

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LİSANSÜSTÜ TEZ SAVUNMASI

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

TEZ BAŞLIĞI : *Anoxybacillus gonensis* glukoz izomerasının kinetik ve bazı biyokimyasal parametrelerinin G33D, N138G, T144S, V293I, V32I, E373K ve V380I bölge spesifik mutasyonları ile geliştirilmesi

SUNAN :Pelin BAK

DANIŞMAN :Yrd.Doç.Dr.Hakan KARAOĞLU

SAVUNMA

TARİHİ : 24.07.2017

SAATİ : 11:00

YERİ : Su Ürünleri Fakültesi Prof. Dr. Osman BEYEZOĞLU

Konferans Salonu

ÖZET

Glukoz izomeraz, amilaz ve proteaz ile birlikte dünyanın en yüksek tonajlı üç enziminden birisidir. GI; D-glukozun D-fruktoza, D- ksilozun da D- ksiluloza dönüşümlü izomerizasyonunu katalizler. GI D-glukozun D-fruktoza izomerizasyonu HFCS üretiminde ticari bir öneme sahiptir. Bu öneminden dolayı bugüne kadar pek çok hücreden yeni GI'lar izole edilerek karakterize edilmiştir.

Anoxybacillus gonensis G2^T glukoz izomerazını kodlayan gen pET-28a(+) ekspresyon vektörüne klonlanarak enzim rekombinant olarak üretildi ve saflaştırıldı. Enzimin biyokimyasal özellikleri, kinetik parametrelerinin geliştirilmek için glukoz izomeraz üzerinde G33D, N138G, T144S, V293I, V32I, E373K ve V380I mutasyonları

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

yapıldı. Mutant enzimler ve yaban tip enzim, kolon kromatografisi yöntemleri ile saflaştırıldı. Karakterize edilen tüm enzimler biyokimyasal özellikleri ve kinetik parametreleri bakımından birbirleriyle ve yaban tip enzim ile karşılaştırıldı.

Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda G33D, V293I, V32I, E373K ve V380I mutasyonları ile yaban tip enzimin biyokimyal özelliklerinde ve kinetik parametrelerinde önemli sayılabilecek bir değişiklik meydana gelmemiştir. N138G ve T144S mutant enzimlerin V_{max} , k_{cat} ve katalitik etkinlik değeri olan k_{cat}/K_m 'sinde artış gözlemlendi. N138G'nin V_{max} değeri $44,24 \pm 0,27$ $\mu\text{mol/dk/mg}$ protein, T144S'nin V_{max} değeri $34,59 \pm 0,26$ $\mu\text{mol/dk/mg}$ protein olarak hesaplandı. G33D, T144S mutant enzimlerin ısı kararlılığında yaban tip enzime göre hifif bir artış gözlemlendi.