yaygındır. Yerel üreticilerin sahip olduğu ve halk arasında genel olarak "maya" olarak tabir edilen mikroorganizmaların izole edilerek probiyotik özelliklerinin belirlenmesi, standardizasyonun sağlanarak doğru bir endüstrileşme süreci öncesi adımların planlanması bu çalışmanın kapsamını oluşturmaktır.

Gereçler ve Yöntemler

Mikroorganizmaların izolasyonu için probiyotik bakterilerin doğal olarak bulundukları ortamlardan birisi olan kefirden yararlanılmıştır. Saf kültür eldesi, identifikasyonu ve karakterizasyonu için MRS agar, MRS broth, M17 agar ve M17 broth besiyerleri kullanılmıştır. Saflaştırılan 44 adet mikroorganizmanın gram özellikleri belirlenerek ışık mikroskobu altında imersiyon merceği (100X) yardımıyla hücre morfolojileri incelenmiştir. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla asit, safra tuzu toleransları, ekzopolisakkarit (EPS) üretimi, asit üretimi, hidrofobisite yetenekleri, antibiyotik duyarlılıkları ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Probiyotik özelliğe sahip izolatların moleküler tanımlaması için DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolatlardan elde edilen 16S rRNA ürünlerinin dizi analizleri sonrası tanımlamaları NCBI "National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov)" tabanındaki BLAST programı ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Biyoinformatik analizlerin sonucunda probiyotik özelliği en iyi olan izolatın *Enterococcus durans* olduğu tespit edilmiştir. *Enterococcus durans* ve prebiyotik olarak kullanılan inulin ile hazırlanan sinbiyotik için gıda uygunluk testleri yapılmıştır. Farklı kullanım alanları için farklı sektörler ile çalışmalara devam edilmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmalar sonrasında elde edilen fiziksel, kimyasal ve duyusal analizler *Enterococcus durans'*ın probiyotik olarak kullanımı açısından umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, *Enterococcus*, endüstriyel strain.

Teşekkür: Bu çalışma KOSGEB tarafından desteklenmiştir.

ENDÜSTRİYEL BİYOTEKNOLOJİ POSTER SUNUMLARI

Tekstil Boya Maddelerinin Giderimde Kullanılabilecek Mikrobiyal Preparatların Geliştirilmesi

Alpaslan Tazearslan[1], Serap Gedikli[2], Ahmet Çabuk[1,2]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.*
[2]*Microbiota Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret A.Ş., Odunpazarı, Eskişehir.*

serap@microbiota.com.tr

Giriş

Atık suların uygun şekilde arıtılmadan su kütlelerine deşarjı, sucul flora, fauna ve son olarak insan sağlığı için çok sayıda önemli çevre ve sağlık sorununa neden olmaktadır. Bu kapsamda boyarmaddeleri de içeren tüm kirleticiler için farklı arıtma yöntemleri kullanılabilmektedir. Bu yöntemlere adsorpsiyon, pıhtılaşma/flokülasyon, gelişmiş oksidasyon prosesleri, ozonlama, membran filtrasyon, elektroflotasyon, elektrokinetik pıhtılaşma, elektrokimyasal imha, iyon değişimi, ışınlama, çökeltme ve biyolojik arıtmayı içeren fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler örnek olarak verilebilir. Bu çalışma kapsamında ise amaç boyarmadde ile kirlenmiş olan sucul ekosistemlerin arıtımında kullanılabilecek biyolojik materyallerin geliştirilmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Eskişehir Sarar Tekstil fabrikasından temin edilen Reaktif Siyah 8, Reaktif Mavi 72, Reaktif Mavi 13, Reaktif Turuncu 12, Reaktif Mavi 49 ve Reaktif Violet 1 olmak üzere 6 farklı boyarmadde ile, Microbiota Biyoteknoloji firmasının yapmış olduğu Ar-Ge çalışmalarında atık sulardan izole edilmiş olan bakteriyal bir izolatın biyosorbent olarak kullanılması ile renk giderimi deneyleri yapılmıştır. Bu kapsamda pH, çalkalama hızı, temas süresi, biyokütle miktarı optimizasyonları yapılmıştır. Optimum koşullarda SEM-EDX ve FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Reaktif Violet 1 için yapılan optimizasyon sonrasında modifiye edilmemiş biyokütle için belirlenen koşullar; boyarmadde konsantrasyonu ve pH' 50 ppm ve pH 2.0, çalkalama hızı 200 rpm, temas süresi 45 dk ve biyokütle miktarı ise 2.0 g/L'dir. Belirlenen optimum koşullarda hesaplanan biyosorpsiyon verimi %97,01 olarak belirlenmiştir. Manyetik özellik kazandırılmış biyokütle için belirlenen optimum koşullar ise; boyarmadde konsantrasyonu 50 ppm, pH 2.0, 200 rpm çalkalama hızı, 30 dk temas süresi ve biyokütle miktarı ise 2.0 g/l olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda gerçekleştirilen reaksiyon sonrasında elde edilen biyosorpsiyon verimi %99,48 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Endüstriyel arıtım süreçlerinde renk giderimde kullanılabilecek modifiye mikrobiyal preparat geliştirilmiş olup sektörde kullanımı umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: renk, giderimi, mikrobiyal, preparat.

Teşekkür: Bu çalışma YL tez çalışması kapsamında yapılmıştır.

Yabanil Tip ve Mutant Reverse Transkriptaz Enzimlerinin Rekombinant Sentezi ve qPCR Tabanlı SARS-CoV-2 Tanı Kitinde Kullanımı

Arife Kaçıran[1,2], Süleyman Hekim[1,2], Ayşe Nur Akmehmet[1,2], Sabriye Çanakçı[1], Efsun Eren Keleş [2], Ali Osman Beldüz[1]

[1]Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
[2]Eryiğit Tıbbi Cihazlar A.ş., Ankara.

407958@ogr.ktu.edu.tr

Giriş

Reverse transkriptazlar (RT), birçok moleküler uygulamada mRNA'dan cDNA sentezlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. RT-PCR, cDNA klonlama, gen ekspresyonu analizi ve yeni nesil RNA dizilemesi bu uygulamalar arasındadır. Günümüzde, murin lösemi virüsü, kuş miyeloblastoz virüsü ve HIV-1 virüslerine ait RT kullanılmaktadır. Bu çalışmada rekombinant üretimin yanısıra RT'nin nokta mutasyonu yolu ile aktivitesinin arttırılması ve PCR buffer'ının inhibitörlere karşı optimize edilmesi amaçlanmıştır. HIV-1 RT'ler doğruluk oranının düşük olmasına rağmen yüksek termostabilite ve polimerizasyon hızına sahip olmasından dolayı çalışmada tercih edilmiştir. Aynı zamanda üretilen enzimin qRT-PCR kitlerinde kullanımı amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

İlk olarak Revers Transkriptaz geni ekspresyon vektörüne klonlandı. Revers Transkriptaz geninde planlanmış olan mutasyonlar site directed mutagenez ile gerçekleştirildi ve ardından bu mutasyonlu genler de ekspresyon plazmidlerine klonlandı. RT proteinlerinin ekspres olup olmadığını teyit etmek amacıyla SDS-PAGE jel elektroforez yöntemi kullanıldı. Ekspresyon verimliliğini arttırmak için optimizasyon işlemi yapıldı. Hem doğal hemde mutant RT enzimleri AktaGo saflaştırma cihazında ayrı ayrı saflaştırıldı. Enzimlerin saflaştırmadan sonraki saflık kalitesinin değerlendirilmesi için SDS-PAGE jel elektroforezi kullanıldı. Saflaştırma sonucunda elde edilen enzimlerin aktivitesi hem cDNA sentezi reaksiyonu hem de qPCR reaksiyonu ile kontrol edildi. qPCR reaksiyon işleminde SARS-CoV-2 RNA örneği ve SARS-CoV-2 spesifik primer-problar kullanıldı. qPCR reaksiyonu hem ticari enzim ve bufferlar ile hem de tarafımızca üretilen enzim ve bufferlar ile gerçekleştirildi.

Bulgular

HIV-RT enziminin aktivitesini ve doğruluk oranını arttırmaya yönelik belirlenen mutasyonlar başarılı bir şekilde gerçekleştirildi. Doğal ve mutant RT enzimleri başarılı bir şekilde eksprese edildi. Saflaştırma işlemi için AktaGo saflaştırma cihazında metod optimizasyonu yapıldı ve enzimler başarıyla saflaştırıldı. Saf olarak elde edilen enzimlerin hem ticari buffer hem de labaratuvarda üretilen buffer ile SARS-CoV-2 qPCR reaksiyonu gerçekleştirildi ve çalıştığı görüldü. İki mutant enzimin (K65R ve V75I) RT aktivitesinin doğal RT aktivitesine yakın veya daha iyi olduğu gözlemlendi. Diğer iki mutant enzim (D76V ve R78A) ise ekspresyonları iyi olmasına rağmen çözünürlüğündeki problem nedeniyle ekspresyon sonrasında düşük miktarda elde edildi.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada üretilen doğal RT, K65R ve V75I mutant enzimler labaratuvar ortamında ve geliştirilmekte olan RNA virüsü tanı kitlerinde kullanılabilir. D76V ve R78A mutant enzimlerde çözünürlük probleminin aşılması için farklı çalışmalar yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: HIV-Reverse Transkriptaz, qPCR, mutant enzim varyantları, virüs tanı kiti.

Teşekkür: 3211159 numaralı TUBİTAK projesi kapsamında yapılan bu proje için TUBİTAK'a teşekürlerimizi sunarız.

Karotenoid Üreticisi Bakterilerden Ekstrakte Edilen Pigmentlerin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Tayini

Gaye Ekin Gürsoy Çalış[1], Başar Karaca[1], Arzu Çöleri Cihan[1]

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

gayek94@gmail.com

Giriş

Karotenoidler, güçlü antioksidan aktiviteleri ve provitamin A öncülü olmaları sebebiyle tıp alanında kanser, katarakt ve kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok hastalığa karşı koruyucu olarak, gıda ve yem sanayiinde besin takviyesi ve renklendirici olarak, kozmetik sektöründe ise UV hasarına karşı fotokoruyucu olarak sıklıkla kullanılan pigment gruplarıdır. Endüstriyel olarak oldukça geniş kullanım alanına sahip olan karotenoidlerin doğal yollardan elde edilmesi, tüketici sağlığı açısından önem arz etmektedir ve doğal karotenoidlere yönelik çalışmalar hız kazanmaktadır. Bu çalışmada *Exiguobacterium* cinsi izolatlardan ekstrakte edilen doğal pigment içeriklerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Doğal karotenoid üretimi için Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *Exiguobacterium* cinsi 5 izolat kullanılmıştır. Kültürler 37°C'de 72 saat inkübasyon sonrası santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılmış ve renkli pelletler metanolle çözülmüştür. 40 amplitude'de 5 dk boyunca sonikasyon ile hücreler patlatılarak pigmentler hücre dışına çıkarılmıştır. Pigment içerikleri evaporasyon ile toz haline getirilmiştir. Biyolojik aktivite tayini için hem DMSO hem de metanol ile çözülerek kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin taranmasında çeşitli Gram pozitif ve negatif patojenler değerlendirilmiştir. Örnekler, patojen yayılmış olan petrilere spotlanmıştır. Petriler 37°C'de 12-18 saat inkübe edilerek, oluşan şeffaf zonlar üzerinden antagonistik etki kontrol edilmiştir. Antioksidan aktivitenin taranması kapsamında katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-s-transferaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitelerine bakılmıştır.

Bulgular

Karotenoidler fonksiyonlarına göre provitamin A öncülü olanlar ve provitamin A öncülü olmayanlar olarak sınıflandırılırlar. Provitamin A öncülü olmayan karotenoidler daha aktif olduklarından genellikle antioksidan aktivite gösterirler. Çalışmada Exiguobacterium cinsine ait 5 izolattan ekstrakte edilen pigmentlerin, patojen cinslere ait üyeler üzerindeki antagonistik etkilerine bakılmıştır ve özellikle APT 13a, APT 14 ve APT 44 laboratuvar kodlu izolatların ürettikleri karotenoid pigment içeriklerinin test edilen enfekte insan ve tavuk patojenleri üzerinde antagonistik etkilerinin olduğu belirlenmiştir. APT 14 ve APT 20b laboratuvar kodlu izolatların ise GPx, GST ve SOD enzimlerini aktive ettiği saptanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Antioksidan aktivitesi olan karotenoidlerin farmasötik ve tıp, A vitamini öncülü olan karotenoidlerin ise gıda sektöründe kullanılabileceği düşünülmektedir. Karotenoidlerin gösterdikleri antagonistik etkiler kullanım sektörlerini genişletmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karotenoid, pigment, antioksidan, antimikrobiyal.

Tuzcul Alanlardan İzole Edilmiş Halofilik Mikroorganizmaların Proteaz Üretebilirliği

Gonca Gülfem Turan[1], Belma Nural Yaman[1,2], Ahmet Çabuk[1,3], Pınar Aytar Çelik[1,4]

[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, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

[4]Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir Meslek Yüksekokulu, Çevre Koruma Kontrol Programı, Eskişehir

goncagulfemturan@gmail.com

Giriş

Proteolitik bir enzim olan proteaz, ticari olarak yüksek kullanıma sahip enzimlerden biridir. Deterjan üretimi, deri endüstrisi, gıda ürünleri ve farmasötikler gibi çok farklı alanda kullanımı mevcuttur. Proteazlar bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar olmak üzere birçok temel kaynaktan elde edilebilirler. Mikroorganizmalar tarafından üretilen proteaz enziminin diğer kaynaklara göre tercih edilir olmasının nedenlerinden bazıları mikroorganizmaların hızlı büyüyebilmeleri, daha ekonomik koşullarda üretilebilmeleri ve kolay manipüle edilebilmeleridir. Halofilik mikroorganizmalardan elde edilen proteazlar ise yüksek tuz konsantrasyonları, düşük su seviyelerindeki aktiflikleri gibi özellikleri nedeniyle pek çok endüstri için ilgi çekicidir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada çeşitli tuzcul alanlardan izole edilmiş olan yaklaşık 100 adet halofilik mikroorganizmanın proteaz üretim yetenekleri araştırılmıştır. Mikroorganizmaların +4°C deki stok kültürlerinden modifiye besiyeri ortamına inokülasyon yapılarak bazal ortamda aşı kültürleri hazırlanmıştır. Süre sonunda kültürler enzim üretim ortamına alındıktan sonra inkübe edilmiştir. Elde edilen süpernatant ham enzim kaynağı olarak proteaz aktivite tayininde kullanılmıştır. Proteaz aktivite tayini Anson Yöntemine göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Enzim örneklerindeki protein miktarı Bradford yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Her bir izolat için bulunan değerler göz önüne alınarak spesifik aktivite saptanmıştır.

Bulgular

Araştırılan 100 adet halofilik mikroorganizmanın değişen oranlarda proteaz enzimi ürettikleri tespit edilmiştir. Enzimlerin spesifik aktiviteleri 1,10-14,01 U/mg arasında değişmektedir. #54 kodlu izolat 14,01 U/mg ile en yüksek üretici olarak belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Yapılan çalışmada halofilik mikroorganizmaların genel olarak ekstraselüler proteaz üretim yeteneklerinin varlığı tespit edilmiş, taranan mikroorganizmaların proteaz enziminin potansiyel üreticileri olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Proteolitik enzim, proteaz, halofilik mikroorganizmalar, enzim aktivitesi

Bazı Ekstremofilik Mikroorganizmalardan Proteaz Enzim İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Mehmet Buğra Güldiken[1,2], Volkan Kılıç[1]

[1]*Eskişehir Teknik Üniversitesi*
[2]*Microbiota Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi*

bugra@microbiota.com.tr

Giriş

Enzimler, katalizör özellikleri, substrat özgünlüğü ve reaksiyon koşullarından etkilenmemeleri gibi özelliklerle donatılmış doğal biyokatalizörleridir. Bu benzersiz özellikleri sayesinde biyoteknoloji araştırmalarının önde gelen alanlarından biri olan biyoproseslerde enzim uygulamaları önemli bir konuma sahiptir. Enzimlerin büyük bir kısmı mezofillerden elde edilmesine rağmen, yüksek sıcaklıklarda, pH'da ve iyonik kuvvette sınırlı kararlılıkları nedeniyle mezofillerden elde edilen enzimlerin uygulamaları sınırlıdır. Bununla birlikte biyosfer, ekstrem koşullarda (örneğin, soğuk okyanuslar ve kuru, tuzlu çöller), işlev görebilen enzimlere sahip çok sayıda ekstremofilik mikroorganizma içerir.

Gereçler ve Yöntemler

Proteaz üreticisi bakterilerin izole edilmesi amacı ile, Kütahya Simav ilçesinde yer alan Çitgöl termal kaplıcasının tesis ana su çıkış hatlarından 2021 yılının şubat ayı içerisinde termal su örnekleri alınmıştır. Örnekler termoslar ile laboratuvara getirilerek, yayma ekim yapılarak 55°C'de inkübasyon süreci başlatılmıştır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonrası koloni sayımları gerçekleştirilmiştir. Farklı morfolojilerdeki koloniler taze besiyerlerine alınmıştır. Saf kültürlerin elde edilebilmesi için çizgi ekimler yapılmış ve tek koloniler yeni besiyerlerine aseptik koşullarda aktarılmıştır. Su örneklerinden ICP analizi yapılarak içeriğindeki elementler belirlenmiştir. Seçilen izolatlar ile gram boyama yapılmıştır ve morfolojiler belirlenmiştir. Sonrasında DNA izolasyonu gerçekleştirilerek PCRile amplifikasyon işlemine geçilmiştir. Tanımlanan izolatların proteaz üretim yetenekleri; proteaz aktivite tayini ve toplam protein tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Çitgöl kaplıcalarından alınan su örnekleri termofilik mikroorganizma örneklerine has besiyerlerine 0,1 ml alınarak ekimler yayma ekim tekniği ile yapılmıştır. 55°C'ye ayarlanmış inkübatörde çoğalmaya bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra dilüsyon uygulanarak katı ortamlara alınan izolatların inkübasyonu sonrası, tek koloni düşürme amaçlı yapılan çizgi ekimlerin sonucuna göre 8 farklı izolat saflaştırılmıştır. Elde edilen 8 izolatın DNA dizi analizi işlemleri de gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi sonuçları çizelgede belirtilmiştir. Dizi analiz NCBI Blast sistemi kullanılarak eşleştirilmiştir. Proteaz aktivite sonuçlarına göre en yüksek aktivite T5 izolatı (Brevibacillus borstelensis (strain Gp-1) olarak belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Ekstrem koşullarda yaşayan ekstremofil mikroorganizmaların üretmiş olduğu enzimler, endüstrinin kullanımına sunulmak için önemli bir biyoteknolojik ürün haline gelmiştir. Yüksek sıcaklığa dayanıklılık en önemli özelliklerindendir.

Anahtar Kelimeler: Termofilik mikroorganizmalar, proteaz, karaktarizasyon.

Bakteri Kaynaklı Prodigiosin Pigmentinin Üretim Koşullarının Taguchi Yöntemiyle Optimizasyonu

Muhammed Koç[1], Gökay Varış[1], Abdullah Güven Dikel[2], Ardahan Eski[3,4]

[1]Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Bilecik
[2]Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik
[3]Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, Bilecik
[4]Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik

muhammedkoc444@gmail.com

Giriş

Bakteriyel pigmentler biyoteknolojik açıdan öneme sahip sekonder metabolitlerdir. İnsan sağlığı üzerinde toksik ve kanserojen olmaması nedeniyle pigmentlerin biyoteknolojik önemi artmıştır. Bakteriyel pigmentlerin antikanser, antioksidan, antienflamatuvar, antimikrobiyal ve insektisidal aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir. Bu çalışmada, geniş bir alanda kullanılabilme potansiyeli olan prodigiosin pigmentinin üretim koşulları, istatistiksel bir yöntem olan Taguchi metodu ile optimize edilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Serratia marcescens Se9 izolatı tarafından üretilen prodigiosin pigmentinin üretim sürecine etki eden besiyeri, sıcaklık ve inkübasyon süresi ile pigment ekstraksiyonunda kullanılan solventin optimizasyonu Taguchi yöntemi ile belirlendi. Belirlenen 4 faktör ve her faktörün 3 seviyesi için Taguchi L9 ortagonal düzlemi kullanılarak faktörlerin etkisi 9 deney ile test edildi. Ekstraksiyon sonrası rotary evaporatör kullanılarak solvent uzaklaştırıldı ve elde edilen pigment tartılarak miktarı belirlendi. Sonuçlar sinyal-gürültü oranı ve varyans analizi ile değerlendirilerek faktörlerin etki dereceleri ve optimum koşullar belirlendi. Belirlenen optimum koşullarda bir doğrulama deneyi gerçekleştirilerek tahmin edilen değer ile karşılaştırıldı.

Bulgular

Taguchi yöntemiyle belirlenen deneylerin gerçekleştirilmesi sonucunda, en yüksek pigment üretimi nutrient agar besiyerinde 30°C'de 72 saat inkübe edilen kültürlerden metanol ile ekstraksiyonla elde edilirken, pepton gliserol agar besiyerinde 37°C'de 72 saat inkübe edilen kültürlerden aseton ile ekstraksiyon sonucunda pigment elde edilemedi. İstatistiksel analizler sonucunda test edilen tüm faktörlerin pigment üretimini etkilediği, bununla birlikte sürece etki eden en önemli faktörlerin sıcaklık (%56,48) ve solvent (%28,06) olduğu belirlendi. Ayrıca, triptik soy agar besiyerinde, 30°C'de 96 saat inkübe edilen kültürlerden metanol ile ekstraksiyon sonucunda maksimum pigment elde edilebileceği belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

Belirlenen optimum koşulların validasyon deneyleri ile doğrulanması sonucunda, prodigiosin pigmentinin üretim sürecinin optimizasyonu Taguchi yöntemi ile başarılı bir şekilde gerçekleştirildi.

Anahtar Kelimeler: bakteriyel pigment, prodigiosin, Taguchi metodu, optimizasyon

Teşekkür: Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 221O394 numaralı projenin bir parçasıdır.

Mikrobiyal DNA Analiz Sistemleri-Midas Bakteriyal DNA İzolasyon Kiti

Serhat Özdemir[1,2], Serap Gedikli[2], Mehmet Buğra Güldiken[2], Ahmet Çabuk[2,3]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Bölümü, Eskişehir.*
[2]*Microbiota Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret A.ş., Odunpazarı, Eskişehir.*
[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.*

serap@microbiota.com.tr

Giriş

Mikroorganizmalar yaşamın kimyasal ve fiziksel temelini anlamak için önemli araçlarımızdır. Sahip oldukları özellikler ile tıp, tarım, endüstri, gıda ve hayvancılık alanlarındaki birçok önemli probleme çözüm sunarlar. DNA'nın direkt izolasyonu, mikoorganizmaların kültüre edilmeden tanımlanması ve daha önceden izole edilmiş kültürlerin sınıflandırılması için kullanılmaktadır. Kompleks bir ekosistemdeki mikroorganizmaların saptanması ve tanımlanması için DNA izolasyonu ilk basamağı oluşturur. Burada önemli olan DNA'nın yüksek oranda ve saf bir şekilde elde edilmesidir. Çalışmanın amacı ise yüksek saflık ve verim ile zamandan tasarruf sağlayan bir DNA izolasyon kiti geliştirmektir.

Gereçler ve Yöntemler

Manyetik kürecikler kullanılarak geliştirilen DNA izolasyon kiti için öncelikli olarak lizis aşaması optimize edilmiştir. Bu kapsamda lizis tampon bileşenleri, liziz inkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi belirleme çalışmaları yapılmıştır. Sonraki aşama olan bağlanma basamağı için ise; bağlanma tamponu bileşenlerinin belirlenmesi, manyetik küreciklerin boyut, yüzey alanı ve Fe oranı gibi parametrelerinin belirlenmesi, bağlanma inkübasyon süresinin optimizasyonu yapılmıştır. Yıkama aşaması için tampon bileşenleri, süre ve yıama sayısının belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır. Son basamak olan elüsyon aşamasında, tampon bileşenleri, sıcaklık ve süre parametreleri optimize edilmiş ve protokol en verimli hali ile oluşturulmuştur.

Bulgular

Yapılan çalışmalar sonrasında, 25, 50 ve 100 reaksiyonluk bakteriyel DNA izolasyon kiti geliştirilmiştir. Kitin içeriğini, lizis tamponu, bağlanma solüsyonu, yıkama tamponu I, yıkama tamponu, elüsyon tamponu ve manyetik tüplükten oluşturmaktadır.

Sonuç ve Tartışma

Bakteriyel DNA izolasyon kiti araştırma amaçlı moleküler biyoloji uygulamalarında kullanılmak üzere geliştirilmiş olup tanı amaçlı uygulamalar için valide edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: DNA, izolasyon, bakteriyal.

Teşekkür: Bu çalışma KOSGEB tarafından desteklenmiştir.

Azotobacter vinelandii ve *Bacillus megaterium*'un Biyoreaktörde Üretim Koşullarının Optimizasyonu

Serhat Özdemir[1,2], Serap Gedikli[2], Mehmet Buğra Güldiken[2], Ahmet Çabuk[2,3]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Bölümü, Eskişehir, Türkiye*

[2]*Microbiota Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret A.ş., Odunpazarı, Eskişehir.*

[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir.*

serapgedikli@gmail.com

Giriş

Biyoreaktörlerde mikroorganizmaların optimum üreme koşullarını sağlamak için çeşitli faktörler dikkate alınmaktadır. Bu faktörler arasında uygun sıcaklık, pH seviyesi, besin maddeleri, karıştırma hızı, çözünmüş oksijen seviyesi gibi parametrelerdir. Söz konusu parametrelerde değişimler yapılarak en uygun mikrobiyal üreme şartları belşrlenmektedir. Günümüzde deneysel bir çalışmanın tasarımında bir yanıt değişkenini etkileyen faktörlerin etkisini değerlendirmek için çeşitli istatiksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışma kapsamında ise central composite design ile optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Azotobacter vinelandii ve *Bacillus megaterium* için çalışma kapsamında 6L'lik reaktörde üretim koşullarının optimizasyonu için Central Composite Design ile deney setleri oluşturulmuştur. Bu kapsamda, karıştırma hızı olarak 200-1000 rpm, inokulum miktarı %1-9, Hava besleme hızı 0,5-2.5 vvm arasındaki değerler çalışılmıştır. 20 adet deney seti tekrarlı çalışılarak her bir deney setinden seri dilüsyonlar yapılarak yayma plaka ekim yapılmıştır. İnkübasyon sonrası hücre sayımları yapılarak ANOVA analizi ve faktörlerin etkileri ve optimum koşullar belirlenmiştir.

Bulgular

Azotobacter vinelandii için yapılan optimizasyon sonuçları sonrasında yapılan ANOVA analizi sonrasında 32,87 olan model F değeri, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda *p* değerinin 0,0500'den küçük olması model terimlerinin önemli olduğunu göstermektedir. *Bacillus megaterium* için ise yapılan optimizasyon sonuçları sonrasında yapılan ANOVA analizi sonrasında 32,77 olan model F değeri, modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda yine *p* değerinin 0,0500'den küçük olması model terimlerinin önemli olduğunu göstermektedir. Her iki mikroorganizma için faktörlerin düzeyleri arttıkça mikroorganizma sayısında artış olduğu gözlemlenmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Her iki mikroorganizma içinde optimum karıştırma hızı 600 rpm, İnokulum miktarı %5 ve havalandırma hızı 1,5 vvm olarak elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoreaktör, central, composite, design, optimizasyon.

Teşekkür: Bu çalışma TEYDEB tarafından desteklenmektedir.

Taq DNA Polimeraz Enziminin Rekombinant Üretimi, Stabilite Testleri ve QPCR Tabanlı Patojen Tanı Kitlerinde Kullanımı

Süleyman Hekim[1,2], Arife Kaçıran[1,2], Ayşe Nur Akmehmet[1,2], Sabriye Çanakçı[1], Efsun Eren Keleş[2], Ali Osman Beldüz[1]

[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon*
[2]*Eryiğit Tıbbi Cihazlar A.Ş., Ankara*

misran3610@yahoo.com

Giriş

Taq DNA Polimeraz temelli konvansiyonel PCR ve kantitatif PCR (qPCR) gibi teknikler, adli DNA analizi, gıda güvenliği, klinik teşhis ve biyo güvenlik konularında karar verme için kilit araçlardır. İfade edilen genlerin tespiti, klonlama ve dizileme gibi moleküler biyolojik deneylerde yaygın olarak kullanılmakta olan bu teknikte termofilik *Thermus aquaticus* bakterisinden elde edilen yüksek sıcaklığa dayanıklı Taq DNA polimeraz en çok tercih edilen DNA polimerazdır. Ülkemizde bu enzimin önemi Covid-19 pandemisi döneminde ortaya çıkmış ve enzim tedariğinde sıkıntılar yaşanmıştır. Bu çalışmada Taq DNA polimerazın rekombinant üretimi, aktivite ve stabilite testleri ve qPCR tabanlı patojen tanı kitlerinde kullanımından bahsedilecektir

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada öncelikle Taq DNA polimeraz enzimini kodlayan gen klonlama vektörü olan pJET1.2'ye sonrasında ise pET28a ekspresyon vektörüne klonlanmıştır. Hem koloni PCR hem dizilime yöntemi ile klonlama teyit edilmiştir. Taq DNA polimeraz genini içeren rekombinant plazmit E. Coli BL21 bakterisine transforme edilmiştir ve sıvı besiyeri ortamında 37ºC'de 1 mM IPTG ile indüklenmiştir. Rekombinant proteinin ekspresyonu SDS-PAGE ile teyit edildikten sonra, hücre lizatları kullanılarak PCR kurulmuştur. Saflaştırma işlemi amonyum sülfat çöktürmesi ile gerçekleştirilmiştir. Diyaliz yapıldıktan sonra rekombinant proteinler gliserol içeren saklama tamponu içine konulmuştur. Rekombinant enzimin aktivitesi ticari enzimler ile karşılaştırıldıktan sonra, bu enzimin 1, 3, 6 ve 8 aylık stabilite testleri gerçekleştirilmiştir. Bu enzime özgü bufferlar üretilmiş ve denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ürettiğimiz enzim SARS-CoV-2, HBV ve GDO gibi qPCR kitlerinde kullanılarak aktivite testleri yapılmıştır.

Bulgular

Klonlanan Taq DNA polimerazın rekombinant ekspresyonu SDS-PAGE yöntemiyle Coomassie blue boyası ile incelenmiş ve 94 kDa büyüklüğünde bant gözlemlenmiştir. Sıcaklık ile kısmi saflaştırma yapıldıktan sonra aktivite testi yapılmıştır ve enzim aktivitesi gözlemlenmiştir. Saflaştırma ve diyaliz sonrası saklama bufferına alınan enzimler ticari enzimler ile benzer aktivite göstermiştir. Ürettiğimiz enzimin 1, 3, 6 ve 8 aylık stabilite testlerinde aktivitesini koruduğu görülmüştür. Rekombinant enzime yönelik bufferlar geliştirilmiş ve ticari bufferlar ile aynı performans sergilemiştir. Ürettiğimiz enzimin SARS-CoV-2, HBV ve GDO gibi qPCR tabanlı tanı kitlerindeki kullanılabilirliği test edilmiş ve gösterilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma neticesinde, Taq polimeraz enziminin başarılı bir şekilde üretildiği, saflaştırıldığı, stabilitesini koruduğu ve hem konvensiyonel PCR hem qPCR kitlerinde kullanılabilecek seviyede prototip enzim ürünü geliştirildiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Taq polimeraz, Rekombinant enzim, PCR, qPCR Kiti

Teşekkür: 3211159 numaralı TUBİTAK projesi kapsamında yapılan bu proje için TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız

Probiyotik Mikroorganizmaların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Benay Çolak[1], Elif Baybörü[2], Belma Nural Yaman[3], Ahmet Çabuk[1,4]

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

[2]Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

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

[4]Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

elipcetsan@gmail.com

Giriş

Gıda endüstrisi, tüketicilerin besin değeri yüksek, duyusal özelliklerini koruyabilen, uzun raf ömrüne sahip ve güvenli gıda ürünlerine olan taleplerini karşılayabilmek için alternatifler aramaktadır. Antimikrobiyal aktiviteye sahip koruyucu kültürlerin kullanılması, gıdanın güvenliğini artırmak ve kalitesini sağlamak, duyusal özelliklerini korumak veya geliştirmek gibi katkılar sunmaktadır. Bazı probiyotik suşlar, enterik patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı direnç sağlayabilmektedir. Bu çalışmada 4 farklı probiyotik suşun *L.monocytogenes* ve *E.coli* patojenlerine karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite testleri yapılmıştır

Gereçler ve Yöntemler

İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri *L.monocytogenes* ve *E.coli* test bakterileri kullanılarak belirlenmiştir. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis* ve *Hafnia paralvei* kültürleri 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirildikten sonra 5000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Supernatant 0,45 µm'lik mikrofiltrasyon yoluyla steril edilerek Cell Free Supernatantlar (CFS) hazırlanmıştır. Test bakterileri 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. 100 µL test bakterisi steril petri plakalara alınmıştır. Plakaların üzerine 50 °C sıcaklıkta olan 20 mL Mueller Hinton Agar besiyerinden ilave edilmiştir. Donan besiyerinin üzerine steril ortamda 0,6 cm çapında kuyucuklar açılmıştır. Kuyucuklara 100 µL Cell Free Supernatant eklenmiştir. 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek akteriyostatik ve bakteriyosidal etkilerinin gözlemlenmiştir.

Bulgular

Bu çalışmada; M2 (*Lactobacillus paracasei)*, N1 (*Lactobacillus plantarum*), K1 (*Hafnia paralvei*), KZ1 (*Lactococcus lactis*) probiyotik bakterilerinin *E.coli* üzerinde antimikrobiyal aktivitesi olmadığı belirlenmiştir. M2 (*Lactobacillus paracasei*) probiyotik bakterisi, *L. monocytogenes* üzerinde bakteriyostatik etkisinin olduğu gözlenmiştir. N1 (*Lactobacillus plantarum*), K1 (*Hafnia paralvei*), KZ1 (*Lactococcus lactis*) probiyotik bakterilerinin *L. monocytogenes* üzerinde hem bakteriyostatik hem de bakteriyosidal etki gösterdiği belirlenmiştir

Sonuç ve Tartışma

Probiyotik suşların CFS'lerinin *L.monocytogenes* patojeni üzerinde bakteriyostatik ve bakteriyosidal etkilerinin olduğu gözlenmiş ve gıda güvenliğini ve kalitesini korumada bul etkileri sayesinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: probiyotik, antimikrobiyal aktivite, cell free supernatant

Teşekkür: Bu çalışma Benay Çolak'ın yüksek lisans tezinin bir bölümünü içermektedir.

GIDA BİYOTEKNOLOJİSİ
SÖZLÜ SUNUMLAR

Gıda Ürünlerinde Likopen ve Pektin Etkileşimleri

Alev Emine İnce[1,2], Muhammed Rasim Gül[2], Kübra Aymelek Uslu[2], Duygu Menteş[2], Mecit Halil Öztop[2]

[1]*Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Kalite Kontrolü ve Analizi Programı, Ankara*
[2]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara*

alevince@baskent.edu.tr

Giriş

Likopen, kırmızı meyvelere rengini veren bir karotenoittir, antioksidan özelliği vardır. Domates, kuşburnu ve karpuzda bol bulunur. Bitkisel liflere bağlı olduğundan mekanik ve ısıl işlemler likopenin kullanılabilirliğini arttırır. Yağda çözünür. Pektin ise limon kabuğu, kuşburnu ve elmadan elde edilen bir heteropolisakkarittir. Gıdalarda genellikle jelleştirme ajanı, kıvam arttırıcı ve stabilizatör olarak kullanılır. Esterleşme derecesine göre yüksek (HMP) ve düşük (LMP) metoksilli pektin olarak iki türü vardır. HMP, asit ortamda ve düşük su aktivitesinde jelleşme gösterirken, LMP iki değerlikli katyonların varlığında jelleşir. Bu çalışmada, domates barındaki LMP miktarının, özütlenen likopen miktarına etkisi incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Domates atıştırmalık barı, domates suyu, domates küspesi tozu, tuz, fesleğen, nane, bezelye protein izolatı ve farklı miktarlarda LMP (%1, %2, %3) kullanılarak elde edilmiştir. Karışım homojen hale getirildikten sonra, mikrodalga-vakum kurutma sistemiyle, su aktivitesi 0.6'dan düşük olacak şekilde kurutulmuştur. Elde edilen barlardan 1 g alınarak hekzan:aseton:etanol (2:1:1) karışımıyla 200 rpm'de 1 dk boyunca muamele edilmiş ve daha sonra 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Bekletilen karışıma 10 ml saf su eklenmiş ve 10 dakika daha karanlıkta bekletilerek, faz ayrımının belirginleşmesi sağlanmıştır. Ayrılan fazlardan üstte kalan hekzan fazıdır ve özütlenebilen likopen bu fazda bulunmaktadır. Dolayısıyla, hekzan fazının absorbansı spektrofotometrede 503 nm'de gerekli seyreltmeler yapılarak tespit edilmiş ve aşağıdaki eşitliğe göre likopen miktarı belirlenmiştir: Likopen (mg/kg bar) = $A_{503}\times172/m$, numunenin g cinsinden ağırlığıdır. Kör olarak saf hekzan kullanılmıştır.

Bulgular

Barlardaki LMP miktarı arttıkça likopenin azaldığı istatistiksel olarak gösterilmiştir (71.4-15.4 mg/g kuru madde). En yüksek likopen değeri, LMP'nin olmadığı kontrol grubunda elde edilmiştir. LMP'nin özütlenen likopeni azaltan etkisiyle ilgili iki mekanizma olasıdır. Birincisi, artan pektin miktarının, likopenin etrafında bir ağ oluşturması ve likopenin bu ağda hapsolmasıdır. Bu durumda likopen, özütleme sırasında hekzan fazına tamamen geçemez ve elde edilen likopen azalır. İkincisi ise, amfifilik bir bileşen olan bezelye proteini varlığında, pektin ve likopenin kompleks oluşturmasıdır. Protein, bu kompleks yapının oluşumunu sağlayarak hekzan fazına geçebilen likopen miktarını azaltmış olabilir.

Sonuç ve Tartışma

LMP, özütlenen likopen miktarını azaltmıştır. Bu durum, ağ yapısından veya kompleks oluşumundan kaynaklanıyor olabilir. Domates barında, likopen sindirilebilirlik açısından da incelenerek LMP miktarının optimizasyonu yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: Likopen, düşük metoksilli pektin, domates barı, mikrodalga-vakum kurutma.

Teşekkür: AB Horizon 2020-PRIMA Bölüm 1 Programı #2032 (FunTomP) ve ODTÜ-BAP DOSAP-B-2022-11003 desteklemiştir.

Genetik Modifiye Mon810 Mısır Ununun Birincil Metabolit Profilinin Belirlenmesi

Begüm Zeynep Hançerlioğulları[1,2], Umut Toprak[3], Remziye Yılmaz[1,4]

[1]*Foodomics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

[2]*Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

[3]*Oxford Nanopore Technologies, Gosling Building, Edmund Halley Road, Oxford Science Park, Ox4 4dq, Birleşik Krallık*

[4]*Uluslararası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayım Merkezi (ıfbbc), Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

remziye06@gmail.com

Giriş

Metabolik profil araçları, genetik modifiye (GD) bitkilerin ve bunlardan elde edilen gıda ürünlerinin metabolit profillerinin oluşturulmasında gıda güvenliği açısından önem arz eder. Birincil metabolitler, bitkilerdeki önemli fizyolojik işlevlerle ilgili bileşikler olup, büyüme, gelişme ve üreme ile doğrudan ilgilidir. Genetik modifiye gıda ve yem ürünlerinin güvenliği konusundaki tartışmalar tüm dünyada sürmektedir. En son Türkiye'de Danıştay'ın 2022/4140 numaralı kararı bu tartışmaların sürdüğünün kanıtı niteliğindendir. Bu çalışmanın amacı, MON810 mısır ununda yağ asitleri, amino asitler, şekerler ve organik asitler gibi birincil metabolitleri belirleyerek risk değerlendirmesi ve gıda güvenliği açısından literatürü desteklemektir.

Gereçler ve Yöntemler

Sertifikalı referans materyal olarak kullanılan % ≤ 0.02 ve %5 GD MON810 mısır unu numunelerinden birincil metabolitler metanolik ekstraksiyon ile elde edilmiş ve türevlendirme N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA) ajanı ile gerçekleştirilmiştir. Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) analizleri için HP-5ms kolonu (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 µm, Agilent Tech., ABD) ve 7890 A GC/ 5975 C Serisi MSD sistemi (Agilent Tech., ABD) kullanılmıştır. Metabolit miktarları iç standarda dayalı yarı kantifikasyon yöntemi ile hesaplanmıştır. Ayrıca, numunelerden yağ asidi ekstraktları hazırlanmış ve GC-alev iyonizasyon dedektörü (FID) analizleri Macherey-Nagel OPTIMA-WAX (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 µm, Almanya) kolonu kullanılarak Trace GC Ultra cihazında (Thermo Fisher Scientific Inc., ABD) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen her bir yağ asidi yüzdesi, ilgili pik alanının yağ asitlerinin toplam pik alanına oranından hesaplanmıştır.

Bulgular

GD olmayan ve %5 GD MON810 mısır unu numunelerinde GC-MS analizleri sonucunda standart kütle spektral kütüphaneleri aracılığıyla 35 farklı birincil metabolit tanımlanmıştır. Ayrıca numunelerde GC-FID ile tespit edilen 10 farklı yağ asidi, standartların alıkonma süreleri ile karşılaştırılarak doğrulanmıştır. Çalışmada tanımlanan metabolitler, mısırla ilgili önceki çalışmalarla tutarlıdır. Amino asitler, tüm birincil metabolitlerin baskın grubu olarak belirlenmiş ve ana amino asit prolin olarak bulunmuştur. Ana sakkarit indirgen olmayan şeker sükrozdur ve belirlenen ana alkol bileşiği ise gliserol olmuştur. Glikolik asit, numunelerde bulunan baskın organik asittir ve GC analizleri sonucunda linoleik asit ise ana yağ asidi olarak bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Çalışma, MON810'un birincil metabolit profilini belirlemek için GC-MS'e dayalı metabolik profil analizini içermektedir. Sonuçlar, mısır ununun metabolom profillerinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması ve risk değerlendirme için rehberlik edecektir.

Anahtar Kelimeler: MON810, Birincil metabolitler, Metabolit profilleme, Gaz kromatografisi

Teşekkür: Çalışma, Hacettepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (FHD-2021-19443).

Fermente Gıda Ürünlerinden İzole Edilen Probiyotik Bakterilerin Ekstrüzyon Yöntemi ile Mikroenkapsülasyonu

Benay Çolak[1], Belma Nural Yaman[2], Pınar Aytar Çelik[1,3], Ahmet Çabuk[1,4]

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

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

[3]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir Meslek Yüksekokulu, Çevre Koruma Teknolojileri Bölümü, Eskişehir*

[4]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir*

benaycolak26@gmail.com

Giriş

Sağlığa yararlı etkileri kanıtlanmış probiyotik mikroorganizmaların gıda ürünlerine eklenerek gıdalara fonksiyonel özellik kazandırılması, tüketicilerin bilinçlenmesi ve talepleriyle giderek artış göstermektedir. Probiyotik mikroorganizmalar, yeterli miktarda tüketildiğinde konakçı üzerinde sağlık etkisi yaratan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasındaki dengenin oluşturulmasında probiyotiklerin yanında prebiyotikler de etkili rol oynamaktadır. Bu çalışmada, fermente gıda ürünlerinden izole edilen probiyotik bakterilerin prebiyotik bir polisakkaritle (inülin) kapsüllenerek simbiyotik etki yaratılması ve probiyotiklerin canlılığının arttırılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Fermente gıda ürünlerinden izole edilen ve tanımlanan probiyotik suşlardan *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* ve *Hafnia paralvei* ekstrüzyon yöntemi kullanılarak inülinle birlikte kapsüllenmiştir. İnülinin etkisini gözlemlemek için kontrol grubu olarak mikrokapsül içinde sadece probiyotik kültür kullanılmıştır. Elde edilen mikrokapsüllerin canlılık ve direnç testleri yapılmıştır. 1,7, 14 ve 21. günlerde parçalanarak canlılıkları takip edilmiştir. Ayrıca mikrokapsüllerin SGF (Simulated Gastric Fluid-Yapay Mide Ortamı) ve SIF (Simulated Intestinal Fluid-Yapay Bağırsak Ortamı) dirençleri belirlenmiştir. Mikrokapsüllerin gıda katkı maddesi olarak kullanılacağı düşünülerek liyofilize edilmiştir. Mikrokapsüller SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ile karakterize edilmiştir. Mikrokapsüllerin boyutları ise Stereo Mikroskop ile belirlenmiştir.

Bulgular

Çalışma sonucunda; *Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis* ve *Hafnia paralvei t*ürleri ile inülin içeren mikrokapsüller 21 gün boyunca canlılıklarını önemli ölçüde korumuş, yapay mide ve bağırsak ortamlarında kapsül içermeyen bakteri kültürlerine karşı daha yüksek canlılık göstermişlerdir. İnülin içeren ve içermeyen mikrokapsüller arasında canlılık, SGF ve SIF ortamlarına direnç ve çap büyüklükleri arasında önemli bir fark görülmemiştir. Mikrokapsüllerin çap ortalamaları 2290 µm olarak bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada; mikroenkapsülasyon işlemi uygulanarak probiyotiklere fiziksel bariyere benzer etki sağlanmıştır. Sinbiyotik mikrokapsüllerin, gıdalara probiyotik özellik kazandırarak fonksiyonel hale getirmede önemli rol oynayacakları düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: probiyotik, prebiyotik, mikroenkapsülasyon, ekstrüzyon

Teşekkür: TÜBİTAK Proje:123O473 tarafından desteklenmekte, Benay Çolak'ın YL tezinin bir bölümünü içermektedir

S. cerevisiae ve *S. boulardii* Kullanılarak Elde Edilen Soya Takviyeli Fermente Ürünlerde Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi

Beyza Sayman[1,2], Remziye Yılmaz[1,3]

[1]*Foodomics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

[2]*Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

[3]*Uluslararası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayım Merkezi (ıfbbc), Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Fermente soya ürünleri dünyada tüketilmektedir ve sağlıklı gıda arayışına yanıt veren önemli çözüm önerilerinden biridir. *Saccharomyces boulardii* (*Sb*), gıda endüstrisinde fermantasyon amacıyla en çok kullanılan mikroorganizma olan *Saccharomyces cerevisiae* (*Sc*)'nın probiyotik bir varyetesidir. Bu çalışmada *Sc* ve *Sb* kullanılarak fermente edilen soya ile takviye edilmiş hamur fermantasyonu sırasında ve bu hamur kullanılarak elde edilen soya bazlı kraker ve kurabiyede kalite parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'nda bulunan *Sc* ve *Sb* kültürleri kullanılarak soya takviyeli hamur formülasyonu (3 birim soya unu:1 birim buğday unu) ve bu hamurun farklı *Sc* ve *Sb* suşları ile fermantasyonu (48 h) optimize edilmiştir. Fermantasyon süresi boyunca 0, 24 ve 48. saatlerde örnekler alınarak pH ve mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Soya bazlı kraker ve kurabiyede nem, kuru madde, kül (AACC44-15A metodu) ve protein (Bradford Metodu) içerikleri hesaplanmıştır.

Bulgular

Fermantasyon boyunca elde edilen pH ölçümlerinde hem kurabiye ve hem de kraker için *Sc* kullanılan örneklerin pH değişimlerinin *Sb* kullanılan örneklere göre yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Nem, kuru madde ve kül analizlerinde ise farklı *Sc* ve *Sb* suşları ile fermente edilen ürünler arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Sonuç, yüzde protein içerikleri bakımından da aynıdır.

Sonuç ve Tartışma

Buna göre, soya takviyesi ile elde edilen ürünlerin üretiminde fermantasyon için *Sc* yanı sıra *Sb* de kullanılabileceği görülmüştür. Son üründe primer metobolit kompozisyonunu ortaya çıkarmak için ileri analizlere ve duyusal muayeneye ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *S. cerevisiae, S. boulardii,* fermantasyon, soya.

Teşekkür: Hacettepe Üniversitesi BAP'a (20138) çalışma için sağladıkları olanaklar nedeniyle teşekkür ederiz.

Clostridium sporogenes'in Otolizinden Sorumlu *Sleb* Geninin *Escherichia coli*'de Rekombinant İfade Edilmesi

Ece Çetin[1,1], Dicle Dilara Akpınar[2,2], Ömer Şimşek[2,2]

[1]*Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli*
[2]*Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul*

dicledilara@gmail.com

Giriş

Geç şişme, özellikle yüksek pH'a sahip sert ve yarı-sert peynirlerde gözlenen, *Clostridium* cinsi üyesi bakterilerin neden olduğu ve peynir endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olabilen, en önemli fermantasyon kusurlarından biridir. Peynirde şişmenin önlenmesi için nisin, nitrat veya lizozim gibi antimikrobiyallerin kullanılmasına rağmen sorun devam etmektedir. Bu çalışmanın amacı *Clostridium sporogenes*'e ait otoliz enzimini kodlayan genin (*SleB*) *E. coli* konakçı sistemine klonlanması ve ifadesi ile yeni spesifik antimikrobiyal enzimin üretilmesidir. Otolisinler, bakterilerin bölünme süreçlerinde veya stres koşullarında aktivite gösteren hücre içi peptidoglikan hidrolazlardır.

Gereçler ve Yöntemler

Otolitik enzimi kodlayan genetik materyal için, Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Kültür Koleksiyonunda (PUFECC) saklanan, yerel peynir örneklerinden izole edilen 13 adet *C. sporogenes* suşu kullanılmıştır. PZR reaksiyonları ile amplifiye edilen *sleB* geni *EcoR*I/*Xho*I restriksiyon enzimleri ile kesilmiş, uygun indüklenebilir T7 promotörüne sahip pET-28a ve pBluescript sk vektörlerine klonlanmış ve farklı *E. coli* suşlarına transforme edilmiştir. Elde edilen klon *E. coli* hücrelerinde rekombinant protein üretimi SDS-PAGE ve Western Blot analizleri ile araştırılmıştır. Protein aktivitesi ise, *C. sporogenes* ile aşılanmış olan sıvı besiyerlerine klon ve kontrol hücre lizatlarının eklenmesi ve gelişmenin gözlenmesi ile anlaşılmaya çalışılmıştır.

Bulgular

Farklı *E. coli* suşlarında indüklenerek hücre içinde ifade edilen rekombinant *sleB* proteinin varlığının ve boyutunun araştırılması için hücre lizatları SDS PAGE'e yüklenmiştir, moleküler büyüklüğü 26 kDa olan bölgede oluşan bantların kontrole kıyasla daha yoğun ve kalın olması, *sleB* proteinin üretildiğine işaret etmiştir. Bununla birlikte, Western Blot sonucunda antikor, eksprese edildiği düşünülen proteine bağlanmamıştır. Aktivite için, pET-28a-sleB içeren *E. coli* BL21(DE3) plysS klon suşunun lizatının eklendiği tüpte inkübasyon sonucunda kontrole (plasmid içermeyen *E. coli* BL21(DE3) plysS suş lizatı) göre gelişmenin geciktiği ve azaldığı gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma ile ilk defa *C. sporogenes*'in otolitik enzimine ait genin başarıyla klonlanması ve ifadesi gerçekleştirilmiştir. *C. sporogenes* üzerindeki antimikrobiyal etkisi peynir teknolojisinde yaşanan soruna çözüm oluşturabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Geç Şişme, Clostridium, otolitik enzimler, spor korteks litik enzimi.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 122O031 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Et Türlerinin Belirlenmesi İçin İlmiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma (LAMP) Temelli Tespit Yöntemi Geliştirilmesi

Dilara Özden[1,3], Füsun Eyidoğan[1,2], Hüseyin Avni Öktem[4]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*
[2]*Başkent Üniversitesi, Gıda Tarım ve Hayvancılığı Geliştirme Enstitüsü, Ankara*
[3]*Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Ankara*
[4]*Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara*

ozdendilara1@gmail.com

Giriş

Et türlerinin belirlenmesi, sağlık, ekonomi ve tüketicinin bilgilendirilmesi açısından önemlidir. DNA tabanlı tanı yöntemleri işlenmiş etlere de uygun olması sebebiyle avantajlıdır. İlmiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma (LAMP) diğer yöntemlere göre hızlı, spesifik ve ekonomik olması nedeniyle avantajlı bir yöntemdir. Kolorimetrik tanı için iki boyanın aynı anda kullanılmasının testin duyarlılığını arttırdığı daha önce farklı gıda testlerinde gösterilmiştir. Bu çalışmada domuz etinden tür tayini yapılması için HNB (hidroksi naftol mavisi) ve krezol kırmızısı boyalarının bir arada kullanılarak reaksiyon sonuçlarının ayırt edilebilirliğinin arttırılması ve direkt LAMP yönteminin kullanılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Mitokondriyal sitokrom-b geni (*MT-cyb*) için LAMP primerleri tasarlanmıştır. LAMP reaksiyonunun optimizasyonu için betain, Mg konsantrasyonları, sıcaklık koşulları, reaksiyon süresi ve boya oranları test edilmiştir. Farklı oranlarda HNB (hidroksi naftol mavisi) ve krezol kırmızısı boyaları denenmiştir. Direkt LAMP yöntemi, optimize edilen reaksiyon koşullarıyla denenmiştir. Kaz, tavuk, ördek, dana, kuzu, hindi, balık, keçi, at, domuz etleri kullanılarak yöntemin özgüllüğü test edilmiştir. Azalan DNA konsantrasyonu ve farklı oranlarda karıştırılan etler kullanılarak yöntemin duyarlılığı belirlenmiştir. İşlenmiş et ürünleri olarak Frank sosisi, domuz sosis, domuz salam, domuz jambon, domuz pastırması, hindi sosis, kızarmış tavuk ürünleri test edilmiştir.

Bulgular

Sıcaklık koşulları 66°C olarak belirlenmiştir. Reaksiyon 60 dakikadan kısa sürede görüntülenebilmektedir. İki boyanın birlikte kullanımı duyarlılığı arttırmıştır. Optimize edilen koşulların direkt LAMP yöntemi içinde uygun olduğu gösterilmiştir. Direkt LAMP yöntemi kullanılarak, DNA izolasyonuna ihtiyaç duymadan LAMP reaksiyonunun gerçekleştirilebileceği gösterilmiş ve toplam reaksiyon süresi azaltılmıştır. Geliştirilen tespit yönteminin 10 tür arasından, domuz türüne özgü olduğu ve çapraz reaksiyon vermediği görülmüştür. Yöntemin işlenmiş etler için uygun olduğu gösterilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Geliştirilen yöntem sayesinde et tür tayini hızlı, ekonomik ve domuz türüne özgül olarak gerçekleştirilmektedir. Yöntem işlenmiş etler ve karışım etlerde et tür tayini için uygundur.

Anahtar Kelimeler: LAMP, Et tür tayini, Gıda Biyoteknolojisi, Kolorimetrik tanı, Doğrudan LAMP.

Teşekkür: Ortadoğu Teknik Üniversitesi BAP-11395 ve Başkent Üniversitesi BAP- 228582 ile desteklenmiştir.

Saccharomyces cerevisiae Suşlarının *ADH2* ve *ADH5* Gen İfade Profili ve Teknolojik Özellikleri

Elif Bircan Muyanlı[1,2], Remziye Yılmaz[2,3]

[1]*Foodomics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, 06800 Ankara.*

[2]*Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, 06800 Ankara.*

[3]*Uluslararası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayım Merkezi (ıfbbc), Hacettepe Üniversitesi, 06800 Ankara.*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Fermantasyon sırasında *Saccharomyces cerevisiae* (*Sc*) tarafından üretilen yüksek alkollerin biyosentezi, Ehrlich yolunda, üç aşamada, amino asit katabolizması ile gerçekleştirilir. Ehrlich yolunun son aşaması olan indirgeme basamağını katalize eden alkol dehidrojenaz enzimini kodlayan genler *ADH1-5* ve formaldehit dehidrojenaz enzimini kodlayan gen *SFA1*'dir. *ADH2* ve *ADH5* genleri etanolü asetil aldehite dönüştüren NAD bağımlı alkol dehidrojenazı kodlar. Bu çalışmanın amacı, FoodOmics Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'nda yer alan Sc mayalarının *ADH2* ve *ADH5* genlerinin ifade profillerini ve teknolojik özelliklerini karşılaştırmalı olarak incelemektir.

Gereçler ve Yöntemler

Sıvı kültürde canlandırılan mayalar YPD agarda 28 °C'de 48 saat inkübe edildi. Bundan sonra, YPD plakalarındaki saf maya kültürleri, 10 mL beyaz pastörize üzüm suyuna aşılandı. 28 °C 'de 48 saatlik inkübasyonun ardından 15 farklı Sc suşuna ait örnekten toplam RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve ilgili primerlerle *ADH2* ve *ADH5* gen ifade analizi gerçekleştirildi. Yüksek sıcaklıkta gelişme analizi için mayalar (~10^7 kob/mL) 10 mL üzüm suyuna aşılandı ve 37 °C ve 42 °C'de 7 gün inkübe edilerek gelişimleri izlendi. Maya suşlarının düşük pH değerlerindeki gelişimini incelemek için üzüm suyu (pH 3,3) ve pH değerleri 4,0 ve 7,0'e ayarlanan üzüm sularına maya suşları inoküle edildi. Suşların 28 °C'de gelişimi 7 gün boyunca izlendi. Mayaların fermantasyon hızı, fermantasyon süresince şeker ve alkol miktarındaki değişimin izlenmesi ile belirlendi. Bu amaçla 100 mL üzüm suyuna inoküle edilen Sc suşlarının 7 günlük fermantasyon süresince her gün alkol, briks, pH ve sıcaklık ölçümü yapıldı.

Bulgular

RNA izolasyonu, cDNA sentezi sonucunda RT-qPCR analizi için yeterli miktar ve kalitede nükleik asit elde edilmiştir. Log-gen ifade sonuçlarına göre *ADH2* için, *SC1*(2,34)'in *SC5*(1,03) ve *SC6*(0,81)'ya göre *SC0*(2,10)'dan yüksek olduğu gözlemlenmiştir. *ADH5* için ise, kontrol suşa *SC0*(1,57) kıyasla *SC1*(0,50 kat), *SC2*(0,58 kat), *SC3*(0,49 kat), *SC4*(0,68 kat), *SC5*(0,50 kat), *SC8*(0,59 kat) ve *SC9*(0,15 kat) suşlarının gen ifade seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Seçilen suşların (*SC0*-1-5-6) teknolojik özellikleri incelendiğinde bunların düşük pH'da gelişim gösterdikleri, *SC1* ve *SC5*'in yüksek sıcaklıkta gelişiminin zayıf olduğu, fermantasyon hızları incelendiğinde ise *SC6*'nın şeker tüketimi ve alkol üretiminin hızlı olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Gen ifade profilleri suşlara ve genlere göre birbirinden farklılık gösteririken teknolojik özellikler bakımından da suşlar farklıdır. Gen ifade profili diğer suşlardan düşük olan *SC6* suşu teknolojik olarak endüstriye daha yatkın bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Alkol dehidrojenaz, Gen İfadesi, Fermantasyon, *Saccharomyces cerevisiae*

Teşekkür: Hacettepe Üni. Gıda Müh. Bölümü'ne çalışma için sağlanan olanaklar nedeniyle teşekkür ederiz.

Mikroalg ve Probiyotik Katkılı Yenilebilir Fonksiyonel Kaplamanın Depolama Sırasında Çilek Kalitesi Üzerindeki Etkisi

Elif Şeyma Bağdat[1], Özge Kahraman Ilıkkan[2]

[1]*Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, Ankara*

[2]*Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Kalite Kontrolü ve Analizi Programı, Ankara*

esbagdat@baskent.edu.tr

Giriş

Yenilebilir kaplamalar ve filmler üzerine araştırmalar son yıllarda yoğun ilgi görmektedir. Taze meyve kalitesini daha uzun süre korumak ve ürün kayıplarını azaltmak, tüm üreticiler için bir önceliktir. Çeşitli yenilebilir kaplamaların farklı meyve ve sebzelerin korunmasındaki etkisi son zamanlarda daha çok çalışılan popüler bir konudur. Polisakkarit bazlı (nişasta, karagenan, kitosan, aljinat) kaplamaların çilek meyvesinin (*Fragaria ananassa*) raf ömrünü uzatma kabiliyeti, özellikle endüstriyel uygulamalar için birçok çalışmada incelenmiştir. Bu çalışmada probiyotik (*L. plantarum* 299v) ve prebiyotik (*Spirulina*) destekli kaplama üretimi ve yapılan kaplama materyalinin çilek meyvesinin kaplanmasındaki etkinliği araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Kaplama çözeltileri 100mL steril su ile hazırlanmıştır. Plastikleştirici ve ara yüzey oluşturucu olarak %3 sodyum aljinat (w/v), %2,5 gliserol (v/v) kullanılmıştır. Probiyotik bakteri 1010 cfu/ml olacak şekilde eklenmiş, mikroalg ilaveli kaplama örneğinde %0,5 Spirulina tozu (w/v) kullanılmıştır. Çilekler 1dk boyunca kaplama çözeltisine daldırılarak çıkartılıp 8 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kaplanmayan çilekler kontrol (K), sadece sodyum aljinat ile kaplanan SA, sodyum alginat + probiyotik bakteri SA+P, sodyum alginat+ probiyotik+ mikroalg ile kaplanan SA+P+ A olarak belirlenmiştir. Örnekler, +4 C' de bir hafta boyunca buzdolabında depolanmıştır. Depolama boyunca örneklerin mikrobiyolojik ve bazı fizikokimyasal özelliklerine bakılmıştır. Aynı zamanda kaplama formülasyonlarından oluşturulan probiyotik ilaveli filmlerde laktik asit bakteri sayımı yapılmıştır. Depolama başında ve sonunda her çilek grubunun pH'ı ve titrasyon asitliği belirlenmiştir.

Bulgular

Çilek meyvesinin alg ve probiyotikle kaplanmasıyla bozulmanın gecikmesi ve fiziksel olarak çilek kalitesini SA, SA+P, SA+P+A örneklerinin hepsinde kontrole göre daha iyi koruduğu gözlemlenmiştir. Çileklerin kaplanması maya küf gelişiminde etkili olup kontrolde artarken; probiyotik ve alg eklenmesi ile maya ve küf gelişimi sınırlandırılmıştır. Ayrıca probiyotik eklenen filmlerde film yapısının probiyotik bakterileri koruduğu gözlemlenmiştir. Kontrolde asitlik azalırken, diğerlerinde artmıştır bu da çileğin korunması ve olgunlaşması ile açıklanabilir. Çileklerin 20 gün boyunca fotoğraflandığında kontrol örneğinin büzüştüğü ve duyusal kalitesinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada probiyotik ve mikroalg ile oluşturulan kaplama ile çileğin fonksiyonel özellik kazanması ve depolama boyunca fizikokimyasal kalitesini korunması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kaplama, Çilek, Spirulina, *L. plantarum* 299v.

Bacillus coagulans Üreme Kinetiğinin Farklı Besiyerlerinde İncelenmesi

Eylem Ece Ayyıldız[1], Burcu Kaplan Türköz[1]

[1]*Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.*
[2]*Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir.*

eylemecea@gmail.com

Giriş

Bacillus coagulans yüksek sıcaklık koşullarına dayanıklı spor oluşturan gram pozitif ve probiyotik özelliklere sahip bir bakteridir. Son yıllarda probiyotik takviyeli fonksiyonel gıdalara artan ilgiyle birlikte probiyotik suşlar ile ilgili yapılan çalışmalar da hızlanmıştır. *B. coagulans* gıda endüstrisinde fermantasyon yoluyla laktik asit üretmesi nedeniyle koruyucu, probiyotik özelliği sayesinde fonksiyonel gıdalarda ve yine fermantasyon yoluyla gıda kalitesini iyileştirmekte kullanıldığı bilinmektedir. Fermantasyon kinetiğinin bilinmesi optimum proses verimi için büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada *B. coagulans*'ın farklı sentetik ortamlarda fermantasyon kinetiği incelenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

B. coagulans'ın MRS ve zenginleştirilmiş GYE ortamlarında büyüme kinetiğini karşılaştırmak için GYE besiyeri ortamında hazırlanan ön kültürler 10 OD600 değerine getirilip 5% oranında inoküle edilmiştir. 37˚C ve 270 rpm hızda çalkalamalı inkübatörde 48 saat boyunca inkübasyon yapılmış ve her 6 saatte bir pH ve OD600 değerleri ölçülmüştür. Elde edilen OD600 ve pH değerlerinin grafiği çizilerek iki besiyeri için fermantasyon kinetiği yorumlanmıştır.

Bulgular

B. coagulans her iki ortamda da gelişim gösterirken üreme fazlarında farklılıklar olduğu görülmüştür. MRS ortamında 12 saat süren lag fazı GYE ortamında 6 saat sürmüştür. 12. saatin sonunda GYE ortamında 2.22 OD600 değerine ulaşılmış ve eksponansiyel fazdan durağan faza geçiş olmuştur. MRS ortamında ise eksponansiyel faz 28. saate kadar devam etmiş ve 5.45 OD600 değerine ulaşılmıştır. 0. saatte 5.82 (MRS) ve 5.98 (GYE) olan pH değerleri her iki ortamda da fermantasyon ile birlikte düşmüş ve 4.79 (MRS) 4.71 (GYE) değerlerine ulaşmıştır.

Sonuç ve Tartışma

B. coagulans'ın farklı ortamlarda fermantasyon kinetiği bilgisi, endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarına katkı sağlayacaktır. Bu alandaki araştırmalar, *B. coagulans*'ın gıda ve çeşitli sektörlerdeki potansiyelini açığa çıkarmaya devam edecektir

Anahtar Kelimeler: *Bacillus coagulans*, probiyotik, fermantasyon kinetiği

Teşekkür: Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (23774)

Laktik Asit Bakterileri Kullanılarak Elma Posasından Mannitol Üretimi

Furkan Demirgül[1], Ramazan Niçin[2], Busenur Özkan[3], Enes Dertli[2], Ömer Şimşek[2]

[1]*Doğuş Üniversitesi, Sanat ve Tasarım Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, İstanbul*
[2]*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul*
[3]*Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli*

fdemirgul@dogus.edu.tr

Giriş

Mannitol üretimi kimyasal kataliz veya fermantasyon yoluyla gerçekleştirilmektedir. Kimyasal katalizle gerçekleşen üretimde nikel kontaminasyonu ve sorbitol ile karışık üretim söz konusu olduğundan, mikrobiyal üretime gösterilen ilgi artmıştır. Heterofermantatif laktik asit bakterileri (LAB) fruktozu elektron akseptörü olarak kullanarak mannitol üretebilmektedirler. Mikrobiyal üretimde maliyeti düşürmek için ucuz fruktoz kaynağına ihtiyaç duyulmaktadır. Elma suyu işleme atığı olan elma posası, yüksek fruktoz içeriği nedeniyle mannitol üretiminde değerlendirilebilme potansiyeli taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, elma posasının LAB ile mannitol üretiminde değerlendirilmesinin araştırılması ve mannitol üretiminin optimizasyonunun yapılmasıdır.

Gereçler ve Yöntemler

Daha önce çeşitli kaynaklardan izole edilmiş olan 28 adet LAB, Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiş ve elma suyu ilave edilerek hazırlanan besiyerinde inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından santrifüjleme işlemi yapılmış ve süpernatanttaki mannitol, glukoz ve fruktoz miktarları HPLC'de belirlenmiştir. Elma posasından fruktozun geri kazanımı için çözgen olarak saf suyun kullanıldığı 30 farklı deneme yapılmıştır. Ön denemeler sonucu mannitol üretimi açısından en başarılı bulunan suş, substrat olarak elma posası ekstraktının kullanıldığı, biyoreaktörde kontrollü şartlar altında gerçekleştirilen üretimlerde kullanılmış ve üretimlerin optimizasyonu yapılmıştır.

Bulgular

Ön denemelerde *Limosilactobacillus reuteri* PFC338, *Leuconostoc mesenteroides* PFC104 ve *Levilactobacillus brevis* PFC356 suşlarının en başarılı mannitol üreticileri oldukları belirlenmiş ve büyük hacimde üretim için *L. reuteri* PFC338 suşu seçilmiştir. Elma posasından fruktozun geri kazanımı için yapılan denemelerde, en yüksek fruktoz geri kazanımının 50 °C'de 8 saat süreyle ve 1:3 (elma posası:saf su) oranda gerçekleştiği belirlenmiştir. Elma posası ekstraktı kullanılarak *L. reuteri* PFC338 suşu ile biyoreaktörde gerçekleştirilen üretimler optimize edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

L. reuteri PFC338, *L. mesenteroides* PFC104 ve *L. brevis* PFC356 gibi LAB suşlarıyla elma suyu üretiminin önemli bir atığı olan elma posasının mannitol gibi yüksek katma değerli bir ürüne verimli bir şekilde dönüştürülebileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mannitol Üretimi, Laktik Asit Bakterileri, Elma Posası, Atık Yönetimi.

Teşekkür: Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi BAP Birimi tarafından desteklendi (Proje No: FBA-2021-4294).

In-silico Analysis of Phenyllactic Acid Binding to Target Protein for Antifungal Activity: A Metabolite-Focused Approach

Kübra Sağlam[1], Turgut Şekerler[2], Ömer Şimşek[3]

[1]*Istanbul Gelisim University/ Istanbul Gelisim Vocational School/ Department Of Food Processing/ Program Of Food Technology/ Istanbul.*

[2]*Marmara University/ Faculty Of Pharmacy/ Basic Pharmacy Sciences Department/ Biochemistry Department/ Istanbul.*

[3]*Yildiz Technical University/ Faculty Of Chemical-metallurgical Engineering/ Department Of Food Engineering/ Istanbul.*

kbrsglm34@gmail.com

Introduction

In this study, we conducted molecular docking simulations to investigate the potential of phenyllactic acid (PLA) as an antifungal agent by investigating its interaction with several target proteins. The selected target proteins included Yeast sec p14, 14-α-demethylase, Ergosterol-Binding Protein, Glutamine synthetase, and Lanosterol 14α-Demethylase. Chimera and AutoDock software were utilized for the molecular docking studies of PLA with these proteins. Our aim was to determine the binding energy between PLA and each protein to evaluate their interaction strength.

Material and Methods

To investigate the interaction of PLA with the target proteins, molecular docking studies were performed using Chimera and AutoDock software. These simulations allowed us to assess the binding energy between PLA and each protein, providing insights into their potential interactions as antifungal agents. Additionally, a docking study was conducted between Fluconazole, a well-known antifungal molecule, and Yeast sec p14 protein to serve as a positive control for comparison.

Results

Molecular docking simulations demonstrated that phenyllactic acid (PLA) exhibited a robust interaction with Yeast sec p14 protein, with a binding energy of -7.3 kcal/mol. In comparison, Fluconazole, serving as a positive control, showed a binding energy of -8.4 kcal/mol. These results indicate that PLA's binding energy is comparable to Fluconazole, underscoring its potential as an antifungal agent. Further analysis using Discovery Studio software revealed that PLA formed two hydrogen bonds with Yeast sec p14 protein, while Fluconazole only formed one. This suggests that PLA may establish a stronger and more stable interaction with the protein.

Discussion

Consequently, our findings imply that PLA may exert its antifungal effect through its interaction with yeastsecp14 protein. However further investigations are necessary comprehend the mechanism and effectiveness of PLA as an antifungal agent.

Key Words: Phenyllactic acid, Molecular Docking, Antifungal Agent, Protein-Ligand.

Hurda İncirden *Gluconacetobacter xylinus* ile Mikrobiyal Selüloz Üretimi

Merve Yılmaz[1], Buket Şahyar[3], Taner Baysal[2], Mehmet Yekta Göksungur[2]

[1]*Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir*
[2]*Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir*
[3]*Işık Tarım Ürünleri Sanayi ve Ticaret A. Ş, İzmir*

merveyilmaz507@gmail.com

Giriş

Çok az bakteri türü tarafından sentezlenen mikrobiyal selüloz, bitkisel selülozun aksine lignin, hemiselüloz ve pektin içermeyen çok yüksek saflığa sahip bir ekzopolisakkarittir. Benzersiz mekanik özellikleri, ultra ince ağ yapısı, yüksek su tutma kapasitesi, biyouyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği gibi dikkat çekici özellikleri nedeniyle mikrobiyal selüloz, biyomedikal, gıda, tekstil, kozmetik gibi çeşitli alanlarda pek çok uygulamalara sahip bir biyomateryaldir. Bu çalışmanın amacı daha önce mikrobiyal selüloz üretiminde kullanılmamış bir atık olan hurda (endüstriyel) incirden, *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 700178 suşu ile mikrobiyal selülozun üretim koşullarının optimizasyonun gerçekleştirilmesidir.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada karbon kaynağı olarak hurda incir ekstraktı kullanılmış olup, fermantasyon denemeleri 100 mL'lik ortamlarda 30°C'de bir hafta süreyle statik yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Plackett-Burman deney tasarımı kullanılarak, hurda incirden elde edilen ekstrakta eklenen standart Hestrin ve Schramm (HS) ortam bileşenlerinden (maya ekstraktı, sitrik asit, Na_2HPO_4 ve pepton) mikrobiyal selüloz üretiminde öneme sahip olanlar belirlenmiştir. Daha sonra, maya ekstraktı (3, 5, 7, 10, 13, 15 g/L), inokülasyon oranı (1, 2, 3, 4%), pH (4.0, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0) ve başlangıç substrat miktarı (20, 40, 60, 80 g/L) üretim parametreleri için optimizasyonlar gerçekleştirilmiştir. Yüksek substrat konsantrasyonlarında ekstraktta bulunan pektin gibi polimerik yapıdaki maddeler nedeniyle jelleşme görülmüştür, bunun engellenmesi için selülaz ve pektinaz aktivitesine sahip bir ticari enzimin (Rapidase FC) etkisi incelenmiştir.

Bulgular

Plackett-Burman deney tasarımı ile hurda incirden hazırlanan fermantasyon ortamına eklenen standart HS besiyeri bileşenlerinden sadece maya ekstraktının mikrobiyal selüloz üretiminde istatistiksel öneme sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek mikrobiyal selüloz (7,50 g/L), 10 g/L maya ekstraktı, %2 (v/v), inokülasyon oranı, pH 6.5, 60 g/L substrat konsantrasyonunda enzim kullanılarak elde edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuç olarak yapılan bu çalışma, hurda incirin düşük maliyetli karbon kaynağı olarak katma değeri yüksek bir ürün olan mikrobiyal selüloz üretiminde kullanımının büyük potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyal Selüloz, Hurda İncir, Plackett-Burman Tasarımı, Optimizasyon

Teşekkür: ARDEB 1002 ve BİDEB 2210-D kapsamında desteklenmiştir. Hurda incir Işık Tarım'dan sağlanmıştır.

Peynirden İzole Edilen İki Laktik Asit Bakterisinin Vitek MS MALDI-TOF ve Tüm Genom Sekanslama ile Analizi

Özge Kahraman Ilıkkan[1]

[1]*Başkent Ünivetesi, Kahramankazan Myo, Gıda İşleme Bölümü, Ankara.*

okilikkan@baskent.edu.tr

Giriş

Laktik asit bakterileri (LAB) probiyotik veya starter kültür olarak kullanılabilir. Omik teknolojilerdeki son gelişmeler ve yüksek verimli dizileme, bakterilerin tanımlanmasını ve karakterizasyonunu sağlamıştır. Ayrıca, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi tarafından özellikle starter kültür ve probiyotik olarak kullanılacak laktik asit bakterilerinin tüm genom analizlerinin yapılarak virülens faktörlerinin ve antibiyotik dirençlilik genlerinin belirlenmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Bu çalışma ilk olarak Vitek®3.2 MS MALDI-TOF sisteminin laktik asit bakterilerinin tanımlanmasındaki hassasiyetini göstermeyi ve ikinci olarak çeşitli biyoinformatik yaklaşımlar kullanarak bakterileri karakterize etmeyi ve önemli genlerin tespitini amaçlamıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Kahramankazan'da yöresel olarak üretilen peynirden iki adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Bakteriler Vitek®3.2 MS MALDI-TOF systemi ile laktik asit bakterisi oldukları doğrulanarak, tüm genom dizi analizi yapılmıştır. Dizi analizi, Novaseq 6000 cihazında 2x150 ,100x coverage olarak dizilenmiştir. Assembly Unicycler v0.5.0 ile gerçekleştirilmiş, annotasyon için ise NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP), Galaxy, ve BV-BRC web tabanlı analiz programlarından yararlanılmıştır. Avarage nucleotide identity (ANI) değerleri ise EZBiocloud ile tespit edilmiştir ve GGDC web aracı ile *in silico* DNA–DNA hybridizasyonu (DDH) yapılmıştır. Biyoinformatik araçlar yardımıyla bazı genler tespit edilmiş ve baktelerin virülens faktörleri, antibiyotik direnç genleri de araştırılmıştır.

Bulgular

Vitek®3.2 MS MALDI-TOF sistemi tüm bakterileri cins düzeyinde tanımlayabilmiştir. 2 bakteri MALDI-TOF sistemi ile *Lacticaseibacillus casei/ paracasei/ rhamnosus* olarak tanımlanmıştır. Tüm genom dizi analizi sonucu ise, bakterilerden biri *Lacticaseibacillus paracasei* ARN1 (NCBI Accession No: GCA_028993835.1) ve diğeri *Lacticaseibacillus rhamnosus* ERKN4 NCBI Accession No: GCA_029269765.1) olarak bulunmuştur. ANI değerleri sırasıyla, % 98.53 ve % 97.52 olarak, DDH değerleri ise % 91.97, ve % 96.88 olarak bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

EFSA'nın önerisine göre, bakterilerde virülens faktörleri ya da dirençlilik genleri bulunduğundan bu bakteriler starter kültür ya da probiyotik olarak kullanılmasalarda, endüstriyel anlamda çeşitli üretim süreçlerinde kullanılabilmektedirler.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterisi, tüm genom, Vitek MS MALDI-TOF, peynir

Üniversite-sanayi İş birliği Çerçevesinde Probiyotik Kültür İçeren Kapsül Üretimi

Yekta Göksungur[1,1], Gökhan Gurur Gökmen[1,1], Seda Sarıyıldız[1,1], Simge Malkoç[2,2], Seray Gür[3,3], Biray Baler[3,2], Remzi Cholakov[4,4], Emek Aslan[3,3], Emel Öykü Çetin Uyanıkgil[2,2], Figen Ertekin[1,1], Sait Sargın[3,3], Ayşe Nalbantsoy[3,2], Duygu Kışla[1,2]

[1]Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir
[2]Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, İzmir
[3]Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir
[4]Kaasmakerij Özgazi, Nijverheidsweg 39, 4879 Ap Etten-leur Hollanda
[5]Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bursa

yekta.goksungur@ege.edu.tr

Giriş

Probiyotik içeren ürünler tüketicilere fermente ya da fermente edilmemiş gıda veya gıda takviyesi olarak sunulmaktadır. Her iki durumda da probiyotik içeren ürünlerin tüketiciye ulaşıncaya dek canlılıklarını korumaları, metabolik olarak aktif olmaları ve organoleptik özelliklerini korumaları gerekmektedir. Bu çalışmada bozadan izole edilen *L. plantarum* BG24'ün probiyotik özellikleri incelenmiş, optimum üreme koşulları belirlenmiş ve ölçek büyütme çalışmaları yapılmıştır. *L. plantarum* BG24 suşundan elde edilen biyokütle kurutulmuş ve geliştirilen enterik kapsül ile probiyotik gıda takviyesi prototipi elde edilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

L. plantarum BG24'ün probiyotik özelliklerini belirlemek için farklı pH değerlerinde ve safra tuzu konsantrasyonlarında canlılıkları incelenmiş, farklı sıcaklıklarda ve NaCl konsantrasyonlarında gelişebilme, laktoz kullanımı, Gr (+) ve Gr (-) patojenlere karşı antibakteriyel aktiviteleri, Caco-2 hücrelerine tutunma, antibiyotik direnç ve enzimatik aktivite profilleri incelenmiştir. *L. plantarum* BG24 suşunun optimum üreme koşullarının belirlenmesi amacıyla aşı oranları, ortam pH değeri, çalkalama hızı, glikoz ve maya ekstraktı ilavesi gibi parametrelerin mikrobiyal gelişim üzerine etkileri incelenmiştir. Ölçek büyütme çalışmaları 10-litrelik karıştırmalı tank biyoreaktöründe güç sayısı hesabına göre yapılmıştır. *L. plantarum* BG24 püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuştur. Enterik kapsüller %12 konsantrasyonda Hipromelloz ftalat polimeri (HPMCP) %10 PEG400 ile plastikleştirilmiş, %10 Tween 80 yüzey aktif ajanıyla aseton içerisinde çözünmüştür.

Bulgular

L. plantarum BG24 suşunun Caco-2 hücrelerine tutunma oranının %36,28 olduğu belirlenmiştir. *L. plantarum* BG24'ün optimum üreme ortamı olan 5g/L maya ekstraktı ile zenginleştirilmiş MRS broth (pH 6,5) ortamındaki spesifik üreme hızı 0,067 s-1, ikilenme süresi 0,24 s ve biyokütle verimliliği 0,03 gL-1sa-1 olarak belirlenmiştir. Yüz litrelik karıştırmalı tank reaktörde (karıştırma hızı 270 rpm) optik yoğunluk 8,2, biyokütle 2,75 g/L ve canlı hücre sayısı 1,4×1010 KOB/mL olarak bulunmuştur. *L. plantarum* BG24 enterik kapsül içerisine 250 mg toz olacak şekilde doldurulmuş ve 25°C'de 6 aylık depolama süresi boyunca kapsül içerindeki probiyotik bakteri sayısının 2,34×108 KOB/250mg değerinden 1,45×106 KOB/250mg değerine azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

L. plantarum BG24'ün yüksek probiyotik özelliklere sahip olması ticari suşlarla rekabet edebilecek potansiyelde olduğunu ve geliştirilen enterik kapsül içerisinde depolama süresince canlılığını koruması yüksek ticari potansiyelini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, *L. plantarum*, biyokütle, enterik kapsül, gıda takviyesi

Teşekkür: EÜ BAP Koord. (Proje No: FBG-2019-21412) ve Aegene Biyoteknoloji firması tarafından desteklenmiştir.

GIDA BİYOTEKNOLOJİSİ
POSTER SUNUMLARI

Streptococcus thermophilus Suşlarında CRISPR-Cas Tip 2-C Alt Tipine Ait *Cas9* Geninin RT-qPCR ile Tespiti

Bilge Yılmaz[1,2], Remziye Yılmaz[1,3]

[1]*Foodomics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*
[2]*Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*
[3]*Uluslarası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayım Merkezi (ıfbbc), Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Bakterilerin bakteriyofajlara karşı geliştirdiği otoimmün sistem temel alınarak geliştirilen CRISPR (Düzenli Aralıklı Palindromik Tekrar Kümeleri)-Cas (CRISPR ile ilişkili endonükleaz protein) teknolojisi son yıllarda gıda ve hammadde kayıplarının önlenmesi açısından büyük önem kazanmıştır. Bakterilerin maruz kalabileceği bakteriyofajlar, bakterilerin kullanımını doğrudan etkiler. *Streptococcus thermophilus (S. thermophilus)*'ta keşfedilen CRISPR-Cas Tip-II bölgesinin tespiti; gıda üretim ve fermantasyon sürecinde kullanılan suşların seçiminde ve kontrolünde kritik rol oynar. Bu çalışmada *S. thermophilus* suşlarında CRISPR-Cas Tip II-C alt tipinin varlığına dair bir kanıt olan *Cas9* geninin var-yok analizini gerçekleştirmeyi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

In silico: referans olarak seçilen *S. thermophilus* ATCC 19258 suşunun tam genom sekansı ATCC Genome Portal veritabanından elde edilmiştir. Tam genom sekansı elde edilen suşun sahip olduğu Cas, aralayıcı ve tekrar genleri CRISPRCasFinder ile tespit edilmiştir. CRISPR-Cas Tip II-C bölgesine ait seçilen Cas9 geninin sekansı CRISPRCasdb-Taxo veritabanı kullanılarak elde edilmiştir. Sekans verileri kullanılarak Primer3 ile RT-qPCR primerleri tasarlanmıştır. Primerler NCBI BLAST kullanılarak diğer *S. thermophilus* sekansları ile hizalanmıştır. *In vitro:* Önceden tanımlanmış *S. thermophilus* suşları, M17 Broth ve agar besiyerlerinde canlandırılmış ve genomik DNA izolasyonları EURX GeneMATRIX Bacterial kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ardından *in silico* analizlerin sonucu olarak tasarlanan primerler ile RT-qPCR analizi, Roche FastStart Essential DNA Green Master kiti kullanılarak suşların CRISPR-Cas Tip II-C bölgesine ait Cas9 geninin tespiti gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Streptococcus thermophilus suşlarında CRISPR-Cas Tip II-C bölgesinin tespiti amacıyla uygulanan RT-qPCR analizinde amplifikasyon eğrilerinden elde edilen Cq değerleri ve erime eğrilerinden elde edilen Tm değerleri tespit edilmiştir. RT-qPCR analizi sonucunda *Streptococcus thermophilus* ATCC 19258, HUF19ZN2M1012 ve HUF19ZN7M1039 kodlu suşları pozitif sonuç vermiştir. HUF22BDT2034 kodlu suşun ise erime eğrisinin omuz yaptığı gözlenmiş, bu sebeple bu suşa ait sonuç şüpheli pozitif olarak değerlendirilmiştir. Dolayısıyla CRISPR-Cas Tip II-C bölgesinin tespiti amacıyla birden fazla gen bölgesi seçilmesinin, potansiyel şüpheli pozitif sonuçların ortadan kaldırılmasında önemli bir kriter olduğunu göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmanın sonucunda, *Streptococcus thermophilus* suşlarında pozitif ve şüpheli pozitif sonuç veren suşların, Tip II-C bölgesine ait Cas, aralayıcı veya tekrar genleri ile doğrulanması gerektiği yorumu yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus thermophilus*, CRISPR-Cas, Cas9, RT-qPCR

Teşekkür: Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Katma Değerli Ürünlerin Üretimi Amacıyla Meyve Suyu Endüstrisi Atıklarının Kompozisyonunun Belirlenmsesi

İpek Ceren Yeşildağ[1,2], Hilal Akın[3], Şerafettin Yazıcı[3], Remziye Yılmaz[1,4]

[1]*Foodomics Laboratuvarı, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*
[2]*Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*
[3]*Tunay Gıda San. ve Tic. A.ş. 24000, Erzincan.*
[4]*Uluslararası Gıda Biyogüvenlik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Yayım Merkezi (ıfbbc), Hacettepe Üniversitesi, 06800, Ankara.*

remziye@hacettepe.edu.tr

Giriş

Gıda atıkları, dünya çapında en yaygın üretilen organik atıklar arasında yer almaktadır. Bu atıkların değerlendirilmesi, karbon ayak izinin azaltılması, döngüsel ekonomi modelinin benimsenmesi ve sürdürülebilirliğin sağlanması açısından önem taşımaktadır. Meyve suyu endüstrisi atıkları zengin içerikleri sayesinde değerli bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. Bu atıklar yüksek katma değere sahip mikrobiyal protein, mikrobiyal yağ, biyoyakıt, polifenoller ve enzim üretiminde kullanılabilmektedir. Bu doğrultuda atıkların kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, meyve posalarının kimyasal kompozisyonları analiz edilerek yüksek katma değere sahip ürün üretimlerindeki potansiyelleri değerlendirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Elma, armut, nar, şeftali, çilek, kayısı ve siyah havuç yaş posalarının kurumadde-nem, kül, protein, ham lif ve indirgen şeker analizleri gerçekleştirilmiştir. Kurumadde-nem tayinin gerçekleştirilmesi için yaş posalar 105°C'ye ayarlanmış etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Toplam kül tayini için yaş posalar 550°C sıcaklığa getirilmiş kül fırınında sabit tartıma gelinceye kadar yakılarak örneklerdeki kül oranı % cinsten hesaplanmıştır. Posalarda indirgen şeker analizi için sıcak su ile ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon sonucu elde edilen çözelti HPLC-RID sisteminde analiz edilerek posalardaki indirgen şeker profili % cinsinden tespit edilmiştir. Posalardaki protein miktarı kjeldahl protein metodu ile % cinsinden belirlenmiştir. Ham lif analizi ise örneklerin sülfirik ve sodyum hidroksit ile kaynatılıp geriye kalan kısmın kurutulması ve tartılması ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

Analizler sonucunda elma, armut, nar, şeftali, çilek, kayısı ve siyah havuç yaş posalardaki nem içeriği % cinsinden sırasıyla 77.63, 48.48, 59.06, 78.93, 55.35, 79.46 ve 79.21 olarak tespit edilmiştir. Nem değerlerinin yüzdelik dilimden çıkarılmasıyla kurumadde değerleri hesaplanmıştır. Yaş posaların kül içeriği % cinsinden sırasıyla 0.49, 0.46, 1.07, 0.49, 0.99, 0.90 ve 1.17 olarak tespit edilmiştir. Yaş posaların protein içeriği % cinsinden sırasıyla 1.9, 1.1, 3.55, 1.5, 5.2, 3.6 ve 3.4 olarak tespit edilmiştir. Ham lif içerikleri % cinsinden sırasıyla 8.81, 24.97, 6.62, 11.95, 12.77, 3.13 ve 4.34 olarak tespit edilmiştir. İndirgen şeker içeriği % cinsinden sırasıyla 2.51, 1.97, 8.02, 2.23, 0.5, 8.43 ve 1.43 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Analiz edilen posa çeşitlerine ait kompozisyonel veriler, yeni gıda üretimi için proses dizaynı yapmayı mümkün kılmaktadır. Veriler doğrultusunda yaş posalar kullanılarak mikrobiyal protein üretimi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Meyve suyu endüstrisi atıkları, sürdürülebilirlik, mikrobiyal protein

Teşekkür: Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi BAP tarafından desteklenmektedir (Proje Kodu: FUK-2022-20131).

Fermente Gıda Shotgun Genom Verilerinde *in silico* Bakteriyosin Genlerinin Belirlenmesine İlişkin Yöntemin Oluşturulması

Naciye Afranur Kanıbol[1], Ömer Şimşek[1]

[1]*Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul*

afranur.kanibol@yildiz.edu.tr

Giriş

Fermente ürünlerin mikrobiyotasında bulunan bazı mikrobiyal bakteri türleri, bakteriyosin üretimi ile antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Kültürden bağımsız yöntemlerin kullanılmasıyla mikrobiyotadaki mikrobiyal türlerin tespit edilmesi ve bakteriyosin üretimi ile aralarındaki ilişkinin anlamlandırılması ile fermente gıdalarda bakteriyosin üreticisi mikrobiyal türler tespit edilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu doğrultuda, fermentasyon mikrobiyotası içinde bakteriyosin üreticisi mikrobiyal türleri tespit edebilmek amacıyla biyoinformatik strateji kurulmuştur. Çalışmada BACTIBASE veri tabanından elde edilen bakteriyosinlerin protein dizilimleri ile yeni bir bakteriyosin veri tabanı oluşturulmuştur.

Bulgular

Çeşitli fermente ürünlerin shotgun metagenom dizi okumaları DIAMOND Blast programı ile hizalanarak eşleşen dizilerin tespiti gerçekleştirildikten sonra bakteriyosin üreticilerinin fermente gıdalarda çeşitliliğinin, üretici organizma türlerinin ve bakteriyosin genlerinin yerleşimi hakkında bilgi sahibi olunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Metagenom analiz ve biyoinformatik araçlar kullanılarak mevcut dataların farklı özelliklerinin teknolojik araştırılmasında önemli bir kaynak oluşturulmuştur ve çalışmanın veri analizi ile ilgili kullanılan teknolojilere ışık tutacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyosin, Fermentasyon mikrobiyotası, Genom anlamlandırma

Coriolus versicolor'un Besin Bileşimi, Polifenol İçeriği, Antioksidatif ve Antikanser Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Özlem Erdal Altıntaş[1,1], Pınar Aytar Çelik[2,2]

[1]*Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Şuhut Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Afyonkarahisar*
[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*

ozlem.erdal.ege@gmail.com

Giriş

Son yıllarda, yenilebilir ve tıbbi mantarlar, fonksiyonel gıda ve biyoaktif bileşen kaynağı olarak önem arz etmektedir. Besleyici özelliklerinin yanı sıra tıbbi mantarlar, tüketici sağlığına olan faydalı etkileri ile de medikal endüstrinin ilgisini çekmektedir. Bu çalışma, ticari olarak satın alınan, yenilebilir ve tıbbi mantar Coriolus versicolor'un besin bileşimi, antioksidan potansiyeli, fenolik ve flavonoid içeriğini belirleyerek HT-29 hücrelerine karşı anti-kanser etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır.

Gereçler ve Yöntemler

C. versicolor tıbbi mantarının kül, toplam protein, karbonhidratlar, yağ, toplam diyet lifi ve glukan içeriği dahil olmak üzere yaklaşık besin bileşimi Resmi Analitik Kimyacılar Birliği (AOAC) prosedürüne göre belirlenmiştir. *C. versicolor* mantarından ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile su etanol ve methanol ekstreleri elde edilmiştir. Elde edilen üç ekstrenin Folin-Ciocalteu ve $AlCl_3$ kolorimetrik yöntemi ile toplam fenolik ve flavonoid içeriği belirlenmiştir. Ayrıca, bu ekstrelerin antioksidan kapasitesi farklı yöntemlerle (DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC) karşılaştırılmıştır. Son olarak, bu ekstrelerin MTT yöntemi ile HT-29 hücreleri üzerindeki anti-kanser etkileri değerlendirilmiştir.

Bulgular

C. versicolor, sahip olduğu protein, karbonhidrat, diyet lifi ve glukan içeriği ile yüksek bir besin değeri göstermektedir. Etanol ekstresi üç ekstre türü içerisinde en yüksek toplam fenolik (172.80±2.35 mg GAE/g ekstre) ve toplam flavonoid (48.72±2.89 mg QE/g ekstre) içeriği ve en yüksek DPPH (39.16±0.82 µM TE/g ekstre), ABTS (29.19±1.30 µM TE/g ekstre) ve CUPRAC (37.17±0.79 µM TE/g ekstre) aktivitelerini gösterirken, su ekstresinin FRAP (21.01±1.62 µM TE/g ekstre) aktivitesi en yüksek olarak belirlenmiştir. Ekstrelerin HT-29 hücreleri üzerindeki anti-kanser etkileri değerlendirildiğinde, 48 saatin sonunda etanol, metanol ve su ekstrelerinin sırasıyla HT-29 hücrelerini %82.43, %79.15 ve %65.56 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

C. versicolor besin bileşimi ve antikanser özelliği ile kolon kanseri tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılabilme potasiyeli sergilemiştir. *C. versicolor* ekstreleri ile yeni formülasyonlar geliştirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Antikanser, antioksidatif, besin bileşimi, *Coriolus versicolor*, HT-29

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
SÖZLÜ SUNUMLAR

NAC Transkripsiyon Faktör Ailesi Üyelerinin Şeker Pancarı (*Beta vulgaris*) Genomunda Biyoinformatik Araçlarla Karakterizasyonu

Ferhat Ulu[1]

[1]*Plantomics Research Laboratory, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Kastamonu Üniversitesi, Kastamonu.*

fulu@kastamonu.edu.tr

Giriş

Şeker pancarı (*Beta vulgaris*) Ispanakgiller (Amaranthaceae) ailesine mensup, çift çenekli, iki yıllık kazık kök sistemine sahip, köklerinin içerdiği sükroz nedeniyle ekonomik öneme sahip bir bitkidir. NAC (NAM, ATAF1/2 ve CUC2) transkripsiyon faktör ailesi, sadece bitkilere özgü ve bitkilerde en bol bulunan transkripsiyonel düzenleyicilerden biridir. NAC ailesi üyelerinin, yaprak yaşlanması, bitki büyümesi, bitki gelişmesi, morfogenez, biyotik ve abiyotik streslere karşı dirençte önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada, 2014 yılında dizilemesi tamamlanan şeker pancarı genomundaki *NAC* genlerinin (*BvNAC*) tespit edilmesi ve biyoinformatik yöntemlerle karakterizasyonu hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Şeker pancarı genomu (EL10.2_2) Phytozome v13 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/) veritabanından elde edilmiştir. Qiagen CLC Genomics Workbench v10 programı ile NAC genlerine spesifik olan PFAM domaini (PF02365) kullanılarak şeker pancarı genomundaki *NAC* genleri tespit edilmiştir. Belirlenen genlerin genomik, kodlayıcı ve peptid dizileri Phytozome v13 veritabanından elde edilmiştir. GSDS 2.0 (Gene Structure Display Server) (http://gsds.gao-lab.org/) programı ile ekzon-intron bölgeleri belirlenmiştir. NAC proteinlerinin motif yapıları Multiple EM for Motif Elicitation v5.5.4 (MEME) (https://meme-suite.org/meme/tools/meme) veritabanı kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. AlphaFold Protein Structure Database (https://alphafold.ebi.ac.uk/) yardımıyla NAC proteinlerinin 3 boyutlu yapıları tahminlenmiştir. Evrimsel etkileşimlerin tespiti amacıyla, ClustalW algoritması ile peptid dizileri hizalanmış ve MEGA7 programıyla filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Bulgular

PFAM taraması sonucunda pancar genomunda 52 adet *NAC* geni belirlenmiştir. Bu proteinlerin 21-71 kDa ağırlığında, izoelektrik noktalarının 4.57-9.07 değerinde ve peptid dizilerinin 193-638 amino asit uzunluğunda olduğu bulunmuştur. Belirlenen genlerin tüm kromozomlar üzerinde dağıldığı ve en fazla genin 4. kromozomda yer aldığı görülmüştür. Yapılan motif analizine göre *NAC* genlerinde 7 farklı motif tanımlanmıştır. Ekzon-intron bölgelerinin analizi sonucunda iki gende (*BvNAC-004, BvNAC-034*) intron olmadığı tespit edilmiştir. Belirlenen genlerin 3 boyutlu yapıları %90 doğrulukla tahminlenmiş ve ikincil yapılarda α-heliksin yaygın olduğu bulunmuştur. Filogenetik analizler sonucunda NAC ailesi üyelerinin 7 gruba ayrıldığı tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, *BvNAC* genleri biyoinformatik araçlar kullanılarak tanımlanmış ve olası fonksiyonel karakterizasyonları yapılmıştır. Bu sonuçlar, gelecekteki karşılaştırmalı ve fonksiyonel genom araştırmalarında ön bilgi olarak değerlendirilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: *Beta vulgaris*, Şeker pancarı, Biyoinformatik, NAC, transkripsiyon faktörü

Karakılçık Buğdayına Farklı Koşul ve Konsantrasyonlarda Uygulanan Tuz Stresinin Oluşturduğu Tepkiler

Alperen Doğan[1], Gülşah Çalık Koç[2,3], Füsun Eyidoğan[1,4]

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

[2]Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü

[3]Başkent Üniversitesi, Transplantasyon ve Gen Bilimleri Enstitüsü

[4]Başkent Üniversitesi, Gıda Tarım ve Hayvancılığı Geliştirme Enstitüsü

alperen.dogan.337@gmail.com

Giriş

Dünyadaki temiz su kaynaklarının azalması ve hatalı uygulamalarla temiz sulara karışan tuzlar, uzun vadede topraktaki tuzluluk oranlarını arttırmaktadır. Bu artış tarım bitkileri üzerinde tuz stresi oluşturmakta ve tarlalardaki üretim verimini düşürmektedir. Çözüm için bitkilerde tuz stresinin daha detaylı araştırılması, bitkilerin uygulama koşullarına bağlı strese nasıl tepki verdiğinin gözlemlenmesi, dirençli bitki tespitleri ve bunların diğer bitkilere uygulanabilirliğinin araştırılması gereklidir. Bu doğrultuda ülkemizin yerli buğday türü olan karakılçık buğdayında, farklı koşul ve konsantrasyonlarda uygulanan tuz stresinin, bitkideki fizyolojik ve serbest oksijen radikallerine etkilerinin gösterilmesi amaçlamaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada; Triticum durum türünün alttürü olan Karakılçık Buğdayı tohumları kullanılmış ve uygulamalar; laboratuvar ortamında petride ve sera ortamında 3:1 (torf:perlit) karıştırılmış toprak doldurulmuş saksılarda gerçekleştirilmiştir. Her farklı uygulama kendi içinde üç tekrarlı olarak çalışılmış: 150 mM ve 200 mM konsantrasyonlarda tuz stresine maruz bırakılmıştır. Laboratuvar denemesinde petri içine konulan steril edilmiş tohumlara, negatif kontrol grubu hariç, baştan hoagland karışımı içeren tuz stresleri uygulanmıştır, negatif kontrole ise tuz içermeyen hoagland karışımı uygulanmıştır. Seradaki saksılara ekilen tohumlar belli bir büyüklüğe geldiğinde tuz stresine maruz bırakılmıştır ve 25°C'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyodik düzende takip edilmiştir. Deneyler belirtilen koşullarda 7 gün süreyle devam etmiş ve stres ölçeği olarak CAT, APX enzim aktiviteleri ve MDA ölçülerek uygulamalar arası farklılıklar kaydedilmiştir.

Bulgular

Uygulanan 200 mM tuz konsantrasyonunda, çimlenme oranının, vejetatif büyümenin yüksek oranda düştüğü, klorofil ve antosiyanin değerlerinin olumsuz etkilendiği gözlemlenmiştir. Uygulamalar açısından 200 mM tuz konsantrasyonunda kök örneklerinde en yüksek değerler: MDA için petri uygulamasında 10,61 nmol/g örnek; CAT için petri uygulamasında 0,68 nmoleH_2O_2/dk/mg protein; APX için toprak dolu saksı uygulamasında 3,37 nmoleH_2O_2/dk/mg protein verileri elde edilmiştir. 200 mM tuz konsantrasyonunda bitki sap verilerinde ise: MDA için toprak dolu saksı uygulamasında 15,42 nmol/g örnek; CAT ve APX için petri uygulamasında sırasıyla 0,63 nmoleH_2O_2/dk/mg protein ve 10,61 nmoleH_2O_2/dk/mg protein değerlerine ulaşılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Karakılçık buğdayının 200 mM tuz stresine dayanabildiği ancak çimlenme, fiziki gelişim ve antioksidan enzim aktiviteleri açısından yüksek farklılıklar yarattığı ve bu farklılığın tuzun veriliş kaynağından önemli derecede etkilendiği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Tuz stresi, Antioksidan enzim aktivitesi

Sukroz Taşıyıcılarının Kuraklık Stresi Altındaki *Arabidopis thaliana*'nın Ros-ilişkili Redoks Düzenlenmesi Üzerindeki Rolü

Aşkım Hediye Çetinel[1], Melike Bor[1], Azime Gökçe[1], Zulal Akba[1]

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

hediye.sekmen@ege.edu.tr

Giriş

Son yıllarda bitkilerde en bol bulunan şeker formu olan sukrozun hem hücre içi fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesinin hem de bitkideki seviyesi ve dağılımının, sukroz taşıyıcıları (SUT) tarafından düzenlendiği keşfedilmiştir. Bitkilerin stres savunma yanıtlarındaki önemli rolleriyle dikkat çeken SUT'lardan AtSUC3'lerin hücrenin redoks dengesinin sağlanmasında ve ROS sinyallemesinde nasıl bir role sahip olduğu bilinmemektedir. Bu amaçla çalışmamızda kuraklık stres altındaki sukroz taşıyıcısı *Arabidopsis* AtSUC3 genlerinden yoksun Atsuc3 mutantları ile yabani Columbia ekotipinin yapraklarındaki hücresel ROS ve redoks düzenlenmesinin nasıl sağlandığı biyokimyasal ve moleküler seviyede karşılaştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu amaç için kuraklık stresi altındaki Atsuc3 mutantları ve yabani tip Columbia'nın kök ve olgun yapraklarındaki tüm hücre seviyesinde NADPH oksidaz aktivitesi, *RbohA* ve *B* gen ifadeleri, ROS miktarları, NAD/NADH ve GSH/GSSG oranları, Glutatyon peroksidaz ve Glutatyon S-transferaz enzim aktiviteleri, Glutatyon metabolizması ile ilişkili genlerin [GSH1 (ɣ-EC synthetase),GSH2, OXP1 (5-oxoprolinaz enzimini kodlar), GGT1 ve GGT2 (glutamil transpeptidaz 1 ve 2)] ifadeleri, ve süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, dehidroaskorbatredüktaz, monodehidroaskorbat redüktaz enzim ve izozim aktiviteleri tanımlanmıştır.

Bulgular

Normal koşullar altında SUC3 yoksunluğu süperoksit radikal miktarında %70 artışa neden olmuştur. Stres altında her iki genotipte en yüksek H_2O_2 artışı ise 12. saatte gözlenmiştir. Cu/Zn SOD stres altında SUC3 yoksunluğunda belirgin olarak azalmıştır. Col'da, Mn ve FeSOD izozim aktiviteleri strese bağlı olarak değişmezken Suc3 mutantında stresin süresine bağlı olarak artmıştır. 12. saatte Mn ve FeSOD daki artış, aynı saatteki H2O2 miktarındaki artışı açıklayabilir. Normal koşullarda APX, SUC3 yokluğunda 3 kat artmıştır. Ancak stresin 3. gününde SUC3 yokluğuna bağlı APOX azalmıştır. POX, SUC3 yokluğunda belirgin şekilde hem normal hem de stres koşullarında artmıştır.

Sonuç ve Tartışma

AtSUC3 taşıyıcısının kuraklık stresi altındaki hücre içi ROS düzenlenmesinden ve ROS sinyalinden NADPH oksidaz aracılığıyla sorumlu olduğu bulunmuştur. AtSUC3'ün Cu/Zn SOD ile pozitif, POX aktivitesi ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştu

Anahtar Kelimeler: AtSuc3, Kuraklık, Reaktif Oksijen Türleri, Redoks, Sukroz Taşıyıcısı

Teşekkür: Araştırmamız, Tübitak, 1001-Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir.

Türk Fındık (*Corylus avellana* L.) Çeşitlerinin Hızlı Üretimi için Geliştirilmiş Mikropropagasyon Yöntemi

Baki Yaman[1], Şule Arı[1]

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

bakiyaman5@gmail.com

Giriş

Fındık (*Corylus avellena* L.), dünyada en fazla tüketilen dördüncü kabuklu kuruyemiştir ve fındık bazlı gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerine yönelik talep sürekli olarak artmaktadır. Türkiye küresel ihtiyacın %60'ını tek başına karşılamaktadır. İklim değişikliği, fındık ağaçlarının yaşlanması ve bitki patojenleri gibi olumsuz etkenler, Türkiye'nin mevcut üretim verimini düşürmektedir. Türkiye'nin lider konumu koruması için fındık ağaçlarının yetiştirilmesi gerekmektedir. Geleneksel çoğaltım yöntemlerinin yetersizliği, mikropropagasyon yöntemini öne çıkartmaktadır. Bu çalışma ile Türk fındık çeşitlerinden Kalınkara için etkili bir *in vitro* mikropropagasyon yöntemi optimize edilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Kalınkara fındık tohumları Fatsa/Ordu bölgesinden, 2021 yılı ağustos ayında alınmıştır. Çalışmada eksplant olarak fındıkların embriyoları kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda steril edilmiş fındıklar, gövde gelişimini sağlamak üzere 1,5 mg/L BAP+0,01 mg/L IBA+0,5 mg/L GA_3 içeren 6 farklı besiyerine (MS, ½ MS, ¼ MS, WPM, ½ WPM, ¼ WPM) ekilmiştir. Ekilen fındıklar 16 saat ışık/8 saat karanlık periyodunda, 25±1°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. 45 gün boyunca altkültürlenen fındıklar, çimlenme frekansı (%), eksplant başına yaprak sayısı ve gövde/yaprak kalitesi bakımından değerlendirilmiştir. Yetiştirilen gövdeler, farklı IBA (2, 3 mg/L) ve FeEDDHA (0, 100, 200 mg/L) içeriğine sahip 6 adet ½ MS besin ortamına aktarılmıştır. Aktarılan fındıklar gövde gelişiminde kullanılan koşullarda inkübe edilmiştir. Aktarımı takiben 45. günde, kök geliştirme frekansı (%), eksplant başına kök sayısı ve ortalama kök uzunluğu parametrelerince değerlendirilerek kök gelişimi üzerindeki etkiler incelenmiştir.

Bulgular

Kalınkara çeşidine ait embriyoların, besin ortamları arasında çimlenme frekansı (%72), eksplant başına yaprak sayısı (4,5 adet) ve gövde/yaprak kalitesi (% 66 iyi kalite) açısından ½ MS + 1,5 mg/L BAP + 0,01 mg/L IBA + 0,5 mg/L GA_3 kombinasyonu en etkili besiyeri olarak belirlenmiştir. Ek olarak, gövde gelişimi için MS temelli besin ortamlarının WPM'e göre daha iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Yetiştirilen gövdelerin köklendirici besin ortamlarına karşı verdiği yanıtlar analiz edildiğinde ise bitki canlılığı (% 72), kök indüksiyonu (%60-65), eksplant başına kök sayısı (9-10 adet) ve ortalama kök uzunluğu (2,8-4,4 cm) bakımından ½ MS + 2 mg/L IBA + 100 mg/L FeEDDHA en etkili besiyeri olarak belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Kalınkara fındığın başarılı bir şekilde mikroçoğaltımı gerçekleştirilmiştir. Kalınkara çeşidi için optimize edilmiş mikropropagasyon yönteminin ticari bakımdan önemli Tombul gibi diğer Türk fındık çeşitlerine uygulanabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fındık, *Corylus avellena* L., *in vitro* mikropropagasyon, embriyo

Teşekkür: İstanbul Üniversitesi BAP Yürütücü Sekreterliğinin FYL202138133 numaralı projesi ile desteklenmiştir

Arabidopsis thalliana'da Sıcalık Hafızasında Isı Şoku Proteinlerinde Spermidinin H3k27me3'ün Demetilasyonu Üzerindeki Rolü

Neva Kula[1], Dilek Ünal[1]

[1]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik.*

dilek.unal@bilecik.edu.tr

Giriş

Genel gen ekspresyonunun eşzamanlı olarak baskılanmasıyla birlikte strese duyarlı genlerin poliamin aracılı indüksiyonu, tüm organizmalarda korunmuş bir mekanizma olarak strese uyum sağlayan yanıt oluşturabileceği öne sürülmektedir. Bu hipotez, poliaminlerin her yerde ve bol miktarda amino asitlerden türetilen metabolitler olduğu ve kimyasal şaperonlar olarak işlev görebildiği gerçeğiyle daha da desteklenmiştir. Bu araştırmada Arabidopsis thalliana bitkisinde priming uygulamasına bağlı olarak bir poliamin çeşidi olan spermidinin ısı hafızasında rol oynayan Hsp22, Hsp26 ve Hsp17 ısı şoku proteinlerinin H3K27me3 metilasyonu üzerindeki etkileri Kromatin immünopresipitasyon (ChIP) analizleri ile belirlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

5 günlük Col-0 fideleri 0.1 mM Spd içeren ve içermeyen MS ortamlarına aktarılıp 2 saat 22 °C'de iklim odasında inkübe edildikten sonra her bir gruba priming uygulaması yapılmıştır. Priming uygulamasında 1,5 saat 37 °C sıcaklık uygulanmış sonra 22 °C'e ye alınarak iyileşme (recovery) için normal ortamına 1,5 saat bırakılmıştır. Bu uygulamanın ardından 44 °C'de ikinci bir ve daha yüksek bir sıcaklık şoku her bir deney grubundaki bitkilere uygulanarak sonra tekrar örnekler 22 °C'ye alınarak 1,5 saat iyileşmeye bırakılmıştır. Her bir grupta ChIP yapılarak Hsp22, Hsp26 ve Hsp17 ısı şoku proteinlerin H3K27me3 metilasyonundaki değişimler tespit edilmiştir. Elde edilen veriler % input olarak hesaplanmıştır. Priming uygulaması yapılan ve yapılmayan spd/non-spd'li gruplar ile 40 °C yüksek sıcaklık denemeleri kurulmuştur. Uygulamadan 24 saat sonra oksidatif stresi belirlemek için yapılan DAB ve NBT boyama ile yapraklarda ROS üretimi mikroskobik olarak görüntülenmiştir.

Bulgular

Priming uygulaması yapılmış 0.1 mM spd içeren ve içermeyen gruplarda Hsp22 proteinin %ınput değerinin kontrole göre sırası ile 3,20 ve 4,67 kat daha düşük olduğu saptanmıştır. Hsp26 proteinde priming uygulaması yapılan 0.1 mM spd uygulanmış ve uygulanmamış gruplarda kontrole göre sırasıyla 2,6 ve 1,4 katlık azalış belirlenmiştir. Hsp17 proteinde 0.1 mM spd uygulanmış ve uygulanmamış gruplarda kontrole göre sırasıyla 3,34 ve 1,9 katlık azalış belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre spermidin uygulaması H3K27me3'ün demetilasyonunu teşvik etmektedir. 40 °C yüksek sıcaklık uygulaması denemelerimizde ChıP sonuçlarımıza paralel olarak DAB ve NBT boyama oranın spd uygulamasına bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bu araştırma ile literatürde ilk defa spdinin ısı hafızasındaki olası rolü ve ısı şoku proteinlerinin demetilasyonu üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre spermidin uygulaması H3K27me3'ün demetilasyonunu teşvik etmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Arabidopsis thaliana,* ChIP-qPCR, Isı hafızası, spermidin

Teşekkür: Bu araştırma 221Z364 proje numaralı TÜBİTAK 1002 projesi ile gerçekleştirilmiştir.

Safran Yetiştiriciliğinde Korm Büyüklüğünün Verim ve Biyoaktif Bileşenlere Etkisi

Gülşah Çalık Koç[1,2], Gözde Kubat[3]

[1]*Başkent Üniversitesi, Transplantasyon ve Gen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*
[2]*Başkent Üniversitesi, Kahramankazan Meslek Yüksek Okulu, Ankara*
[3]*Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi Anabilim Dalı, Ankara*

gulsahcalik.biy@gmail.com

Giriş

En değerli baharat ve şifalı bitkilerden olan safran (*Crocus sativus*) her ne kadar geniş kullanım alanına sahip ise de, tarımı oldukça kısıtlıdır. Tarımının yapılmasının önündeki en önemli zorluklar, birim alandan az verim elde edilmesi, çok hassas olması sebebiyle koşullardan çabuk etkilenmesi ve hakkındaki bilinmezliklerdir. Çalışmamızın amacı; tescilli bir safran olan Karaarslan çeşidinin, Ankara Kahramankazan ekolojik koşullarında, agro-ekolojik özelliklerini belirleyerek sürdürülebilir bir tarım ürünü haline getirmek ve bu safran çeşidinde korm büyüklüğünün, verim ve biyoaktif bileşenlere etkisini belirlemektir.

Gereçler ve Yöntemler

Araştırma, tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre üç tekrarlı olarak kurulmuş ve çevre uzunluklarına göre iki farklı boyutta (orta 6-7 cm ve büyük 8-9 cm) soğan kullanılmıştır. Safranlar sabahın erken saatlerinde toplanmış, ölçüm ve örnekler alınmıştır.

Bulgular

Deneme sonuçlarına göre; iki grup arasında, büyük korma sahip çiçeklerde; tam çiçek yaş ağırlığı 0,4g, çiçek sayısı 4,89 adet, çiçek boyu 6,75cm ve çiçek aya büyüklüğü 3,75 cm değerleri ile istatiski açıdan farklı bulunmuştur. Çiçekteki farklılıklara paralel olarak, stigma yaş ağırlığındaki 0,03g'dan 0,04g' a ve ve stilus yaş ağırlığındaki 0,02g'dan 0,04g'a çıkan artış istatistik açıdan farklıdır. Antioksidan ifadelere bakıldığında ise; toplam fenolik içerik kıyaslamasında fark yaşanmaz iken DPPH radikali süpürme aktivitesindeki 1061,93 µg/ml (IC50) değer önemli bulunmuştur. Safranın kullanılabilirliği açısından önem teşkil eden, soğuk suda % çözünme aktivitesi küçük kormda 0,75 iken, büyük kormlu safranda 2,25'tir.

Sonuç ve Tartışma

Bu sonuçlar ışığında, korm boyutlarındaki küçük farklılıklar, verim ve kalite açısından büyük farklar yaratmaktadır. Agro-ekolojik olarak bu topraklarda Karaarslan safran çeşidinin yapılabilirliği ve verim artışı sağlanabildiği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karaarslan, safran, korm, antioksidan kapasite

Vernalizasyon Modellerine Göre Kolza (*Brassica napus*) Tohumlarının Yağ Kompozisyonu Değişiminin Moleküler Düzeyde İncelenmesi

İrem Çağlı[1], Çağla Sönmez[2], Büşra Elif Kıvrak[3]

[1]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Konya*
[2]*Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Konya*
[3]*Illinois Urbana Champaign Üniversitesi, Carl R Woese Genomik Biyoloji Enstitüsü, Sinir ve Gelişimsel Plastisitede Gen Ağları, ABD*

iremcagli7@gmail.com

Giriş

Bitkiler hareket edemedikleri için bulunduğu ortamın mevsimsel değişikliklerine uyum sağlamak zorundadır. Bu uyumu sağlayabilmek için bazı fizyolojik ve morfolojik değişiklikler meydana getirirler. Bu değişimler günümüzde deneyimlediğimiz iklim değişikliğine bağlı küresel ısınma ve ekstrem hava şartlarında daha da önemli hale gelmektedir. Farklı sürelerde kesintili ya da kesintisiz olarak vernalizasyon uygulanan kolza (*Brassica napus* L.) bitkisi kışlık Darmor, Bristol ve yazlık Helios çeşitlerinde çiçeklenme zamanı, tohum yağ miktarı ve yağ kompozisyonu gibi özelliklerde bu değişime karşı gerçekleşen farklılıkların üç yıl boyunca tekrarlanan deneylerde bu özelliklerin istatiksel karşılaştırmalar ile açığa çıkarılması hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Vernalizasyona maruz kalan bitkilerin çiçeklenme zamanı ile yapraklarındaki çiçeklenme zamanıyla ilişkili genlerin (*FLCC02, FLCA10, FLCA02*) gen anlatım düzeyleri karşılaştırılmıştır. Yaprakta yağ asidi (*FATB, FAD5, MCOA, WD40*) genlerinin ekspresyon seviyeleri ile vernalizasyon süresince yağ asidi kompozisyonundaki değişikliklerin anlaşılması amaçlanmıştır. Bununla birlikte, *B. napus*'un gelişen tohumlarında yağ asidi sentezinde görevli genlerin (*FATB, FAD5, MCOA, WD40, FAD2*) gen anlatım düzeyleri, tohumdaki oleik asit miktarıyla karşılaştırılmıştır. Yaprak ve gelişen tohumların gen ekspresyon seviyeleri qRT-PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Tohumda yağ içeriği tayini ise gaz kromotografisi ile gerçekleştirilmiştir. Çiçeklenme zamanı ise bitkinin fizyolojik parametreleri olan bitki boyu, yan dal sayısı, anadaldaki kapsül sayısı, kapsüldeki tane sayısı ve bin dane ağırlığı ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular

Kesintisiz vernalizasyona maruz kalan kolza bitkisinin vernalizasyon süresinin artmasıyla çiçeklenme süresi ve *FLC* gen ekspresyon seviyelerinin azaldığı, doymamış yağ asidi olan oleik asit miktarının ise arttığı bulunmuştur. Kesintili bir şekilde vernalizasyona maruz kalan kolzaların ise oleik asit miktarında bir azalma meydana gelmiştir.

Sonuç ve Tartışma

İklim değişikliği ile beraberinde gelen ani sıcaklık artışının kolza bitkisinde yağ verimini ve kompozisyonunu olumsuz yönde etkilemiştir.

Anahtar Kelimeler: Vernalizasyon, çiçeklenme zamanı, yağ asidi kompozisyonu, oleikasit miktarı, FLC

Teşekkür: Çalışmamıza destek veren Tübitak 1002 programına teşekkür ederiz.

Yerel Entomopatojen Fungusların Kırmızı Tavuk Akarının Biyolojik Mücadelesinde Kullanılma Potansiyellerinin Araştırılması

Miraç Bayramoğlu[1], Zeynep Bayramoğlu[2], Levent Aydın[3], Suna Aslı Zengin[4], Veli Yılgör Çırak[3], Zihni Demirbağ[1], İsmail Demir[1]

[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon*
[2]*Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Pazar Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Rize*
[3]*Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Bölümü, Bursa*
[4]*Arion İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., 12. Cadde, No:8 İstanbul Tuzla Organize Sanayi Bölgesi, Tuzla/istanbul*
[5]*Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Bölümü, Bursa*
[6]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon*
[7]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon*

idemir@ktu.edu.tr

Giriş

Bu çalışmada, yirmi yerel entomopatojen fungus suşunun yumurtacı tavuklar üzerinde çok önemli ekonomik kayıplara neden olan kırmızı tavuk akarı (*Dermanyssus gallinae*, Arachnida: Dermanyssidae)'nın biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyelleri araştırıldı.

Gereçler ve Yöntemler

Funguslar, 1 x 107 konidia/ml konsantrasyonda akar üzerinde 7 gün test edildi. Tarama testi sonuçlarına göre *Metharizium flavoviride* (As-2) ve *Beauveria bassiana* (Pa4) suşları 1 x 105-9 konidia/ml konsantrasyonlarda akar üzerinde doz denemesine tabi tutuldu. Metarhizium anisopliae orjinli bir biyoinsektisit olan BIO STORM 1.15% WP çalışmada kontrol olarak kullanıldı. Tüm deneyler 28 °C ± 1 ve %80 ± 5 nem oranına sahip laboratuvar koşullarında gerçekleştirildi. Kırmızı tavuk akarının biyolojik mücadelesinde ümit verici iki fungus (As-2 ve Pa4)'tan mikoakarisitler geliştirildi ve akarisitler sırasıyla ACARICIDAL *Met*-TR61 ve ACARICIDAL *Bbas*-TR61 olarak adlandırıldı.

Bulgular

Tarama testinde *M. flavoviride* (As-2) ve *B. bassiana* (Pa4) suşları akar üzerinde önemli etkiler gösterdi. Doz denemelerinde de aynı suşlar, aynı süre içerisinde 1 x 10^9 konidia/ml konsantrasyonu ile %100 ölüm oranına sahip olduğu belirlendi. Bu suşların LC_{50} değerleri As-2 için 5.5 x 10^4 (0,8-37,5) konidia/ml ve Pa4 için 3.2 x 10^4 (0,4-26) konidia/ml; LT_{50} değerleri de sırasıyla 1,94 gün ve 1,57 gün olarak hesaplandı. BIO STORM 1.15% WP'nin akar üzerindeki LC_{50} ve LT_{50} değerleri ise sırasıyla 1 x 10^5 (0.1-7.9) konidia/ml ve 3.03 (2.41-3.8) gün olarak belirlendi. Yerel mikoakarisitlerin laboratuvar koşullarında 1 x 10^8 konidia/ml konsantrasyonda akar üzerinde %97 ölüm meydana getirdiği belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

Bütün bulgular yerel mikoakarisitlerin kırmızı tavuk akarı ile mücadelede oldukça ümitvarız olduğunu göstermektedir. Bundan sonraki çalışmalar akarisitlerin alan uygulamaları ile sürdürülecektir.

Anahtar Kelimeler: Kırmızı tavuk akarı, entomopatojenik fungus, biyolojik mücadele

Teşekkür: Arion İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye ve TÜBİTAK (Proje no: 122O587)'a teşekkür ederiz.

Şeker Pancarında AP2/ERF Transkripsiyon Faktörü Ailesinin Karakterizasyonu

Necdet Mehmet Ünel[1,2], Manolya Çiçek[2], Mustafa Öçal[2], Yasemin Çelik Altunoğlu[1], Mehmet Cengiz Baloğlu[2]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kastamonu*
[2]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*

n.mehmetunel@gmail.com

Giriş

Şeker pancarı (*Beta vulgaris*) Amaranthaceae familyasına ait; özellikle Akdeniz, Küçük Asya ve Avrupa bölgelerinde bulunan bir bitkidir. Bu bitki, hastalık ve zararlılara karşı dirençli genleriyle bilinir. Ancak, abiyotik ve biyotik stres faktörleri, şeker pancarının verimliliği üzerinde ciddi tehditler oluşturmaktadır. AP2/ERF transkripsiyon faktörü ailesi çok çeşitli biyolojik süreçleri düzenler, özellikle stres tepkileri (tuz, kuraklık, soğuk), hastalık direnci, büyüme ve gelişme süreçleri üzerinde önemli rolleri vardır. Bu çalışma kapsamında Beta vulgaris genomunda daha önce detaylı olarak tanımlanıp karakterize edilmemiş olan AP2/ERF ailesi üyelerinin belirlenmesi ve karakterizasyonu hedeflenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

AP2/ERF trankripsiyon faktörü ailesi üyelerinin belirlenmesi amacıyla; şeker pancarında bulunan tüm proteinler bu aile üyelerine özgü olan korunmuş motifler için protein seviyesinde taranmıştır. Ardından elde edilen adaylar diğer bitkilerde tanımlanmış olan AP2/ERF üyeleri ile BLAST yapılarak BvAP2ERF proteinleri belirlenmiş ve kromozomal lokasyonlarına göre adlandırılmıştır. Gene Structure Display Server 2 kullanılarak *BvAP2ERF* genlerinin ekzon-intron organizasyonları belirlenmiştir. MEME Suite çevrimiçi aracı kullanılarak BvAP2ERF proteinlerinde bulunan motifler tanımlanmıştır. Expasy ProtParam aracından faydalanılarak bu proteinlerin moleküler ağırlık, izoelektrik nokta, stabilite durumu gibi temel fizikokimyasal özellikleri saptanmıştır. MEGA 11 yazılımı yardımıyla BvAP2ERF proteinlerinin filogenetik ağacı hazırlanmıştır ve evrimsel süreçteki durumları irdelenmiştir.

Bulgular

Şeker pancarı genomunda 167 olası AP2/ERF transkripsiyon faktörü geni belirlenmiştir. *BvAP2ERF* genlerinin kromozomal dağılımları incelendiğinde, 29 adet ile en çok 6 numaralı kromozomda bulundukları belirlenmiştir. Bu genlerden kodlanan BvAP2ERF proteinlerinin uzunlukları 129 ile 1550 amino asit arasında değişirken; moleküler ağırlıklarının 14,6 kDa ile 176,9 kDA arasında değişiklik gösterdiği saptanmıştır. BvAP2ERF proteinlerinin yaklaşık %60'ının izoelektrik noktası asidik bölgede yer almıştır. BvAP2ERF genlerinin gen organizasyonları incelendiğinde 51 tanesinde intron bölgesi bulunmadığı belirlenmiştir. BvAP2ERF proteinlerinin korunmuş motif analizlerinde 9 ile 88 amino asit arasında değişen 10 adet motif gözlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Çalışma, AP2/ERF transkripsiyon faktörü ailesinin şeker pancarında ne kadar çeşitli ve geniş bir aile olduğunu ve bu genlerin bitkinin gelişimi, stres yanıtları ve diğer biyolojik süreçlerde potansiyel rolleri olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Şeker pancarı, AP2/ERF, transkripsiyon faktörü, biyoinformatik

Hücre İçi Giriş Peptidi ile CRISPR/Cas9 Vektörünün *Nicotiana benthamiana* yapraklarına Transfeksiyonu ve *GSH2* Geninin Editlenmesi

Oğuzhan Yaprak[1], Ceyhun Kayıhan[1], Emre Aksoy[3], Doğa Selin Kayıhan[2], Musa Kavas[4]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*
[2]*Başkent Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara*
[3]*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara*
[4]*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Samsun*

o.yaprak11@gmail.com

Giriş

Gamma glutamat sistein (γ-GS), terapötik ve besin takviyeleri için potansiyeli olan bir bileşiktir ancak mevcut üretim yöntemleri maliyetli ve verimsizdir. Bu projenin hedefi, *Nicotiana benthamiana* bitki yaprakları üzerinde gen düzenleme teknikleriyle γ-GS üretimini artırarak bu bileşiği daha verimli bir şekilde elde ederken bileşiğinin terapötik kullanımını teşvik etmektir. Ek olarak bu çalışma CRISPR/Cas9 tabanlı bitki genomuna entegrasyon gerektirmeyen yeni bir yöntem kullanarak, bitki yaprak hücrelerinde *GSH2* geninin knock-out'unu gerçekleştirmeyi amaçlamaktadır. Bu, γ-GS üretimini artırmak ve maliyeti düşürmek için potansiyel bir yol olarak görülmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Nicotiana benthamiana bitkisi üzerinde γ-GS üretimini artırmak amacıyla özgün bir teknik kullanılmıştır. İlk adımda, özel olarak tasarlanmış bir CRISPR/Cas9 vektörü (pKI1.1R) ve KLA-10 hücre içi giriş peptitleri (CPP) kullanılmıştır. Hedef olarak *GSH2* geni seçilmiş ve bu gene özgü guide RNA (gRNA) tasarımı yapılmıştır. Tasarlanan gRNA, KLA-10 peptidi ile birleştirilerek CPP-pDNA kompleksi oluşturulmuştur. CPP-pDNA kompleksinin karakterize edilebilmesi Mobility Shift Assay ve Zeta Potansiyel ölçümü yöntemleri kullanılmıştır. Daha sonra elde edilen CPP-pDNA kompleksi, farklı dozlarda *Nicotiana benthamiana* yapraklarına infiltrasyon yapılmıştır. Bu aşamada, *Agrobacterium*-bazlı transformasyonu yöntemi de kullanılmış ve seçilen yöntemin etkinliği kontrol edilmiştir.

Bulgular

Farklı N/P (nükleik asit/protein) konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan CPP-pDNA komplekslerinin bitki üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Araştırmamızda, N/P oranının 1'in üzerindeki oranlar, bitki üzerinde olduğu oranların bitki yaprağında toksik etkiye neden olduğunu tespit edilmiştir. Diğer yandan, mobility shift assay deney sonuçlarına göre N/P:1 oranının altındaki oranlar, CPP-pDNA komplekslerinin yeterince oluşmadığını göstermiştir. Hem *Agrobacterium*-bazlı bitki transformasyon yönteminde hem de geliştirdiğimiz yöntemde, *GSH2* genini hedeflendiğini tespit edilmiştir. Buna karşın moleküler analizler tüm sonuçların heterozigot bir profilde olduğunu göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Sonuçlar, *GSH2* geninin knock-out'unu gerçekleştirmede yeni yaklaşımın *Agrobacterium*-bazlı transformasyon yöntemi kadar etkin olduğunu ve γ-GS üretimini artırmak için alternatif bir strateji olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: CRISPR/Cas9, hücre içi giriş peptidi, γ-glutamate sistein, *N. benthamiana*

Teşekkür: Bu proje, Başkent Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri ile desteklenmektedir.

Şeker Pancarı Genomunda *bHLH* Gen Ailesinin Belirlenmesi ve Biyoinformatik Analizleri

Pınar Baloğlu[1], Necdet Mehmet Ünel[1], Ferhat Ulu[2], Yasemin Çelik Altunoğlu[2], Mehmet Cengiz Baloğlu[2]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kastamonu*
[2]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*

pbaloglu@kastamonu.edu.tr

Giriş

Şeker pancarı (*Beta vulgaris*) dünya çapında şeker üretiminde şeker kamışı ile birlikte öncelikli olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel bir bitki olarak şeker üretiminin yanı sıra şeker pancarı atıklarından yenilenebilir bir enerji kaynağı olan etanol üretimi, şeker pancarı üretimine olan ilgiyi daha da artırmakta ve üretimi önemli kılmaktadır. bHLH proteinleri, neredeyse tüm hayvan ve bitkilerde çeşitli hayati işlevlerde rol oynayan geniş ve çeşitli bir protein ailesi olup bitkilerde hedef genlerinin ekspresyonunu düzenlemek için homo- veya heterodimer görevini üstlenmişlerdir. Çalışma kapsamında şeker pancarı genomunda *bHLH* gen ailesi üyeleri belirlenerek biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Şeker pancarının peptid dizileri, şeker pancarı genom veri tabanından elde edilmiştir. bHLH ailesine ait protein dizileri QIAGEN CLC Genomics Workbench 11.0.1'deki Pfam Alan Arama analizi ile belirlenmiştir. MapChart programıyla belirlenen tüm genlerin lokasyonları kromozomlar üzerinde gösterilmiştir. Genlerin ekzon ve intron organizasyonu, kodlayıcı ve genomik dizilerin karşılaştırılmasıyla Gene-Structure Display Server yardımıyla tanımlanmıştır. Protein dizi motifleri MEME (Multiple Em for Motif Elicitation) veritabanına yüklenerek belirlenmiştir. Aminoasit dizileri, "MEGA7" programına yüklenerek filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Bulgular

Pfam veritabanıyla doğrulanarak şeker pancarı genomunda 119 adet *BvbHLH* geni tanımlanmıştır. *BvbHLH* genlerinin kromozomlara farklı şekilde dağıldığı görülmüştür. Şeker pancarı genomunda belirlenen *BvbHLH* genleri için ekzon-intron analizleri yapılmış olup genlerin %10'unun intron bölgesi içermediği görülmüştür. BvbHLH proteinleri için 15 farklı korunmuş motif tanımlanmıştır. Filogenetik ağaç analizi sonucu 4 ana grup oluşmuştur. Filogenetik analizler ile ekzon-intron analizleri uyumluluk göstermiş ve filogenetik ağaçta aynı grupta yer alan genlerin ekzon-intron yapıları da benzerlik göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bitkilerde bHLH ailesi, abiyotik ve biyotik stres koşullarında önemli görevleri olan bir transkripsiyon faktörü grubu olduğu için farklı stres koşullarında belirlenen bu genlerin ifade seviyeleri gelecek çalışmalarda incelenebilir.

Anahtar Kelimeler: Şeker pancarı, *Beta vulgaris,* bHLH, Biyoinformatik Analizler

Dünyada ve Türkiye'de Biyogüvenlik Politikaları

Selda Türkoğlu Coşkun[1,1], Emine Olhan[2,2]

[1]*Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.*
[2]*Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, Ankara.*

seldaturkoglu@gmail.com

Giriş

Modern biyoteknolojik yöntemlerin gıda üretiminde kullanılmasına yönelik dünyada farklı düzenleyici tutumlar benimsenmiştir. Bu çalışma yeni gen düzenleme teknikleri de dâhil dünyada gelişen politikalar ekseninde Türkiye ile Avrupa Birliği biyogüvenlik politikalarını karşılaştırılmalı olarak değerlendirmektedir. Çalışmada dünyada transgenik ürün yetiştiriciliğinde öncü beş ülke, AB ve Türkiye'nin biyogüvenlik politikaları ele alınmaktadır. Ulusal ve bölgesel önceliklerde bazı farklılıklar olmakla birlikte, Türkiye ve AB'nin biyogüvenlik politikalarının büyük ölçüde uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Ülkelerin biyogüvenlik düzenlemelerine ilişkin bilgiler konu hakkında hazırlanmış makaleler, doktora tezleri, yasa, yönetmelik, talimat, direktif, tüzük gibi kaynaklardan derlenmiştir. Ayrıca uluslararası sözleşmeler, resmi kurum raporları, "Avrupa Birliği (AB), Kartagena Biyogüvenlik Protokolü Biyogüvenlik Bilgi Değişim Mekanizması (BCH), Uluslararası Tarımsal Biyoteknoloji Uygulamaları Bilgi Edinme Birimi (ISAAA), Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA)" gibi kurum/kuruluşların internet sitelerinin GDO ve biyogüvenlikle ilgili olan bölümler incelenmiştir. Ülkemizde biyogüvenliğin anlatımında 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve yönetmeliklerinden, AB'de ise bu alandaki temel Direktifler ve Tüzüklerden yararlanılmıştır. AB ile Türkiye'nin karşılaştırılmasında yine AB müktesebatı, ulusal mevzuat ile diğer literatürden faydalanılmıştır.

Bulgular

AB ile ülkemizin biyogüvenlik politikaları belli alanlarda farklılaşmaktadır. Bu farklılıklar genel olarak GDO üretimi, izin prosedürleri, yasaklara ilişkin yaptırımlar, İhtiyatlılık ilkesi, risk değerlendirme, risk yönetimi ve risk iletişimi, sosyoekonomik değerlendirme gibi alanlarda görülmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Ulusal ve bölgesel önceliklerde bazı farklılıklar olmakla birlikte, Türkiye ve AB'nin biyogüvenlik politikalarının büyük ölçüde uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: GDO, biyogüvenlik, biyoteknoloji, mevzuat, AB biyogüvenlik.

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
POSTER SUNUMLARI

Yitik Lale (*Tulipa spengeri* Baker) Anavatanına Geri Dönüyor: *in vitro* Koşullarda Çoğaltılması

Aybüke Barış[1], İmran Özçakır Özgür[1], Bahar Soğutmaz Özdemir[1]

[1]*Yeditepe Üniversitesi, İstanbul.*

aybuke.baris@std.yeditepe.edu.tr

Giriş

Yitik Lale, uzun yıllardır ülkemizde gözlemlenmeyen ve kendi doğal alanında yok olduğu düşünülen bir çeşit lale türüdür. Türkiye'ye has bir tür olmakla birlikte, ancak Avrupa'daki bahçelerde görülen bu bitkiyi, asıl yetiştiği yer olan Amasya iline kazandırmak için çalışmalara başlanmıştır. Bu bitkinin üretimi ve adaptasyonu için Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi (NGBB) ile ortak çalışmalar yürütülmektedir. Bu çalışmada, Yitik Lale'nin bitki doku kültürü koşullarında mikroçoğaltım yöntemi ile çoğaltılması amaçlanmıştır. Yitik Lale'nin ülkemizin farklı ekosistemlerine adaptasyonlarını sağlamak amacıyla yapılacak olan mikroçoğaltım çalışmaları bu proje için önemli adımlardan biridir.

Gereçler ve Yöntemler

Yitik Lale'nin üretilmesinin en olası yolunun mikroçoğaltım yöntemi yardımıyla soğan ve soğancıkları çoğaltılarak, yeni bitkicikler elde edilmeye çalışılmasıyla mümkün olabileceği düşünülmüştür. Bunun için başlangıç materyali olarak bitki tohumları kullanılmış ve mikroorganizmalardan uzaklaştırılarak klonal çoğaltım için hazır hale getirilmiştir. Yüzey sterilizasyonu için kaplama solüsyonları, etanol, sodyum hipoklorit (NaOCl) ve PPM (Plant Preservative Mixture) kimyasalları uygulanarak, en iyi sonuç veren uygulama belirlenmiştir. Tohumların filizlenmesi ve mikroçoğaltım aşamaları için hormonsuz veya farklı oranlarda Indol-3-Bütirik Asit (IBA), Tidiazuron (TDZ) ve 1-Naftalinasetik asit (NAA) bitki hormonları içeren Murashige & Skoog's (MS) besiyeri kullanılmıştır. Mikroçoğaltım ile elde edilen kardeş bitkiler daha sonra köklendirme ortamına alınarak, sera adaptasyonu için hazırlanmaktadır. Köklendirme çalışmaları için aktif karbon içeren MS ortamı kullanılmıştır.

Bulgular

Bitki tohumlarının yüzey sterilizasyonu için en iyi uygulamayı etanol ve NaOCl kimyasallarının verdiği görülmüştür. Tohum çimlenmesi için en iyi protokolün PPM içeren hormonsuz MS besiyeri olduğu gözlemlenmiş ve tohum çimlenme oranı %77,5 olarak hesaplanmıştır. Aynı zamanda tohumun çimlenme sonrası gelişimi ve kardeşlenmesi için en iyi ortamın TDZ ve NAA içeren MS besiyeri olduğu bulunmuştur ve çoğalma katsayısı ortalama 2.5 olarak belirlenmiştir. Köklendirme için çoğaltımı yapılan 71 adet bitkinin yanı sıra 134 bitkinin de klonal çoğaltımı, çalışmanın sürdürülebilirliği için devam etmektedir.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışma sonuçları, *Tulipa spengeri* Baker'in anavatanı Türkiye'ye tekrar geri kazandırılması çalışmalarına önemli katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Tulipa sprengeri,* yitik lale, mikroçoğaltım, bitki doku kültürü

Kahvede (*Coffea* Spp.) Somatik Embriyogenez ve Bitki Rejenerasyonu

Ceren Ünek[1], Bihter Güven[1], Zeynep Işık[1], Bahar Soğutmaz Özdemir[1]

[1]*Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, 34755 Ataşehir, İstanbul.*

ceren.unek@yeditepe.edu.tr

Giriş

Günümüzde en çok tüketilen içeceklerden biri olan kahve, dünya genelinde en çok ticareti yapılan ikinci üründür. İklim koşullarındaki değişiklikler, kahve üretimi yapılan coğrafi bölgelerin değişmesine neden olacağından Türkiye'de de kahve yetiştiriciliği ile ilgili çalışmalar yürütülmektedir. Kendine uyuşmazlığı nedeniyle çaprazlama yaparak çoğaltılan türlerde, vejetatif çoğaltma genetik varyasyonu önlemek için tohumla çoğaltmaya bir alternatif oluşturmaktadır. Asıl dokuyla vasküler bağlantı olmadan yeni bir embriyo oluşmasını sağlayan bir *in vitro* çoğaltma tekniği olan somatik embriyogenez ile büyük ölçekli klonal çoğaltma sağlanabilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, kahve bitkilerinin yaprak eksplantları kullanılarak, indirekt somatik embriyogenez yöntemiyle klon bitkiler elde edilmiştir. Yüzey sterilizasyonu yapılan yaprak eksplantları 1 cm^2'lik kare plakalar halinde kesilerek, kallus oluşturma ortamlarında bekletilmiş ve kahve kallusları elde edilmiştir. Somatik embriyo oluşturma ortamına aktarılan kalluslar, ayda bir defa alt kültüre alınarak somatik embriyolar oluşana kadar kültür edilmişlerdir. Oluşan somatik embriyolar, bipolar özelliğinden dolayı kök ve sürgün meristemlerini aynı eksen üzerinde bulundurduğundan, bitkicikler embriyo geliştirme ortamına aktarılarak gelişmeleri sağlanmıştır.

Bulgular

Kahve bitkilerinden alınan yaprak eksplantlarının kallus oluşturma ortamlarına alınması sonucu, 3 ay zarfında %100 oranında kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Elde edilen kalluslarda, somatik embriyo oluşumu 8 ay sonunda başlamıştır. Geliştirme ortamında kültür edilen globüler evredeki tüm embriyolar, kotiledon aşamasına ulaşmışlardır.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmayla ticari önemi olan kahve bitkisinde somatik embriyo yöntemi ile hızlı, klonal ve kitlesel üretim protokolü geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kahve, *Coffea* spp., kallus, somatik embriyogenez, bitki doku kültürü

Karpuz Üretim Alanlarından *Acidovorax citrulli* Spesifik Bakteriyofajların İzolasyonu ve Saflaştırılması

Duygu Bekircan Eski[1], Ardahan Eski[2], Cihan Darcan[3]

[1]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Bilecik*
[2]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, Bilecik*
[3]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik*

d_bekircan@hotmail.com

Giriş

Karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*, karpuz üretiminde verim kaybına neden olan bir bitki patojenidir. Hastalık ile mücadelede, kültürel önlemlerin yetersizliği, kimyasal mücadele yöntemlerinin dezavantajlarından dolayı tarımda sürdürülebilirliğinin sağlanması için çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bakteriyofajlar, konak spesifik olmaları ve uygulama alanlarında floranın diğer üyeleri üzerinde zarar oluşturmamaları nedeniyle önemli bir alternatiftir. Bu çalışmada, Bilecik ili Osmaneli ilçesi karpuz üretim alanlarından toprak ve meyve örnekleri toplanarak bakteriyofaj izolasyonu ve saflaştırması gerçekleştirilmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Osmaneli ilçesi karpuz tarlalarından toprak ve hastalıklı bitki örnekleri toplanarak laboratuvara getirildi. Tüm örneklerden 20'şer gram tartılıp 200 ml Ringer solüsyonu içerisine eklenerek oda sıcaklığında 16 saat çalkalandı. Süspansiyon, steril tülbent yardımıyla Falkon tüplere süzülerek toprak kısmı uzaklaştırıldıktan sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı 0,22 µm'lik steril filtrelerden geçirildi. Filtratlar, *Acidovorax citrulli* kültürü ve King B besiyeri ile karıştırılarak 30°C'de 48 saat bakteriyofaj zenginleştirilmesi gerçekleştirildi. Kültür, inkübasyondan sonra 5000 rpm'de 20 dakika 4°C'de santrifüjlendi. Süpernatant steril 0.22 µm'lik filtreden geçirildi ve bakteriyofajların varlığı spot assay ile belirlendi. Spot assay ile varlığı tespit edilen bakteriyofajlar seri dilüsyon yapılarak elde plak morfolojileri incelendi ve plaklar saflaştırıldı.

Bulgular

Sonuç olarak, hastalık belirtisi görülen bölgelerden 10 toprak ve 10 hastalıklı bitki materyali olmak üzere 20 örnek toplandı. Bakteriyofaj zenginleştirmesi sonrası gerçekleştirilen spot assay sonucunda altısı topraktan biri hastalıklı bitki materyalinden olmak üzere toplam yedi bakteriyofaj belirlenerek saflaştırıldı.

Sonuç ve Tartışma

Saflaştırılan bakteriyofajların hastalık etmeni *Acidovorax citrulli* üzerinde plak oluşturması, karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığının mücadelesinde kullanılabilme potansiyeli olduğunu ortaya koydu.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyofaj, karpuz bakteriyel meyve lekesi, fitopatojen, biyokontrol

Geniş Kapsamlı Multiplex Real Time Genetiği Değiştirilmiş Organizma Tarama Kiti Geliştirilmesi

Gaye Ekin Gürsoy Çalış[1], Hatice Demir[1], Merve Kiremit[3], Serap Dede[2], Büşra Mammadov[2,3]

[1]Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
[2]Sentebiolab Biyoteknoloji Ltd. Şti., Ankara
[3]Eryiğit Tıbbi Cihazlar A.Ş., Ankara

gayek94@gmail.com

Giriş

Dünyadaki birçok ülkede Genetiği Değiştirilmiş Organizma (GDO) içeriğine ilişkin düzenlemeler bulunmaktadır. En yaygın olanı, GDO içeren ürünler için bir onay sistemi ve belirlenmiş oran üzerindekileri etikette belirtme zorunluluğudur. Giderek artan sayıda genetiği değiştirilmiş bitki yetiştirilmekte ve bu artış GDO'larda genetik modifikasyon çeşitliliğini getirmektedir. Bu nedenle kapsamlı ve hassas tespit yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Referans genlerin kullanımına dayalı olarak kullanılan qPCR hassas ve güvenilir bir yöntemdir. GDO analizlerinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, hayvan yemi dışında kullanımı yasak olan GDO'ları içeren ürünleri tanımlayabilen multipleks qPCR tarama kiti geliştirmektir.

Gereçler ve Yöntemler

GDO'larda bulunan 14 hedef transgenik bölge seçilmiştir. 14 bölge, 4 Promotor-Terminatör (PFMV, tE9, T-NOS, CaMV-P35S), 4 Element Spesifik (CP4-EPSPS, bar, pat, Cry1Ab/Ac), 3 Mısır Spesifik Olay (DAS-40278-9, VCO-Ø1981-5, DP-2Ø2216-6), 3 Soya Spesifik Olay (DP-305423-1, DAS-68416-4, DAS-81419-2) hedeflerini kapsamaktadır. Hedeflere özgü primer-probe tasarımları yapılmış, 4 farklı floresan boya ile 14 bölge için sentezleri gerçekleştirilmiş ve tekli qPCR çalışmaları ile konfirme edilmiştir. Kalıp DNA olarak hedef bölgeleri içeren sertifikalı referans materyaller (CRM) kullanılmıştır (AOCS 0304-B3, ERM-BF 414f, ERM-BF 413gk, AOCS 0306-H10 T25, ERM-BF 412b, ERM-BF 426d, ERM-BF 432c, ERM-BF 437e, ERM-BF 433d, ERM-BF 438b, ERM-BF 444b). Multipleks qPCR çalışmalarında HiScript III One Step (Vazyme Cat No: Q225-EN01) kullanılmıştır. Gerektiği durumlarda, üçlü ve dörtlü multipleks reaksiyonlarına özgü protokol modifiye edilmiştir.

Bulgular

Promotor-Terminatör ve Element Spesifik hedef bölgeleri için 4'lü multipleks qPCR reaksiyonları, Mısır Spesifik Olay ve Soya Spesifik Olay hedef bölgeleri için de 3'lü multipleks qPCR reaksiyonları optimize edilmiştir ve herbir bölge için spesifik sinyal alınmıştır. LOD değerleri DNA konsantrasyonu ve kopya sayısı olarak belirlenmiştir. LOD değerleri pFMV: 0.78 ng/µL ve 785 kopya; tE9: 0.78 ng/µL ve 785 kopya; CaMVP35S: 5 ng/µL ve 5030 kopya; TNOS: 0.625 ng/µL ve 245 kopya; DP2022166: 6.25 ng/µL ve 2450 ng/µL; DAS402789: 5 ng/µL ve 1960 kopya; VCO019815: 1.56 ng/µL ve 611 kopya; DAS814192: 1.56 ng/µL ve 1260 ng/µL; DP3054231: 1.25 ng/µL ve 1010 kopya; DAS684164: 2 ng/µL ve 1610 kopya olarak hesaplanmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Yapılan bu çalışmalar neticesinde 14 farklı GDO transgenik hedef bölgesini tespit edebilen multipleks bir qPCR kit prototipi ülkemizde ticari kullanıma sunulmak amacıyla geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: GDO, multipleks, qPCR kiti, LOD

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 3211189 numaralı TEYDEB 1501 projesi tarafından desteklenmiştir.

Sümbül (*Hyacinthus orientalis* Cv. Pink Pearl, Carnegie ve Blue Jacket) Bitkisinin Doku Kültürü için Sterilizasyonu

Hilal Ecem Adalı[1], Ceren Ünek[1], Bahar Soğutmaz Özdemir[1]

[1]*Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, 24755, Ataşehir, İstanbul.*

ecemadali@gmail.com

Giriş

Hyacinthus orientalis (Sümbül) ticari değeri yüksek olan soğanlı bir süs bitkisidir. Sümbül soğanının laboratuvar koşullarında mikropropagasyon ile yüksek verimli üretiminin sağlanabilmesi için öncelikle doğal ortamında birlikte bulunduğu mikroorganizmalardan ayrıştırılarak sterilize edilmesi gerekir. Sterilizasyon sırasında mikroorganizmalar için toksik birçok kimyasal kullanılmaktadır ancak bu kimyasallar çoğu zaman bitki için de toksiktir ve bitkinin canlılığını etkilemektedir. Bitki soğanı, mikroorganizma yoğunluğu yüksek bir doku kaynağıdır. Bu durum, soğanlı bitkilerde sterilizasyon başarısını zorlaştırmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, *H. orientalis*'in Pink Pearl, Carnegie ve Blue Jacket çeşitleri kullanılarak sterilizasyon için en ideal metot belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan soğanlar, distile su, antibakteriyel sabun, fungusit, etanol, çamaşır suyu, PPM (Plant Preservative Mixture) ve Tween20 kimyasalları farklı sürelerde kullanılarak sterilize edilmiş ve nihai olarak iki farklı sterilizasyon protokolü (SHO 1, SHO 2) oluşturulmuştur. SHO 1'de, soğan katmanları birbirinden ayırılmış ve fungusit süresi 24 saat olarak ayarlanmıştır. SHO 2'de, soğan katmanları 20 saat fungusit solüsyonunda bekletildikten sonra 4 saat PPM solüsyonuna alınmıştır. Sterilizasyon sonrasında eksplantlar Murashige & Skoog's ortamına alınarak gözlemlenmiştir.

Bulgular

Sterilizasyon protokolü SHO 1'in Blue Jacket, Carnegie ve Pink Pearl için başarı oranları sırasıyla %53.13, %57.29 ve %83.33'tür. SHO 2'nin sümbül çeşitlerinde başarı oranları Blue Jacket için %76.39, Carnegie için %69.1 ve Pink Pearl için %76.73'tür. Farklı sterilizasyon ajanları ile birlikte PPM solüsyonunun sümbül soğanlarının yüzey sterilizasyonunda kullanılması, kontaminasyonun azalmasında kayda değer bir etki göstermiştir.

Sonuç ve Tartışma

In vitro çoğaltım ve hücre süspansiyon çalışmalarında önemli bir basamak olan yüzey sterilizasyonu bu çalışmada *H. orientalis* için optimize edilmiş, indirekt ve direkt organogenez çalışmalarında denenerek başarılı olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Soğanlı bitki, *Hyacinthus orientalis*, yüzey sterilizasyonu, doku kültürü

Melatonin Ön Uygulamasının Üç Farklı Mercimek Çeşidinde Tuz Stresine Karşı Etkisinin İncelenmesi

Orkun Yaycılı[1], Celal Doruk Arıcı[2], Nihal Gören Sağlam[1]

[1]*İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*
[2]*İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

gorenn@istanbul.edu.tr

Giriş

Tuzluluk, ürün verimini ve kalitesini azaltan en yıkıcı çevresel streslerden biridir. Tuz stresi bitki büyümesini ve gelişimini etkileyen önemli bir çevresel strestir. Tuz stresi beslenme ve hormonal dengesizliklere, iyon toksisitesine, oksidatif ve ozmotik strese ve bitkilerin hastalıklara karşı duyarlılığında artışa neden olur. Melatonin, çimlenme, fotosentez, sirkadiyen ritimler, çiçeklenme, yaşlanma ve stresin hafifletilmesi gibi genel süreçlerinde önemli bir role sahiptir. Melatonin ön uygulamasının bitkinin strese karşı dayanıklılığını artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada kışlık mercimek çeşitlerinden Kafkas, Çiftçi ve Özbek çeşitlerine melatonin ön uygulaması yapılarak tuz stresine karşı cevapları araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada Kafkas, Çiftçi ve Özbek çeşitlerine ait tohumların çimlenme yüzdeleri test edildikten sonra farklı tuz konsantrasyonuna karşı çimlenme cevapları incelenmiştir. Tohumlar kontrol ve deney grupları olarak ayrılmıştır. Kontrol sgrubu tohumları distile suda bekletilirken deney grubu tohumlar 500 µM Melatonin çözeltisinde 24 saat boyunca bekletilmişlerdir. Daha sonra kontrol ve deney gruplarına ait 0, 100, 150 ve 200 mM NaCl içeren MS besi ortamlarına ekilerek büyüme kabininde gelişimleri incelenmiştir.3 haftalık fideler hasat edilerek biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Bu çalışmada, tohumların çimlenme yüzdeleri, fidelerin klorofil ve pigment içerikleri, total protein miktarları, antioksidan enzim aktiviteleri (Guaiacol Peroksidaz, Askorbat Peroksidaz, Katalaz), lipid peroksidasyonu ve prolin miktarları ölçülmüştür. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Bulgular

Bu çalışmada öncelikle çeşitlere ait çimlenme yüzdeleri elde edilerek tohumların farklı konsantrasyonlardaki NaCl'e karşı cevapları test edilmiştir. Elde edilen bulgular en dayanıklı çeşidin Çiftçi en hassas çeşidin ise Özbek olduğunu göstermiştir. Daha sonra melatonin ön uygulaması yapılarak tohumların çimlenme cevaplarına bakılmış ve melatonin uygulamasının kontrole kıyasla çimlenme yüzdelerini artırdığı görülmüştür. Klorofil ve pigment analizi sonuçları melatonin ön uygulamasının tuz stresi ortamında klorofil miktarı üzerinde olumlu etkisi olduğunu göstermektedir. Enzim aktivite analizleri de melatonin uygulamasının çeşitler arasında farklılık gösterse bile kontrole kıyasla strese karşı bitkinin direncini artırdığını göstermektedir.

Sonuç ve Tartışma

Yapılan bu çalışma melatonin ön uygulamasının mercimek çeşitlerinde tuz stresine karşı koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Melatonin, Tuz stresi, mercimek, antioksidan enzim, klorofil

Codium decorticatum Ekstratının Kadmiyum Stresine Toleransta Rollerinin *Arabidopsis thalliana*'da Belirlenmesi

Sevingül Beydilli[1], Fazilet Özlem Albayrak[2], İnci Tuney-Kızılkaya[3], Dilek Ünal[4]

[1]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Lisansüstü Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Bilecik*
[2]*Mersin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mersin*
[3]*Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir*
[4]*Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Bilecik*

svnglbydll48@gmail.com

Giriş

Çağımızda tarım, topraktaki biyoçeşitliliği ve ekolojik süreçleri dikkate alan "agroekolojik" uygulamalara dayanarak yapılmaya başlanmıştır. Bu bağlamda pestisitlerin ve mineral gübrelemenin zararlı etkilerini azaltabilen yeni tarımsal üretim ve biyoteknolojik yaklaşımlar geliştirmek büyük önem taşımaktadır. "Mavi biyoteknoloji" olarak da adlandırılan makroalgler çevre dostu bir biyogübre olma potansiyeline sahiptir. Son yıllarda *Codium decorticatum* ekstratlarının birçok primer ve sekonder metabolit içermeleri nedeniyle tarımsal verimi artırmaya yönelik kullanımı dikkat çekmektedir. Bu çalışmada *C. decoticatum* ekstratlarının *A. thalliana* bitkisinde kadminyum stresini azaltıcı rolü fizyolojik anlizlerle araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

C. decorticatum türü, Bursa Trilye bölgesinden toplanmıştır. Numuneler deniz suyu ile yıkandıktan sonra epifitlerden temizlenmiş ve ardından oda sıcaklığında bir hafta süreyle havayla kurutulmuştur. %10 luk alg ekstartı için; 10 g öğütülmüş *C. decoticatum* thallusu 100 ml saf su içinde 100°C'de 1 saat su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 0.22 µm selülaz asetat filtre ile süzüldü. Debey grupları MS (kontrol), 100 µM Cd, 200 µM Cd, % 0.1 *C. decoricatum*, %0. 1 *C. decoricatum* +100 µM Cd, ve %0. 1 *C. decoricatum* +200 µM Cd olacak şekilde oluşturuldu. 10 gün iklim odasında büyütülen fidelerde kök-gövde boyu, NBT ve DAB boyama, lipid peroksidasyon miktarı, klorofil içeriği, ISSR-PCR analizi ve alg ekstratında fenolik bileşik içerik analizi gerçekleştirildi. Klorofil içeriği, Wellburn (1994)'a göre yapıldı. Alg ekstratlarındaki fenolik içerik analizi HPLC ile gerçekleştirildi. Her deney 3 defa tekrar edildi ve istatistiksel analizleri one-way ANOVA ve t-testi ile yapıldı

Bulgular

% 0.1 ekstrat uygulanan örneklerde kadminyumun kök ve gövde boyundaki engelleyici etkisinin azaldığı belirlenmiştir. Klorofil içerikleri karşılaştırıldığında kadminyum klorofil miktarını düşürür iken ekstrat uygulamasının artırdığı belirlenmiştir. % 0.1 elstrakt iuygulanan örneklerde kla/b oranı yaklaşık 2.5 civarında olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, % 0.1 ekstrat uygulanan örneklerde sadece Cd uygulanan örneklere göre ROS üretiminin iki kat daha az olduğu tespit edilmiştir. ISSR-PCR sonuçlarımız % 0.1 esktrat uygulanan örneklerde daha az mutasyon olduğunu işaret etmektedir. Alg ekstratında 3-hidroksibenzoik asit, 4-hidroksibenzoik asit, kateşin hidrat, galik asit, quercetin, rozmarinik asit ve t-sinamik asit içeriği belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Codium decorticatum ekstratlarının tarımsal kullanım potansiyelinin yanı sıra quercetin ve t-sinamik asit gibi fenolik bileşiklerce zengin olmasından dolayı şelatör rolü oynayarak kadminyum toksitesini engelleyebileceğini öne sürmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Codium decorticatum*, kadminyum, oksidatif stres, ISSR-PCR

Teşekkür: Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi

Herbisite Dayanıklı Mercimek ve Nohut İçin *AHAS1* Gen Mutasyonlarına Yönelik CRISPR/Cas-9 Kasetlerinin Oluşturulması

Simay Pulak[1], F. Şeyma Gökdemir[2], Özlem Darcansoy İşeri[1,2], Füsun Eyidoğan[1,2]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*
[2]*Başkent Üniversitesi, Gıda, Tarım ve Hayvancılığı Geliştirme Enstitüsü, Ankara.*

simaypulakk@gmail.com, *fusunie@gmail.com*

Giriş

Önemli baklagillerden olan yeşil mercimek (*Lens culinaris*) ve nohut (*Cicer arietinum* L.) üretimi her yıl yabancı ot istilası ve herbisit kullanımı nedeniyle %40 oranında azalmaktadır. İmidazolinon (IMI), bitkilerde bazı amino asitlerin biyosentezinde kritik olan asetohidroksiasit (AHAS) enzimini inhibe ederek yabancı ot kontrolünü sağlar. İmidazolinona dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi, bitki için yabancı ot kontrolündeki başarı şansını yükseltmektedir. Bu çalışmada, imidazolinon herbisitine karşı dayanıklı yeşil mercimek ve nohut hatlarının geliştirilebilmesi için AHAS1 geninde uygun mutasyon bölgelerinin belirlenerek CRISPR/Cas-9 yöntemi ile AHAS enzim aktivitesinin baskılanmasına yönelik vektör kasetlerinin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

IMI duyarlı, dayanıklı ve toleranslı nohut genotiplerinin *AHAS1* gen nükleotid ve protein dizileri biyoinformatik araçlar ile karşılaştırılmıştır. Mercimekte *AHAS1* geninin nükleotid dizisi bulunamadığı için *Arabidopsis thaliana* homoloğu olan *CSR1* (Chlorsulfuron/imidazolinone resistant 1) geninin nükleotid ve protein dizileri kullanılarak hizalamalar yapılmıştır. Mutasyon bölgesinin belirlenmesinin ardından "CRISPRdirect" ve "CHOP-CHOP" veri tabanları kullanılarak, tüm genom içerisinde spesifik olan 5'-NGG protospacer bitişik motif (PAM) dizisi hedef diziye bitişik olarak yerleştirilmiş ve her iki bitki için, 2 farklı rehber RNA'nın (gRNA) tasarlanmıştır. Tasarlanan gRNA'lar "psgR-Cas9-At" vektörüne *Bbs*I enzimi ile yerleştirilerek kasetlerin oluşturulmuş ve DH5α *Escherichia coli* suşuna klonlanmıştır.

Bulgular

Nohutta ve mercimekte AHAS enzim inhibisyonuna bağlı imidazolinon direnciyle tutarlı C675-T nokta mutasyonunun meydana geldiği belirlenmiştir. AHAS ve CSR1 proteinlerinin dizileri, yapısal bilgileri ve 3 boyutlu görüntüleri karşılaştırıldığında *Arabidopsis thaliana*, mercimek ve nohutta meydana gelen nokta mutasyonu Ala205-Valin amino asit değişimiyle sonuçlandığı anlaşılmaktadır. Ancak, mevcut tasarım araçları ile mercimek ve nohuta özel gRNA tasarlanamamıştır. Bu nedenle, Blast sonuçlarına göre en yüksek sekans benzerliği gösteren *Arabidopsis thaliana CSR1* genine spesifik gRNA tasarlanmıştır. Tasarlanan gRNA dizisinin mercimek ve nohut için uyumluluğu ve güvenirliği 100% olarak tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bitkilerde *AHAS1'*de mutasyon bölgeleri belirlenmiş ve gRNA tasarlanmıştır. Biyoinformatik analizlerden elde edilen çıktılar ile mutasyon kasetlerinin oluşturulması dayanıklı baklagillerin geliştirilmesi için yürütülen çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: AHAS, CSR1, CRISPR/CAS9, imidazolinona, herbisit direnci

Teşekkür: Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından 1919B012112544 proje numarası ile desteklenmektedir.

TIBBİ BİYOTEKNOLOJİ
SÖZLÜ SUNUMLAR

Diplotaxis tenuifolia Ekstraktlarının Antimikrobiyal, Antibiyofilm ve Anti-Quorum Sensing Aktivitelerinin Araştırılması

Enis Fuat Tüfekci[1], Sümeyra Başyiğit[2], Gökhan Zengin[3], Yasemin Çelik Altunoğlu[2], Mehmet Cengiz Baloğlu[2,4]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kastamonu*
[2]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*
[3]*Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya*
[4]*Sabancı Üniversitesi, Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul*

etufekci@kastamonu.edu.tr

Giriş

Antibiyotik direnci günümüzde insan ve hayvan sağlığı için ciddi bir tehdit unsuru olmaya devam etmektedir. Bu durum patojenlerle mücadelede etkili ve yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi veya keşfedilmesini zorunlu kılmaktadır. Bitkilerin bu yönden önemli bir potansiyele sahip oldukları bilinmektedir. Nitekim bilim dünyasının çeşitli bitki ekstraktlarından etkili ve yeni antimikrobiyal ajanların bulunması adına çalışmalarını büyük bir ilgi ile sürdürdüğü görülmektedir. Bu çalışmada Türkiye'de geniş bir dağılım gösteren *Diplotaxis tenuifolia* (L.) (yabani roka) türünün toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal, antibiyofilm ve anti-quorum sensing (anti-QS) aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada *D. tenuifolia*'nın toprak üstü kısımlarından ultrasonikasyon (UAE) ve maserasyon (MAC) yöntemleri ile hazırlanmış etil asetat (EA), metanol (MeOH) ve su ekstraktları test edilmiştir. Ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri insan patojenlerini temsil eden altı Gram-negatif ve üç Gram-pozitif bakteri ile bir maya suşuna karşı disk diffüzyon yöntemi (400 µg/disk) ile araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktivite sergileyen ekstraktların minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. MİK tespitinden sonra minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri canlı hücre sayımı ile tespit edilmiştir. Ekstraktların *Staphylococcus aureus*'un biyofilm oluşumu üzerine inhibitör etkinlikleri kristal viyole yöntemi ile araştırılmıştır. Ekstraktların anti-QS aktivitesi ise *Chromobacterium violaceum* CV026 biyosensör suşunda viyolasin pigment üretiminin inhibisyonu üzerine yarı-katı agar yöntemi ile incelenmiştir.

Bulgular

Sonuçlar irdelendiğinde *D. tenuifolia*'nın sadece UAE yöntemi ile hazırlanmış EA ekstraktının *Bacillus subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiştir (zon çapı 9,0 ± 0,0 mm). MİK ve MBK değerleri ise 1000'er µg/mL olarak hesaplanmıştır. Antibiyofilm aktivite sonuçları incelendiğinde bitkinin UAE ve MAC yöntemleri ile hazırlanmış su ekstraktlarının sırasıyla %30,6 ve %62; UAE yöntemi ile hazırlanmış MeOH ve EA ekstraktlarının ise sırasıyla %9,3 ve %81,9 oranında biyofilm oluşumunu inhibe ettikleri belirlenmiştir. Diğer ekstraktların biyofilm oluşumu üzerine anlamlı bir inhibitör etkinliği saptanmamıştır. Bununla birlikte hiçbir ekstraktın anti-QS etkinliği tespit edilmemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Bulgular *D. tenuifolia* ekstraktlarının yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi adına iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. İleriki çalışmalarda bu aktivitelerin altında yatan mekanizmaların aydınlatılması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, antibiyofilm, *Diplotaxis tenuifolia* (L.), ekstrakt

Teşekkür: Bu çalışma Kastamonu Üniversitesi BAP birimi (KÜBAP-01/2022-32) tarafından desteklenmektedir.

Türk Fındık Çeşitlerinde Antikanser Taksanların Biyoteknolojik Üretimi İçin Optimize Edilmiş Model Hücre Kültür Sistemi

Ahmet Doğan[1], Şule Arı[1]

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

ahmetdogan3834@gmail.com

Giriş

Paklitaksel çeşitli kanser hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir diterpenoiddir. Fındık (*Corylus avellana* L.) hücre süspansiyon kültürleri, paklitakselin (PTX) yanı sıra, çeşitli kanserlerde etkinliği yakın zamanda gösterilen sefalomannin (CEPH) ve bu taksanların yarı sentezinde kullanılan öncüller olan 10-deasetil bakkatin III (10DAB) ve bakkatin III (BACIII) gibi önemli taksanların üretimi için uygun sistemlerdir. Biyoteknolojik yolla taksan üretimi için antikanser sekonder metabolitlerin üretiminin artırılması gerekmektedir. Türk fındık çeşitlerinden Kalınkara hücre süspansiyon kültürlerinde biyokütlenin ve hücre dışına salgılanan taksanların üretiminin artırılması için elisitasyon koşulları ilk kez belirlenmiştir.

Gereçler ve Yöntemler

Kalınkara çeşidine ait fındıklar Ordu ilinden 2019 yılı ağustos ayında hasat edilmiştir. *In vitro* koşullar altında steril edilmiş fındıklar 2 mg/L 2,4-diklorofenoksiasetik asit ve 0,2 mg/L 6-benzilamino pürin içeren besiyerlerine ekilerek kallus ve hücre süspansiyon kültürleri kurulmuştur. Hücre kültürleri, 120 rpm'de, 25 °C'de çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. 6 ay boyunca altkültürlenen homojenize kültürlere, 1 µM koronatin ve 50 mM metil-β-siklodekstrin elisitörleri ayrı ayrı ve birlikte eklenmiştir. Elisitörlerin hücre kültürleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yaş ağırlık, kuru ağırlık, hücre sayısı ve hücre canlılığı parametreleri 2 hafta boyunca ölçülmüştür. Elisitasyon kültürlemenin 17. gününde yapılmış ve kültürler 2 hafta sonra toplanmıştır. Hücreler, liyofilizatör kullanılarak kristalize edilmiştir. Hücre içi ve dışı örnekler heksan ve diklorometan ile ekstrakte edilerek taksanların miktarı HPLC ile belirlenmiştir.

Bulgular

Koronatin kültürlerin yaş ağırlığını %12, hücre sayısını %21 ve hücre canlılığını %11 azaltmış, metil-β-siklodekstrin ise yaş ağırlığını %10 artırmıştır. Metil-β-siklodekstrin ve koronatin birlikte uygulandığında ise koronatinin kültürlerin yaş ağırlığına (%4), hücre sayısına (%17) ve hücre canlılığına (%9) verdiği zararı nispeten azaltmıştır. Koronatin hücre içinde üretilen CEPH (0,519 µg/mL) ve PTX (16,8 µg/mL) verimini kontrole göre sırasıyla 3,36 (1,747 µg/mL) ve 1,90 (32,00 µg/mL) kat artmıştır. Koronatin ve metil-β-siklodekstrin eklendiğinde hücre dışına salgılanan CEPH miktarı ise, koronatin uygulamasına göre, yaklaşık olarak 10 (6,016 µg/mL) kat artmıştır. Ayrıca bu koşul hücre dışına 2,771 µg/mL PTX salgılanmasını da sağlamıştır.

Sonuç ve Tartışma

Hücre bölünmesini inhibe etmesi nedeniyle taksanların hücre dışına salgılayarak üretimini artıracak kültür sistemlerinin kurulması önemlidir. Türk fındık çeşitlerinde taksanların biyoteknolojik yolla üretimine temel oluşturabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Corylus avellana*, hücre süspansiyon kültürleri, elisitasyon, paklitaksel.

Teşekkür: İstanbul Üniversitesi BAP Yürütücü Sekreterliğinin FYL202138138 numaralı projesiyle desteklenmiştir.

Reserpine: Kolon Kanserlerin Tedavisinde Yeni Bir Umut Işığı Olabilir mi?

Cevriye Yıldırım[1], Hazal Ceylan[1], Erkan Yurtcu[1]

[1]*Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale*

yildirimcevriye188@gmail.com, erkanyurtcu@gmail.com

Giriş

Reserpine, yılan kökünün (*Rauwolfia serpentina*) aktif bileşenidir. Hint Ayurveda tıbbında yılan ısırığı tedavisinde kullanılmıştır. Antipsikotik bir ilaç olarak şizofreni ve akut maninin tedavisinde 1950'lerden beri yer almaktadır. Günümüzde "ilaçların yeniden kullanılması" kavramı kapsamında diüretikler ve vazodilatörlerle birlikte verildiğinde etkin antihipertansif ajan olarak kabul edilmektedir. Literatürde meme, lösemi, hepatoselüler, lenfoma, melanom, pankreas gibi bazı kanserlerde kanser hücrelerine karşı inhibitör özelliği olduğu ve hücre bölünmesini baskıladığına yönelik araştırmalar mevcuttur. Bu çalışmada bir model olarak kolon kanser hücrelerinde reserpine'in DNA hasarı oluşturma özelliği araştırılmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

İnsan kolon karsinoma hücreleri (HT29) %10 FBS içeren DMEM içerisinde kültüre edildi. Hücre canlılıkları trypan mavisi atma testi, hücre sayımları Thoma lamı kullanılarak yapıldı. Hücreler 48-72 saatte bir pasajlandı. Reserpine'in sitotoksik etkisi MTT testi ile belirlendi. Kısaca 96 kuyucuklu plaklarda çoğaltılan hücrelere seri dilüsyonlarla reserpine uygulandı. 48 saat sonunda tüm kuyucuklara önce MTT sonra SDS eklendi. Absorbanslar ELISA okuyucu ile belirlendi. Hücre canlılıkları çizilen grafiğin eğilim çizgisi kullanılarak belirlendi. IC50 Dozu belirlenen 106 hücreye reserpine uygulandı. 48 saat sonra hücreler kaldırıldı ve DNA hasarı alkali Comet yöntemi ile belirlendi. Hücreler en az hasarlı (0) ve en çok hasarlı (4) olacak şekilde skorlandı.

Bulgular

Reserpine'in HT29 hücreleri için 48 saat uygulama sonrasında IC50 değeri 39,21 µM olarak belirlenmiştir. Reserpine uygulanan hücrelerde comet skoru 131,66 olarak bulunmuşken kontrol grubunda 24 olarak bulunmuştur. Reserpine uygulaması DNA hasarını anlamlı şekilde artırmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Reserpine bazı kanser tiplerinde anti-apoptotik proteinleri inhibe ederek apoptozu uyarmaktadır. Sonuçlarımıza göre kolon kanser hücrelerinde DNA hasarı oluşturmaktadır ve kemoterapide yardımcı bir ajan olarak kullanımı araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Reserpine, kolon kanseri, comet yöntemi, DNA hasarı

Farklı Yüzeyler, Tek Çözüm: Argon Jet Plazmasının Antibiyofilm Etkinliğinin Araştırılması

Ethem Serhat Yavaş[1], Çağrı Durmuş[2], Pınar Aytar Çelik[1], Tamer Akan[2], Ahmet Çabuk[1]

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

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

ethemserhatyavas@gmail.com

Giriş

Enterococcus faecalis'in biyofilm oluşturduğu subgingival dokular, kök kanalları ve implant çevresinden uzaklaştırılabilmesi için farklı ajanlar kullanılmaktadır. Ancak bu ajanlar; *E. faecalis* üzerinde bakterisidal etki gösterirken, çevre dokulara da zarar vermeyen biyouyumlu özelliklere sahip olmalıdır. Bu nedenle, *E. faecalis*'in dental dokularda enfeksiyona neden olmasını engelleyecek yöntemlerin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmektedir. Soğuk plazmalar, yüklü ve uyarılmış moleküller ile O_2 ve N_2 gibi radikal türler üreterek tıbbi uygulamalarda geniş bir yelpazade kullanılmaktadır. Özellikle; bakteriyel inaktivasyonun oldukça önemli olduğu diş hekimliğin alanında da yeni bir teknoloji olarak öne çıkmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Atmosferik basınçta üretilen argon plazması (APPJ); mikroskop camı, poli-lisin kaplı cam ve polimetil metakrilat (PMMA) protez kaide materyalleri üzerinde büyütülen *E. faecalis* biyofilmleri üzerine uygulanmıştır. Bakteri kültürü, hücre sayısı 10^8 CFU/mL olacak şekilde 24 kuyucuklu plakalara eklenmiştir. Kuyucuklara taze MRS besiyeri eklenmiş ve 1x1 cm^2 boyutlarında kesilmiş materyaller yerleştirilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından, materyaller PBS ile yıkanmış ve içerisinde taze besiyeri olan yeni kuyucuklara alınmıştır. 24 saat inkübasyon sonunda, üzerinde 48 saatlik biyofilm oluşan materyaller çıkarılıp PBS ile yıkanmıştır. Soğuk plazma laboratuvarında; uygulama süresi, uygulama voltajı ve frekansı ve uygulama mesafesi sabit kalırken, *E. faecalis* biyofilmlerine 3 ve 10 dk uygulama yapılmıştır. 10 dk'lık sonikasyon işleminden sonra, 100 µL MRS agar üzerine yayma ekim yapılmıştır.

Bulgular

E. faecalis biyofilmleri üzerine argon gazı plazması uygulamasından sonra plakalar incelenmiştir. Kontrol plakaları ile yapılan karşılaştırmada; 3 dk ve 10 dk uygulamada hücre sayısında azalma gözlenmiştir. 3 dk ve 10 dk uygulamalar karşılaştırıldığında ise mikroskop camı ve poli-lisin kaplı camda ciddi bir azalma görülürken; PMMA'da 3 dk'lık uygulamaya karşı 10 dk'lık uygulama sonrasında çok fazla fark gözlemlenmemiştir.

Sonuç ve Tartışma

Argon APPJ'nin antibiyofilm etkisinin incelendiği bu çalışmada; plazma süresinin artması ile biyofilmlerde eradikasyon etkisinin arttığı gözlenmiştir. Ayrıca yüzey özellikleri; biyofilm oluşumu ve plazmanın etkisi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

Anahtar Kelimeler: *Enterococcus faecalis*, biyofilm, argon plazma jet, polimetil metakrilat

Vipera ammodytes Alt Türü Yılan Zehirlerine Karşı At Kaynaklı Antivenomunun Çapraz Nötralizasyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Figen Çalışkan[1,2], İlhan Bozyiğit[3], Shirin Ahmadi[4], Ayşe Nalbantsoy[5], Naşit İğci[6]

[1]*Eskisehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tr-26040 Eskişehir, Türkiye*
[2]*Albıla Serum Biyolojik Ürünler, Eskişehir.*
[3]*Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara.*
[4]*Technical University Of Denmark, Department of Bioengineering and Biomedicine, 2800 Lyngby, Copenhagen, Denmark*
[5]*Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bornova, Tr-35100 Izmir.*
[6]*Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Tr-50300 Nevşehir.*

fcalis@ogu.edu.tr

Giriş

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl 5,4 milyon insanın yılan tarafından ısırıldığı ve 2,7 milyona kadar zehirlenmenin olduğu tahmin edilmektedir. Yılan zehirlenmesi, özellikle dünyanın kırsal kesimleri için halk sağlığına yönelik önemli bir tehdittir ve antivenomlar ölüm oranını en aza indirmek için toksik etkileri nötralize edebilen tek ve özgün tıbbi tedavidir. *Vipera ammodytes* türü Avrupa'nın ve Türkiye'nin en zehirli yılanlarından biridir ve ülkemizde dört farklı alt türle temsil edilmektedir; *V. a. ammodytes, V. a. meridionalis, V. a. montandoni* ve *V. a. transcaucasiana.*

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada *Vipera ammodytes* alt türüne ait zehirlerin LD50 değerleri ve bu zehirlere karşı ALBILA Serum Biyolojk Ürünler tarafından hazırlanan polivalan F(ab')2 antivenomunun nötralizasyon değeri preklinik olarak 18-20 gr'lık fareler kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmalar Türk ve Avrupa Farmakopelerinde yer alan yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir.

Bulgular

LD50 değerleri; *Vipera ammodytes ammodytes* için 1,38 mg/kg, *Vipera ammodytes meridionalis* için 1,04 mg/kg, *Vipera ammodytes montandoni* için 0,68 mg/kg ve *Vipera ammodytes transcaucasiana* için 0,58 mg/kg olarak belirlenmiştir. Antivenomun nötralizasyon ve çapraz nötralizasyon değerleri; *Vipera ammodytes ammodytes* için 1024 LD50, *Vipera ammodytes meridionalis* için 1024 LD50, *Vipera ammodytes montandoni* için 1454,54 LD50 ve *Vipera ammodytes transcaucasiana* için 1454,54 LD50 olarak belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Yılan alt türleri arasındaki fenotipik varyasyon, zehir varyasyonuyla ilişkilidir ve yeni nesil geniş spektrumlu, toksin hedefli antivenomların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Viperidae, Vipera ammodytes*; yılan venomu; antivenom; nötralizasyon

Teşekkür: Bu çalışma ALBILA Serum Biyolojik Ürünler'in araştırma desteği ile gerçekleştirilmiştir.

Hypericum salsolifolium Ekstraktlarının Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkinliği

Gamze Akıllı[1], Mustafa Öçal[1], Mehmet Cengiz Baloğlu[1], Gökhan Zengin[2], Yasemin Çelik Altunoğlu[1]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*
[2]*Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya*

gamzeakilli@hotmail.com

Giriş

Meme kanseri, kadınlarda önemli bir sağlık sorunu olup, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde de sık rastlanan kanser türlerinden biridir. Clusiaceae (Guttiferae) familyasına ait *Hypericum* cinsi, dünyanın farklı coğrafyalarında birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu cinsin bazı türlerinin antikanser aktivitesinin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Urfa kantoronu olarak da bilinen *Hypericum salsolifolium* bitkisinin esansiyel yağ bileşenleri tanımlanmış ve akciğer kanseri üzerindeki antikanser aktivitesi araştırılmıştır fakat meme kanseri üzerine yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Bu çalışmada, *Hypericum salsolifolium* türüne ait belirli yoğunluktaki (1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL) etil asetat, metanol ve su ekstraktlarının meme kanseri (MDA-MB-231 ve MCF-7) hücreleri üzerindeki 24. ve 48. saatlerdeki etkisi MTT analizi ile belirlenmiştir. Ardından ekstraktlara ait IC_{50} değerleri (hücrelerin %50'sini öldüren ekstrakt konstrasyonu) hesaplanmıştır.

Bulgular

Çalışmada canlılık oranında en belirgin azalma, etil asetat ve metanol ekstraktlarının 1000 µg/mL konsantrasyonunda MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde olmuştur. Etil asetat ekstraktı için 24. saat sonundaki IC_{50} değeri 408,5 µg/mL iken 48. saat sonunda 270,1 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Metanol ekstraktı içinse 24. saatteki IC_{50} değeri 1152 µg/mL iken, 48. saatte 290 µg/mL olarak saptanmıştır. MCF-7 hücre hattı üzerinde, 24. saate kıyasla 48. saatte canlılık oranında daha belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Su ekstraktında ise kontrole göre canlılık oranında bir artış tespit edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Hypericum salsolifolium türüne ait etil asetat ve metanol ekstraktlarının antikanser aktivite potansiyeli taşıdığı ve bu ekstraktlar üzerinde daha detaylı araştırmaların yapılmasının faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum salsolifolium*, meme kanseri, hücre canlılık testi (MTT)

Labetalolün Doksorubisin Duyarlı ve Dirençli MCF-7 Meme Kanseri Hücreleri Üzerindeki Etkileri

Gökçe Nur Çitler[1], Ahmed Alsaftawi[1], Buse Ceyda Öncel[2], Öykü Irmak Dikkatli[2,3], Özlem Darcansoy İşeri[1]

[1]Başkent Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara.
[2]Başkent Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara.
[3]TENMAK, Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü, Ankara.

gokce_nur7@gmail.com, oiseri@gmail.com

Giriş

Beta-adrenerjik reseptörlerin yanıtını (aktivasyonunu) engelleyen reseptör antagonistleri, beta-blokerler olarak adlandırılır. Beta-blokerlerin hücrelerde proliferasyonu engelleyerek apoptozu uyardığı ile ilgili veriler mevcuttur. Seçici olmayan bir beta-bloker olan propranololün farklı kanserlerde tümör gelişimini, metastazı ve anjiyogenezi engellediği ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Meme kanseri hastalarında propranololün yeniden konumlandırması ile ilgili klinik denemeler devam etmektedir. Bu çalışmada, duyarlı ve doxorubisin dirençli MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında, seçici olmayan bir beta-bloker olan labetalolün hücre proliferasyonu, göçü ve koloni oluşturma potansiyeli üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Sunulan çalışmada, 1000nM doksorubisine dirençli (MCF-7/Dox) ve duyarlı parental MCF-7 hücreleri kullanılmıştır. Labetalolün sitotoksisitesinin değerlendirilmesi için 48 ve 72 saat inkübasyon sürelerinde 0.8-800 µM konsantrasyon aralığında MTT sitotoksisite analizleri yapılmış ve hücre proliferasyonunun yarıya düştüğü konsantrasyonlar (IC_{50}) belirlenmiştir. Yumuşak agar koloni oluşumu deneyleri, 15 µM, 30 µM, 60 ve 100 µM konsantrasyonlarda gerçekleştirilmiştir. Kültür kabı yüzeyinde hücre katmanında oluşturulan çiziğin 7,5 µM, 15 µM, 30 µM, 60 µM, 100 µM ve 200 µM labetalol varlığında 24, 48 ve 72 saat periyotlarında kapanması analiz edilerek (% wound healing) yöntemiyle hücre göçü değerlendirilmiştir.

Bulgular

MCF-7 hücrelerinde labetalolün konsantrasyona ve zaman bağlı sitotoksik etki gösterdiği bulgulanmıştır (IC_{50} 48s =15µM ve IC_{50} 72s =100µM). Test edilen tüm konsantrasyonlarda labetalolün parental hücrelerde koloni oluşumunu anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir. 30 ve 60 µM labetalolün hücre göçünü azalttığı bulgulanmıştır. 1,5-200 µM konsantrasyon aralığında ve 48 ve 72 saat inkübasyon sürelerinde labetalolün doksorubisin dirençli hücrelerde konsatrasyon bağımlı proliferatif etkisinin olduğu görülmüştür. Ancak bu hücrelerde 400 µM labetalolün 48 ve 72 saatte hücre proliferasyonunu yaklaşık olarak %50 azalttığı belirlenmiştir. Labetalolün MCF-7/Dox hücrelerinde koloni oluşumunu ve benzer şekilde hücre göçünü arttırdığı gözlemlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma

Labetalolün MCF-7 hücrelerinde konsantrasyon ve zamana bağlı olarak prolifreasyonu, koloni oluşumunu ve hücre göçünü engellediği ancak MCF-7/Dox hücrelerinde benzer konsantrasyon aralıklarında indükleyici etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Labetalol, doksorubisin, sitotoksisite, hücre göçü, koloni oluşumu

Teşekkür: Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından 1919B012211734 proje numarası ile desteklenmektedir.

Eupatorium cannabinum (L.) Ekstraktlarının Antikanser Aktivitelerinin Araştırılması

Kübra Seyhan[1], Necdet Mehmet Ünel[2], Enis Fuat Tüfekci[3], Yasemin Çelik Altunoğlu[1], Gökhan Zengin[4], Mehmet Cengiz Baloğlu[1]

[1]*Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu*
[2]*Kastamonu Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kastamonu*
[3]*Kastamonu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kastamonu*
[4]*Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya*

kubraseyhan38@gmail.com

Giriş

Kanser günümüzde küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte bilim dünyasının etkili ve yeni antikanser ajanlarının geliştirilmesine yönelik çalışmalarını tüm hızıyla sürdürdüğü görülmektedir. Tıbbi bitkilerin kimyasal içerikleri sayesinde etkili antikanser ajanların geliştirilmesi adına büyük bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle endemik bitkilerin kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitelerinin araştırılması ve sonuçlarının literatüre kazandırılması önem arz etmektedir. Bu çalışmada Asteraceae familyasında bulunan *Eupatorium cannabinum* (L.) ekstraktlarının prostat kanseri hücre hattı (PC-3) ve rahim ağzı kanseri hücre hattına (HeLa) karşı sitotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada *E. cannabinum*'un toprak üstü kısımlarından ultrasonikasyon (UAE) ve maserasyon (MAC) yöntemleri ile hazırlanmış etil asetat (EA), metanol (MeOH) ve su ekstraktları kullanılmıştır. Ekstraktların sitotoksik aktiviteleri PC-3 ve HeLa hücre hatlarına karşı MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolyum bromür) test yöntemi ile belirlenmiştir. Hücreler, ekstraktların 62,5, 125, 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonları ile 48 saat süresince muamele edilmiştir. Süre sonunda ekstraktlar ile muamele edilmiş hücrelerin canlılık oranları ekstrakt ilave edilmemiş kontrol hücreleri ile karşılaştırılmış ve sonuçlar yüzde cinsinden hesaplanmıştır. Ekstraktların IC_{50} değerleri GraphPad Prism 9.4.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) programı kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular

Sonuçlar incelendiğinde çalışmaya dahil edilen tüm ekstraktların hücre hatlarına karşı doza bağlı olarak sitotoksik aktivite sergilediği tespit edilmiştir. PC-3 ve HeLa hücre hatlarına karşı hesaplanan en düşük IC_{50} değeri bitkinin UAE yöntemi ile hazırlanmış EA ekstraktı ile muamele sonrası hesaplanmış olup değerler sırasıyla 22 µg/mL ve 115 µg/mL olarak bulunmuştur. Bitkinin MAC yöntemi ile hazırlanmış su ekstraktının ise hücre hatlarına karşı IC_{50} değeri 1000 µg/mL'den fazla bulunmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, *E. cannabinum* türünün özellikle EA ve MeOH ekstraktlarının etkili antikanser ajanların geliştirilmesi adına önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Eupatorium cannabinum* (L.), HeLa, MTT, PC-3

P-glikoproteinini Hedefleyen Yeni Tasarlanmış Modülatör Öncüllerinin Sitotoksik ve Hücre İçi Doksorubisin Birikimine Etkileri

Öykü Irmak Dikkatli[1,2], Yaprak Dönmez Çakıl[3], Nurettin Mengeş[4], Erkan Yurtcu[5], Özlem Darcansoy İşeri[6]

[1]*Başkent Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara.*
[2]*Tenmak, Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü, Ankara.*
[3]*Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.*
[4]*Necmettin Erbakan Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Konya.*
[5]*Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale.*
[6]*Başkent Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara.*

idikkatli@gmail.com, oiseri@gmail.com

Giriş

Çoklu ilaç dirençliliği (ÇİD), kanser hücrelerinin farklı antikanser ajanlarına karşı direnç geliştirme durumudur. Önceki çalışmalarımızda parental MCF-7 (MCF-7/S) meme kanseri hücreleri artan konsantrasyonlarda seçilerek 1000nM doksorubisine dirençli hale getirilmiştir (MCF-7/Dox) ve doksorubisinin bu hücrelerde ABC taşıyıcı protein P-glikoproteini (P-gp) tarafından hücre dışına pompalandığı belirlenmiştir. ÇİD'in geri çevrilmesinde en çok çalışılan strateji, P-gp pompasının doğrudan inhibisyonudur. Bu çalışmada, yeni tasarlanmış modülatör öncülü bileşikler ile P-gp'ye bağlı doksorubisin atımının engellenmesi ve P-gp'yi aşırı ifade eden MCF-7/Dox hücrelerinde doksorubisin duyarlılığının arttırılması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışmada, imidazol iskeletleri üzerinden farklı pozisyon ve fonksiyonel gruplar dikkate alınarak beş farklı türev sentezlenmiştir. Bileşiklerin saflaştırılması için kristallendirme ve farklı eluent taşıyan kolon kromatografi yöntemleri kullanılmış olup, karakterizasyon testleri için NMR, FT-IR ve kütle spektroskopisi kullanılmıştır. MCF-7/S ve MCF-7/Dox hücrelerinde sentezlenen bileşikler için 48 ve 72 saat inkübasyon sürelerinde MTT metodu ile hücrelerin yarısını öldürdüğü konsantrasyonları (IC_{50}) belirlenmiştir. Moleküllerin doksorubisin sitotoksisitesi üzerindeki modülatör etkileri MTT temelli olarak tespit edilmiştir. Aday moleküllerin MCF-7/Dox hücrelerinde P-gp pompa aktivitesi üzerindeki etkileri P-gp substratı Rhodamine 123 (Rh123) kullanılarak ve bilinen P-gp inhibitörü elakridar ile karşılaştırmalı olarak akış sitometri ile belirlenmiştir.

Bulgular

Sentezlenen 5 bileşikten (M1, M2, M3, M4 ve M5) M1, M2 ve M3'ün 48 ve 72 saatlik uygulama süreleri sonucunda MCF-7/S hücrelerinde 92,77 µM ve 672,23 µM arasında, MCF-7/Dox hücrelerinde ise 113,75 µM ve 753,19 µM aralığında IC_{50} değerine sahip olduğu ve zaman bağlı sitotoksik etki gösterdiği bulgulanmıştır. Sitotoksisite çalışmaları sonucunda M1, M2 ve M3 numaralı moleküller modülatör adayı olarak belirlenmiştir. MCF-7/Dox hücrelerine uygulanan aday moleküller akış sitometrisi çalışmalarında konsantrasyon bağımlı olarak Rh123 birikimini arttırmıştır. M2 ve M3 bileşiklerinin 60-240 µM konsantrasyon aralığında P-gp pompa aktivitesine bağlı hücre dışına Rh123 atımını azalttığı gösterilmiştir.

Sonuç ve Tartışma

İlk kez tasarlanan P-gp proteinini hedefleyen imidazol türevi bu bileşiklerin doksorubisin direncini geri çevirme potansiyeli sitotoksisiteye bağlı olarak belirlenmiş ve seçilen aday modülatör bileşiklerin P-gp inhibisyon etkileri gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, çoklu ilaç dirençliliği, doksorubisin, P-gp modülatörleri

Theranostics-enabling High-tech Centers: The Value of Centralizing Resources in Countries in Development

Pascal Kahlem[1], Pau Berenger-molins[1], Hakan Akbulut[2]

[1]*Scientific Network Management S.l., Barcelona, Spain*
[2]*Cancer Research Institute, Ankara University, Ankara*.

pkahlem@s-n-m.eu

Introduction

Theranostics is a rapidly advancing field that is making significant advancements in the healthcare industry by providing individualized medical solutions. In addition to its notable contributions, the demand for theranostics is also increasing over time, and has led to the creation of theranostics-enabling high-tech technological centers. This review investigates the advantages of consolidating theranostics resources in technologically advanced facilities, particularly in developing nations. It examines the potential advantages and drawbacks associated with this strategy.

Material and Methods

The study was performed using desk research.

Results

The study analysed 3 main aspects:

1- Benefits of Resource Centralization: The centralization of theranostics resources can lead to improved research, cost efficiency, and quality of healthcare services.

2- Challenges Faced: Developing countries may encounter hurdles such as resource allocation, infrastructure development, and skill acquisition, but these risks can be mitigated.

High-tech Centers: The paper delves into the role of these centers in fostering innovation and advancing theranostics in these countries.

Discussion

We provide insights into the potential of high-tech centers as a pivotal point in the evolution of healthcare in developing countries. We call for more in-depth research and collaborative efforts to enable the full potential of theranostics.

Key Words: Theranostics, technology center, personalized medicine.

Hsa-mir-144-3p/hsa-mir-30d-5p: Ortak Dmxl2 Üzerinden, Diyabet ve Eşlik Eden Nöropati İçin Biyobelirteç Paneli Olabilir mi?

Pelin Kılıç[1,2], Nevin Belder[3], Begüm Coşar[2,4], Furkan Oruç[2,5]

[1]*Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü, Kök Hücre ve Yenileyici Tıp Ana Bilim Dalı, Ankara*
[2]*Hücrecell® Biyoteknoloji Geliştirme ve Ticaret A.Ş., Ankara*
[3]*Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Ankara*
[4]*Başkent Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara*
[5]*Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara*

pkilic@ankara.edu.tr

Giriş

Diabetes melllitus (DM), en sık görülen metabolik bozukluklardan olup lipid metabolizmasını bozarak doğrudan kardiyovasküler komplikasyonlara yol açar. Diyabetik polinöropati (DPN), tip 2 diyabet (T2D)'in sık görülen komplikasyonudur ve tedavi edilmezse sakatlığa ve ölüme yol açabilir. DM'ye eşlik eden patolojilerden kaynaklı sonuçlar, erken teşhis ve mevcut yöntemlerin daha akılcı kullanımıyla iyileştirilebilir. DM patogenezinde, yüksek hassasiyetli erken dönem biyobelirteçleri olarak mikroRNA'lar (miRNA'lar) üzerinde çalışılmaktadır. Çalışmamızda, T2D'ye eşlik eden DPN'de potansiyeli bulunan miRNA ve ekstraselüler veziküler miRNA'ların, biyobelirteç paneli olma potansiyeli yönündeki rollerini biyoinformatik araçlarla araştırdık.

Gereçler ve Yöntemler

Gene Expression Omnibus (GEO) veri bankasında "Type 2 Diabetes mellitus" anahtar kelimesi üzerinden haberci RNA (mRNA) ve miRNA ekspresyonları için GSE21321, ekstraselüler veziküler miRNA'lar için (Monocyte_Diabetic Evs vs Monocyte_PBS Evs) veri setleri indirildi. - GSE21321 ve GSE105167 veri setleri miRNA ve mRNA verileri GEO üzerinden «GEO2R» kullanılarak yeniden analiz edilip mRNA verilerinde "|log2|>0.58" ve "p value=0.05" filtreleri kullanılarak DEG'ler bulundu. İki veri setinden elde edilen DEG'ler kesiştirildi. Ortak genlerin arasından, ekstraselüler alana salınanlar seçildi. GSE21321 veri setinden elde edilen 2 miRNA'nın hedeflerini bulmak için "miRDB" yazılımı kullanıldı. Hsa-miR-30d'nin hedef genleri ile belirlenen iki veri setinden gelen ortak mRNA'lar kesiştirildi. Her bir veri setinde, miRNA yönü ile mRNA yönü ters olanlar işaretlendi. İşaretlenen bu genlerden hangilerinin ekstraselüler alanda bulunduğı «genecards» ve «uniprot» üzerinden kontrol edildi.

Bulgular

GSE21321 veri setinde mRNA/miRNA verilerindeki DEmiR/DEG bulunarak buradan 7 miRNA elde edildi. GSE105167 veri setinde mRNA verilerindeki DEG'ler bulundu. GSE21321 ve GSE105167 veri setlerinden elde edilen DEG'lerin kesişiminde 171 ortak gen bulundu. MRNA'lardan yukarı regülasyonu olan genler için miRNA analizinde aşağı regülasyonu olan 3 miRNA'dan 2'si veri tabanında bulundu. Ortak genler arasından ekstrasellüler alana salınanlar seçildiğinde tek bir gen olarak DMXL2 belirlendi. MiRNA'lardan ise hem diyabet hem de DPN ile ilişkili olarak hsa-miR-144-3p ve hsa-miR-30d-5d belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

Belirlenen iki miRNA'nın DMXL2 üzerinden biyobelirteç paneli olabileceği yönündeki bulgularımızın, laboravarımızda, hastaların hücre hatları ve oluşturulan hastalık modellerinde miRNA profillerinin incelenmesiyle doğrulanması planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, diyabetik polinöropati, DMXL2, mikroRNA

Teşekkür: Bu çalışma, TÜBİTAK 1507 kapsamında 7238013 sayılı proje ile desteklenmiştir.

Kolorektal Kanserli Hastalarda Kemoterapinin Fekal Mikrobiyota Üzerine Etkisinin Metagenomik Analizi

Sedef Hande Aktaş[1,6], Ozan Yazıcı[2], Lütfiye Demir[3], Vahap Eldem[4], Nazan Demir[5], Belma Nural Yaman[6], Pınar Aytar Çelik[6], Dilara Fatma Akın[7], Onur Obut[4]

[1]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Eskişehir*
[2]*Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Ankara*
[3]*Medicana International, Medikal Onkoloji, İzmir*
[4]*İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji, İstanbul*
[5]*Edirne Sultan I. Murat Devlet Hastanesi,Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Edirne*
[6]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Anabilim Dalı, Eskişehir*
[7]*Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, Niğde*
sedefhande@gmail.com

Giriş

Kolon kanseri, tüm kanser türleri arasında en sık görülen dördüncü kanser türüdür. Hastalık lokalize olduğunda hasta sağkalım oranı yaklaşık %80 iken metastaz durumunda 5 yıllık sağ kalım oranı %13 olarak ifade edilmektedir. Güncel gelişmelere rağmen hastaların büyük bir oranı tedaviye yanıt alamamaktadır. Hasta popülasyonundaki bu anlamlı yanıtsızlık oranının en önemli nedenleri arasında hastalara uygulanan tedavi rejiminde farmakokinetik mekanizmaların ihmal edilmesi ve mikrobiyotanın etkisi olabilir. Mevcut çalışmamız, kemoterapinin mikrobiyal çeşitlilik üzerine etkisini incelemeyi amaçlamaktadır.

Gereçler ve Yöntemler

Çalışma popülasyonu 25 kolorektal kanserli hasta ve 25 sağlıklı kontrol grubundan oluşturuldu. Toplam 60 dışkı örneği (kemoterapi öncesi 25 dışkı örneği, kemoterapi sonrası 25 dışkı örneği, sağlıklı kontrollerden 10 dışkı örneği) analiz edildi. 16S ribozomal DNA dizilerinin V3-V4 bölgesi amplifiye edilerek yeni nesil sekanslama yapılan örnekler daha sonra biyoinformatik veri analizine alındı. Tüm numuneler, mevcut eklentiler kullanılarak QIIME2 ortamında işlendi ve analiz edildi. Diziler, QIIME2'de (q2-vsearch) uygulanan VSEARCH kullanılarak, %97 dizi benzerliği kesme değeriyle her örnek için operasyonel taksonomik birimler (OTU'lar) halinde kümelendi. Bakteriyel OTU'ların taksonomik sınıflandırması SILVA genomik veri tabanı ile gerçekleştirildi. Tüm istatistiksel karşılaştırmalar için parametrik olmayan Kruskal-Wallis istatistiksel testi yapıldı ve $p < 0.05$ varsayılarak farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Sağlıklı bireylerde bakteri popülasyonu 2.13M, kanser hastalarında ise yaklaşık 5M olarak tespit edildi (kemoterapi öncesi 5.11M, kemoterapi sonrası 5.46M). Sağlıklı bireyler ile kanser hastaları karşılaştırıldığında mikrobiyal taksonlardaki değişimler dikkat çekicidir. Kemoterapiden bağımsız olarak sağlıklı hastalara göre kanser hastalarında Actinobacteria filumunda yaklaşık 3 kat , Bacteroidetes filumunda 2 kat, Firmicutes filumunda 2 kat, Proteobacteria filumunda 2 kat artış görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda sınırlı miktarda bulunan Fusobacteria ve Synergistetes grubu bakterilerin kanser hastalarında anlamlı artışı gözlendi.

Sonuç ve Tartışma

Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria artışları kolon kanseri takibi açısından önemli olabilir. Kolorektal kanser hastalarında Fusobacteria ve Synergistetes indikatör niteliğinde değerlendirilebilinir.

Anahtar Kelimeler: kolorektal kanser, mikrobiyota, metagenomik, kemoterapi

Teşekkür: Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi BAP tarafından 202046001 proje kodu ile desteklenmiştir.

TIBBİ BİYOTEKNOLOJİ
POSTER SUNUMLARI

Hepatit B qPCR Tanı Kiti Geliştirilmesi

Arife Kaçıran[1,2], Ayşe Nur Akmehmet[1,2], Büşra Mammadov[2,3]

[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Trabzon*
[2]*Eryiğit Tıbbi Cihazlar A.Ş., Ankara*
[3]*Sentebiolab Genetik Biyoteknoloji, Ankara*

407958@ogr.ktu.edu.tr

Giriş

Hepatit B virüsü (HBV), öncelikle hepatositleri enfekte eden ve akut ve kalıcı karaciğer hastalığına neden olan küçük zarflı bir DNA virüsüdür. HBV, zarfı, çekirdeği polimerazı ve X proteinlerini kodlayan, kısmen örtüşen dört açık okuma çerçevesi halinde düzenlenmiş yaklaşık 3200 baz çiftinden oluşan çift sarmallı bir DNA genomuna sahiptir. HBV genomunun iyi bilinen sekiz genotipi (A-H) vardır. Bu genotiplere I ve J genotipleri sonradan eklenmiştir. Hepatit B, kan, meni veya diğer vücut sıvıları ile bulaşabilir. HBV hastalarında, yorgunluk, iştahsızlık, mide ağrısı, mide bulantısı ve sarılık gibi semptomlar görülebilir. HBV bireylerden alınan kan örneklerinden izole edilen DNA ile qPCR yapılarak tespit edilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Hepatit B virüslerinin tüm genotiplerinin ve alt genotiplerinin genomları biyoinformatik veri tabanlarında araştırıldı ve hizalama yapılarak Hepatit B virüsünün tüm genomlarında ortak olan S genini hedef alan primer-prob tasarımı yapıldı. Bu tasarımı yaparken primerlerin ve probun başka bir hastalık etmeni olan virüs ya da bakteri ile eşleşmemesine dikkat edildi. Bunun için birçok virüs ve bakteri DNA'sı in silico olarak hizalandı ve primer ve probun bağlanıp bağlanmadığı kontrol edildi. Aynı zamanda bireyden numunenin doğru olarak alındığını kontrol etmek için insan *GAPDH* genini tanımaya yönelik primer-prob da tasarlandı. Daha sonra hem primer çifleri ve problar hem de S gen bölgesi ve *GAPDH* genini içeren dizi (pozitif kontrol DNA) sentetik olarak üretildi. Üretilen primerler ve problar kullanılarak qPCR çalışmaları yapıldı. Sonrasında ticari olarak satın alınan HBV ve genotiplerinin plazma örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak qPCR çalışmaları yapıldı.

Bulgular

Hepatit B virüs genomlarında HBsAg'yi kodlayan S genini hedef alan primer-problar sentezlendi ve sentetik DNA ile qPCR çalışmaları yapıldı ve başarılı sonuçlar elde edildi. Tasarlanan primer çiftinin ve probun diğer virüs ve bakteriler ile eşleşmediği *in silico* olarak belirlendi. Ticari olarak alınan Hepatit B ve alt genotip (A-F) plazma örnekleri ile qPCR çalışmaları yapıldı ve tamamında HBV virüsü başarılı bir şekilde tespit edildi. Yapılan dayanıklılık çalışmalarının sonucunda HBV tanı kitinin +4 ºC de stabilite çalışmaları yapıldı ve uzun süre +4 C'de stabil olduğu belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

HBV'nin dünyada yaygın olarak bulunan tüm genotip ve alt tiplerini tespit eden bu kit +4 ºC ve -20 ºC'de uzun süre boyunca saklamaya dayanıklı olup benzer semptomlar gösteren diğer virüs ve bakteriler ile yanlış pozitif sonuçlar vermemektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B virüsü (HBV), qPCR

Hepatit C QPCR Tanı Kiti Geliştirilmesi

Ayşe Nur Akmehmet[1,2], Arife Kaçıran[1,2], Büşra Mammadov[2,3]

[1]*Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Trabzon*
[2]*Eryiğit Tıbbi Cihazlar A.Ş., Ankara*
[3]*Sentebiolab Genetik Biyoteknoloji, Ankara*

411158@ogr.ktu.edu.tr

Giriş

Dünyada en yaygın hepatit vakaları arasında yer alan hepatit C (HCV), deride sararma (sarılık), kas ve karın ağrısı, ateş ve kusma gibi belirtiler gösterip siroza, karaciğer yetmezliğine ve kansere neden olur. HCV'ye Hepacivirus cinsinden bir RNA virüsü neden olup bu virüsün 7 farklı genotipi (genotip 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7) ve bu genotiplerin de 80'den fazla alt tipi (1a, 1b, 1c, 2a, 2b, vb.) bulunmaktadır. HCV kan aracılığıyla bulaşmakta olup nadiren de olsa cinsel yolla ya da doğum sırasında anneden bebeğe bulaşabilmektedir. HCV, bireylerden alınan kan örneklerinden izole edilen RNA ile qRT-PCR yapılarak tespit edilmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

Öncelikle HCV'ye neden olan Hepatit C virüslerinin, tüm genotiplerinin ve alt genotiplerinin genomları biyoinformatik veri tabanlarında araştırıldı. İndirilen tüm genomlar hizalama yapılarak ortak olan 5'UTR bölgesi belirlendi ve bu bölgeyi tanımaya yönelik primer ve prob tasarımı yapıldı. Bunu yaparken primerlerin ve probun başka bir hastalık etmeni virüs ya da bakteri ile eşleşmemesine dikkat edilerek, primerlerin ve probun *in silico* olarak birçok virüs ve bakteri ile hizalaması yapıldı. Aynı zamanda numunenin doğru olarak alındığını kontrol etmek için insan beta-aktin genini tanımaya yönelik primerler ve prob tasarlandı. Hem tasarlanan primerler ve problar hem de HCV ve beta-aktin genini içeren dizi sentetik olarak üretildi ve ticari enzim ile qPCR çalışmaları yapıldı. Sonrasında ticari olarak satın alınan HCV ve genotiplerinin plazma örneklerinden RNA izolasyonu yapılarak qPCR çalışması yapıldı. Üretilen HCV tanı kitinin don-çöz dayanıklılığı ve stabilite çalışmaları yapıldı.

Bulgular

Tasarlanıp sentezlenen primer çiftleri ve problar ile HCV 5'UTR bölgesi ve beta-aktin geni tespiti yapıldı. Tasarlanan primer çiftinin ve probun diğer virüs ve bakteriler ile eşleşmediği *in silico* olarak belirlendi. Yapılan qPCR çalışmaları sonucunda ticari olarak alınan Hepatit C, Hepatit C genotip 1, Hepatit C genotip 1a, Hepatit C genotip 1b, Hepatit C genotip 2, Hepatit C genotip 2a, Hepatit C genotip 2b, Hepatit C genotip 3, Hepatit C genotip 4, Hepatit C genotip 5, Hepatit C genotip 6 plazma örneklerinden HCV tespit edildi. Yapılan dayanıklılık çalışmalarının sonucunda HCV tanı kitinin 10 keze kadar don-çöze dayandığı görüldü. Aynı zamanda kitin 9 aya kadar stabil kaldığı belirlendi.

Sonuç ve Tartışma

HCV'nin tüm genotip ve alt tiplerini tanıyan HCV tanı kiti üretimi yapıldı. Üretilen bu kit donup çözmeye ve uzun süre saklamaya dayanıklı olup benzer semptomlara neden olan diğer virüs ve bakteriler ile yanlış pozitif sonuçlar vermemektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C virüsü (HCV), qPCR

100 bp DNA Ladder Üretiminde Moleküler Yaklaşımlar

Hatice Demir[1], Gaye Ekin Gürsoy Çalış[1], Büşra Mammadov[2,3], Hüseyin Eryiğit[3]

[1]Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
[2]Sentebiolab Genetik Biyoteknoloji Ticaret Anonim Şirketi, Ankara
[3]Eryiğit Tıbbi Cihazlar Anonim Şirketi, Ankara

htcdemir@ankara.edu.tr

Giriş

Nükleik asitlerin boyutunun belirlenmesi moleküler biyolojide temel bir ihtiyaçtır. Agaroz jeller üzerindeki nükleik asit fragmentlerinin boyutunu belirlemek için DNA Ladder'lar sıklıkla kullanılmaktadır. DNA Ladder'lar, düzenli ve eşit aralıklarla boyutu artan, bilinen boyutlara sahip çok sayıda çift zincirli DNA ürünü içerirler. Bu DNA'lar elektroforez işlemi esnasında jel üzerinde, elektrik alandaki hareketliliklerine göre ayrılarak bantlar oluşturur. Oluşan bantlar boyutları bilinmeyen DNA moleküllerinin boyutunu tahmin etmek için referans olarak kullanılmaktadırlar. Bu projede, sentetik gen sentezlenmesi ve bu gene özgü primerlerin tasarlanması ile 100 bp DNA Ladder'ın tamamen yerli bir şekilde üretilmesi hedeflenmektedir.

Gereçler ve Yöntemler

DNA Ladder'ların hazırlanmasında yaygın kullanılan üç farklı yöntem vardır. (1) Ligasyon, (2) PCR ile amplifikasyon ve (3) Restriksiyon enzimleri ile kesim. Projemizdeki ana amaç, 100 bp boyutunda DNA Ladder'ı maliyeti düşürülmüş ve hızlı bir şekilde üretmektir. Bu projede, sahip olduğu avantajlar sebebiyle Touchdown PCR ve Multipleks PCR metotları birlikte kullanılmıştır. Gen sentezi sonucu elde edilen plazmitler kullanılarak, 100 bp ile 1000 bp boyutları arasında değişen 100 bp aralıklı fragmentler oluşturmak için 10 forward ve 1 reverse primer tasarlanarak sentezlenecektir ve istenilen 10 fragment multipleks PCR ile amplifiye edilecektir. Elde edilecek olan DNA fragmentlerinden 500 ve 1000 bp boyutundaki bantlar referans bant olarak nitelendirilecektir. Alternatif çalışma planımız, Ladder'da yer alacak her bir bant için ayrı bir modül olarak kalıp DNA'nın gen senteziyle sentezlenmesi ve her bir banta ait fragmentin tekli PCR reaksiyonları ile amplifiye edilmesidir.

Bulgular

İlk olarak, 100-200-300-400 bp fragmentler için kalıp DNA gen sentezi yöntemiyle üretilmiştir. Bu kalıp DNA'da aynı diziye sahip 4 forward primer ve 1 farklı reverse primer bağlanma bölgesi uygun uzaklıklarda yer almaktadır. PCR reaksiyonları Multipleks ve Touch-Down PCR metoduyla kurulmuştur. Çalışma kapsamında değişen oranlarda F-R primer kullanılmıştır (4F-1R,4F-2R,4F-4R,2F-4R,1F-4R,2F-1R,1F-2R,2F-2R). PCR bantlarının güçlü ve birbirine eşit olması için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda Konvansiyonel ve Touch-Down PCR reaksiyonları farklı Taq polimeraz enzimleri ve farklı Mg+2 konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiş ve reaksiyon ürünleri karşılaştırılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Beklenen 4 bant güçlü şekilde elde edilmiştir, ancak bant yoğunlukları eşit olmamaktadır. PCR optimizasyon çalışmaları devam etmektedir. Alternatif planda 10 farklı kalıp DNA gen sentezi sonrası her bir bant tek tek üretilecek ve birleştirilecektir.

Anahtar Kelimeler: 100 bp DNA Ladder Üretimi, Multipleks PCR, Gen sentezi, TouchDown PCR

Teşekkür: Bu proje, KOSGEB (Ar-Ge, Ür-Ge ve İnovasyon Destek Programı) tarafından desteklenmiştir.

MDR1 Geninin Nakavt Edilerek P-gp Pompasına Bağlı İlaç Atımının Engellenmesi İçin CRISPR/Cas-9 Vektör Kasedinin Oluşturulması

Yunus Emre Cavlak[1], Özlem Darcansoy İşeri[1]

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

yecavlak.01@gmail.com, oiseri@gmail.com

Giriş

ABCB1/MDR1 geni tarafından kodlanan ABC taşıyıcı proteini P-glikoproteini (P-gp) 170 kDa'luk 1280 amino asitten oluşan çok sayıda zar geçen bölümden ve 2 ATP bağlama bölgesinden oluşan bir pompa proteindir. *MDR1* geni 7q21.12 sitobandında bulunur ve 28 ekzon bölgesi vardır. Kanser hücre hatlarında P-gp nakavt çalışmalarında *MDR1* genin farklı bölgeleri hedeflenmiş ve kanser hücrelerinin P-gp substratı ajanlara duyarlılığının arttığı gösterilmiştir. Bu projede, çoklu ilaç dirençliliği (ÇİD) fenotipine sahip MCF-7 hücrelerinde P-gp pompasına bağlı ilaç atımının engellenmesi için *MDR1* geninin düzenlenmesine yönelik CRISPR/Cas-9 vektör kasedinin oluşturulması ve klonlanması amaçlanmıştır.

Gereçler ve Yöntemler

İnsan *MDR1* geninin ve P-gp proteinin dizi bilgileri "National Center for Biotechnology Information (NCBI)" veri tabanından indirilmiş ve promotor bölgesi "Eukaryotic Promoter Database (EBD)" veri tabanından transkripsiyon başlangıç bölgesine (transcription start site; TSS) göre 1000 bp yukarısı ve 100 bp aşağısı arasında kalan bölgeyi kapsayacak şekilde belirlenmiştir. CRISPR/Cas-9 yöntemi için kullanılacak rehber RNA'ların (gRNA) tasarımları "CRISPRdirect" veri tabanında PAM dizisi "NGG", özgüllüğü "*H. sapiens*" seçilerek MDR1 geninin promoter bölgesi ve P-gp kodlayan dizi bilgileri dikkate alınarak yapılmıştır. Yüksek spesifiteye, uygun GC içeriğine ve Tm değerine sahip tasarımlar arasından ekzon-ekzon bağlantısı kurabilecek ve hedef bölge içerisinde TTTT bulunan gRNA tasarımları elenerek aday gRNA tasarımları belirlenmiştir. Tasarlanan gRNA'lar "pU6-(*BbsI*) CBh-Cas9-T2A-mCherry" vektörüne BbsI enzimi ile yerleştirilerek kasetler oluşturulmuş, DH5α *E.coli* suşuna klonlanmıştır.

Bulgular

İnsan *MDR1* geninde P-gp kodlayan dizi bilgilerine göre 24. ve 26. ekzonları hedef alan uygun şartları sağlayan iki adet gRNA tasarımı yapılmıştır. *MDR1* gen promotor bölgesi dizisi içerinde transkripsiyon başlangıç bölgesinin 848-870 baz yukarısında uygun şartları sağlayan bir adet gRNA tasarımı tasarlanmıştır. Dirençlilik gelişiminde, genom düzeyinde kopya sayısının artması ve dizi değişimlerinin de önemli bir etken olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, gRNA tasarımında farklı P-gp bölgelerinin dikkate alınması protein nakavt verimini arttırabilir.

Sonuç ve Tartışma

Dirençli MCF-7 hücrelerinde gen düzenlenmesi ve pompa bağımlı ilaç atımının engellenmesi ile diğer direnç mekanizmalarının ve ÇİD fenotipi üzerindeki etkileri ile bu mekanizmalarının geri çevrilmesi çalışmaları için yeni modeller oluşturulabilir.

Anahtar Kelimeler: Çoklu ilaç dirençliliği, ABCB1/MDR1 geni, P-gp, CRISPR/Cas-9

Teşekkür: Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından 1919B012112195 proje numarası ile desteklenmektedir.