

Bakteriyel Kaynaklardan Elastaz Enziminin Üretilmesi¹

Yağmur Yalçınkaya Tunalı², Nilüfer Aksöz³

Özet

Bu çalışmada proteolitik bir enzim olan ve yapay tatlandırıcı aspartamin (N-benziloksikarbonil-L-aspartil fenilalanin metilesteri) sentezi için kullanılabilen elastaz enziminin üretimine etkili bazı fizyolojik koşullar üzerinde çalışılmıştır. Denenen mikroorganizmalar arasında (*Pseudomonas aeruginosa* suşları, *Pseudomonas* sp. EO1 ve *Pseudomonas* sp. EO8 suşları, *Bacillus subtilis* (I.P.Eh.1.1953), *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis* 10649 MERCK ve *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşları) yapılan çalışmalar sonucunda *Pseudomonas aeruginosa* No:20 suşunun elastaz enzimi üretimi bakımından diğerlerine kıyasla daha potent olduğunu gösterildi.

Çalışmalarımızda karbon kaynağı olarak 0.05 M glukoz ve azot kaynağı olarak 0.20 M NH₄Cl veya %0.5 maya özütü içeren, pH 7.0'a ayarlanmış 100 ml besiyerinde 30 °C'de, üç gün çalkalamalı koşulda inkübasyonu yapılan kültürlerde enzim üretiminin, diğer koşullara kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu ortamda optimum kültürel koşullarla 5.1 U/ml elastaz enzimi aktivitesi saptanmıştır.

Çalışmamızda enzim reaksiyon ortamında tamponun, substrat ve enzim konsantrasyonunun, inkübasyon süresinin, inkübasyon sıcaklığının ve pH'ın enzim aktivitesine etkisi de araştırılmış; en yüksek aktivite (4.566 U/ml) 10 mg substrat Elastin-Congo red ve 1 ml enzim içeren, pH'ı 7.0 olan 3 ml 10 M TrisHCl tamponunda 3 saat 37 °C'de çalkalamalı inkübe edilen reaksiyon ortamlarında bulunmuştur.

Elastaz enziminin amonyum sülfatla çöktürme ve diyalizle kısmi olarak saflaştırması yapılmış ve enzim, kültür süpernatantına göre 10.18 kat saflaştırılmıştır.

Araştırmamızın diğer bir amacı immobilize edilmiş bakteri hücrelerinin elastaz enzimi aktivitesinin ve yine immobilize edilmiş enzimin aktivitesinin serbest hücre ve serbest enzim ile karşılaştırılmasıdır. Bu amaçla bakteri ve enzim sodyum aljinat ve agara ayrı ayrı tutuklanmıştır. Serbest formdaki hücrelere kıyasla enzim aktivitesinin %4'lük sodyum aljinata tutuklanan hücrelerde %78.40, %8'lik sodyum aljinata

¹ Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Prof. Dr. Nilüfer Aksöz danışmanlığı altında Yağmur Yalçınkaya tarafından yapılmış ve Şubat 2003 tarihinde tamamlanmış olan aynı isimi doktora tezinin özetidir.

² Yrd. Doç. Dr., Anadolu Univ. Eczacılık Fakültesi Farmasotik Mikrobiyoloji AbD, Eskişehir.

³ Prof. Dr., Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji AbD Beytepe Ankara. Yazışmalardan sorumlu yazarın E-posta adresi: naksoz@hacettepe.edu.tr

tutuklananlarda %51.20, %2'lik agara tutuklanan hücrelerde ise %76.13 oranında korunduğu bulunmuştur. Tutuklama matriksi olarak %4'lük sodyum aljinata tutuklanan enzimde ise aktivitenin azaldığı; fakat yine de %58.90 oranında korunduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak; optimum kültür koşullarının uygulanmasıyla *Pseudomonas aeruginosa* No:20 suşunun elastaz enzimi üretimi artırılmıştır, reaksiyon ortamında da optimal koşulların uygulanmasıyla enzim aktivitesi maksimum bulunmuştur. Tutuklamayla enzim üretimi ve aktivitenin azalmasına karşın kullanım kolaylığı bu dezavantajı ortadan kaldırmaktadır.