

ÖZET

FİTAZ ÜRETEN FUNGUSTAN ENZİMİN ÜRETİMİ, SAFLAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYONU

Gamze Sevri EKREN

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kubilay METİN

2013, 175 sayfa

Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı stok kültürlerinde kayıtlı havadan ve topraktan izole edilmiş 165 adet fungus fitaz enzimi üretme kapasitesi açısından taranmıştır. *Aspergillus niger* UA-D suşunun en yüksek aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. *Aspergillus niger* UA-D suşundan ekstraselüler olarak PSM ortamında üretilen fitaz enzimi amonyum sülfat çöktürmesi, DEAE Sefaroz CL-6B ve Fenil Sepharoz CL-4B işlemleri uygulanarak % 2.6 verimle 73 kat saflaştırılmıştır. SDS-PAGE elektroforezinde tek bant elde edilmiş ve moleküler ağırlığı 65 kDa olarak hesaplanmıştır. Maksimum aktivitesini pH 3.0 ve 70 °C sergilediği bulunmuştur. Enzimin geniş bir sıcaklık ve pH aralığında stabil olduğu saptanmıştır. Enzimin fitik asit için K_m değeri 180 μ M ve V_{max} değeri 54.35 U/mL olarak hesaplanmıştır. Fitaz enziminin geniş bir substrat spesifikliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Fitaz aktivitesi, Ba^{2+} ve Li^+ tarafından artarken, Fe^{2+} , Al^{3+} ve Pb^{2+} tarafından inhibe olmuştur. Enzim aktivitesi NBS, PMSF, DTNB, 2,3-bütandion varlığında oldukça inhibe olurken, CMC, DTT ve β -merkaptotanol ile aktive olmuştur. Bu sonuçlar enzimin katalitik merkezinde triptofan, sistein, serin ve arjinin rezidülerinin önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Polihidrik alkollerden gliserol ve sorbitolün sıcaklık stabilitesini artırdığı ve organik çözücülerin ise enzim aktivitesini çok fazla etkilemediği belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Fitaz enzimi, *Aspergillus niger*, saflaştırma, karakterizasyon