

ÖZET

KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİNİN SAFLAŞTIRILMASI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJELLERİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Murat UYGUN

Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Adil DENİZLİ
2012, 168 sayfa

Bu çalışmada, sığır kanından karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması için moleküler baskılanmış poli(HEMA-MAH) kriyojeller sentezlenmiştir. Sentezlenen kriyojellerin karakterizasyonu şişme, makrogözeneklilik ve akış hızı denemeleri ve FTIR, SEM, yüzey alanı ve elementel analiz ölçümleri yapılarak gerçekleştirilmiştir. Kriyojellerin maksimum şişme oranının gram kriyojel başına 8.01 g olduğu makrogözenekliliğin ise yaklaşık % 70 olduğu bulunmuştur. Kriyojel makrogözenekliliğinin artışı ile akış hızı da artmıştır. Kriyojel yapısına MAH monomerinin katıldığı elementel analiz ve FTIR analizleri ile gösterilmiş ve sentezlenen kriyojelin yüzey özellikleri SEM ile incelenmiştir. Kriyojelin oldukça gözenekli olduğu ve sünger benzeri bir morfolojiye sahip olduğu bulunmuştur. Karbonik anhidraz baskılanmış kriyojellerin yüzey alanı BET ölçümleri ile 29.3 m²/g olarak bulunmuştur. Maksimum karbonik anhidraz adsorpsiyonu pH 6.0 MES tamponu ile elde edilirken (3.16 mg/g kriyojel), sıcaklığın adsorpsiyon üzerine etkili olmadığı bulunmuştur. Artan tuz derişimi ile adsorpsiyon kapasitesi azalırken kromatografik akış hızı 4 mL/dak'ya çıkarıldığında adsorpsiyon kapasitesi şiddetli bir şekilde azalmıştır. Adsorplanan karbonik anhidrazın floresans spektrumu alınarak üç boyutlu yapısında bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Kriyojellerin tekrar kullanılabilirliği 10 döngü boyunca incelenmiş ve adsorpsiyon kapasitesinde % 10'luk bir azalma meydana gelmiştir. Sentezlenen kriyojelin seçiciliği albumin, hemoglobin, IgG, γ -globulin ve lizozime karşı incelenmiş ve sırasıyla 15.26, 60.05, 21.88, 17.61 ve 17.42 kat yüksek seçicilik bulunmuştur. Sentezlenen karbonik anhidraz baskılanmış kriyojeller kullanılarak sığır kanından karbonik anhidraz enzimi yaklaşık % 80 verimle ve 84 kat saflaştırılmıştır ve saflık SDS-PAGE ve zimogram ile gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: Karbonik anhidraz, kriyojel, moleküler baskılanmış polimer.