

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ZEYTİN (*Olea europaea* L.) YAPRAĞINDAN β -GLUKOZİDAZ ENZİMİNİ
KODLAYAN GENİN KLONLANMASI**

GİZEM ÇAVUŞOĞLU DOLMA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. ŞENAY VURAL KORKUT**

İSTANBUL, 2013

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEYTİN (*Olea europaea L.*) YAPRAĞINDAN β -GLUKOZİDAZ ENZİMİNİ
KODLAYAN GENİN KLONLANMASI**

Gizem ÇAVUŞOĞLU DOLMA tarafından hazırlanan tez çalışması 14.03.2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Şenay VURAL KORKUT
Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Doç. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Şenay VURAL KORKUT
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Ayşegül PEKSEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Ayten YAZGAN KARATAŞ
İstanbul Teknik Üniversitesi

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2012-01-07-KAP01 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca bana yol gösteren ve beni her konuda yönlendiren, bilgisini ve deneyimlerini benden esirgemeyen çok değerli Tez Danışmanı Hocam Yrd. Doç. Dr. Şenay Vural Korkut'a ve projesinde bana çalışma fırsatı tanıyan sayın Doç. Dr. Nehir Özdemir Özgentürk'e desteği ve yardımları için çok teşekkür ederim.

Bu süreç boyunca desteğini bir an olsun benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili eşim Fırat Dolma'ya, beni bugünlere getiren annem Vicdan Çavuşoğlu, babam Ali Osman Çavuşoğlu, ablam Enise Çavuşoğlu Dalgıçdır ve kardeşim Gönül Çavuşoğlu ve ailemin tüm değerli üyelerine sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans Dönem arkadaşlarım Yahya Emin Demirci, Dilek Çağlar, Bahar Işık, Neslihan Şimşek ve Munise Yurtsever'e desteklerinden dolayı

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Mart, 2013

Gizem ÇAVUŞOĞLU DOLMA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.1.1 β -Glukozidazlar	1
1.1.2 β -Glukozidaz Enziminin Sınıflandırılması ve Yapısı	2
1.1.3 Enzimatik Mekanizma.....	5
1.1.4 Enzimin Substrat Bağlama Mekanizması ve Spesifikliğı	7
1.1.5 β -Glukozidaz Enziminin Görevleri ve Biyoteknolojik Özellikleri	8
1.1.5.1 Besin Kalitesi Üzerindeki Etkisi.....	9
1.1.5.2 Savunma.....	10
1.1.5.3 Selülozun Hidrolizi.....	11
1.1.5.4 Lignin Biyosentezi.....	15
1.1.5.5 Büyüme ve Gelişme.....	15
1.1.5.6 β -Glukozidazın Memelilerdeki Fonksiyonu	16
1.1.6 β -Glukozidaz ve Stres	17
1.1.7 Zeytin	18
1.1.7.1 Zeytinin Taksonomisi, Yaşam Koşulları ve Yayılış Alanları	18
1.1.8 Zeytin ve Stres	21
1.2 Tezin Amacı	23
1.3 Hipotez	24

BÖLÜM 2

MATERYAL METOD	25
2.1 Bitki Materyali.....	25
2.2 Tamponlar ve Çözeltiler	25
2.3 Moleküler Markerlar	26
2.4 Enzimler	26
2.5 Kitler	27
2.6 Besi Yerleri	27
2.6.1 Luria Broth (LB)	27
2.6.2 SOB	27
2.7 Oligonükleotidler	28
2.8 Programlar	28
2.8.1 Chromas.....	28
2.8.2 Primer 3	28
2.8.3 Blast	28
2.8.4 EMBOSS Transeq	29
2.8.5 BioEdit.....	29
2.9 Bitki Büyütme Koşulları	29
2.10 Bitki Örneklerinin Alınması	29
2.11 RNA İzolasyonu	29
2.11.1 RNA İzolasyonu için Hazırlık	29
2.11.2 Bitki Örneklerinden RNA İzolasyonu	30
2.11.3 Total RNA Miktarının Belirlenmesi.....	30
2.12 RNA'ların Formaldehit Jeli Üzerinde Analizi	31
2.12.1 Formaldehit Jeli Hazırlanması	31
2.12.2 Formaldehit Jeli İçin RNA Örneklerinin Hazırlanması	31
2.13 Primerlerin Tasarlanması	31
2.14 RT PCR	33
2.14.1 cDNA Sentezi	33
2.14.2 PCR Reaksiyonu	33
2.14.3 DNA'nın Agaroz Jel Üzerinde Analizi	34
2.14.4 PCR Ürününün Agaroz Jelden Pürifikasyonu.....	34
2.14.5 Vektör Ligasyonu	34
2.14.6 Kompetan Hücrelerin Hazırlanması	36
2.14.7 Transformasyon	36
2.14.7.1 Transformasyon Reaksiyonunun Kurulması	36
2.14.7.2 Pozitif Kolonilerin Belirlenmesi	36
2.14.8 Plazmit İzolasyonu.....	37
2.14.9 PCR Reaksiyonu	37
2.14.10 DNA'nın Agaroz Jel Üzerinde Analizi	38

BÖLÜM 3

SONUÇLAR	39
3.1 Bitki Örneklerinin Alınması	39

3.2	RNA İzolasyonu	39
3.3	RT PCR ile İlgili Sonuçlar	40
3.3.1	Primer Tasarımı	40
3.3.2	PCR Ürünlerinin Analizi	43
3.3.3	PCR Ürünlerinin Vektöre Ligasyonu	44
3.3.4	Transformasyon	44
3.3.5	Plazmit İzolasyonu	44
3.3.6	PCR Ürünlerinin Analizi	46
3.3.7	Dizin Analizi ve Benzerlik Analizleri	46
BÖLÜM 4		
SONUÇ VE ÖNERİLER		60
KAYNAKLAR		66
EK-A		
OF7 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI		74
A-1 OF7 BLASTN Analizi Sonuçları		74
A-2 OF7 BLASTP Analizi Sonuçları		74
EK-B		
1F7 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI		77
EK-C		
6F2 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI		80
C-1 6F2 BLASTN Analizi Sonuçları		80
C-2 6F2 BLASTP Analizi Sonuçları		80
EK-D		
6F11 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI		83
D-1 6F11 BLASTN Analizi Sonuçları		83
D-2 6F11 BLASTP Analizi Sonuçları		83
EK-E		
6F15 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI		86
E-1 6F15 BLASTN Analiz Sonuçları		86
E-2 6F15 BLASTP Analiz Sonuçları		86
ÖZGEÇMİŞ		89

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
bp	Baz çifti
Ci	İnorganik Karbon
kb	Kilobaz
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
nM	Nanomolar
pH	Ortam Reaksiyonu
U	Ünite
UV	Ultraviyole
v/v	Hacim/Hacim
w/v	Ağırlık/ Hacim

KISALTMA LİSTESİ

BLAST	Dizi homolojisi arama motoru
cDNA	Komplementer DNA
DEPC	Di Etil Piro Karbonat
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksiribo nükleozit trifosfat
EDTA	Etilen Di Amin Tetra Asetik Asit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
IPTG	İzopropil β -D- tiogalaktozit
kcat	Dönüşüm Sayısı
LB	Luria Broth
MOPS	3-(N-morfolino) Propan Sülfonik Asit
mRNA	Mesajcı RNA
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Merkezi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RACE	cDNA Uçlarının Hızlı Çoğaltımı
RNA	Ribonükleik Asit
RPM	Devir/ dakika
RT	Revers Transkriptaz
X-Gal	5-brom-4-kloro-3-indol-beta-D- galaktozit
GH1	Glukohidrolaz Aile 1
GH30	Glukohidrolaz Aile 30
GBA1	İnsan Asit Beta Glukozidaz
GBA2	İnsan Asit Beta Glukozidaz
HCN	Siyanür
SAGE	Serial Analysis Of Gene Expression
TMV	Tütün Mozaik Virüsü
CMV	Cucumber Mozik Virüsü

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. 1	Mısır β -glukozidaz Glu1 izoenzimi monomerinin 3D yapısı 3
Şekil 1. 2	Farklı GH ailelerine ait β -glukozidazların yapısı 4
Şekil 1. 3	β -glukozidazın aktif bölgeleri. (A) Zea mays Glu1, (B) Sorghum dhurrinase Dhr1 5
Şekil 1. 4	Genel glikozidaz katalizleme mekanizmaları. β -glukozidazın çevrilme reaksiyonu (a) ve tutma reaksiyonu (b)..... 7
Şekil 1. 5	β -glukozidazların doğal substratlarından bazıları 8
Şekil 1. 6	Selülozun hidrolizi 12
Şekil 1. 7	Selüloz Molekülleri Arasındaki Hidrojen Bağları..... 14
Şekil 1. 8	Ligninin Yapı Taşları..... 15
Şekil 1. 9	Yabani ve kültür zeytininin dünyada yayılış alanları 20
Şekil 2. 1	Kontig dizin bilgisi ve tasarlanan primerler..... 31
Şekil 2. 2	pGEM-T Easy vektörünün şematik gösterimi..... 35
Şekil 2. 3	pGEM-T Easy vektörünün çoklu klonlama bölgesi..... 35
Şekil 3. 1	RNA'ların %1'lik formaldehit jeli üzerinde görüntülenmesi 40
Şekil 3. 2	Zeytin beta glukozidaz genine ait EZ421650 kontiği ve AY083162 beta glukozidaz dizininin benzerlik analizi 41
Şekil 3. 3	PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü..... 43
Şekil 3. 4	<i>Pst</i> I ve <i>Eco</i> RI enzimleri ile kesilerek lineer hale getirilen plazmitlerin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü 45
Şekil 3. 5	<i>Pst</i> I ve <i>Eco</i> RI enzimleri ile kesilerek lineer hale getirilen plazmitlerin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü..... 45
Şekil 3. 6	PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü..... 46
Şekil 3. 7	0F7 nükleotid ve aminoasit dizini 48
Şekil 3. 8	1F7 nükleotid ve aminoasit dizini 50
Şekil 3. 9	6F2 nükleotid ve aminoasit dizini 52
Şekil 3. 10	6F11 nükleotid ve aminoasit dizini 53
Şekil 3. 11	6F15 nükleotid ve aminoasit dizini 55
Şekil 3. 12	DNA fragmenti dizininin BLAST analizi sonuçlarının NCBI web sayfasındaki görüntüsü (A. Birinci bölüm, B. İkinci bölüm, C. Üçüncü bölüm) 57
Şekil 4. 1	cDNAdan elde edilen dizinlerin ve AY083162 dizininin hizalama analizi..... 61

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 1.1 β -glukozidaz enziminin sınıflandırılması	2
Çizelge 1. 2 Selüloz ve Türlerinin Hidrolizi İçin Gerekli Olan Temel Enzimlerin Etkiledikleri Bağlar.....	13
Çizelge 1. 3 Zeytinin taksonomisi	19
Çizelge 2. 1 Tampon ve çözeltiler.....	25
Çizelge 2. 2 Moleküler markerlar	26
Çizelge 2. 3 Enzimler	26
Çizelge 2. 4 Kitler	27
Çizelge 2. 5 LB.....	27
Çizelge 2. 6 SOB.....	27
Çizelge 2. 7 Primerler	28
Çizelge 3. 1 Dizin analizine gönderilen örneklerin adlandırılması.....	47
Çizelge 3. 2 BLASTN analizi sonuçları	58
Çizelge 3. 3 BLASTP sonuçları.....	59

**ZEYTİN (*Olea europaea* L.) YAPRAĞINDAN β -GLUKOZİDAZ ENZİMİNİ
KODLAYAN GENİN KLONLANMASI**

Gizem ÇAVUŞOĞLU DOLMA

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Şenay VURAL KORKUT

Eş Danışman: Doç. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Aile 1 enzim sınıfına ait olan β -glukozidazlar, β glikozidik bağların hidrolizini kataliz ederler. Bitkilerde hücre duvarı lignifikasyonu, fitohormonların aktivasyonu ve kimyasal savunma bileşiklerinin aktivasyonu gibi pek çok önemli görevde rol alırlar.

Daha önceki bir çalışmada, zeytin (*Olea europaea* L.) bitkisinden yaprak örnekleri kullanılarak 2.4×10^6 bağımsız klon içeren bir cDNA kütüphanesi kurulmuştur. Bu çalışma sonucunda elde edilen gen dizileri Phrap ve CAP3 programları kullanılarak kontig ve singletler oluşturulmuştur. Biyoteknolojik uygulamalara uygun olan genlerin araştırılması sonucunda bitkilerde β -glukozidaz enzimini kodlayan genle homoloji gösteren bir kontig dizisi tanımlanmıştır. Bu çalışmada, daha önce elde edilen contig dizi bilgisinden yola çıkarak zeytin yapraklarından tam uzunlukta β -glukozidaz cDNAsı izole etmek ve klonlamak amaçlanmıştır.

β -glukozidaz homologlarını kodlayan genlerin soğuğa bağlı olarak fazla ekspresyon gösterdikleri bilinmektedir, bu nedenle soğuk stresine maruz kalmış zeytin yapraklarından total RNA izole edildi. Elimizdeki kontig dizinin bilgisinden yararlanılarak ileri ve geri primerler tasarlandı. Tam uzunlukta cDNA elde etmek için bu primerler kullanılarak RT-PCR uygulandı ve 1700 bp uzunluğunda bir fragment elde edildi. Fragment klonlandı ve dizinin analizine gönderildi. Dizinin BLASTN ve BLASTP

analizleri sonucunda, zeytin β -glukozidaz dizinine %98 benzerlik gösterdiği sonucuna varıldı.

Tam uzunlukta cDNA elde edildiğinde, devam etmekte olan bir projenin sonraki aşamalarında cDNA'lar *Pichia* ekspresyon vektörüne klonlanacak ve *Pichia pastoris*e eksprese edilecektir.

Anahtar Kelimeler: β -glukozidaz, *Olea europaea*, soğuk stresi.

**CLONING OF GENE ENCODING β -GLUCOSIDASE ENZYME FROM OLIVE
(*Olea europaea*) LEAVES**

Gizem ÇAVUŞOĞLU DOLMA

Department of Molecular Biology and Genetics

MSc. Thesis

Advisor: Assist. Prof. Dr. Şenay VURAL KORKUT

Co-Advisor: Assoc. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

β -glucosidases that belong to the family 1 glycoside hydrolyses catalyze the hydrolysis of the β -glucosidic bond. In plants β -glucosidases play important roles in diverse aspects of plant physiology including formation of intermediates in cell wall lignification, activation of phytohormones and activation of metabolites related to chemical defense.

In a previous study in our laboratory, a cDNA library was constructed which containing 2.4×10^6 independent clones from leaves of olive (*Olea europaea* L.) and contigs and singlets were generated using both Phrap and CAP3 bioinformatic programmes. The candidate genes were searched which can be amenable for biotechnological applications and was identified a contig sequence that shows homology to genes encoding β -glucosidases in plants. The aim of this study is to isolate and clone full length β -glucosidase cDNA from leaves of olive.

Expression of genes encoding β -glucosidase homologs are differentially upregulated in response to cold therefore total RNA isolated from olive leaves of exposed to cold stress. Forward and reverse primers were designed using sequence information of the contig. RT-PCR reactions were performed to clone full length cDNA and a fragment

about 1700 bp was obtained. The fragment was cloned and sequenced. The sequence showed more than 98% similarity to olive beta glucosidase in BLASTN and BLASTP analysis.

In later stages of an ongoing research project, full length cDNA was obtained coding region will be inserted into Pichia expression vector and the protein will be expressed in *Pichia pastoris*.

Keywords: β -glucosidase, *Olea europaea*, cold stress.

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 β -Glukozidazlar

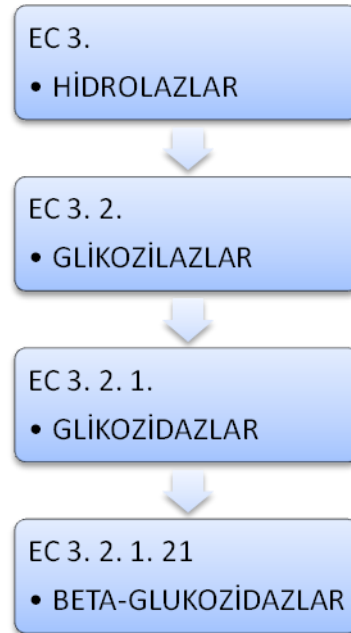
Biyosferdeki önemli organik moleküllerden birisi karbohidratlardır. Karbohidratlar, basit şekerler (glukoz, riboz, galaktoz gibi), oligosakkaritler (sukroz, sellobiyoz, laktoz gibi), polisakkaritler (selüloz, nişasta, glikojen) ve aglikon molekülü ile bağlanmış O-, N-, S-glikozit türevlerinden oluşmaktadır. Bu moleküller tüm canlı organizmalarda yapı, metabolizma, savunma gibi pek çok önemli olayda yer almaktadır. Bu fonksiyonların gerçekleşmesi sırasında karbohidratların sentezi ve yıkımı söz konusudur [1]. Karbohidratların sentez ve yıkım reaksiyonlarında ise pek çok enzim grubu görev yapar. β -glukozidaz enzimlerinin, karbohidratlardaki $\beta 1 \rightarrow 4$ glikozit bağlarını hidrolize ederek birçok biyolojik işlevde anahtar rol oynadıkları tespit edilmiştir [2].

β -glukozidazların mikroorganizmalar, hayvanlar ve bitkilerde yaygın olarak yer aldıkları ve biyolojik yollarda önemli görev üstlendikleri gösterilmiştir [3]. Bakteri ve mantarlarda bulunan β -glukozidazlar selülaz enzim sisteminin bir parçası olarak selüloz ve sellobioz yıkılmasında önemli rol oynarlar [4]. Bununla birlikte spesifik bitki β -glukozidazları, siyanojenez yoluyla siyanojenik glikozidlerden siyanür (HCN) ve diğer toksik bileşiklerin açığa çıkmasını sağlayarak patojen ve herbivorlara karşı kimyasal savunmada görev alırlar [5]. Diğer bitki glukozidazları, inaktif hormon-glukozid bileşiklerinden aktif hormon formlarını serbestleştirerek sitokinin, giberellin ve oksin gibi bitki hormonlarının biyolojik aktivitelerinin düzenlenmesi ile ilgilidir [6]. Ayrıca bitkilerde tat ve lezzet oluşumunda etkili yüzlerce β -glukozidik ürün teşhis edilmiştir.

Bu ürünlerin sentezlenmesi için β -glukozidaz enzimleri tarafından yapılan hidroliz reaksiyonlarına ihtiyaç vardır. Bu enzimlerin aydınlatılması, meyve suyu ve şarap üretiminde değerlendirilebilir. Üretim sırasında veya sonrasında eklendiğinde ürünlerin tad, lezzet, aroma ve diğer kalite faktörlerinde artış gözlenir [7]. Bu sebeple özellikle tarım ve ormancılık alanlarında ve biyoteknolojik çalışmalarda β -glukozidaz enzimlerinin kullanımıyla ilgili birçok araştırma vardır [2].

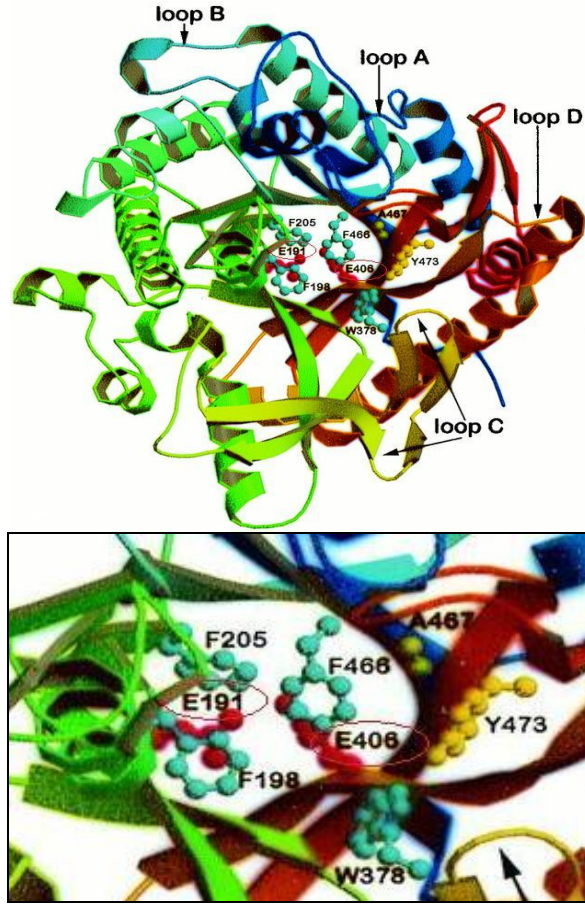
1.1.2 β -Glukozidaz Enziminin Sınıflandırılması ve Yapısı

Çizelge 1.1 β -glukozidaz enziminin sınıflandırılması



Sistematik adı β -D-glukozid glukohidrolaz (EC 3. 2. 1. 21) olan β -glukozidazlar, hidrolaz (EC 3.) ailesine ait, disakkarid ve oligosakkaridlerdeki veya diğer glukoz bileşiklerindeki β -glukozid bağlarını ayırabilen, enzimlerdir (Çizelge 1. 1) [8].

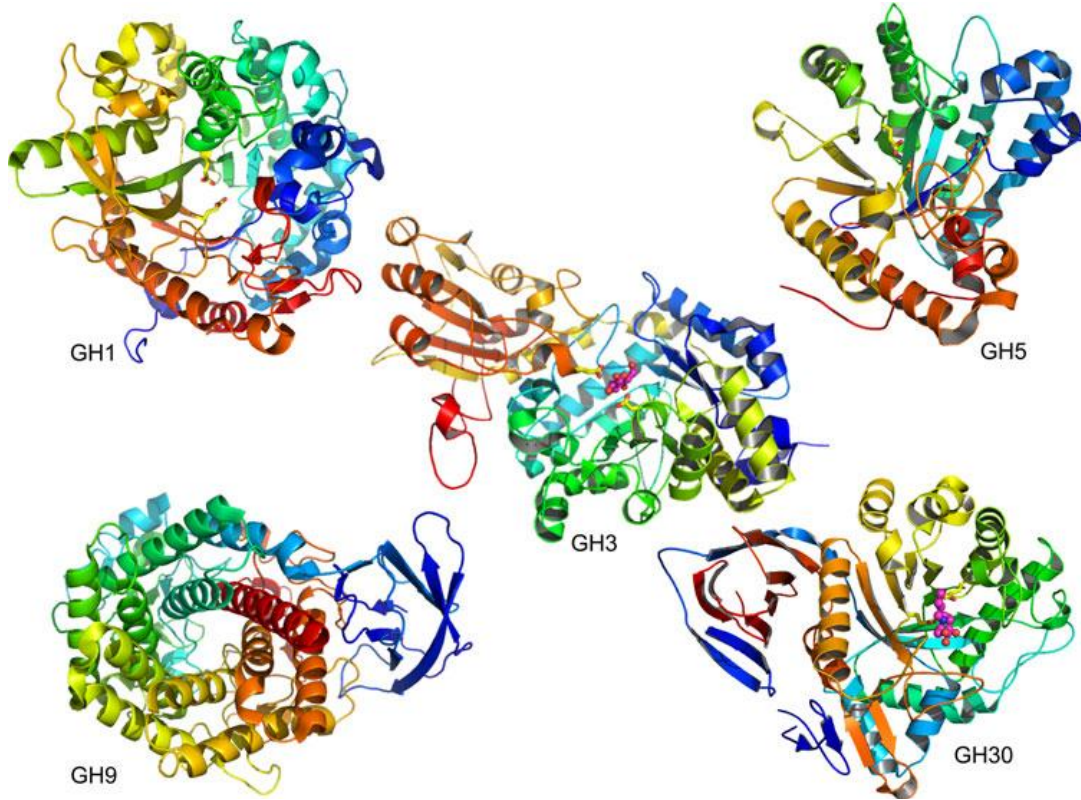
Literatürde incelenen Aile1 β -Glukozidaz enzimlerinin monomerleri SDS - PAGE'de 55-65 kDa aralığında tespit edilmiştir [2].



Şekil 1. 1 Mısır β -glukozidaz Glu1 izoenzimi monomerinin 3D yapısı

Aile 1 β -glukozidaz monomerlerinin her birinin temel yapısında yüksek korunumlu peptid motifleri bulunmaktadır. Bunlar SAYQI, YRFSI, TFNEP, LGLNYY, YITENG ve DNFEW'dir. Bunlardan TFNEP ve YITENG enzimin aktif bölgesinin bir parçasını oluşturup, iki katalitik glutamat içerir [9], [10]. Proteinlerin yapısında bulunan β dizilimleri bir fiçı oluşturacak şekilde düzenlenerek, bir seri β - α - β halkası (β - α - β loop), özellikle kararlı ve yaygın bir motif olan α/β fiçısı olarak isimlendirilen bir yapı oluştururlar. Bu yapıda her paralel β kısım, komşusu olan β kısma α helikal bir parça ile bağlanır. α/β fiçı motifi birçok enzimde bulunur ve çoğunlukla fiçı motifinin bir ucunda, cebe benzeyen, kofaktör ya da substratın bağlandığı bölge yer alır [11]. 4 farklı bitkiden elde edilmiş 10 Glikozid Hidrolaz Aile 1 enziminin 3 boyutlu (3D) yapısı aydınlatıldığında bu 10 enzimin aktif bölgesinde aynı (β/α)8-fiçısı olduğu gösterilmiştir (Şekil 1.1). Bu çalışmalarda söz konusu enzimlerin dizi benzerliğinin %17-70 olduğu belirlenmiştir [12-13].

β -glukozidazlar farklı yapılaraya sahip olmalarına rağmen, her bir GH ailesinde katalitik bölge benzerlik gösterir. GH1, GH5 ve GH30 GHA kökenlidir ve hepsi aktif bölgelerinde benzer $(\beta/\alpha)_8$ -fıçı motifi içerir. Buna karşı GH3 enzimi aktif bölgesine iki motifle katkıda bulunur. GH9 enzimi $(\alpha-\alpha)_6$ motifini yapısında bulundururken GH2 $(\alpha-\alpha)_6$ motifini içeren enzimlere karşı zayıf homoloji gösterir (Şekil 1.2) [8].



Şekil 1. 2 Farklı GH ailelerine ait β -glukozidazların yapısı

β -glukozidazlarla yapılan çalışmalarda enzimin pH 4-10 ve sıcaklık 0-40°C olduğu değerlerde stabil olduğu tespit edilmiştir. En yüksek stabilitenin ise ~ pH 7 civarında olduğu bulunmuştur. Sıcaklıkla ilgili yapılan stabilite çalışmalarında da β -glukozidazların 55-60°C'nin üzerinde geri dönüşümsüz olarak inaktive oldukları bulunmuş ve bazı çalışmalar neticesinde de 50-55°C'lerde en yüksek aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir [2]. Aloe vera yapraklarıyla yapılan bir çalışmada ise enzimin en yüksek aktiviteyi 50°C'de ve pH 4.4 'te gösterdiği ve 4-nitrofenil- β -D-glukopiranozide karşı Km değerinin 6.8×10^{-4} M, Vmax değerinin ise 4.58×10^{-3} U olduğu saptanmıştır. β -glukozidaz aktivitesi yıl boyunca incelendiğinde aktivitenin kış aylarında arttığı, yaz aylarında ise azaldığı bulunmuştur [14].

Aspergillus türlerinin β -glukozidazlar için iyi bir kaynak olduğu ve *Aspergillus niger*'in mikroorganizmalar içinde bugüne kadar bilinen en etkili β -glukozidaz üreticisi olduğu belirtilmektedir. *A. niger* ile yapılan bir çalışmada β -glukozidaz B1 (CMI CC324626) düşük pH'da ve yüksek konsantrasyonda alkol içeren ortamda aktif olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada molekül ağırlığı (116-137kDa), izoelektronik noktası pI (3.8 -4) ve pH aralığı (3.4- 4.5) olan farklı bir β -glukozidaz da saflaştırılmıştır [15].

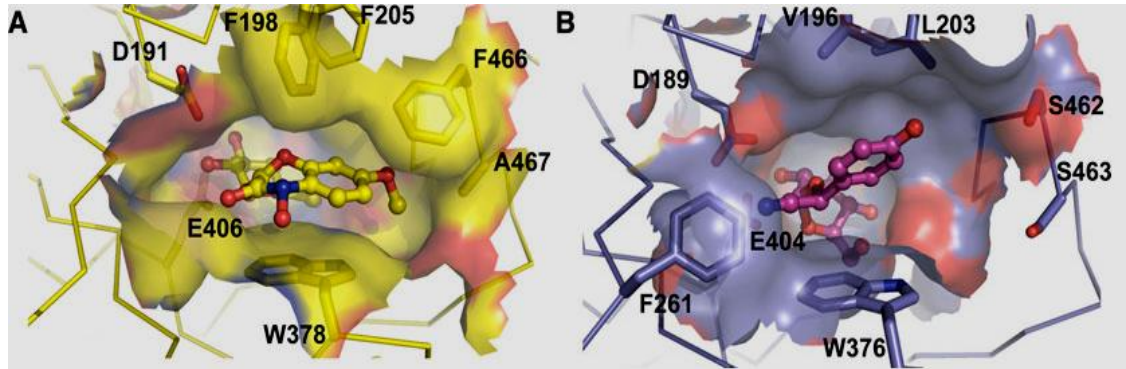
1.1.3 Enzimatik Mekanizma

Hidrolazlar su ile bağların parçalandığı reaksiyonları katalize ederken, glukozidazlar glikozidik bağları hidroliz ederler [16].



β -glukozidazlar etki ettikleri maddenin glikozid bağını hidroliz ederken glikonun anomerik konfigürasyonunu korurlar (Çizelge 1. 1). Yani ürün olarak açığa çıkan β -D-glukoz ile substrattaki β -D-glukozid aynı yapıdadır.

β -glukozidazların aktif merkezinde E191 ve E406 konumunda işlevsel iki glutamik asit kalıntısının olduğu bildirilmektedir (Şekil 1. 3) [17].



Şekil 1. 3 β -glukozidazın aktif bölgeleri. (A) *Zea mays* Glu1, (B) *Sorghum dhurrinase* Dhr1

Ayrıca iki glutamik asit rezidüsünün aktif bölgeye katılımıyla hidroliz gerçekleşir [18].

İki çeşit glikozidaz mekanizması vardır. Bunlardan biri çevrilme reaksiyonu (inverting mechanism) diğeri de tutma reaksiyonu (retaining mechanism) olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1. 4) [19]. Her iki mekanizma da genellikle şekerin her iki yanındaki karboksilik asidi kullanır. GH9 glukozid hidrolazlar suyla aktif hale gelen

çevrilme (inverting) reaksiyonunu kullanarak substratın anomerik karbonuna direkt olarak nükleofilik atak yapıp aglikonun yerinin değişmesini sağlar [2]. Katalitik asit protonları aglikon grubundan ayrılırken katalitik baz su molekülünden gelen bir proton alır.

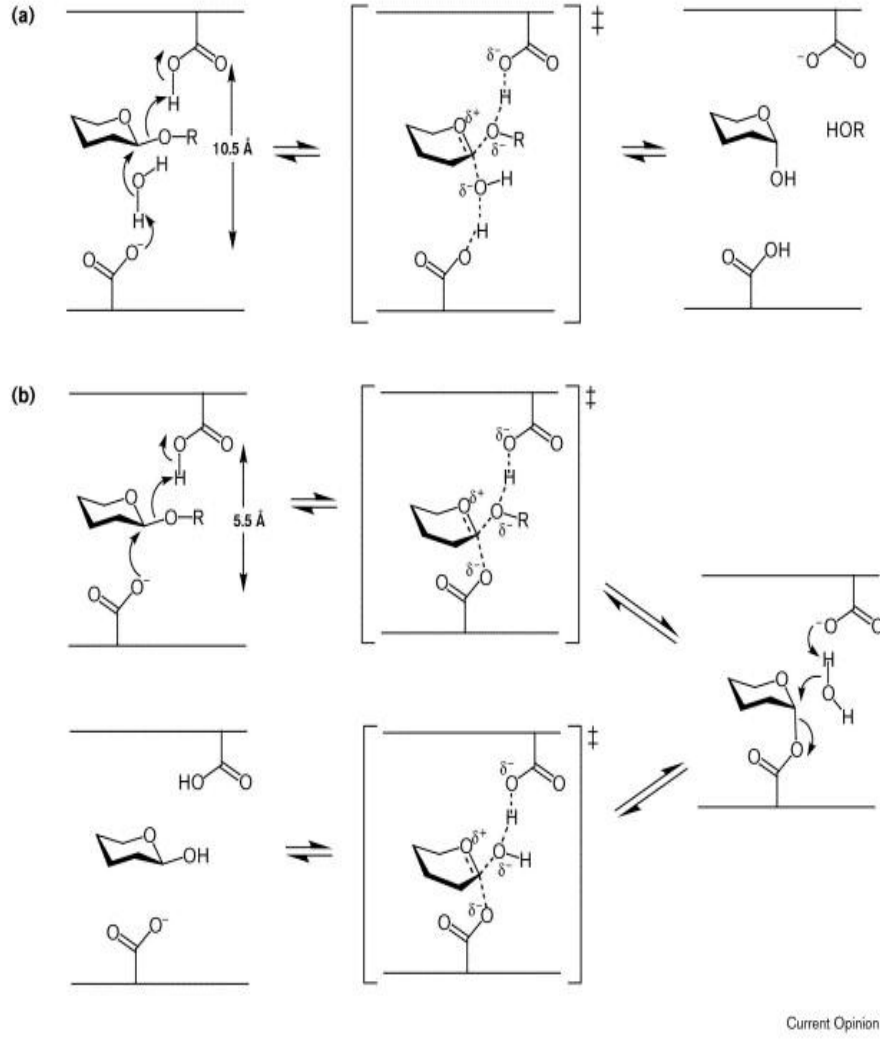
Buna karşın pek çok β -glukozidaz (örn; GH1, GH3 VE GH30 enzimleri) tutma (retaining) reaksiyonunu kullanır. Enzim tarafından substratın hidrolizi iki basamakta gerçekleşir:

- Enzim glikolizasyonu (glikoz eklenmesi)
- Deglikozilasyon (glikoz ayrılması) [18]

Enzim glikozilasyonunda, aglikon katalitik asit/bazdaki proton yardımıyla uzaklaşırken, katalitik nükleofilin substratın karbonuna atak yapmasıyla kovalent bağlı enzim- glikon ara ürünü oluşur [20].

Deglikozilasyonda ise, aktif merkezdeki anyon ve baz katalizleyici durumunda olan ikinci katalitik glutamat rezidüsü H_2O 'dan bir proton koparır. Böylece H_2O 'nun nükleofilik gücünü artırır. Bunun sonucunda oluşan OH^- glikon ve enzim arasındaki kovalent bağa nükleofilik atak yaparak glikonu uzaklaştırır ve nükleofilik glutamat eski haline geri döner [21].

Kovalent bağlı ara ürünün varlığı ilk olarak *Agrobacterium*la yapılan bir çalışmada tanımlanmıştır. Bu çalışmada GH1 ailesinden β -glukozidaz, 2,4-dinitrofenil-2-deoksi-2-fluoroglukozidazın kovalent işaretlenmesiyle tespit edilmiştir [22], [23].



Current Opinion in Chemical Biology

Şekil 1. 4 Genel glikozidaz katalizleme mekanizmaları. β -glukozidazın çevrilme reaksiyonu (a) ve tutma reaksiyonu (b)

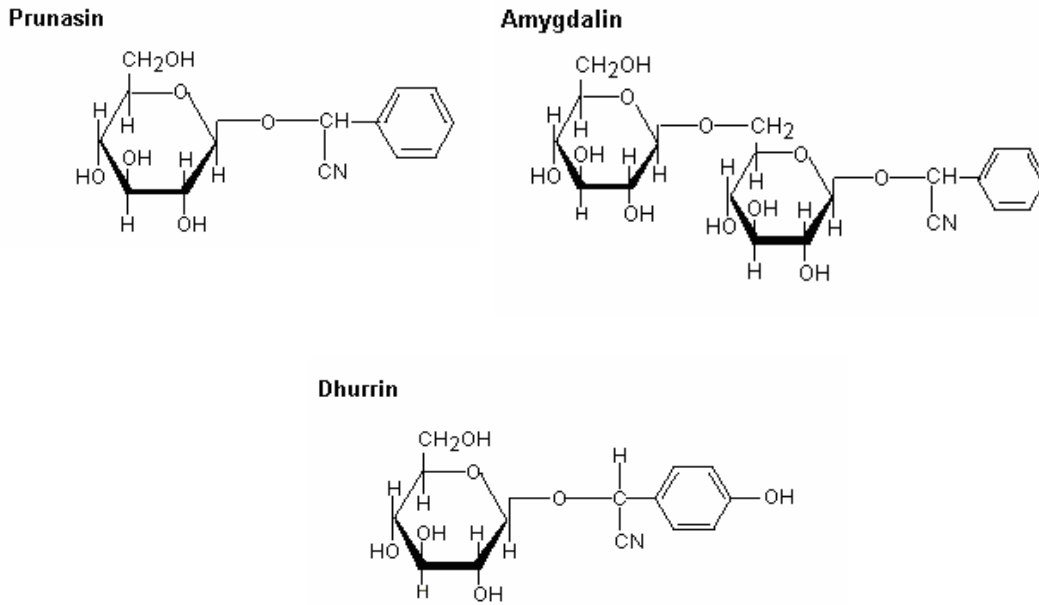
1.1.4 Enzimin Substrat Bağlama Mekanizması ve Spesifikliğı

Enari ve Niku-Paavola β -glukozidazları substrat çeşitliliğine göre 3 ana gruba ayırmıştır; yüksek afiniteli aril- β -glukozidazları, sadece oligosakkaritleri hidroliz eden sellobiyazlar ve her iki tip substratla da aktif hale gelen olan β -glukozidazlar [24].

Yapılan araştırmalarda genellikle kolay ulaşılabilirliği bakımından Gh1 enzim ailesi ile çalışılmakta ve bunlardan 3'ü arkelerden, 9'u bakterilerden, 2'si hayvanlardan, 1'i mantarlardan ve 8 tanesi bitkilerden olmak üzere toplam 23 tane enzim bu çalışmalarda model olarak kullanılmaktadır [25]. GH1 enzimleri çok geniş glikon spesifikliğı gösterir. Örneğin bir enzim β -D-glukozidaz, β -D-fukosidaz, β -D-mannozidaz,

β -D-galaktozidaz ve α -L-arabinozidaz gibi pek çok substratı hidroliz edebilir ya da tek bir glikon şekeri için spesifik olabilir [2].

β -glukozidaz substratlarında bulunan sabit monosakkarite bağlı kimyasal grupların çeşitliliği β -glukozidazların substrat çeşitliliğinin esasını oluşturur. Glikoza bağlanan grup ya disakkaritlerde ve oligosakkaritlerde olduğu gibi farklı bir glikon ya da glikokonjugatlarda olduğu gibi bir aglikondur. Bu aglikon kısım linamarinde olduğu gibi bir alkil grup veya prunasin, durrin ve DIMBOAGlc'da olduğu gibi bir aril grup olabilir (Şekil 1.6) [26], [27].



Şekil 1. 5 β -glukozidazların doğal substratlarından bazıları

1.1.5 β -Glukozidaz Enziminin Görevleri ve Biyoteknolojik Özellikleri

β -glukozidazlar tüm canlı organizmalarda birçok biyolojik işlevde rol oynamaktadırlar. Bu sebeple β -glukozidaz enzimleri protein mühendisliğinde, tarım ve ormancılık alanlarında ve biyoteknolojik çalışmalarda oldukça sık çalışılmaktadır. β -glukozidazlar (özellikle Aile 1 enzimleri) bitkilerde biyolojik bazı süreçlere katılırlar. Bu süreçlerden bazılarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Besin kalitesini belirleyen maddelerin sentezi,
- Herbivor, insektler ve bitki zararlılarına karşı savunma,

- Selülozun hidrolizi,
- Lignin biyosentezi ve kağıt kalitesinin artışı,
- Sekonder bitki metabolizması [28].

1.1.5.1 Besin Kalitesi Üzerindeki Etkisi

Bitkilerde tat ve lezzet oluşumunda etkili olan β -glukozidazlar, şarap, meyve suyu gibi ürünlerin aromatik bileşiklerinin arttırılmasında önemli rol oynar. Şaraplara β -glukozidaz ilave edilerek şarabın aromasını arttıracak aromatik maddelerin serbest hale geçmesi sağlanır, böylece daha kaliteli ve tat bakımından daha yoğun olan şaraplar elde edilir [29].

Zeytinde kalitenin arttırılmasını sağlamak amacıyla zeytinin acı tadının yok edilmesi amaçlanmaktadır. Zeytin yapraklarında ve meyvesinde bulunan oleuropein bitkide savunma mekanizmasında rol oynar [30]. Patojenlerin dokuda meydana getirdiği ya da mekanik olarak meydana gelen yaralanmalar oleuropeinin β -glukozidazla parçalanmasına neden olur. Bu olay bitkinin savunma mekanizmasına katkıda bulunmasının yanında zeytindeki acı tadın ortadan kalkmasını da sağlar [31].

Vanilya tanelerinde bulunan bir β -glukozidaz enziminin vanilin- β -glukozid (glukovanilin) olarak bilinen aroma öncüllerinin hidrolizinden sorumlu olduğu ve vanilya aromasının bu substratın hidroliziyle açığa çıkan ürünlerle ilgili olduğu bildirilmiştir [32].

Çay yaprağı ile yapılan diğer bir çalışmada da β -glukozidaz enziminin aromatik tat ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir [33]. Muskat üzümüyle yapılan bir çalışmada da, β -glukozidazın monoterpenilglukozidler hidroliz ederek meyvenin tadını ve aromasını arttırdığı saptanmıştır [34].

Turpgillerde bulunan mirosinaz- glukosinolat sistem besin kalitesi ve tat oluşumu sürecinde etkili rol oynar. Lahana, brokoli, karnabahar gibi sebzelere acı tat ve kendilerine has bir koku veren aglikon parçalarıdır. Aglikon parçaları da β -glukozidaz enziminin glikosinolatları hidrolize uğratması sonucu ortaya çıkar [35].

Ayrıca yapılan bir çalışmada, yoğurt mayalanması sırasında zamana bağlı β -glukozidaz aktivitesi incelenmiştir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen β -glukozidaz enzimi

izoflavon glukozidazları, sağlık açısından yararlı olan biyoaktif izoflavonları aglikona dönüştüren önemli bir enzimdir. Deneylerde *Lactobacillus acidophilus*, ağırlıklı *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin içerdiği β -glukozidaz enzim aktivitesinin tayinini yapılmasının nedeni insan metabolizmasına yararlı etkide bulunmayan fenolik bileşik olan izoflavonları yararlı forma dönüştürmede fayda sağlamasıdır. Bu enzimin yoğurt mayalanma aşamasının hangi saatlerinde en aktif olduğu, Paranitro fenol β -likopranozid bileşiğinin sarı renginin giderilmesine dayanan spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir [36].

1.1.5.2 Savunma

Bitkiler zararlılara karşı bünyelerinde toksik maddeler biriktirir ve ihtiyaç anında salıverirler. Bu kimyasal maddeler hücrenin farklı bölümlerinde depolanan β -glukozidler ve bazı dikotillerde β -glukosinolatlardır [37], [38].

Zeytin dokularının patojenler tarafından zarar görmesi ya da mekanik yaralanmalar sonucu, oleuropein hidroliz olur ve aglikon gibi yüksek reaktif moleküller ortaya çıkar [39]. Antioksidan ve antimikrobiyal özelliğe sahip oleuropein türevli bu moleküller, herbivorlara, böcek saldırılarına ve bakteri suşlarına karşı toksik etki yaratır [40], [41], [42]. Bu maddeler herbivorları caydırıcı, bitki zararlılarının bitkiye girişini, gelişmesini ve dağılmasını engelleyici etki gösterirler. Böylece β -glukozidaz enzimleri bitkilerin savunma sisteminde yer almış olur [43]. *Arabidopsis thaliana* ile yapılan bir çalışmada *Peronospora parasitica* tarafından enfekte edilen bitkide β -glukozidaz geni olan psr3.1'in transkripsiyonunun 8 kat arttığı gösterilmiştir [44]. Farklı bir çalışmada ise *Arabidopsis thaliana*'da savunmada etkili olduğu düşünülen β -glukozidaz genleri, NaCl ile baskılanmış bunun sonucunda savunma sisteminin olumsuz yönde etkilenmesiyle bitkinin strese girdiği gözlenmiştir [45].

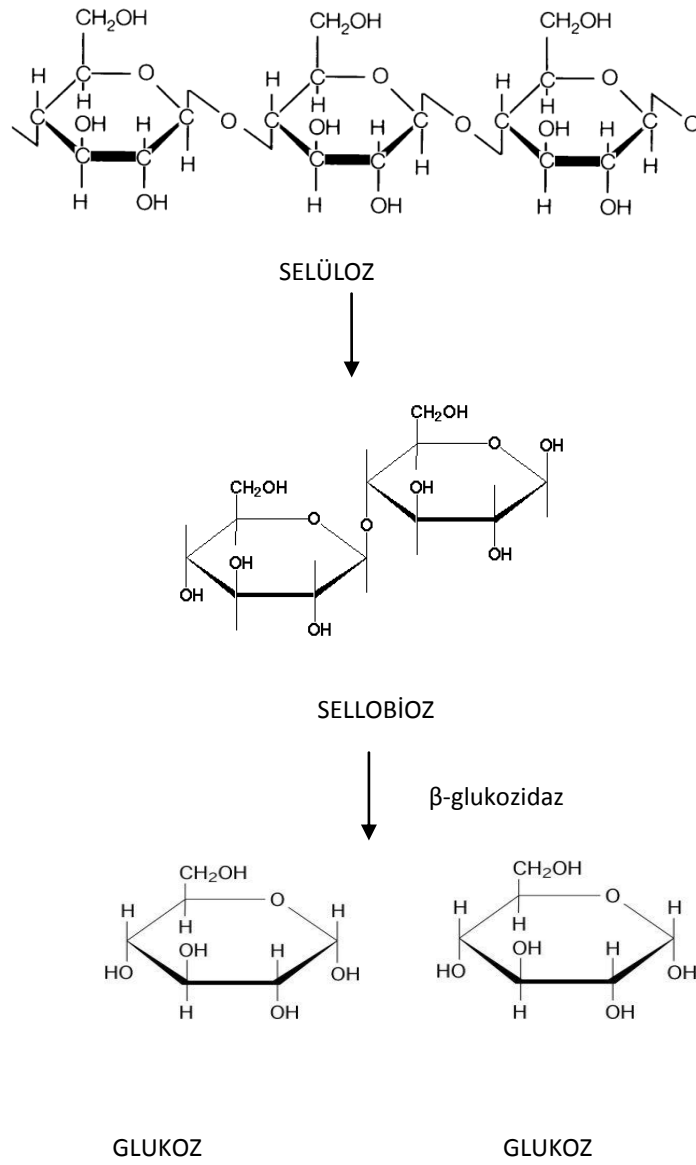
Domateste *Fusarium solgunluğuna* karşı dayanıklılığı teşvik etmek amacıyla *Fusarium oxysporium*'un avirulent bir ırkı kullanılmıştır. İnokulasyon sonucu bitkide kitinaz, β -1,3-glukanaz ve β -1,3-glukozidaz aktivitesinde bir artış ortaya çıkarak domateste *Fusarium solgunluğuna* karşı bir korunma sağlanmıştır [46].

1.1.5.3 Selülozun Hidrolizi

Selüloz doğada bol bulunan polisakkaritlerden biridir ve son yıllarda artan sıvı yakıt gereksinimi ve geri dönüşümü olan kimyasallar için önemli bir kaynaktır. Selülozun hidrolizi inorganik asit ve yüksek sıcaklık gerektirir. Bu yöntem ekonomik bir yol değildir. Selülozu enzimatik yol ile alkole dönüştürmek bu alandaki maliyeti büyük oranda düşürür. Bu nedenle selülozun parçalanması hem glikoz hem de etanol üretimi açısından ekonomik olarak büyük önem taşımaktadır [47].

Selülaz enzim sistemleri, oligo ve/veya polisakkaritleri hidroliz eden glukozid hidrolaz enzim ailesinin üyeleridir. Birçok selülaz kimyasal olarak basit yapıdaki bir substratta tek bir bağı parçalarlar. Yani β -1,4 glukozidik bağların hidrolizinden sorumludur (Çizelge 1.2) [48].

Endoglukonazlar selülozun iç β -1,4-glikozidik bağlarını hidrolizle keserek yeni zincir uçlarının oluşmasını sağlar. Ekzoglukanazlar da oluşan bu yeni selüloz zincirlerini uçlardan keserek çözünür sellobiyoz birimleri oluştururlar. Son olarak β -glukozidazlar ise sellobiyoz birimlerini glukoz birimlerine hidroliz ederler (Şekil 1.6) [49].



Şekil 1. 6 Selülozun hidrolizi

Selülozu parçalayan selülaz enzimleri;

- Ekzoglukanazlar (Sellobiyohidrolazlar) (E.C. 3.2.1.91)
- Endoglukanazlar (endo-β-1,4 glukanaz) (E.C. 3.2.1.4) ve
- β-glukozidazlar (E.C. 3.2.1.21), olmak üzere 3 gruba ayrılırlar (Şekil 1. 4) [50].

Çizelge 1. 2 Selüloz ve Türlerinin Hidrolizi İçin Gerekli Olan Temel Enzimlerin Etkiledikleri Bağlar

Substrat Polimer	Hidroliz İçin Hedef Bağ	Enzim
Selüloz	β -1,4-glukoz bağı	Endo β -1,4-glukanaz
Sellobiyoz	β -1,4-glukoz bağı	β -1,4-glukanaz
Selüloz veya ksilan	β -1,4-glukoz bağı β -1,4-ksiloz	Ksiloselülaz
Ksilan	β -1,4-ksiloz	Endo- β -1,4-ksilanaz
Likenan	β -1,3 ve β -1,4 heksoz bağı	β -(1,3-1,4)-glukanaz (likenz)
Pektin	β -1,4-galakturonik bağlar	Pektin lizaz

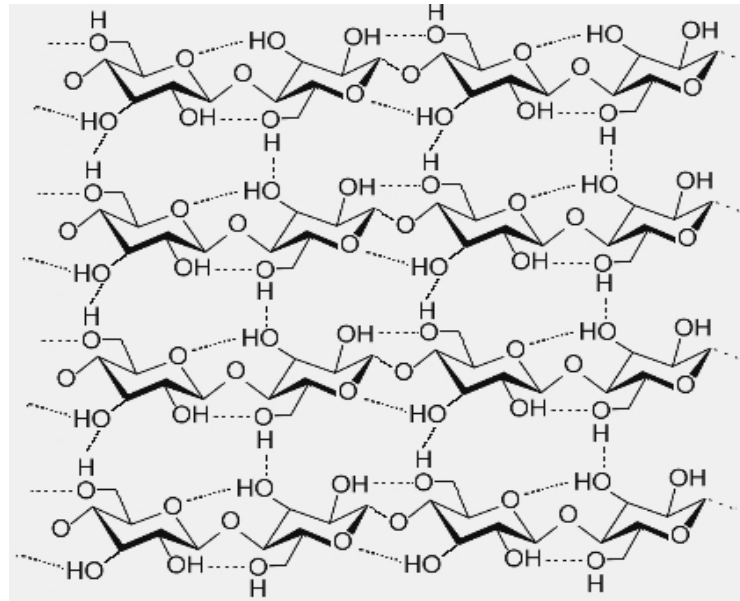
Endoglukanazlar (EG); selüloz polimerinin orta kısmından (genelde amorf bölgeden) parçalarlar. Son ürünleri ise oligosakkaritlerdir. Bu grup enzimlerin oyukları vasıtasıyla polimeri kavradıkları ve parçaladıkları bildirilmektedir. Bazı endoglukanazlar ise selüloz bağlayıcı modüller (CBM, Cellulose Binding Modül) vasıtasıyla selüloz polimerine bağlandıktan sonra polimeri parçalama işlemini gerçekleştirirler. Bu grubun aktivitesi daha yüksektir [50].

Ekzoglukanazlar (Sellobiyohidrolazlar (CelloBioHydrolase, CBH)); selüloz polimerini bütün şekliyle veya endoglukanazlar tarafından parçalanmış kısımlardaki ara ürünlerin uçlarından parçalamaya başlarlar. Son ürünleri sellobiyozdur. Bu grup enzimlerin iç kısımlarında tüneli andıran bir boşluk bulunmaktadır ve selüloz polimerinin ucunu bu boşluk içine alarak aktivite gösterirler [50].

β -glukozidazlar; ara ürün olan sellobiyozları glukozla parçalarlar. *Aspergillus* türlerinin β -glukozidazları, ortamda oluşan glukozla inhibe olmazken *Trichoderma reesei* β glukozidazları ortamda oluşan glukoz ile inhibe olur [50].

Selülozun yapısını oluşturan glukoz molekülleri arasındaki kapsamlı bağlanma deseni özellikle mikrobiyal parçalanmaya dirençli kristal bir yapı oluşturmaktadır. Selüloz enzim bileşenlerinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada selüloz miyofibrilindeki kristal bölge üzerinde sadece sellobiyohidrolaz enziminin yavaş bir etkisinin olduğu, kristal bölgeye göre daha yumuşak bir bölge olan amorf bölgede ise sellobiyohidrolaz ve endoglukanaz enzimlerinin aktif olduğu belirtilmektedir [48].

Selüloz genellikle yaygın olarak bitki hücre duvarlarında bulunur. Düz bir zincir şeklinde nişastadan ayrılır ve herhangi bir sarmal yapı göstermez. Selüloz molekülleri β -1,4 glikozidik bağlarla bağlanırken, selüloz zincirleri hidrojen bağları ile bağlanırlar (Şekil 1. 7) [51].

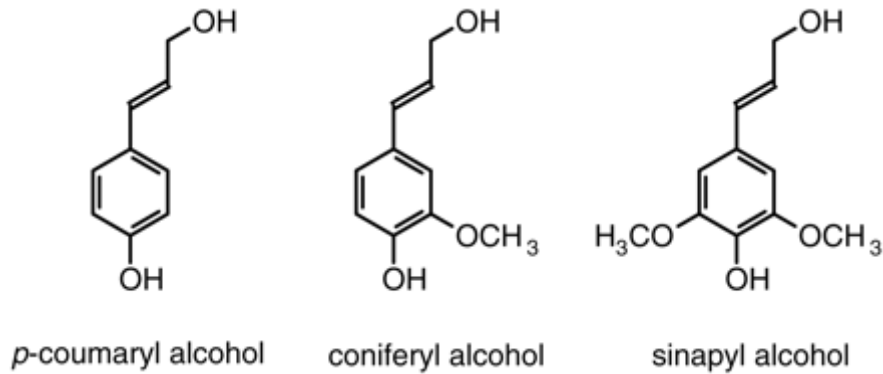


Şekil 1. 7 Selüloz Molekülleri Arasındaki Hidrojen Bağları

Günümüzde ticari olarak kullanılan selülozik enzimler *Trichoderma* ve *Aspergillus* mantarlarından elde edilmektedir. *Trichoderma reesei*den elde edilen selüloz en önemli olanıdır ve üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır. Enzim katalizörlüğünde uygulanan bu yöntemler, daha hızlı, daha ekonomik, çevre dostu, ürün verimi oldukça yüksek ve safsızlık oluşumu oldukça düşük olduğundan, kimyasal reaksiyonlara oranla daha fazla tercih edilmektedir [4].

1.1.5.4 Lignin Biyosentezi

Lignin kimyasal yapısı diğer odun makromoleküllerinden oldukça farklı olan amorf bir polimerdir. Ligninin karakteristik özelliği yapısını oluşturan birimlerin birbirlerine diğer makromoleküler yapılarda olduğu gibi sistematik bağlanmayışıdır. Radyoaktif ^{14}C ile yapılan çalışmalar p-kumaril alkol, koniferil alkol ve sinapil alkolün bütün ligninlerin yapıtaşları olduğunu kanıtlamıştır (Şekil 1. 8) [52].



Şekil 1. 8 Ligninin Yapı Taşları

β -glukozidazların katıldığı önemli bir diğer olay da bitkilerin lignifikasyonudur. Lignin selülozdan sonra biyosferde bol bulunan ikinci bileşiktir. Lignin oluşumunda en önemli öncül madde olan koniferil alkol, β -glukozidaz tarafından hidroliz edilen koniferinden türeyen bir bileşiktir [53]. Bu durumda bazı bitki β -glukozidazlarının lignin biyosentezinde rol aldıkları ortaya çıkmaktadır [54]. Kaliteli kağıt üretimi ve ağaç yetiştirmede β -glukozidaz enzimlerine ait bilgilerin kullanılması söz konusu enzimleri hedef materyal yapmaktadır [37].

1.1.5.5 Büyüme ve Gelişme

Bitkilerde bulunan β -glukozidazlar sitokinin, giberellin ve oksin gibi bitki hormonlarının biyolojik aktivitelerinin düzenlenmesinde görev alır. Mısır ile yapılan bir çalışmada β -glukozidazın fitohormon aktivasyonu ve metabolizmasında oynadığı rol araştırılmıştır. Yapılan immunositokimyasal ve histokimyasal çalışmalar sonucu enzimin plastitte yer aldığı saptanmış ve bu polipeptid p60 olarak adlandırmıştır. Ayrıca N-terminal amino asit dizilişinin diğer β -glukozidazlar ile karşılaştırılmasına dayanarak p-60'ın bir β -glukozidaz olduğu sonucuna varılmıştır. Buna ek olarak p60'ın tohum çimlenmesi

boyunca inaktif fitohormon- glikozid bileşiklerinden oksin ve diğer fitohormonların serbest hale geçmesini sağlayarak, bitki büyümesinde ve tohum çimlenmesinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur [55].

1.1.5.6 β -Glukozidazın Memelilerdeki Fonksiyonu

Memeli hücreleri, GH1 ailesinden laktaz-floridzin hidrolaz ve sitoplazmik β -glukozidaz, GH30 ailesinden insan asit β -glukozidaz GBA1 ve GBA2 gibi çok sayıda β -glukozidaz içerir. Bu enzimlerin glikolipid metabolizmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Üzerinde en çok çalışılan, glukozil seramidaz fonksiyonundan sorumlu olan insan asit β -glukozidazdır. Enzimin insanlardaki substratları sfingozilglukozid ve glukozilseramiddir. Glukozilseramid pek çok glikosfingolipidin yıkım yolunda sondan bir önce yer alan ara üründür, glikoserebrozidaz ile β -glukozid bağının yıkılması sonucunda β -glukoz ve seramide ayrılır. Bu enzimin fonksiyonunda ve lizozoma taşınmasında meydana gelen bozulmalar sonucunda Gaucher hastalığı ortaya çıkar. Gaucher hastalığı glukozil-seramid β -glukozidaz enzimi eksikliğinde dalak, karaciğer, beyin ve lenf bezlerinde glikoserebrozid birikmesi sonucu meydana gelir [56]. Bunun sonucunda karaciğer ve dalak büyümesi, bebeklerde zeka geriliği görülür [57]. Tip 1 Gaucher Hastalığında tedavinin temel amacı makrofajlardaki glukozilseramid birikimini azaltmak ve hastalığa bağlı gelişen belirti ve şikayetleri azaltmak ve iyileştirmektir. Tedavi yöntemi olarak uygulanan enzim replasman tedavisinde, enzim, memeli ve böcek hücrelerinde rekombinant olarak üretildikten sonra insan hücrelerinde aktif hale gelir ve enzim yapısı kararlı hale geçer [58], [59]. Bu nedenle insan asit β -glukozidazı rekombinant olarak üretildiği ve Gaucher hastalığında kullanımı nedeniyle biyoteknolojik ve farmakolojik öneme sahiptir [60], [61].

Memeli hücrelerinde sitosolik ve lizozomal olarak bulunan β -glukozidazlar ile yapılan bir çalışmada sıçan böbreğinde lizozomal ve sitozolik fraksiyonlarda β -glukozidaz aktivitesi bulunmuştur [62], [63]. Sitozolik β -glukozidazın hücredeki dağılımı ve miktarı türler ve dokular arasında yaygın farklılıklar gösterir. Çoğu omurgalıda, en zengin β -glukozidaz kaynağının karaciğer olduğu bildirilmiştir [64]. Sitozolik β -glukozidaz insan [65], dana [66] ve kobay [67] karaciğerinden ve domuz böbreğinden saflaştırılmıştır.

1.1.6 β -Glukozidaz ve Stres

Stres faktörleri, bitkileri yaşamlarının herhangi bir döneminde ortaya çıkarak etkileyen ancak değişik tepkilerin alınmasına yol açabilen diğer bir deyişle özellikleri birbirine benzemeyen canlıları farklı olarak etkileyen çevresel etmenlerdir. Doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkilerde strese neden olurlar. Biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler de stres olarak tanımlanır. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), bitkinin veya organlarının ölümüne yol açabilmektedir [68].

Bitkiler hayvanlardan farklı olarak durağan yapıda olduklarından kendilerine tehlike yaratabilecek canlılardan kaçamazlar. Bu nedenle evrimsel süreç boyunca, herbivor ve mikroorganizmalara karşı savunma amaçlı çok sayıda sekonder metabolit üretmiş ve abiyotik stresin farklı türleri için uyum sağlamışlardır. Genellikle herbivor ve patojenlere karşı salgılanan fitoantisipinler savunma anında salgılanan ilk kimyasal bariyeri oluştururlar [69].

Arabidopsis ile yapılan bir çalışmada soğuk, tuz ve osmotik strese bağlı olarak transkriptom değişiklikleri araştırılmıştır. Yaprak ve kök örneklerine 3 ve 27 saat boyunca soğuk stres verilmiş ve bunun sonucunda hem kök, hem yaprak örneklerinde beta glukosidaz geni ekspresyonu seviyesinde artış gözlenmiştir [70].

Domatesle (*Lycopersicon esculentum* L.) yapılan bir çalışmada, patojenik (fungi, bakteri, virüs) ve abiyotik (sıcak) stres karşısında β -glukozidaz aktivitesi incelenmiştir. Biyokimyasal ve sitokimyasal yöntemler kullanılarak yapılan çalışmada fungal patojenler karşısında β -glukozidaz seviyesinin arttığı görülürken, bakteriyel (*Pseudomonas syringae*, *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) ve viral (TMV ve CMV) patojenlerin enzim seviyesinde değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Ayrıca bitki 24, 48 ve 72 saat boyunca 40°C sıcak strese maruz bırakılmış ve bitkideki β -glukozidaz seviyesinde herhangi bir değişimin olmadığı görülmüştür [71].

Zeytin tarımında yaygın kullanılan diazinon, deltamethrin ve glyphosat pestisitlerinin saflaştırılmış zeytin beta-glukozidaz enzimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu pestisitlerden Glikofosfatın enzim aktivitesini arttırdığı ve diazinon ile deltamethrinin de enzimi kompetitif olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir. Doğada sık karşılaşılan ağır metallerden Ag, Fe, Ni, Cd, Cu ve Pb'nun saflaştırılmış zeytin β -glukozidaz enzim aktivitesi üzerine in vitro etkileri araştırılmıştır. Bu ağır metallerden Fe'in enzim aktivitesi üzerinde aktivasyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Ancak Cu, Ag, Ni, Cd ve Pb ağır metallerinin ise enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir [72].

Nohutta (*Cicer arietinum*) kuraklık stresi sonucunda, Super SAGE yöntemi kullanılarak gen anlatımlarının analizi yapılmış ve bunun sonucunda β -glukozidaz aktivitesinin kuraklık stresiyle birlikte arttığı görülmüştür [73].

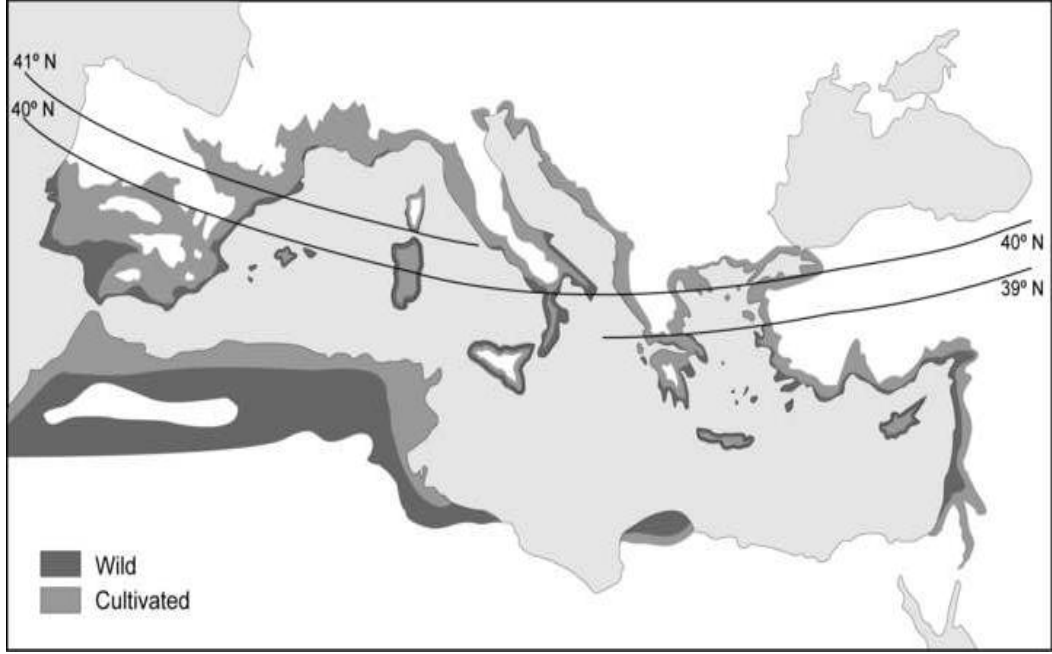
1.1.7 Zeytin

1.1.7.1 Zeytinin Taksonomisi, Yaşam Koşulları ve Yayılış Alanları

Günümüzde meyvelerinin büyük bir çoğunluğunu yağa, daha az miktarını da salamura yeşil ve siyah zeytin olarak değerlendirilen kültüre alınmış zeytin ağacı, botanik sistematigi içinde *Oleaceae* familyasının *Olea* cinsinin *Olea europaea* türünü oluşturmaktadır. Ancak *Olea* cinsinin tropik ve subtropik iklim koşullarında yetişen 20 kadar değişik türü saptanmıştır. Tipik bir Akdeniz bitkisi olarak tanınan zeytin ağacının kültüre alınmamış yabani formu *Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*, diğeri kültür formu *Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *europaea*'dır [74].

Çizelge 1. 3 Zeytinin taksonomisi

Kingdom	<i>Plantae</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Class	<i>Magnoliopsida</i>
Subclass	<i>Asteridae</i>
Order	<i>Scrophulariales</i>
Familya	<i>Oleaceae</i>
Genus	<i>Olea</i>
Species	<i>Europaea</i>



Şekil 1. 9 Yabani ve kültür zeytininin dünyada yayılış alanları

Kültüre alınmış ve alınmamış alt türler arasında bir fark olmadığından, *Olea europaea* türü olarak bilinen zeytin ağacının dünya üzerindeki doğal yayılışı, 30–45 enlem dereceleri arasında, kışları yumuşak ve yağışlı, yazları kurak, baharları ise kısmen serin ve yağışlı olan iklim kuşaklarının hâkim olduğu bölgelerde yer almaktadır [75]. Bunlara ek olarak zeytin ağacının iklim istekleri arasında yıllık ortalama sıcaklığın 16–21 °C ve yıllık toplam yağış miktarının 500-1200mm arasında değişmesi, güneşleme süresinin en az 5000 saat olması yanında, yeteri kadar bir soğuklama süresi geçirmesi gerektiği de ayrıca bilinmektedir. Ancak deniz ikliminin hâkim olduğu yörelerde fazlaca sahilden uzaklaşmamak, fakat denizden yüksekliği 400 metreyi aşmamak kaydı ile, bahar aylarında sıcaklığın -7 °C'ye kadar düşmesi ve yaz aylarında 40 °C'ye kadar yükselmesi önemli bir sakınca oluşturmamaktadır [76].

Botanik açıdan ölümsüz olarak kabul edilen ve genellikle killi-kumlu toprakları isteyen zeytin ağacı, dikildikten 5–6 yıl sonra meyve vermeye başlarsa da, ekonomik verime 10. Yıldan sonra ulaşmaktadır. Hatta kurak ve yağışsız bölgelerde bu süre yirmi yıla kadar uzayabilmektedir. En önemli karakteristiği periyodizite göstererek var ve yok yılları yaşayan zeytin ağacının ömrü 100 yıldan fazla ise de, 50 yaşına kadar ekonomik verimlilik gösterebilmekte ve bu süreden sonra zeytin plantasyonunun gençleştirilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte zeytin ağacının yaşam ve verim seyri, 1–7. yılları arası

gençlik dönemi, 8–40. yılları arası veriminin arttığı dönem ve 41–100 hatta 150. yılları arası veriminin azaldığı dönem olarak kabul edilmektedir. Ayrıca pratik bir yaklaşımla ve iklim ve bakım koşullarına bağlı olarak bir zeytin ağacı için ortalama 500 yıl kadar bir ömür biçilebilmektedir [76].

Akdeniz bölgesi için en önemli ürünlerden biri olan zeytinin (*Olea europaeae* L.) , biyoteknolojik değeri her geçen gün artmaktadır. Dünya zeytin ağacı varlığının %97'si Türkiye'nin de içinde bulunduğu Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yer almaktadır. Akdeniz'in belli başlı zeytin üreten ülkeleri İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye, Tunus, Portekiz, Suriye, Fas ve Cezayir'dir [77]. İtalyan bilim adamı Acerba, zeytinin Güneydoğu Bölgesinden batı Anadolu'ya, buradan da Ege adalarına, Yunanistan'a, İspanya'ya ve Kuzey Afrika'ya yayıldığını belirtmiştir [78].

Avrupa türlerinin yaklaşık 86 varyetesi Anadolu topraklarında yetişir ve Türkiye zeytin yağı üretiminde İtalya, İspanya ve Yunanistan'dan sonra 4. sırada yer almaktadır. Sofralık zeytin üretiminde ise ülkemiz dünyada ilk sırada yer alırken Gemlik zeytini üretiminin %80'i Türkiyede yapılmaktadır. Türkiye'de zeytin üretimi, Ege, Akdeniz ve Marmara olmak üzere coğrafi konum bakımından başlıca üç bölgede yoğunlaşmıştır. Mevcut zeytinliklerin %75'i engebeli, besin maddeleri yönünden nispeten fakir topraklarda, %25'i ise düz ve hafif meyilli arazilerde bulunmaktadır [79].

1.1.8 Zeytin ve Stres

Akdeniz ikliminde yaz ayları sıcak geçerken, güneş ışığı oldukça fazladır ve yağış eksikliğinden dolayı kuraklık görülmektedir. Suyun kısıtlı olması stomaların kapanmasına neden olurken fotosentetik ürünlerin azaldığı görülür. Bu koşullar altında zeytin ağaçları kuraklık stresi ve yüksek ışık seviyesinden dolayı zarar görür. Tenhunen vd. tarafından yapılan çalışmada kuraklık stresi altında stomaların çevreye adaptasyonu incelenmiştir. Mevcut su az olduğunda ya da su bitkiden çok çabuk kaybediliyorsa, stomalar kapanır. Böylece daha sonraki su kaybı yavaşlar. Doğal olarak bu kapanma karbondioksitin yaprak içine difüzyonunu ve dolayısıyla fotosentezi sınırlar [80].

Yapılan çalışmalarda da genellikle zeytin için uygun sıcaklık aralığı 20-30°C olarak belirtilmiştir. Bongi, Akdeniz kökenli 4 farklı zeytin kültürünü farklı sıcaklıklara maruz

bırakmış ve yapraktaki fotosentetik oranı incelemiştir. Bunun sonucunda optimum sıcaklığın dört tür için de 28°C olduğunu belirtmiştir. İspanya bölgesinde sıcak iklimde yetişen Manzanilla türünün 10°C'de minimum, 40°C'de ise fotosentezin maksimum seviyede olduğu ortaya çıkmıştır. Pek çok kaynak kuraklığın ve stomaların kapanmasının fotosentez ürünlerinde azalmaya neden olduğunu belirtmektedir [81], [82].

Zeytin, gaz alış verişini azaltıp terlemeyi ve su alımını kontrol ederek, yapraklar ve kök arasında yüksek bir su potansiyel gradiyenti oluşturarak ve Fotosistem II'yi koruyan bazı antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırarak kuraklığa karşı yüksek tolerans gösterir. Ayrıca zeytin yapraklarında da dayanıklılığı arttıran bazı anatomik değişiklikler gerçekleşir. Bunlardan biri stomaların yaprağın alt yüzeyinde bulunmasıdır [83]. Ayrıca su eksikliği durumunda yaprak boyutunda küçülme ile beraber yaprak hücrelerinin yoğunluğunda, yaprak tüylerinin sayısında artış ile beraber yüksek güneş ışığına ve sıcaklığa uyumlu skleromorfik yaprakların oluşumu zeytinde kuraklığa dayanıklılığa katkıda bulunur [84].

Tuzluluğun diğer odunsu bitkiler için önemli bir problem olduğu Akdeniz bölgesinde, zeytin, tuzluluk toleransı oldukça yüksek bir bitkidir [85], [86]. Kurak ve kıyıya yakın topraklarda görülen en yaygın problem tuzluluktur bu nedenle stres koşulları altında ürün arttırmaya veya stres koşullarının ortadan kaldırılmasına yönelik araştırmalar büyük önem taşımaktadır. Tuzluluk zeytine üç aşamalı etki eder. Öncelikle topraktaki osmotik basıncın artmasıyla bitkinin topraktaki su ihtiyacı karşılanamaz, dokularda Na ve Cl iyonları birikir ve bitkiye toksik etki yaratır, tuzun dışarı atılması için metabolik enerjinin aşırı miktarda harcanması ile de bitki strese girmiş olur. Tüm bu olayların sonucunda zeytin meyvelerinde, fotosentezde ve bitkinin beslenmesinde zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır [86]. Özellikle yapraklarda kalınlaşma gibi fizyolojik bir takım değişiklikler meydana gelir. Bongiove ve Loreto, yaptıkları çalışmada tuz stresine maruz kalmış zeytinin, palizat hücrelerinin uzunluğunda ve mezofil tabakasının kalınlığında artış olduğunu kanıtlamıştır [87]. Büyüyen dokuların zarar görmesi tuzun kök seviyesinde dışarı atılması, sürgüne tuz transportunun inhibisyonu, toksik iyonların olgun yapraklarda biriktirilmesi ve daha yüksek bir K⁺:Na⁺ oranı sağlanması ile engellenir [88].

Zeytin ağaçları dormansiye girmedeği için düşük sıcaklıklara karşı duyarlıdır [89]. Zeytin organları donmaya farklı düzeyde hassasiyet gösterir. Mancuso, bir laboratuvar deneyinde organları en az hassas olandan en hassasa doğru kök, yapraklar, sürgün ve tomurcuk şeklinde sıralamıştır. Kökler toprağın koruyucu etkisi nedeniyle donmaya neredeyse hiç maruz kalmazlar. Yapraklardaki hasar şu sırayla görülür: yaprak ayasının aşağı doğru kıvrılması, palizat parankima hücrelerinin ölmesine bağlı renkli noktalar oluşumu, kısmen ya da tamamen kurumayla beraber yaprağın karakteristik kahverengiye dönmesi. Apikal bölgedeki tomurcukların yanması çalımı bir büyümeye neden olur. Gövde ve dallarda, kabuk ve kambiyum çatlar. Kabuk renksiz hal alırken, odun ise kremden kahverengiye dönük bir renk alır [90].

Zeytinde savunma mekanizmasında rol oynayan oleuropeinin sıcaklık değişimi yanı sıra zeytinin özelliklerine bağlı olarak miktarının farklılaştığı gözlenmiştir [91]. Ekim ayında toplanan yapraklarda, mart ayında toplanan yapraklara göre daha az miktarda olduğu, yeşil ve genç sürgünlerin düşük üretim hızında olmasından dolayı bahar mevsimine göre daha az miktarda oleuropein içerdiği gösterilmiştir. Ayrıca oleuropein miktarını renk, yaş faktörünün etkilediği ve koyu yeşil yapraklarda daha yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Yeşilimsi sarı ve tamamen sarı (dökülen dönemindeki yapraklarda) yaprakların en düşük miktarda oleuropein içerdiği yapılan çalışmalarda saptanmıştır [91]. Fabbri vd. [92] yaptıkları çalışmada zeytin yaprağındaki fenolik bileşiklerin yaprak yaşı, dal tipi, ve çeşide göre değiştiğini, Mayıs, Temmuz ve Eylül aylarında toplanan yapraklardaki bileşikler arasındaki en önemli farklılıkların çeşide ve toplama zamanına göre değiştiğini belirlemişlerdir.

1.2 Tezin Amacı

β -glukozidaz enziminin zeytin meyvesinin kalitesi üzerinde bilinen etkisi olmasına rağmen daha önce zeytinde β -glukozidaz geniyle yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmada, zeytin EST kütüphanesinden belirlenen β -glukozidaz gen bilgisinden yararlanılarak, moleküler analizlerde kullanılmak üzere tam uzunlukta (full length) cDNA' larının elde edilmesi hedeflenmektedir. İlk olarak biyoteknolojik önemi olan ve soğuk stresinde ekspresyonu arttığı gözlenen β -glukozidaz geni, soğuk stresine maruz bırakılan zeytinden klonlanması amaçlanmış ve daha sonra bu klonlanan cDNA'lara

dizin analizi yaptırılarak zeytin β -glukozidaz geninin tam uzunluktaki dizin bilgisinin elde edilmesi hedeflenmiştir. Tez çalışmasının devamında hedeflenen ise, elde edilen bu cDNA takip eden projede *Pichia pastoris* vektörüne klonlanıp ekspresyonun sağlanmasıdır.

1.3 Hipotez

Zeytin (*Olea europaea*) Akdeniz Bölgesi'nde yaygın olarak yetişen, ekonomik olarak değerli bir bitkidir. Meyveleri besin olarak tüketilmekte ve yağ üretimi için kullanılmaktadır. Tam uzunlukta elde edilen β -glukozidaz geni, ekspresyon vektörü içerisine klonlandığı zaman zeytin kalitesi için önemli olan gen ürünü elde etmek mümkün olacaktır. Daha sonraki çalışmalar ile bu gen ürününün zeytin fermentasyonu ve zeytinin acı tadının ortadan kaldırılması için kullanımının amaçlanması çalışmanın önemini arttırmaktadır. Bu sayede elde edilen sonuçlar bölümümüzde yürütülmekte olan Kapsamlı Araştırma Projesi için önemli bir kaynak oluşturacaktır.

BÖLÜM 2

MATERYAL METOD

2.1 Bitki Materyali

1 yaşındaki *Olea europaea* L. Gemlik Kültivarı Türkiye Cumhuriyeti Tarım Bakanlığı Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi.

2.2 Tamponlar ve Çözeltiler

Çizelge 2. 1 Tampon ve çözeltiler

Tampon veya çözelti	Yapısı veya hazırlanma şekli
DEPC (Di Etil Piro Karbonat)'li su	% 0,1' lik solüsyonları hazırlandı. Oda sıcaklığında bir gece bekletildikten sonra otoklavlandı.
TE çözeltisi (1 X), pH 8.0	10 mM Tris- HCl pH 8.0, 1 mM EDTA
Etanol	% 75- 80 stok solüsyonu hazırlandı.
Etidyum bromür stok solüsyonu (EtBr)	5 mg/ml EtBr' e steril deiyonize su ilave edildi.
MOPS (5 X)	0.2 MOPS pH 7, 50 mM NaOAc, 50 mM EDTA ve DEPC' li su bir gece inkübe edildikten sonra otoklavlandı.
RNA yükleme tamponu	1mM EDTA, pH 8.0, % 0.4 bromfenol mavisi ve % 50 gliserol karışımı, DEPC' li su ilave edildi.
dNTP karışımı	20 mM dATP, dTTP, dGTP ve dCTP karışımı hazırlandı.
EDTA solüsyonu	250 mM EDTA, 250 mM Tris-HCl karışımı hazırlandı. pH 8.0'e ayarlandı.

TBE çözeltisi (5 X)	54 g Tris, 27,5 g Borik Asit, 20 ml 0,5 M EDTA, 1 L saf suya tamamlandı.
DNA loading çözeltisi	250 mM Tris-HCl pH 7.5, % 0.2 bromfenol mavisi, % 0.2 ksilen siyanol ve % 40 gliserol karışımı
Ampisillin stok solüsyonu	100 mg/ml steril ddSu ilave edildi. – 20 °C’ de saklandı.
X- Gal stok solüsyonu	50 mg 5-bromo-4- kloro-3-indol β - D- galaktosidaz 1 ml DMF(di metil formamid) de çözöldü. Alüminyum folyo ile sarılarak -20 °C’de saklandı.
IPTG stok solüsyonu	1 M (240 mg/ml) izopropanol β -D- tiogalaktopiranosit (IPTG) steril deiyonize suda çözöldü. Filtreden geçirildi. -20 °C’ de saklandı.

2.3 Moleküler Markerlar

Çizelge 2. 2 Moleküler markerlar

RiboRuler high range RNA Ladder	6000 bp, 4000 bp, 3000 bp, 2000 bp, 1500 bp, 1000 bp, 500 bp ve 200 bp bantları gözlenir.
MassRuler DNA Ladder Low Range	1 X’ lik TBE’ de 1031 bp ile 80 bp arasında toplam 11 bant gözlenir.
PstI ile kesilmiş Lambda	%1’ lik agarozda 11501 bp ile 247 bp arasında toplam 17 bant gözlenir.

2.4 Enzimler

Çizelge 2. 3 Enzimler

Ters transkriptaz	Super Script III
Taq polimeraz	Qiagen Taq DNA Polymerase Fermentas Long PCR Enzyme Mix Roche Expand High Fidelity PCR Enzyme

2.5 Kitler

Çizelge 2. 4 Kitler

PCR kiti	Roche Expand High Fidelity PCR System
5'/3'RACE kiti	Roche 5'/3' RACE System for Rapid Amplification of cDNA Ends
Jel pürifikasyon kiti	QIAquick Gel Extraction Kit
Ligasyon kiti	Promega pGEM-T Easy Vector Systems
Plazmit izolasyon kiti	Roche High Pure Plasmid Isolation Kit

2.6 Besi Yerleri

2.6.1 Luria Broth (LB)

Çizelge 2. 5 LB

Besin çeşidi	Miktarı
Tripton	10 g
Yeast extract	5 g
NaCl	10 g

Çizelgedeki miktarların üzerine saf su ilave edilerek 1lt' ye tamamlandı. pH 7'ye ayarlandıktan sonra 121 °C'de 30 dakika otoklavlandı.

Katı LB için sıvı 1L LB'ye 15 g Agar ilave edildikten sonra 121 °C'de 20 dakika otoklavlandı.

2.6.2 SOB

Çizelge 2. 6 SOB

Besin çeşidi	Miktarı
Tripton	10 g
Yeast extract	2,5 g
NaCl	0,292 g
MgCl ₂	1,015 g

KCl	0,093 g
-----	---------

Çizelgedeki miktarların üzerine saf su ilave edilerek 500mL'ye tamamlandıktan sonra 121 °C'de 20 dakika otoklavlandı.

SOC için 98 g SOB' ye 2 mL glikoz ilave edildi.

2.7 Oligonükleotidler

Çizelge 2. 7 Primerler

Primerin Adı	Primer Dizini
Oligo d(T)-anchor	5'- GAC CAC GCG TAT CGA TGT CGA CTTTTTTTTTTTTTTTV – 3'
PCR Anchor	5'- GAC CAC GCG TAT CGA TGT CGA C -3'
GF1	5'- ATG GAT ATC CAA AGC AAC GTC C -3'
GR1	5'- GCC TCT AAG CCT TTT ACG ACG A -3'

2.8 Programlar

2.8.1 Chromas

İnternette indirilebilen bir programdır. Vektör dizilerinin çıkartılması için kullanılmıştır. Diziler hem FASTA formatında görülebilir hem de kromatogram dosyalarını açar.

2.8.2 Primer 3

İnternet üzerinden kullanılan bir programdır. Primer tasarımı için kullanılmıştır [93].

2.8.3 Blast

NCBI internet sayfası üzerinden kullanılan bir dizin bilgisine benzerlik gösteren dizinleri tespit etmeye yarayan bir programdır [94].

2.8.4 EMBOSS Transeq

Nükleotid dizinlerini karşılıkları olan peptid dizinlerine çeviren internet üzerinden kullanılan bir programdır [95].

2.8.5 BioEdit

İnternet üzerinden ücretsiz indirilip kullanılabilen, dizin hizalama fonksiyonlarına sahip bir programdır.

2.9 Bitki Büyütme Koşulları

Zeytin fidanlarının yaprakları yıkanarak olası zirai ilaç kalıntıları uzaklaştırıldı ve fidanlar temiz saksılara dikildi. Ortam koşullarına uyum sağlamaları için bitkiler bir hafta süreyle 22 °C'de, 14 saat gündüz / 15 °C'de, 10 saat gece periyodunda, gündüz 150 $\mu\text{mol M}^2\text{s}^{-1}$ ışık, gece ise karanlık olacak şekilde tutuldu.

Bir haftanın sonunda, 4 °C'de, 14 saat gündüz / 2 °C'de, 10 saat gece periyodunda, gündüz 150 $\mu\text{mol M}^2\text{s}^{-1}$ ışık, gece ise karanlık olacak şekilde 10 gün süreyle soğuk stresi verildi.

2.10 Bitki Örneklerinin Alınması

Bir haftalık büyüme sonunda, stres verilmeden hemen önce bitkiden yaprak örneği alınıp, sıvı azot içerisinde dondurularak , -80 °C'de saklandı. Daha sonra sırası ile 15 ve 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 4 saat, 6 saat, bir gün, bir hafta ve on gün sonunda yaprak örnekleri alınıp, sıvı azot içerisinde dondurularak , -80 °C'de saklandı.

2.11 RNA İzolasyonu

2.11.1 RNA İzolasyonu için Hazırlık

RNA molekülleri nükleotidlerindeki riboz molekülünün OH grubu nedeniyle biyolojik ortamlarda fazlaca bulunan ribonükleaz enzimleri tarafından parçalanmaktadır. Bu nedenle RNA izolasyonundan önce ortamdaki RNaz'ların uzaklaştırılması için Applichem DEPC solüsyonu kullanıldı.

RNA izolasyonundan önce kullanılacak havan ve havanelleri, tüm cam ve plastik malzemeler % 0,1'lik DEPC'li su içerisinde bir gece bekletildi, daha sonra 121 °C' de 20 dakika otoklavlandı. Yine benzer şekilde, izolasyonda kullanılacak Tris dışındaki tüm solüsyonlara ve saf suya % 0,1 oranında DEPC ilave edildi. Bir gece boyunca bekletilip 121 °C' de 20 dakika otoklavlandı. Tris, önceden DEPC ile muamele edilip otoklavlanmış çift distile suda hazırlandı.

2.11.2 Bitki Örneklerinden RNA İzolasyonu

Yaklaşık 100 mg dondurulmuş bitki örnekleri, sıvı azot yardımı ile daha önceden soğutulmuş havan içerisinde toz haline getirilerek, 2 ml'lik ependorf tüpüne alındı. Her 100 mg örnek için 1 ml Trizol Reagent (bitki ağırlığının % 10' u olacak şekilde) ilave edildi. Nükleoprotein kompleksleri'nin ayrışması için 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Tüpler kabaca vortekslendi. 1 ml Trizol Reagent için 0,2 ml olacak şekilde kloroform eklendi. 15 saniye kuvvetlice çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında 2- 3 dakika inkübe edildi. Daha sonra 12000 xg hızda 4 °C' de 15 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonunda tüpün içindeki karışım, alt kırmızı faz, interfaz ve renksiz üst faz olmak üzere üçe ayrıldı. RNA üst fazdaydı. Üstteki faz ayrı bir tüpe alınarak 1 ml Trizol Reagent için 0,5 ml olacak şekilde izopropanol eklendi. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra, 12000 xg hızda 4 °C' de 20 dakika santrifüjlendi.

RNA, tüpün dibine çöktü, süpernatant atıldı. RNA pelletinin üzerine 1 ml Trizol Reagent için 1 ml %75'lik etanol eklenip, 7500 xg hızda 4 °C' de 15 dakika santrifüjlendi. Süpernatant dökülüp pellet şeffaf görününceye kadar kurutuldu. Kuruyan pellet 100 µl DEPC'li su içerisinde çözülerek, 65 °C' de 10 dakika inkübe edildi. İnkübe edilen örnekler -80 °C' de saklandı.

2.11.3 Total RNA Miktarının Belirlenmesi

Trizol kullanılarak izole edilmiş RNA'ların konsantrasyonları UV spektrofotometresinde 260 nm dalga boyunda absorbanı ölçüldü. RNA'ların konsantrasyonları $OD_{260} \times 40 \mu\text{g/ml} \times \text{sulandırma faktörü}$ formülüyle hesaplandı.

361 GGAGGAAGACTGTGTCACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATT

421 GATGCTCTCTTGGCAGCTGACATAGAGCCATATATAACTATCTTTCAGTGGGATATTCCC

481 CAATGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTTCCTACATGAAAGAGTTGTGCAGGATTTTATT

541 GAGTATTCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG

601 AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTCAAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGT

661 GGTGTAAGTCCGAAAGATACTGAAGAACTAAAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA

721 GGAAACTTCTAGCTGCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGAAACCATATAAAGTGGA

781 CACAATTTAATCCTTTGTCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAA

841 AGTCAAGGAGGTAAGATAGGGATTACAAATTGCATTAGGTGGAATGACCCTCTTACTGAC

901 TCTCAAAAAAATAAAGATGCTGCTACTAGAAAGAAATGATTTTATGCTTGGATGGTTTGTG

961 GAACCAGTGGTAACTGGAGAGTACCCAGAAAGTATGATTAAATATGTTGGCGATCGCCTT

1021 CCTATCTTTTCTGAAAAAGAGGAGAAGCTAGAGAAAGGATCCTACGACTTTCTAGGCATA

1081 AACTACTACACGTCTACTCATACCAGCCGATGATCCAACAAAGCCGACAAGTATAGTTA

Şekil 2. 1 Kontig dizin bilgisi ve tasarlanan primerler (devam)

[illegible]

PCR döngüsü şöyledir. 94 °C’de 2 dakika denatüre edildikten sonra, 94 °C’de 15 saniye denatürasyon, 55 °C’de 30 saniye primer bağlanması ve 72 °C’de 1,5 dakika uzatma aşamaları 30 kez tekrarlandı. 72 °C ‘de 7 dakika son uzatma yapılarak, örnekler buz üzerine alınıp -20 °C de saklandı.

Reaksiyonun ürünleri %1 agaroz jel üzerinde yürütülerek kontrol edildi.

2.14.3 DNA’nın Agaroz Jel Üzerinde Analizi

%1’lik jel hazırlamak için 0,8 g Agaroz (Aplichem), 80 ml 1X TBE eklenip ısıtılarak çözüldü. 60°C’ye soğutulup içersine etidyum bromür eklenerek jel tepsisine döküldü.

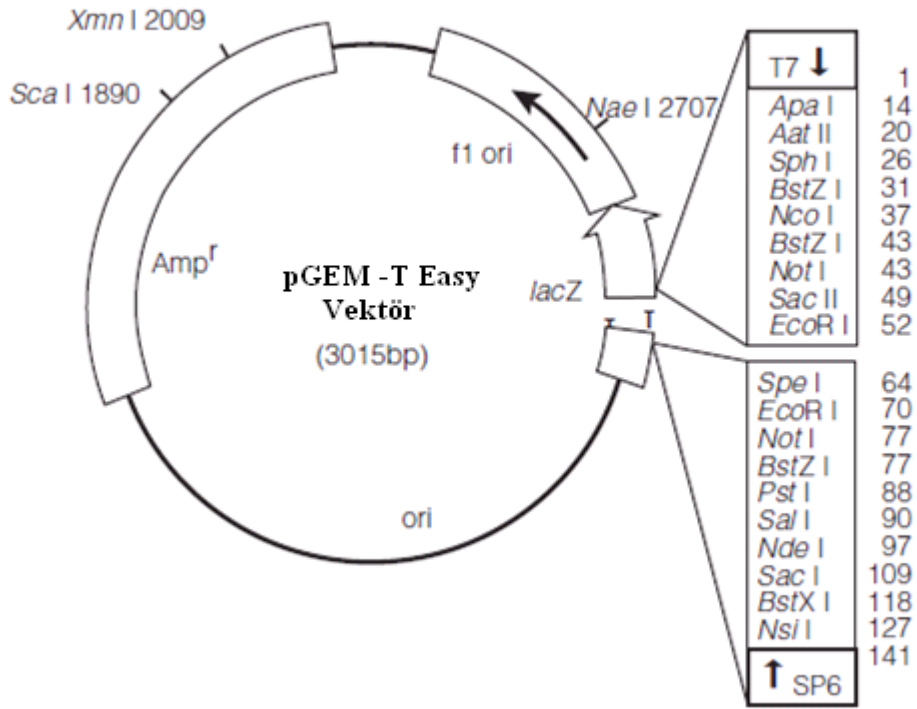
Örnekler yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. 70 V’ta 80 dakika yürütüldü.

2.14.4 PCR Ürününün Agaroz Jelden Pürifikasyonu

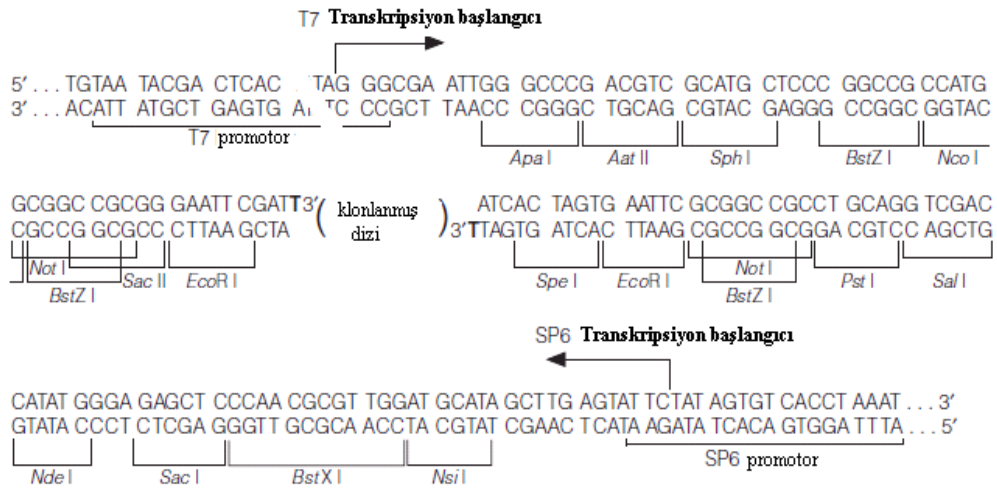
PCR ürünlerinin pürifikasyonu Qiaquick Jel Ekstraksiyon Kiti ile kullanım kılavuzunda anlatıldığı şekilde yapıldı. Fragman agaroz jelden bisturi yardımı ile kesilip 2 ml’lik tüplere alındı. Jel hacminin 3 katı kadar QG tamponu eklenip 50 °C’de 10 dakika inkübe edildi. Jel hacmi kadar izopropanol eklendi ve karıştırıldı. QIAquick kolonlarına aktararak 1 dakika 17900 xg hızda santrifüj edildi. 0,5 ml QG tamponu eklenip 17900 xg hızda santrifüj edildi. 0,75 ml PE tamponu eklenip 1 dakika 17900 xg hızda santrifüj edildi. QIAquick kolonları 1,5 ml’lik temiz tüplere alınarak 30 µl steril su eklenerek 1 dakika 17900 xg hızda santrifüj edildi.

2.14.5 Vektör Ligasyonu

PCR ürünlerinin ligasyonu için Promega pGEM-T Easy vektörü kullanıldı. pGEM-T Easy vektörünün Şematik gösterimi Şekil 2.2’ de ve çoklu klonlama bölgesi Şekil 2.3’de verilmiştir (Promega Vektör Kullanım Kılavuzu).



Şekil 2. 2 pGEM-T Easy vektörünün şematik gösterimi



Şekil 2. 3 pGEM-T Easy vektörünün çoklu klonlama bölgesi

Ligasyon reaksiyonu Promega Vektör Kullanım Kılavuzunda önerildiği gibi vektör DNA'sı ile cDNA oranları 1/3 ve 1/2 arasında olacak şekilde hazırlandı. Ligasyonlar, 4 °C'de 24 saat inkübe edildi.

2.14.6 Kompetan Hücrelerin Hazırlanması

Ultra kompetan hücreler Inoue ve arkadaşlarının (1990) optimize ettiği protokoldeki gibi hazırlandı. 250ml SOB içersine 5–10 *E.coli* DH5α kolonisi ekilerek 22 °C'de 20–24 saat kadar OD₆₀₀ 6,6'ya ulaşana kadar büyütüldü. 10 dakika buzda bekletildikten sonra 3000xg hızda 4 °C'de 10 dakika santrifüjlendi. 80 ml soğuk TB içersinde çözülüp, 10 dakika buzda bekletildi. 3000 xg hızda 4 °C'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra 20 ml soğuk TB içersinde çözülüp % 7 si kadar DMSO ilave edildi. 10 dakika buzda bekletilip sıvı azot ile dondurularak -80 °C'de saklandı.

2.14.7 Transformasyon

2.14.7.1 Transformasyon Reaksiyonunun Kurulması

2.14.6'da anlatıldığı şekilde hazırlanan ultra kompetan hücrelerden 200 µl'si ile vektöre bağlanmış DNA dan 5 µl'si karıştırıldı ve 30 dakika buz üzerinde bekletildi. 42 °C' de 1 dk tutulduktan sonra buzun üzerine alınarak 300 µl SOC ilave edilerek, 37 °C'de 250 rpm hızda 1 saat büyütüldü.

Transformasyon karışımı katı Luria-Bertani ortamına ekilerek, 37 °C'de 16 saat büyütüldü. Katı besi yerleri içine plazmit almış kolonilerin seçimi için 100 µg/ml ampisilinle ve rekombinant plazmitlerin seçimi için 0,5mM IPTG ve 30 µg/ml X- gal içermektedir.

Mavi renkte gözlemlenen koloniler içlerine cDNA almadan kapanmış plazmitleri bulunan hücrelerden, beyaz renkte gözlemlenen koloniler ise cDNA'ları alarak kapanmış plazmitler bulunan hücrelerden oluşmaktaydı.

2.14.7.2 Pozitif Kolonilerin Belirlenmesi

İstenilen DNA'yı taşıdığı belirlenen her bir koloni, antibiyotik ilave edilmiş (100 µg/ml) katı Luria-Bertani ortamına tek tek ekilerek, 37 °C'de 16 saat büyütüldüler.

2.14.8 Plazmit İzolasyonu

2.14.7.2’de anlatıldığı biçimde belirlenen kolonilerde büyüme görülürse, ampisilin (100 µg/ml) içeren 3ml Luria-Bertani 37 °C’de 250 RPM hızda 16 saat büyütüldü. Plazmit izolasyonu Roche High Pure Plasmid İzolasyon Kiti Kullanım Kılavuzunda önerilen biçimde yapıldı.

2 ml kültür santrifüjlenerek hücreler çöktürüldü, üzerine RNaz içeren Süspansiyon çözeltisinden 250 µl ilave edilerek hücreler yeniden çözüldü. 250 µl Liziz çözeltisi eklenerek hafifçe karıştırılıp, 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Üzerine 350 µl Binding çözeltisi eklenerek hafifçe karıştırılıp, 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 13000 xg hızda 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant filtrelere pipetlenip, 1 dakika 13000 xg hızda santrifüjlendi. Tüpte biriken sıvı atıldı. Yüksek nükleaz aktivitesini engellemek için, filtrelere 500 µl Yıkama Çözeltisi I pipetlenip, 1 dakika 13000 xg hızda santrifüjlendi. Hücreleri yıkamak için filtrelere 700 µl Yıkama Çözeltisi II pipetlenip, 1 dakika 13000 xg hızda santrifüjlendi. Tüpte biriken sıvı atıldı ve filtre kurutulmak için 13000 xg hızda 1 dakika santrifüjlendi. DNA’yı filtreden ayırmak için filtre temiz tüpe alınıp, üzerine 100 µl elüsyon çözeltisi eklenip 1 dakika 13000 xg hızda santrifüjlendi. Tüpe geçen DNA -20°C de saklandı.

Dizin analizine gönderilmeden önce, çoklu klonlama bölgesinde bulunan kesim bölgelerine uygun bir enzimle kesilerek lineerize edildi ve miktarı belirlenerek dizin analizine gönderildi.

2.14.9 PCR Reaksiyonu

İzole edilen plazmit DNA’larının rekombinant olup olmadığını kontrol etmek üzere PCR reaksiyonu kuruldu. 200 µl’lik PCR tüpü içerisinde, 0,5 µl plazmit DNAsı, Qiagen 10x PCR Tampon, 5x Q Solüsyonu, dNTP (200 µM), forward primer (10µM) ve reverse primer (10µM), 2,5U Taq Polimeraz enzimi koyulup, 50 µl’ye su ile tamamlandı.

Reaksiyon karışımı 94 °C’de 5 dakika denatüre edildikten sonra, PCR döngüleri 94 °C’de 30 saniye denatürasyon, 58 °C’de 40 saniye primer bağlanması ve 72 °C’de 40 saniye uzama aşamaları 34 kez tekrarlanacak şekilde kuruldu. 72 °C ‘de 20 dk son uzatma yapılarak, örnekler buz üzerine alınıp -20 °C de saklandı.

Reaksiyonun ürünleri %1 agaroz jel üzerinde yürütülerek kontrol edildi.

2.14.10 DNA'nın Agaroz Jel Üzerinde Analizi

%1'lik jel hazırlamak için 0,8 g Agaroz (Aplichem), 80 ml 1X TBE eklenip ısıtılarak çözüldü. 60°C'ye soğutulup içersine etidyum bromür eklenerek jel tepsisine döküldü.

Örnekler yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. 70 V'ta 80 dakika yürütüldü.

BÖLÜM 3

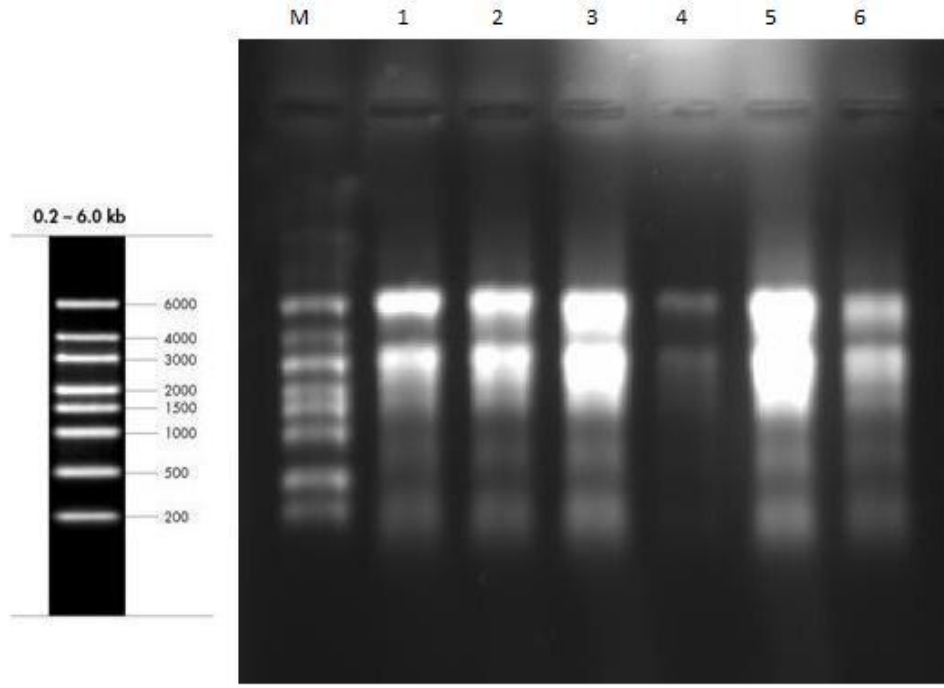
SONUÇLAR

3.1 Bitki Örneklerinin Alınması

Bitkilere stres verilmeden önce yaprak örnekleri alınarak sıvı azot içersinde donduruldu ve -80°C 'de saklandı. Örnek alınmasından sonra bitkilere 2.9' da belirtilen stres koşulları uygulandı. 15 ve 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 4 saat, 6 saat, bir gün, bir hafta ve on gün örnekleri alınarak sıvı azot içersinde donduruldu ve -80°C 'de saklandı.

3.2 RNA İzolasyonu

Farklı zaman dilimlerinde aynı bitkiden alınan yapraklardan RNA izolasyonu 2.11.2 'de anlatıldığı biçimde yapıldı. %1'lik RNA jeline yüklenerek (Şekil 3. 1) kalitesi belirlendi.



Şekil 3. 1 RNA'ların %1'lik formaldehit jeli üzerinde görüntülenmesi

M: High Range RNA Ladder, 1. Kontrol RNA örneği, 2. 15 dakika soğuk stresi verilmiş örnek RNA'sı, 3. 1 saat soğuk stresi verilmiş örnek RNA'sı, 4. 4 saat soğuk stresi verilmiş örnek RNA'sı, 5. 6 saat soğuk stres verilmiş örnek, 6. 1 gün soğuk stres verilmiş örnek.

3.3 RT PCR ile İlgili Sonuçlar

3.3.1 Primer Tasarımı

Özdemir Özgentürk vd. çalışmasındaki zeytin beta glukozidaz EZ421495 kontig dizin bilgisinden yararlanılarak NCBI web sayfasındaki contig dizinine en çok benzerlik gösteren en uzun ve poli A kuyruğu içeren AY083162 dizin bilgisi kullanılarak Primer 3 programıyla ileri ve geri primerler tasarlandı (Şekil 2.1) [96], [97]. Contig dizin benzerlikleri Şekil 3.2 de gösterilmiştir.

EZ421650.1	-----CCTTGGACTTACACTACTTCAAAGAGCACCAAAGTCTGCAATGGATATCCAAA	53
AY083162.1	ACCAAAGTCTGCAACTTACACTACTTCAAAGAGCACCAAAGTCTGCAATGGATATCCAAA	60

EZ421650.1	GCAACGTCCTGACGATTACTAGCGGATCCTCACCAACTGACACTTCCTCCAATGGTCAGG	113
AY083162.1	GCAACGTCCTGACGATTACTAGCGGATCCACACCAACTGACACTTCCTCCAATGGTCAGG	120

EZ421650.1	CAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTTGTATTGTG	173
AY083162.1	CAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTTGTATTGTG	180

EZ421650.1	GCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAAGGCATGA	233
AY083162.1	GCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAAGGCATGA	240

EZ421650.1	GTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGCAATGGCA	293
AY083162.1	GTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGCAATGGCA	300

EZ421650.1	CTATTGCAATTGATCACTTTAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAGAAATTGG	353
AY083162.1	CTATTGCAATTGATCACTATAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAGAAATTGG	360

EZ421650.1	GTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGGAAGACTGT	413
AY083162.1	GTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGGAAGACTGT	420

EZ421650.1	GTCACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAAGTTCTATAACGATCTCATTGATGCTCTCTTGG	473
AY083162.1	GTCACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAAGTTCTATAACGATCTCATTGATGCACTCTTGG	480

EZ421650.1	CAGCTGACATAGAGCCATATATAACTATCTTTCACTGGGATATTCCCAATGTTTGCAAC	533
AY083162.1	CAGCTGACATAGAGCCATATATAACTATCTTTCACTGGGATATTCCCAATGTTTGCAAC	540

EZ421650.1	TAGAGTATGGTGGCTTCCTACATGAAAGAGTTGTGCAGGATTTTATTGAGTATTCTGAGA	593
AY083162.1	TAGAGTATGGTGGCTTCCTACATGAAAGAGTTGTGAAGGATTTTATTGAGTATTCTGAGA	600

EZ421650.1	TTTGCTTCTGGGAATTGGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTGAATGAGCCATGGT	653
AY083162.1	TTTGCTTCTGGGAATTGGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTGAATGAGCCATGGT	660

EZ421650.1	CCTTTACTGTTCAAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGTGGTGTAACCTCGA	713
AY083162.1	CCTTTACTGTTCAAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGTGGTGTAACCTCGA	720

EZ421650.1	AAGATACTGAAGAACTAAAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGAGGAAAACCTCTAG	773
AY083162.1	AAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGAGGAAAACCTCTAG	780

EZ421650.1	CTGCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGAAACCATATAAAGTGGCACACAATTTAATCC	833
AY083162.1	CTGCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCACACAATTTAATCC	840

EZ421650.1	TTTGTGTCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAAAGTCAAGGAGGTA	893
AY083162.1	TTTGTGTCATGCACATGCTGTGGATATATACAGAACGAAATATCAGGAAAGTCAAGGAGGTA	900

EZ421650.1	AGATAGGGATTACAAATTGCATTAGGTGGAATGACCCTCTTACTGACTCTCAAAAAAATA	953
AY083162.1	AGATAGGGATTACAAATTGCATTAGTTGGAATGAGCCTCTTACTGACTCTCAAGAAGATA	960

EZ421650.1	AAGATGCTGCTACTAGAGAAATGATTTTATGCTTGGATGGTTGTGGAACCAAGTGGTAA	1013
AY083162.1	AAGATGCTGCTACTAGAGAAATGATTTTATGCTTGGATGGTTGTGGAACCAAGTGGTAA	1020

EZ421650.1	CTGGAGAGTACCCAGAAAGTATGATTAAATATGTTGGCGATCGCCTTCCTATCTTTCTG	1073
AY083162.1	CTGGAGAGTACCCAGAAAGTATGATTAAATATGTTGGCGATCGCCTTCCTAAATTTCTG	1080

Şekil 3. 2 Zeytin beta glukozidaz genine ait EZ421650 kontiği ve AY083162 beta glukozidaz dizininin benzerlik analizi

EZ421650.1	AAAAAGAGGAGAAGCTAGAGAAAGGATCCTACGACTTCTAGGCATAAACTACTACACGT	1133
AY083162.1	AAAAAGAGGAGAAGCTAGTGAAAGGATCCTACGACTTCTAGGCATAAACTACTACACGT	1140

EZ421650.1	CTACTCATACCAGCCGATGATCCAACAAAGCCGACAACCTGATAGTTACTTTACTGATTCG	1193
AY083162.1	CTACTTATACCAGC-GATGATCCAACAAAGCCGACAACCTGATAGTTACTTTACTGATTCG	1199

EZ421650.1	CACACTAAGACTTCACATGAACGCAATAAGGTGCCTATTGGTGCACAGGCTGGTTCGGAT	1253
AY083162.1	CACACTAAGACTTCACATGAACGCAATAAGGTGCCTATTGGTGCACAGGCTGGTTCGGAC	1259

EZ421650.1	TGGTTATACATAGTTCATGGGGAATCTACAGAGTTATGGTTGATATGAAGAAAAGATAT	1313
AY083162.1	TGGTTATACATAGTTCATGGGGAATCTACAGAGTTATGGTTGATATGAAGAAAAGATAT	1319

EZ421650.1	AATGATCCGGTTATTTACATTACAGAGAATGGAGTGGATGAAGTAAACGATAAGTCCAAG	1373
AY083162.1	AATGATCCGGTTATATACATACCGAGAACGGAGTGGATGAAGTAAACGATAAGTCCAAG	1379

EZ421650.1	ACTAGTACCGAAGCTCTCAAGGATGATATAAGGATTCACTATCACCAAGAACATCTCTAC	1433
AY083162.1	ACTAGTACCGAAGCTCTCAAGGACGATATAAGGATTCACTATCACCAAGAACATCTCTAC	1439

EZ421650.1	TACCTTAAGCTAGCGATGGATCAAGGTGTAAATTTGAAGGGTTACTTCATATGGTCGTTG	1493
AY083162.1	TACCTTAAGCTAGCGATGGATCAAGGTGTAAATGTGAAGGGTTACTTCATATGGTCGTTG	1499

EZ421650.1	TTCGACAATTTTGAATGGGCTGCTGGATTTCAGTGTTAGATTTGGCGTTATGTATGTAGAC	1553
AY083162.1	TTCGACAATTTTGAATGGGCTGCTGGATTTCAGTGTTAGATTTGGCGTTATGTATGTAGAC	1559

EZ421650.1	TACGCTAATGGTCGTACACAAAGGTGGCCAAAACGTTTCAGCTGTATGGTGGAGGAACCTC	1613
AY083162.1	TATGCTAATGGTCGTTACACAAAGGTTGCCAAAACGTTTCAGCTGTATGGTGGAGGAACCTC	1619
	** *****	
EZ421650.1	CTCACCAAGCCTACAGCAGTTCATTGAAGAATGAACCTGAAAAATCTGAAGATCGTCGT	1673
AY083162.1	CTCACCAAGCCTACAGCAGTTCATTGAAGAATGAACCTGAAAAATCTGAAGATCGTCGT	1679

EZ421650.1	AAAAGGCTTAGAGGCAGCACCTAGTTTAGCTTATGAACTAGTGCTTCCTTGATTTTATG	1733
AY083162.1	AAAAGGCTTAGAGGCAGCACCTAGTTTAGCTTATGAACTAGTGCTTCCTTGATTTTATG	1739

EZ421650.1	TTGAATAATGCACGGTGGAGGATGTTGCTTTATATTTTTTGTGTGCTGTTGTTGGTTG	1793
AY083162.1	TTGAATAATGCACGGTGGAGGATGTTGCTTTAAATTTTTTGTGTGCTGTTGTTGGTTG	1799

EZ421650.1	AAAAGTCATGTCATTGTTGTTGAATGATGCATGGTTCAACTTGTAACGTTATGTTCCAA	1853
AY083162.1	AAAAGTCATGTCATTGTTGTTGAATGACGCATGGTTCAACTTGTAACGTTATGTTCCAA	1859

EZ421650.1	TAAAGGAGTTGGGCTCCATGTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAACCTATCTCGAGTGTTC	1913
AY083162.1	TAAAGGAGTTGGGCTCCATGTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA-----	1902

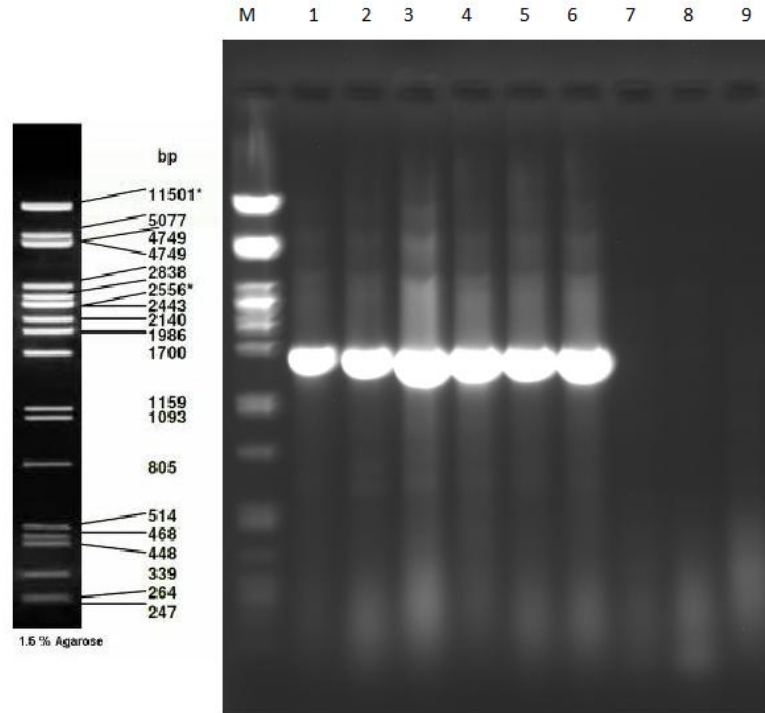
EZ421650.1	CTTGGCAAAAAAAAAAAATTTTCTCTCTGTTAAAAAAACCCCTCCGAACCTCAA	1973
AY083162.1	-----	
EZ421650.1	AAAGGAAACGGGTTATTTTCTCTCTATCCCGGAAATATTC	2018
AY083162.1	-----	

Şekil 3. 2 Zeytin beta glukozidaz genine ait EZ421650 kontiği ve AY083162 beta glukozidaz dizininin benzerlik analizi (devam)

3.3.2 PCR Ürünlerinin Analizi

RNA'ların formaldehit jeli üzerindeki görüntülerine bağlı olarak total RNA'lar 1 saat ve 6 saatlik soğuk strese maruz kalan örneklerde daha yoğun görüldüğünden 0, 1saat ve 6 saat örnekleri kullanılarak PCR reaksiyonu kurulmuştur.

2.14.1'de anlatıldığı şekilde sentezlenen kontrol, 1 saat ve 6 saat cDNA'ları kullanılarak 2.14.2'de belirtilen koşullarda yapılan PCR'ın ürünleri %1'lik Agaroz jele yüklenerek, kalite ve büyüklüğü kontrol edildi. Bunlardan GF1 ve GR1 primerleriyle 55°C primer bağlanma sıcaklığında kurulan reaksiyonlar en iyi sonucu vermiştir ve yaklaşık 1700 bp boyunda bir DNA bandı elde edilmiştir. GF1 ve PCR anchor primeri kullanılarak kurulan reaksiyonlar ise çalışmamıştır (Şekil 3. 3).



Şekil 3. 3 PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü

M: PstI ile kesilmiş Lambda DNA, 1. GF1 ve GR1 ile kontrol örneği (Fermentas oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 2. GF1 ve GR1 ile 1 saatlik stres verilmiş örnek (Fermentas oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 3. GF1 ve GR1 ile 6 saatlik stres verilmiş örnek (Fermentas oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 4. GF1 ve GR1 ile kontrol örneği (Roche oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 5. GF1 ve GR1 ile 1 saatlik stres verilmiş örnek (Roche oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 6. GF1 ve GR1 ile 6 saatlik stres verilmiş örnek (Roche oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 7. GF1 ve PCR Anchor primer ile kontrol örneği (Roche oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 8. GF1 ve PCR Anchor primer ile 1 saatlik stres verilmiş örnek (Roche oligo dT kullanılarak sentezlenmiş), 9. GF1 ve PCR Anchor primer ile 6 saatlik stres verilmiş örnek (Roche oligo dT kullanılarak sentezlenmiş).

3.3.3 PCR Ürünlerinin Vektöre Ligasyonu

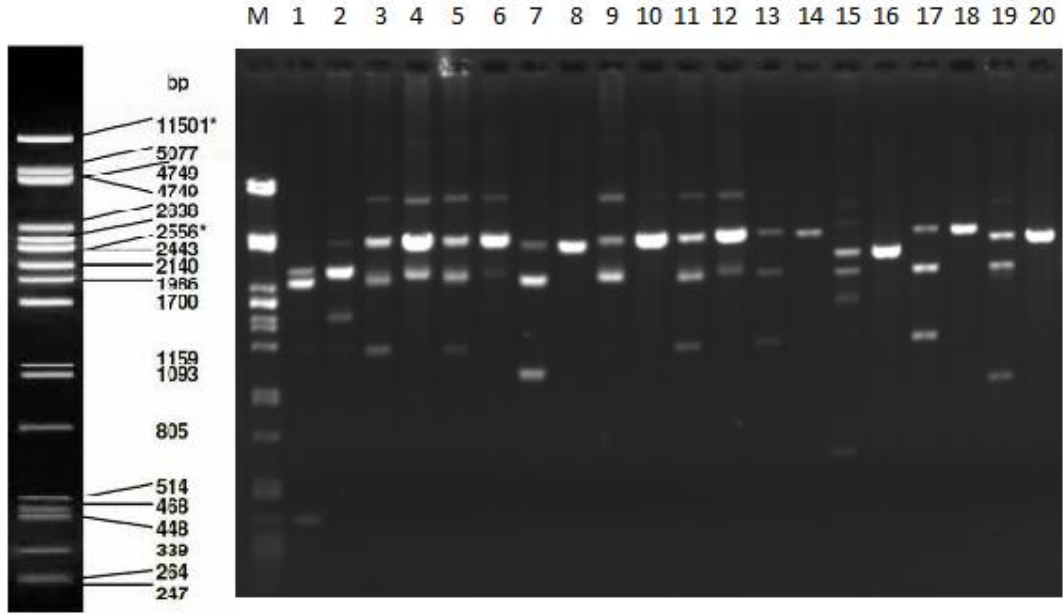
PCR reaksiyonunda pozitif sonuç veren kontrol örnekleri, 1 saatlik ve 6 saatlik stres verilmiş örnekler 2.14.5'te anlatıldığı biçimde Promega pGEM-T Easy vektörüne klonlandı.

3.3.4 Transformasyon

pGEM-T Easy vektörüne bağlanan DNA'nın 5 µl'si 2.13.6'da anlatıldığı biçimde hazırlanan 100 µl kompetan hücre ile karıştırılarak transformasyon yapıldı. Mavi beyaz seçilimi için antibiyotik (100 µg/ml), IPTG (0,5mM) ve X- gal (30 µg/ml) ilave edilmiş katı Luria-Bertani ortamına ekilerek 37 °C 'de 16 saat büyütüldü. 16 saat sonunda 0 (kontrol), 1 ve 6 saatlik örneklerin transformasyonundan 16 tane beyaz koloni elde edilmiştir.

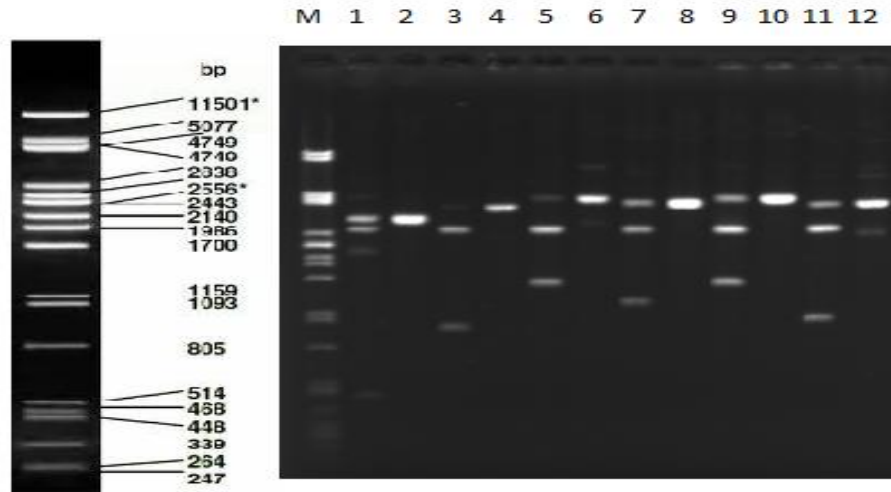
3.3.5 Plazmit İzolasyonu

İstenilen DNA'yı taşıdığı belirlenen koloniden Roche High Pure Plasmid İzolasyon Kiti kullanılarak 2.14.8'de belirtildiği biçimde plazmit izolasyonu yapıldı. 0, 1 saat ve 6 saat için izole edilen plazmitler *Pst*I ve *Eco*RI enzimleri ile kesilerek lineer hale getirilip şekil 3.4 ve şekil 3.5 te gösterildiği gibi jel üzerinde görüntülendi.



Şekil 3. 4 *PstI* ve *EcoRI* enzimleri ile kesilerek lineer hale getirilen plazmitlerin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü

M: *Pst I* ile kesilmiş λ DNA, 1. OF1 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 2. OF1 (*PstI* ile kesilmiş olan), 3. OF3 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 4. OF3 (*PstI* ile kesilmiş olan), 5. OF4 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 6. OF4 (*PstI* ile kesilmiş olan), 7. OF7 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 8. OF7 (*PstI* ile kesilmiş olan), 9. OF15 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 10. OF15 (*PstI* ile kesilmiş olan), 11. 1F2 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 12. 1F2 (*PstI* ile kesilmiş olan), 13. 1F4 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 14. 1F4 (*PstI* ile kesilmiş olan), 15. 1F6 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 16. 1F6 (*PstI* ile kesilmiş olan), 17. 1F7 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 18. 1F7 (*PstI* ile kesilmiş olan), 19. 1F10 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 20. 1F10 (*PstI* ile kesilmiş olan)

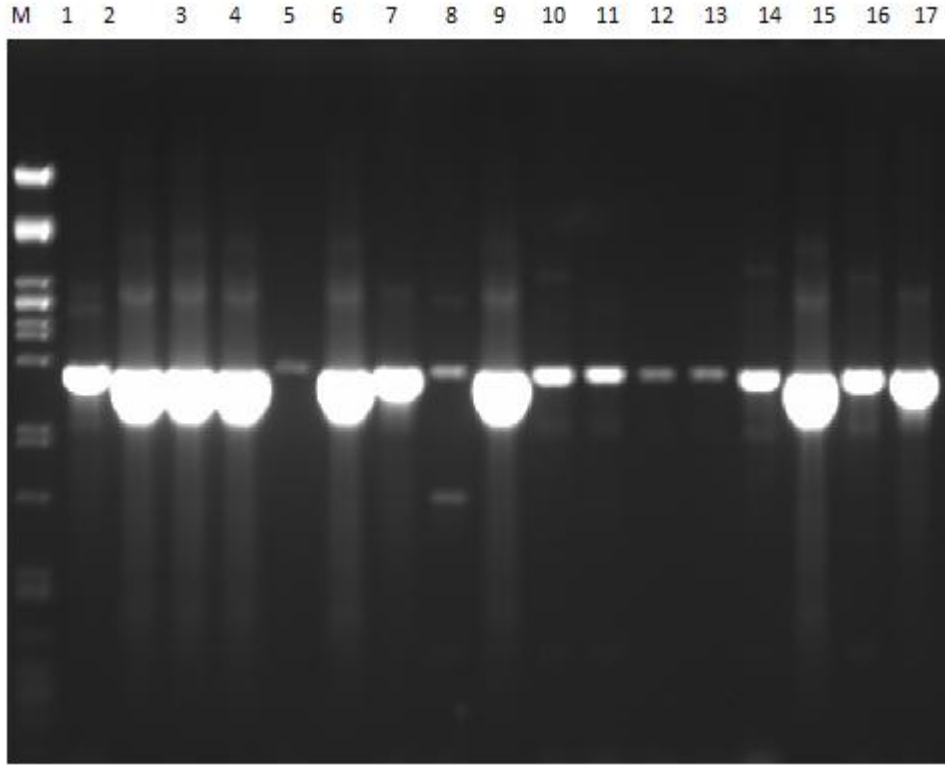


Şekil 3. 5 *PstI* ve *EcoRI* enzimleri ile kesilerek lineer hale getirilen plazmitlerin %1'lik agaroz jel üzerinde görüntüsü

M: *Pst I* ile kesilmiş λ DNA, 1. 6F1 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 2. 6F1 (*PstI* ile kesilmiş olan), 3. 6F2 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 4. 6F2 (*PstI* ile kesilmiş olan), 5. 6F8 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 6. 6F8 (*PstI* ile kesilmiş olan), 7. 6F11 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 8. 6F11 (*PstI* ile kesilmiş olan), 9. 6F15 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 10. 6F15 (*PstI* ile kesilmiş olan), 11. 6F17 (*EcoRI* ile kesilmiş olan), 12. 6F17 (*PstI* ile kesilmiş olan)

3.3.6 PCR Ürünlerinin Analizi

2.14.8’de anlatıldığı gibi yapılan plazmit izolasyonu işleminden sonra plazmitlerden kontrol amaçlı 2.14.9’da anlatıldığı gibi PCR reaksiyonu kurulmuştur. GF1 ve GR1 primerleriyle 55°C primer bağlanma sıcaklığında kurulan reaksiyonlar çalışmıştır. (Şekil 3.6)



Şekil 3. 6 PCR ürünlerinin %1’lik agaroz jel üzerinde görüntüsü

M: *Pst* I ile kesilmiş λ DNA, 1. 0F1 (Kontrol örneği plazmit DNA’sı), 2. 0F2 (Kontrol örneği plazmit DNA’sı), 3. 0F3 (Kontrol örneği plazmit DNA’sı), 4. 0F4 (Kontrol örneği plazmit DNA’sı), 5. 0F7 Kontrol örneği plazmit DNA’sı), 6. 0F15 (Kontrol örneği plazmit DNA’sı), 7. 1F4 (1 saat örneği plazmit DNA’sı), 8. 1F6 (1 saat örneği plazmit DNA’sı), 9. 1F7 (1 saat örneği plazmit DNA’sı), 10. 1F10 (1 saat örneği plazmit DNA’sı), 11. 6F1 (6 saat örneği plazmit DNA’sı), 12. 6F2 (6 saat örneği plazmit DNA’sı), 13. 6F8 (6 saat örneği plazmit DNA’sı), 14. 6F11 (6 saat örneği plazmit DNA’sı), 15. 6F15 (6 saat örneği plazmit DNA’sı), 16. 6F17 (6 saat örneği plazmit DNA’sı), 17. 1F2(1 saat örneği plazmit DNA’sı).

3.3.7 Dizin Analizi ve Benzerlik Analizleri

Pgem-T Easy vektörü polilinker bölgesinde iki *EcoRI* bölgesi tanıdığından *EcoRI* ile kesilen plazmitlerden cDNA’nın ayrılması beklenir. Ayrıca *PstI* ile kesilmiş plazmit de lineerize olmalıdır. Jel üzerinde tahmini olarak *EcoRI* ile kesilen plazmitlerden 6F2 ve 6F17 örnekleri yaklaşık 1000bp, 6F11, 0F7 ve 1F10 örnekleri yaklaşık 1300bp, 6F8,

6F15, 0F3, 0F4, 1F2, 1F4 ve 1F7 örneklerinden yaklaşık 1700bp, 1F6 örneğinden 600bp, 6F1 örneğinden 448bp, 0F1 örneğinden 339bp uzunluğunda fragmentler elde edilmiştir.

İstenilen DNA'yı içerdiği tespit edilen plazmitler 6F15, 6F11, 6F2, 0F7 ve 1F7 olarak adlandırıldı (Çizelge 3.2) ve Biogen firmasına dizin analizi yapılması için yollandı. Dizin analizi sonucuna göre 0F7, 1F7, 6F2, 6F11 ve 6F15 örneklerinin nükleotid ve aminoasit dizileri sırasıyla Şekil 3.7, Şekil 3.8, Şekil 3.9, Şekil 3.10 ve Şekil 3.11'da verilmiştir. En uzun dizi olan 6F15 örneğinden 1658 bp uzunluğunda bir dizin elde edildi.

Çizelge 3. 1 Dizin analizine gönderilen örneklerin adlandırılması

0f7	Fermentas enzimi ile PCR'dan elde edilen kontrol örneği
1f7	Fermentas enzimi ile PCR'dan elde edilen 1 saatlik soğuk stresine maruz kalmış örnek
6f2	Fermentas enzimi ile PCR'dan elde edilen 6 saatlik soğuk stresine maruz kalmış örnek
6f11	Fermentas enzimi ile PCR'dan elde edilen 6 saatlik soğuk stresine maruz kalmış örnek
6f15	Fermentas enzimi ile PCR'dan elde edilen 6 saatlik soğuk stresine maruz kalmış örnek

F1 Primeri

```

1 ATG GAT ATC CAA AGC AAC GTC CTG ACG ATT ACT AGC GGA TCC
  G Y P K Q R P D D Y * R I L
43 TCA CCA ACT GAC ACT TCC TCC AAT GGT CAG GCA GCC AAA TCC
  T N * H F L Q W S G S Q I H
85 ACC AAA GAA AGG ATC AAA CGC TCC GAT TTT CCC AGT GAC TTT
  Q R K D Q T L R F S Q * L C
127 GTA TTT GGC GCT GCA ACT GCT TCA TAT CAA GTT GAA GGT GCA
  I W R C N C F I S S * R C M
169 TGG AAC GAA GGA GGT AAA GGC ATG AGT AAT TGG GAT TAC TTT
  E R R R * R H E * L G L L Y
211 ACA CAG AGT CAA CCA GGT GGT ATT TCC GAC TTT AGC AAT GGC
  T E S T R W Y F R L * Q W H
253 ACT ATT GCA ATT GAT CAC TTT AAT ATG TTC AAG GAC GAT GTT
  Y C N * S L * Y V Q G R C C
295 GTC GTG ATG AAG AAA TTG GGT TTG AAA GCA TAC AGA TTT TCA
  R D E E I G F E S I Q I F T
337 CTT TCA TGG CCT AGA ATC TTG CCA GGA GGA AGA CTG TGT CAC
  F M A * N L A R R K T V S R
379 GGT GTA TCT AAA GAA GGA GTT CAG TTC TAT AAC GAT CTC ATT
  C I * R R S S V L * R S H *
421 GAT GCT CTC TTG GCA GCT GAC ATA GAG CCA TAT ATA ACT ATC
  C S L G S * H R A I Y N Y L
463 TTT CAC TGG GAT ATT CCC CAA TGT TTG CAA CTA GAG TAT GGT
  S L G Y S P M F A T R V W W
505 GGC TTC CTA CAT GAA AGA GTT GTG CAG GAT TTT AAT GAG TAT
  L P T * K S C A G F * * V F
547 TCT GAG ATT TGC TTC TGG GAA TTT GGT GAT CGG GTG AAA TAT
  * D L L L G I W * S G E I L
589 TGG ATT ACC TTG AAT GAG CCA TGG TCC TTT ACT GTT CAA GGA
  D Y L E * A M V L Y C S R I
631 TAT GTG GCT GGT GCT TTT CCG CCC AAT CGT GGT GTA ACT CCG
  C G W C F S A Q S W C N S E
673 AAA GAT ACT GAA GAA ACT AAA AAG CAT GCC CGT CTT CAT AGA
  R Y * R N * K A C P S S * R
715 GGT GGA GGA AAA CTT CTA GCT GCT TTC AAG TAT GGA AAT CCC
  W R K T S S C F Q V W K S R
757 GGC ACG GAA CCA TAT AAA GTG GCA CAC AAT TTA ATC CTT TGT
  H G T I * S G T Q F N P L S
799 CAT GCA CAT GCT GTG GAC ATA TAC AGA ACG AAA TAT GAG GAA
  C T C C G H I Q N E I S G K
841 AGT CAG GGA GGT AAG ATA GGG ATT ACA AAT TGC ATT AGT TGG
  S G R * D R D Y K L H * L E
883 AAT GAG CCT CTT ACT GAC TCT CAA GAA GAT AAA GAT GCT GCT
  * A S Y * L S R R * R C C Y
925 ACT AGA GGA AAT GAT TTT ATG CTT GGA TGG TTT GTG GAA CCA
  * R K * F Y A W M V C G T S
967 GTG GTA ACT GGG AGA GTA CCC AGA AAG TAT GAT TAA ATA TGT
  G N W E S T Q K V * L N M L
1009 TGG CCG ATC GCC TTC CTA AAT TTT CTG AAA AAG AGG AAA ACC
  A D R L P K F S E K E E N L
1051 TAG TGA AAG GAT CCT ACC ACT TTC CTA GGC ATA AAC TAC CAC
  V K G S Y H F P R H K L P H
1093 ACC GTC TAC TTA TAC CAA CGA ATG ATC CAA CAA AGC CGA CAA
  R L L I P T N D P T K P T T
1135 CTG ATA GTT ACT TTA CTG ATT CGC ACA CTA AGA CTT CAC ATG
  D S Y F T D S H T K T S H E
1177 AAC GCA ATA AGG TGC CTA TTG GTG CAC AGG CTG GTT CGG ATT
  R N K V P I G A Q A G S D W

```

Şekil 3. 7 OF7 nükleotid ve aminoasit dizini

1219	GGT	TAT	ACA	TAG	TTC	CAT	GGG	GAA	TCT	ACA	GAG	TTA	TGG	TTG
	L	Y	I	V	P	W	G	I	Y	R	V	M	V	D
1261	ATA	TGA	AGA	AAA	GAT	ATA	ATG	ATC	CGG	TTA	TTT	ACA	TTA	CAG
	M	K	K	R	Y	N	D	P	V	I	Y	I	T	E
1303	AGA	ATG	GAG	TGG	ATG	AAG	TAA	ACG	ATA	AGT	CCA	AGA	CTA	GTA
	N	G	V	D	E	V	N	D	K	S	K	T	S	T
1345	CCG	AAG	CTC	TA										
	E	A	L											

Şekil 3. 7 OF7 nükleotid ve aminoasit dizini (devamı)

F1 Primeri

1	ATG	GAT	ATC	CAA	AGC	AAC	GTC	CTG	ACG	ATT	ACT	AGC	GGA	TCC
	G	Y	P	K	Q	R	P	D	D	Y	*	R	I	L
43	TCA	CCA	ACT	GAC	ACT	TCC	TCC	AAT	GGT	CAG	GCA	GCC	AAA	TCC
	T	N	*	H	F	L	Q	W	S	G	S	Q	I	H
85	ACC	AAA	GAA	AGG	ATC	AAA	CGC	TCT	GAT	TTT	CCC	AGT	GAC	TTT
	Q	R	K	D	Q	T	L	*	F	S	Q	*	L	C
127	GTA	TTT	GGC	GCT	GCA	ACT	GCT	TCA	TAT	CAA	GTT	GAA	GGT	GCA
	I	W	R	C	N	C	F	I	S	S	*	R	C	M
169	TGG	AAC	GAA	GGA	GGT	AAA	GGC	ATG	AGT	AAT	TGG	GAT	TAC	TTT
	E	R	R	R	*	R	H	E	*	L	G	L	L	Y
211	ACA	CAG	AGT	CAA	CCA	GGT	GGT	ATT	TCC	GAC	TTT	AGC	AAT	GGC
	T	E	S	T	R	W	Y	F	R	L	*	Q	W	H
253	ACT	ATT	GCA	ATT	GAT	CAC	TTT	AAT	ATG	TTC	AAG	GAC	GAT	GTT
	Y	C	N	*	S	L	*	Y	V	Q	G	R	C	C
295	GTC	GTG	ATG	AAG	AAA	TTG	GGT	TTG	AAA	GCA	TAC	AGA	TTT	TCA
	R	D	E	E	I	G	F	E	S	I	Q	I	F	T
337	CTT	TCA	TGG	CCT	AGA	ATC	TTG	CCA	GGA	GGA	AGA	CTG	TGT	CAC
	F	M	A	*	N	L	A	R	R	K	T	V	S	R
379	GGT	GTA	TCT	AAA	GAA	GGA	GTT	CAG	TTC	TAT	AAC	GAT	CTC	ATT
	C	I	*	R	R	S	S	V	L	*	R	S	H	*
421	GAT	GCT	CTC	TTG	GCA	GCT	GAC	ATA	GAG	CCA	TAT	ATA	ACT	ATC
	C	S	L	G	S	*	H	R	A	I	Y	N	Y	L
463	TTT	CAC	TGG	GAT	ATT	CCC	CAA	TGT	TTG	CAA	CTA	GAG	TAT	GGT
	S	L	G	Y	S	P	M	F	A	T	R	V	W	W
505	GGC	TTC	CTA	CAT	GAA	AGA	GTT	GTG	CAG	GAT	TTT	ATT	GAG	TAT
	L	P	T	*	K	S	C	A	G	F	Y	*	V	F
547	TCT	GAG	ATT	TGC	TTC	TGG	GAA	TTT	GGT	GAT	CGG	GTG	AAA	TAT
	*	D	L	L	L	G	I	W	*	S	G	E	I	L
589	TGG	ATT	ACC	TTG	AAT	GAG	CCA	TGG	TCC	TTT	ACT	GTT	CAA	GGA
	D	Y	L	E	*	A	M	V	L	Y	C	S	R	I
631	TAT	GTG	GCT	GGT	GCT	TTT	CCG	CCC	AAT	CGT	GGT	GTA	ACT	CCG
	C	G	W	C	F	S	A	Q	S	W	C	N	S	E
673	AAA	GAT	ACT	GAA	GAA	ACT	AAA	AAG	CAT	GCC	CGT	CTT	CAT	AGA
	R	Y	*	R	N	*	K	A	C	P	S	S	*	R
715	GGT	GGA	GGA	AAA	CTT	CTA	ACT	GCT	TTC	AAG	TAT	GGA	AAT	CCC
	W	R	K	T	S	N	C	F	Q	V	W	K	S	R
757	GGC	ACG	GAA	CCA	TAT	AAA	GTG	GCA	CAC	AAT	TTA	ATC	CTT	TGT
	H	G	T	I	*	S	G	T	Q	F	N	P	L	S
799	CAT	GCA	CAT	GCT	GTG	GAC	ATA	TAC	AGA	ACG	AAA	TAT	CAG	GAA
	C	T	C	C	G	H	I	Q	N	E	I	S	G	K
841	AGT	CAA	GGA	GGT	AAG	ATA	GGG	ATT	ACA	AAT	TGC	ATT	AGT	TGG
	S	R	R	*	D	R	D	Y	K	L	H	*	L	E
883	AAT	GAG	CCT	CTT	ACT	GAC	TCT	CAA	GAA	GAT	AAA	GAT	GCT	GCT
	*	A	S	Y	*	L	S	R	R	*	R	C	C	Y
925	ACT	AGA	GGA	AAT	GAT	TTT	ATG	CTT	GGA	TGG	TTT	GTG	GAA	CCA
	*	R	K	*	F	Y	A	W	M	V	C	G	T	S
967	GTG	GTA	ACT	GGA	GAG	TAC	CCA	GAA	AGT	ATG	ATT	AAA	AAT	GTT
	G	N	W	R	V	P	R	K	Y	D	*	K	C	W
1009	GGT	GAT	CGC	CTT	CCT	AAA	TTT	TCT	GAA	AAA	GAG	GAG	AAG	CTA
	*	S	P	S	*	I	F	*	K	R	G	E	A	S
1051	GTG	AAA	GGA	TCC	TAT	GAC	TTT	CTA	GGC	ATA	AAC	TAC	TAC	CCG
	E	R	I	L	*	L	S	R	H	K	L	L	P	V
1093	TCT	ACT	TAT	ACC	AGC	GAT	GAT	CCG	ACA	AAG	CCG	ACA	ACT	GGA
	Y	L	Y	Q	R	*	S	D	K	A	D	N	W	I
1135	TAG	TTA	CTT	GAC	TGA	TTC	CCC	GAC	TAA	AAC	TTC	CAA	TGA	ACG
	V	T	*	L	I	P	R	L	K	L	P	M	N	A
1177	CAA	TAA	GGT	GCC	TAT	TGG	TGG	CCA	AGG	CTG	GTT	CCG	AAT	TGG
	I	R	C	L	L	V	A	K	A	G	S	E	L	V

Şekil 3. 8 1F7 nükleotid ve aminoasit dizini

1219	TTA	ACC	ATA	GTT	TCC	ATG	GGG	AAT	TTC	AAA	AGT	TAT	GGT	TGA
	N	H	S	F	H	G	E	F	Q	K	L	W	L	N
1261	ATT	GGA	GAA	AAA	GAT	ATA	AGG	TTC	CGG	GTA	TTT	CAT	TTA	CGA
	W	R	K	R	Y	K	V	P	G	I	S	F	T	R
1303	GAA	AGG	GGG	GGA	ATG	AAG	ATA	AGG	GAA	AGT	CCC	ACC	AAT	AAT
	K	G	G	N	E	D	K	G	K	S	H	Q	*	S
1345	CCC	AAC	TCT	CCA	AGG	GTG	ATA	AAG	GGT	TCC	CTC	ACC	CAA	AAA
	Q	L	S	K	G	D	K	G	F	P	H	P	K	N
1387	ATT	CTT	AC											
	S	Y												

Şekil 3. 8 1F7 nükleotid ve aminoasit dizini (devamı)

F1 Primeri

1	ATG	GAT	ATT	CCA	AAA	GGC	AAC	GTC	CTG	ACC	GAT	TAC	TAG	CGG
	M	D	I	P	K	G	N	V	L	T	D	Y	*	R
43	ATC	CTC	ACC	AAC	TGA	CAC	TTC	CTC	CAA	TGG	TCA	GGC	AGC	CAA
	I	L	T	N	*	H	F	L	Q	W	S	G	S	Q
85	ATC	CAC	CAA	AGA	AAG	GAT	CAA	ACG	CTC	TGA	TTT	TCC	CAG	TGA
	I	H	Q	R	K	D	Q	T	L	*	F	S	Q	*
127	CTT	TGT	ATT	TGG	CGC	TGC	AAC	TGC	TTC	ATA	TCA	AGT	TGA	AGG
	L	C	I	W	R	C	N	C	F	I	S	S	*	R
169	TGC	ATG	GAA	CGA	AGG	AGG	TAA	AGG	CAT	GAG	TAA	TTG	GGA	TTA
	C	M	E	R	R	R	*	R	H	E	*	L	G	L
211	CTT	TAC	ACA	GAG	TCA	ACC	AGG	TGG	TAT	TTC	CGA	CTT	TAG	CAA
	L	Y	T	E	S	T	R	W	Y	F	R	L	*	Q
253	TGG	CAC	TAT	TGC	AAT	TGA	TCA	CTT	TAA	TAT	GTT	CAA	GGA	CGA
	W	H	Y	C	N	*	S	L	*	Y	V	Q	G	R
295	TGT	TGT	CGT	GAT	GAA	GAA	ATT	GGG	TTT	GAA	AGC	ATA	CAG	ATT
	C	C	R	D	E	E	I	G	F	E	S	I	Q	I
337	TTC	ACT	TTC	ATG	GCC	TAG	AAT	CTT	GCC	AGG	AGG	AAG	ACT	GTG
	F	T	F	M	A	*	N	L	A	R	R	K	T	V
379	TCA	CGG	TGT	ATC	TAA	AGA	AGG	AGT	TCA	GTT	CTA	TAA	CGA	TCT
	S	R	C	I	*	R	R	S	S	V	L	*	R	S
421	CAT	TGA	TGC	ACT	CTT	GGC	AGC	TGA	CAT	AGA	GCC	ATA	TAT	AAC
	H	*	C	T	L	G	S	*	H	R	A	I	Y	N
463	TAT	CTT	TCA	CTG	GGA	TAT	TCC	CCA	ATG	TTT	GCA	ACT	AGA	GTA
	Y	L	S	L	G	Y	S	P	M	F	A	T	R	V
505	TGG	TGG	CTT	CCT	ACA	TGA	AAG	AGT	TGT	GCA	GGA	TTT	TAT	TGA
	W	W	L	P	T	*	K	S	C	A	G	F	Y	*
547	GTA	TTC	TGA	GAT	TTG	CTT	CTG	GGA	ATT	TGG	TGA	TCG	GGT	GAA
	V	F	*	D	L	L	L	G	I	W	*	S	G	E
589	ATA	TTG	GAT	TAC	CTT	GAA	TGA	GCC	ATG	GTC	CTT	TAC	TGT	TCA
	I	L	D	Y	L	E	*	A	M	V	L	Y	C	S
631	AGG	ATA	TGT	GGC	TGG	TGC	TTT	TCC	GCC	CAA	TCG	TGG	TGT	AAC
	R	I	C	G	W	C	F	S	A	Q	S	W	C	N
673	TCC	GAA	AGA	TAC	TGA	AGA	AAC	TAA	AAA	GCA	TGC	CCG	TCT	TCA
	S	E	R	Y	*	R	N	*	K	A	C	P	S	S
715	TAG	AGG	TGG	AGG	AAA	ACT	TCT	AGC	TGC	TTT	CAA	GTA	TGG	AAA
	*	R	W	R	K	T	S	S	C	F	Q	V	W	K
757	TCC	CGG	CAC	GGA	ACC	ATA	TAA	AGT	GGC	ACA	CAA	TTT	AAT	CCT
	S	R	H	G	T	I	*	S	G	T	Q	F	N	P
799	TTG	TCA	TGC	ACA	TGC	TGT	GGA	CAT	ATA	CAG	AAC	GAA	ATA	TCA
	L	S	C	T	C	C	G	H	I	Q	N	E	I	S
841	GGA	AAG	TCA	GGG	AGG	TAA	GAT	AGG	GAT	TAC	AAA	TTG	CAT	TAG
	G	K	S	G	R	*	D	R	D	Y	K	L	H	*
883	TTT	GGA	ATG	AGC	CTC	TTA	CTG	ACT	CTC	AAG	AAG	ATA	AAG	ATG
	F	G	M	S	L	L	L	T	L	K	K	I	K	M
925	CTG	CTA	CTA	GAG	GAA	ATG	ATT	TTA	TGC	TTG	GAT	GGT	TTG	TGG
	L	L	L	E	E	M	I	L	C	L	D	G	L	W
967	AAA	CCA	GTG	GTA	ACT	GGA	GAG	TAC	CCA	GAA	AGT	ATG	ATT	AAA
	K	P	V	T	G	E	Y	P	E	S	M	I	K	
1009	TAT	GTT	GGC	GAT	CGC	CTT	CCT	AAA	TTT	TCT	AAT	CAC	TA	
	Y	V	G	D	R	L	P	K	F	S	N	H		

Şekil 3. 9 6F2 nükleotid ve aminoasit dizini

F1 Primeri

```

1  ATG GGA TAT CCA AAG CAA CGT CCT CGC ATT TAT TAC TAG CGG
   G I S K A T S S H L L L A D
43 ATC CTC ACC AAC TGA CAC TTC CTC CAA TGG TCA GGC AGC CAA
   P H Q L T L P P M V R Q P N
85 ATC CAC CAA AGA AAG GAT CAA ACG CTC TGA TTT TCC CAG TGA
   P P K K G S N A L I F P V T
127 CTT TGT ATT TGG CGC TGC AAC TGC TTC ATA TCA AGT TGA AGG
   L Y L A L Q L L H I K L K V
169 TGC ATG GAA CGA AGG AGG TAA AGG CAT GAG TAA TTG GGA TTA
   H G T K E V K A * V I G I T
211 CTT TAC ACA GAG TCA ACC AGG TGG TAT TTC CGA CTT TAG CAA
   L H R V N Q V V F P T L A M
253 TGG CAC TAT TGC AAT TGA TCA CTT TAA TAT GTT CAA GGA CGA
   A L L Q L I T L I C S R T M
295 TGT TGT CGT GAT GAA GAA ATT GGG TTT GAA AGC ATA CAG ATT
   L S * * R N W V * K H T D F
337 TTC AAT TTC ATG GCC TAG AAT CTT GCC AGG AGG GAA GAC TGT
   Q F H G L E S C Q E G R L C
379 GTC ACG GTG AAT CTA AAG AAG GAG TTC AGT TCT ATA ACG ATC
   H G E S K E G V Q F Y N D L
421 TCA TTG ATG CTC TCT TGG CAG CTG ACA TAG AAC CCA TAT ATA
   I D A L L A A D I E P I Y N
463 ACT ATC TTT CAC TGG GGA TAT TCC CCA ATG TTT GCA ACT AGA
   Y L S L G I F P N V C N * S
505 GTA TGG TGG CTT TCC TAC ATG AAA AGA GTT GTG CAA GGA TTT
   M V A F L H E K S C A R I L
547 TAT TGA GTA TTC TGA GAT TTG CTT CTG GGA ATT TGG TGA TCG
   L S I L R F A S G N L V I G
589 GGT GAA ATA TTG GAT TAC CTT GAA TGA GCC ATG GTC CTT TAC
   * N I G L P * M S H G P L L
631 TGT TCA AGG ATA TGT GGC TGG TGC TTT TCC GCC CAA TCG TGG
   F K D M W L V L F R P I V V
673 TGT AAC TCC GAA AGA TAC TGA AGA AAC TAA AAA GCA TGC CCG
   * L R K I L K K L K S M P V
715 TCT TCA TAG AGG TGG AGG AAA ACT TCT AAC TGC TTT CAA GTA
   F I E V E E N F * L L S S M
757 TGG AAA TCC CGG CAC GGA ACC ATA TAA AGT GGC ACA CAA TTT
   E I P A R N H I K W H T I *
799 AAT CCT TTG TCA TGC ACA TGC TGT GGA CAT ATA GAC AAC GAA
   S F V M H M L W T Y T E R N
841 ATA TCA GGA AAG TCA AGG AGG TAA GAT AGG GGA TTA CAA ATT
   I R K V K E V R * G I T N C
883 GCA TTA GTT GGA ATG AGC CTC TTA CTG ACT CTC AAG AAG ATA
   I S W N E P L T D S Q E D K
925 AAG ATG CTG CTA CTA AAG GAA ATG ATT TTT ATG CTT GGA AGG
   D A A T K G N D F Y A W K G
967 GTT TGT GGA ACC AGT GGT AAC CGG GAG AGT ACC CAG AAA GGA
   L W N Q W * P G E Y P E R M
1009 TGA TTA AAA ATG CTG GGG ATC GCC TTC CTA AAT TTT CTG AAA
   I K N A G D R L P K F S E K
1051 AAG AGG AGA AGC TAG TGA AAG GAT CCT ATG ACT TTC TAG GCA
   E E K L V K G S Y D F L G I
1093 TAA ACT ACT ACA CGT CTA CTT ATA CCA GCG ATG ATC CGA CAA
   N Y Y T S T Y T S D D P T K
1135 AGC CGA CAA CTG ATA GTT ACT TGA CTG ATT CGC GCA CTA AGA
   P T T D S Y L T D S R T K T
1177 CTT CAC ATG AAC GCA ATA AGG TGC CTA TTG GTG CAC AGG CTG
   S H E R N K V P I G A Q A G

```

Şekil 3. 10 6F11 nükleotid ve aminoasit dizini

1219	GTT	CGG	ATT	GGT	TAT	ACA	TAG	TTC	CAT	GGG	GAA	TTT	ACA	GAG
	S	D	W	L	Y	I	V	P	W	G	I	Y	R	V
1261	TTA	TGG	TTG	ATA	TGA	AGA	AAA	GAT	ATA	ATG	ATC	CGG	TTA	TTT
	M	V	D	M	K	K	R	Y	N	D	P	V	I	Y
1303	ACA	TTA	CAG	AGA	ATG	GAG	TGG	ATG	AAG	TAA	ATG	ATA	AGT	CCA
	I	T	E	N	G	V	D	E	V	N	D	K	S	K
1345	AGA	CAT	AGG	GAC	CAA	ATC	TCT	TAG	TGC	AAT	TCG	ACG	GGC	CCC
	T	*	G	P	N	L	L	V	Q	F	D	G	P	P
1387	CAG	ACA												
	D													

Şekil 3. 10 6F11 nükleotid ve aminoasit dizini (devamı)

F1 primeri

1	ATG	GAT	ATC	CAA	AGC	AAC	GTC	CTG	ACG	ATT	ACT	AGC	GGA	TCC
	M	D	I	Q	S	N	V	L	T	I	T	S	G	S
43	TCA	CCA	ACT	GAC	ACT	TCC	TCC	AAT	GGT	CAG	GCA	GCC	AAA	TCC
	S	P	T	D	T	S	S	N	G	Q	A	A	K	S
85	ACC	AAA	GAA	AGG	ATC	AAA	CGC	TCT	GAT	TTT	CCC	AGT	GAC	TTT
	T	K	E	R	I	K	R	S	D	F	P	S	D	F
127	GTA	TTT	GGC	GCT	GCA	ACT	GCT	TCA	TAT	CAA	GTT	GAA	GGT	GCA
	V	F	G	A	A	T	A	S	Y	Q	V	E	G	A
169	TGG	AAC	GAA	GGA	GGT	AAA	GGC	ATG	AGT	AAT	TGG	GAT	TAC	TTT
	W	N	E	G	G	K	G	M	S	N	W	D	Y	F
211	ACA	CAG	AGT	CAA	CCA	GGT	GGT	ATT	TCC	GAC	TTT	AGC	AAT	GGC
	T	Q	S	Q	P	G	G	I	S	D	F	S	N	G
253	ACT	ATT	GCA	ATT	GAT	CAC	TTT	AAT	ATG	TTC	AAG	GAC	GAT	GTT
	T	I	A	I	D	H	F	N	M	F	K	D	D	V
295	GTC	GTG	ATG	AAG	AAA	TTG	GGT	TTG	AAA	GCA	TAC	AGA	TTT	TCA
	V	V	M	K	K	L	G	L	K	A	Y	R	F	S
337	CTT	TCA	TGG	CCT	AGA	ATC	TTG	CCA	GGA	GGA	AGA	CTG	TGT	CAC
	L	S	W	P	R	I	L	P	G	G	R	L	C	H
379	GGT	GTA	TCT	AAA	GAA	GGA	GTT	CAG	TTC	TAT	AAC	GAT	CTC	ATT
	G	V	S	K	E	G	V	Q	F	Y	N	D	L	I
421	GAT	GCA	CTC	TTG	GCA	GCT	GAC	ATA	GAG	CCA	TAT	ATA	ACT	ATC
	D	A	L	L	A	A	D	I	E	P	Y	I	T	I
463	TTT	CAC	TGG	GAT	ATT	CCC	CAA	TGT	TTG	CAA	CTA	GAG	TAT	GGT
	F	H	W	D	I	P	Q	C	L	Q	L	E	Y	G
505	GGC	TTC	CTA	CAT	GAA	AGA	GTT	GTG	CAG	GAT	TTT	ATT	GAG	TAT
	G	F	L	H	E	R	V	V	Q	D	F	I	E	Y
547	TCT	GAG	ATT	TGC	TTC	TGG	GAA	TTT	GGT	GAT	CGG	GTG	AAA	TAT
	S	E	I	C	F	W	E	F	G	D	R	V	K	Y
589	TGG	ATT	ACC	TTG	AAT	GAG	CCA	TGG	TCC	TTT	ACT	GTT	CAA	GGA
	W	I	T	L	N	E	P	W	S	F	T	V	Q	G
631	TAT	GTG	GCT	GGT	GCT	TTT	CCG	CCC	AAT	CGT	GGT	GTA	ACT	CCG
	Y	V	A	G	A	F	P	P	N	R	G	V	T	P
673	AAA	GAT	ACT	GAA	GAA	ACT	AAA	AAG	CAT	GCC	CGT	CTT	CAT	AGA
	K	D	T	E	E	T	K	K	H	A	R	L	H	R
715	GGT	GGA	GGA	AAA	CTT	CTA	ACT	GCT	TTC	AAG	TAT	GGA	AAT	CCC
	G	G	G	K	L	L	T	A	F	K	Y	G	N	P
757	GGC	ACG	GAA	CCA	TAT	AAA	GTG	GCA	CAC	AAT	TTA	ATC	CTT	TGT
	G	T	E	P	Y	K	V	A	H	N	L	I	L	C
799	CAT	GCA	CAT	GCT	GTG	GAC	ATA	TAC	AGA	ACG	AAA	TAT	CAG	GAA
	H	A	H	A	V	D	I	Y	R	T	K	Y	Q	E
841	AGT	CAA	GGA	GGT	AAG	ATA	GGG	ATT	ACA	AAT	TGC	ATT	AGT	TGG
	S	Q	G	G	K	I	G	I	T	N	C	I	S	W
883	AAT	GAG	CCT	CTT	ACT	GAC	TCT	CAA	GAA	GAT	AAA	GAT	GCT	GCT
	N	E	P	L	T	D	S	Q	E	D	K	D	A	A
925	ACT	AGA	GGA	AAT	GAT	TTT	ATG	CTT	GGG	ATG	GTT	TGT	GGA	ACC
	T	R	G	N	D	F	M	L	G	M	V	C	G	T
967	AGA	GGT	AAC	TGG	AGA	GTA	CCC	AGA	AAG	TAT	GAT	TAA	AAA	TGT
	R	G	N	W	R	V	P	R	K	Y	D	*	K	C
1009	TGG	TGA	TCG	CCT	TCC	TAA	ATT	TTC	TGA	AAA	AGA	GGA	GAA	GCT
	W	*	S	P	S	*	I	F	*	K	R	G	E	A
1051	AGT	GAA	AGG	ATC	CTA	TGA	CTT	TCT	AGG	CAT	AAA	CTA	CTA	CAC
	S	E	R	I	L	*	L	S	R	H	K	L	L	H
1093	GGT	CTA	CCT	ATA	CAA	GCG	ATG	ATT	CCG	ACA	AAG	CCG	AAC	AAC
	G	L	P	I	Q	A	M	I	P	T	K	P	N	N
1135	TGA	TTA	GGT	ACT	TGA	CTG	ATT	CGC	GGC	CAC	TAA	GAA	CTT	CAC
	*	L	G	T	*	L	I	R	G	H	*	E	L	H
1177	ATT	GAA	CGC	AAT	AAG	GTG	CCT	ATT	GGT	GCA	CAG	GCT	GGT	TCG
	I	E	R	N	K	V	P	I	G	A	Q	A	G	S

Şekil 3. 11 6F15 nükleotid ve aminoasit dizini

```

1219 GAT TGG TTA TAC ATA GTT CCA TGG GGA ATT TAC AGA GTT ATG
    D W L Y I V P W G I Y R V M
1261 GTT GAT ATG AAG AAA AGA TAT AAT GAT CCG GTT ATT TAC ATT
    V D M K K R Y N D P V I Y I
1303 ACA GAG AAT GGA GTG GAT GAA GTA AAT GAT AAG TCC AAG ACT
    T E N G V D E V N D K S K T
1345 AGT ACC GAA GCT CTC AAG GAT GAT ATA AGG ATT CAC TAT CAC
    S T E A L K D D I R I H Y H
1387 CAA GAA CAT CTC TAC TAC CTT AAG CTA GCG ATG GAC CAA GGT
    Q E H L Y Y L K L A M D Q G
1429 GTA AAT TTG AAG GGT TAC TTC ATA TGG TCG TTG TTC GAC AAT
    V N L K G Y F I W S L F D N
1471 TTT GAA TGG GCT GCT GGA TTC AGT GTT AGA TTT GGC GTT ACG
    F E W A A G F S V R F G V T
1513 TAT GTA GAC TAC GCT AAT GGT CGT TAC ACA AGG TTG CCA AAA
    Y V D Y A N G R Y T R L P K
1555 CGT TCA GCT GTA TGG TGG AGG AAC TTC CTC ACC AAG CCT ACA
    R S A V W W R N F L T K P T
1597 GCA GTT CCA TTG AAG AAT GAA CCT GAA AAA TCT GAA GAT CGT
    A V P L K N E P E K S E D R
1639 CGT AAA AGG CTT AGA GGC A
    R K R L R G

```

R1 primeri

Şekil 3. 11 6F15 nükleotid ve aminoasit dizini (devamı)

Elde edilen 1658 bp uzunluğundaki DNA dizininin GenBank veritabanında kaydedilmiş dizilere benzerliklerinin ve olası fonksiyonlarının belirlenmesinde BLAST programı NCBI web sitesinden kullanıldı. BLAST programı yaygın olarak kullanılan dizi benzerlik sorgulaması programıdır. CHROMAS programı ile vektör dizileri çıkarılan dizinin BLASTN (nükleotid veritabanlı benzerlik araştırması) ve BLASTP (aminoasit veritabanlı benzerlik araştırılması) analizi yapıldı. BLASTN analizlerinin sonuçları üç bölüm halindedir. Birinci bölüm (Şekil 3.12 A), dizinin özelliği hakkında bilgi verir ve benzerlik skorunu grafiksel olarak gösterir. İkinci bölüm (Şekil 3.12 B), incelenen dizi ile benzerlik gösteren sekansları ve bu sekansların analiz sonuçlarını verir. Analiz sonuçlarında, veritabanındaki dizilerin tanınmasını sağlayan numaralar (Accession number), benzerlik gösteren dizinin fonksiyonuna ve ait olduğu organizmaya ait bilgi (Description), karşılaştırılan dizilerin uzunluk anlamında ne derece birbirlerini kapsadıkları (Query Coverage), karşılaştırılan dizilerin bir pozisyonda aynı nükleotide sahip olmasının rastlantısal olabilme durumu (E- value terimi), birbirleri arasında benzerlik tespit edilen

diziler arasındaki homolojinin derecesi (Maximum Identity) belirtilir. Üçüncü bölüm (Şekil 3.12 C) ise benzerlikleri verilen dizilerin karşılaştırmalı olarak nükleotid düzeyinde benzerliklerini verir.



Şekil 3. 12 DNA fragmenti dizininin BLAST analizi sonuçlarının NCBI web sayfasındaki görüntüsü (A. Birinci bölüm, B. İkinci bölüm, C. Üçüncü bölüm)

6F15 fragmanı BLASTN analizi sonucu ilk sırada *Olea europaea* beta glukozidaz kısmi mRNA dizinine benzerlik göstermiştir (Çizelge 3.3). Tüm benzerlik listesi Ek A'da verilmiştir.

Çizelge 3. 2 BLASTN analizi sonuçları

İsim	Primerler	Dizi Uzunluğu	BLASTN	Skor
0F7	GF1-GR1	1355	<i>Olea europaea</i> L.β-glukozidaz	2362
1F7	GF1-GR1	1394	<i>Olea europaea</i> L.β-glukozidaz	2156
6F2	GF1-GR1	1046	<i>Olea europaea</i> L.β-glukozidaz	1845
6F11	GF1-GR1	1392	<i>Olea europaea</i> L. β-glukozidaz	2230
6F15	GF1-GR1	1657	<i>Olea europaea</i> L. β-glukozidaz	2835

BLASTP analizleri için dizinlerin protein bilgisi kullanıldı. Dizin okumalarındaki olası yanlışlıklar frame kaymalarına neden olabilir. Bu nedenlerle EMBOSS Transeq internet programında kontiglere ait proteinlerin 1., 2. ve 3. framelerde aminoasit dizin bilgisi oluşturuldu [95]. Her üç frame için BLASTP analizleri yapıldı (Çizelge 3.4). 0F7,1F7, 6F2, 6F11, 6F15 dizinlerinin BLASTP analizi sonuçları Ek A, Ek B, Ek C, Ek D ve Ek E'de verilmiştir.

Çizelge 3. 3 BLASTP sonuçları

İsim	Dizi Uzunluğu	Korunmuş Domain	BLASTP	Skor
0F7 Frame1	452	Glikozil hidrolaz 1 ailesi	β -glukozidaz [<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i>]	687
1F7 Frame 1	465	Glikozil hidrolaz 1 ailesi	β -glukozidaz [<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i>]	775
6F2 Frame 2	349	Glikozil hidrolaz 1 ailesi	β -glukozidaz [<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i>]	594
6F11 Frame 1	464	Glikozil hidrolaz 1 ailesi	β -glukozidaz [<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i>]	481
6F15 Frame 1	553	Glikozil hidrolaz 1 ailesi	β -glukozidaz [<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i>]	968

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada soğuk stres verilen zeytin bitkisinden β -glukozidaz geni cDNA'sı klonlandı. Laboratuvarımızda daha önce yapılan çalışmada, zeytin EST koleksiyonu oluşturulmuştu ve bunların içinden biyoteknolojik değere sahip β -glukozidaz genini kodlayan kontig dizisi seçildi. Kontig dizin bilgisinden yararlanılarak Primer 3 programı ile gen spesifik primerler tasarlandı. Öncelikle soğuk stres verilen zeytin bitkisinin yapraklarından total RNA izolasyonu yapıldı ve daha sonra cDNA sentezi gerçekleştirildi. cDNA sentezinin ardından, elimizdeki kontig bilgisinden yararlanarak tasarlanan ileri ve geri primerler kullanılarak RT-PCR uygulandı. PCR işleminin başarıyla uygulanmasıyla istenilen uzunluktaki bant jelden pürifiye edildi ve ligasyon işleminin ardından transformasyon yapıldı. Mavi beyaz seçiliminin ardından seçilen kolonilerden plazmit izole edildi ve plazmitlerin uygun enzimlerle kesilmesinden sonra örnekler agaroz jelde görüntülendi. Jel sonucunda en büyüğü yaklaşık 1700 bp olmak üzere birkaç tane farklı fragman gözlemlendi. Farklı büyüklükte fragman elde edilmesinin nedeni β -glukozidaz geninin, primerleri tasarladığımız bölgede yüksek homoloji gösteren farklı izomerlerinin çoğalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İçlerinden seçilen farklı büyüklükteki örnekler dizin analizine gönderildi. Dizin analizi sonuçları, Chromas ve BioEdit gibi iyoformatik programları aracılığı ile değerlendirildi. Buna göre cDNA fragmanı'nın nükleotid dizini BLASTN analizi sonucu NCBI veri tabanlarında bulunan zeytin β -glukozidaz kontig dizinine %98 benzerlik göstermektedir (Şekil 4.1).

AY083162	ACCAAAGTCTGCAACTTACACTACTTCAAAGAGCACCAAAGTCTGCAATGG-ATATCC--	57
0F7	-----ATGG-ATATCC--	10
6F11	-----ATGGGATATCC--	11
6f15	-----ATGG-ATATCC--	10
6f2	-----ATGG-ATATCCA	12
1F7	-----ATGG-ATATCC--	10
	**** * * *	
AY083162	-AAAGCAACGTCCTGACG---ATTACTAGCGGATCCACCAACTGACACTTCCTCCAAT	113
0F7	-AAAGCAACGTCCTGACG---ATTACTAGCGGATCCACCAACTGACACTTCCTCCAAT	66
6F11	-AAAGCAACGTCCTCGCATTATTACTAGCGGATCCACCAACTGACACTTCCTCCAAT	70
6f15	-AAAGCAACGTCCTGACG---ATTACTAGCGGATCCACCAACTGACACTTCCTCCAAT	66
6f2	AAAGGCAACGTCCTGACC--GATTACTAGCGGATCCACCAACTGACACTTCCTCCAAT	70
1F7	-AAAGCAACGTCCTGAC---GATTACTAGCGGATCCACCAACTGACACTTCCTCCAAT	66
	** ***** *	
AY083162	GGTCAGGCAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTT	173
0F7	GGTCAGGCAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCCGATTTTCCCAGTGACTTT	126
6F11	GGTCAGGCAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTT	130
6f15	GGTCAGGCAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTT	126
6f2	GGTCAGGCAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTT	130
1F7	GGTCAGGCAGCCAAATCCACCAAAGAAAGGATCAAACGCTCTGATTTTCCCAGTGACTTT	126

AY083162	GTATTTGGCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAA	233
0F7	GTATTTGGCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAA	186
6F11	GTATTTGGCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAA	190
6f15	GTATTTGGCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAA	186
6f2	GTATTTGGCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAA	190
1F7	GTATTTGGCGCTGCAACTGCTTCATATCAAGTTGAAGGTGCATGGAACGAAGGAGGTAAA	186

AY083162	GGCATGAGTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGC	293
0F7	GGCATGAGTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGC	246
6F11	GGCATGAGTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGC	250
6f15	GGCATGAGTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGC	246
6f2	GGCATGAGTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGC	250
1F7	GGCATGAGTAATTGGGATTACTTTACACAGAGTCAACCAGGTGGTATTTCCGACTTTAGC	246

AY083162	AATGGCACTATTGCAATTGATCACTATAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAG	353
0F7	AATGGCACTATTGCAATTGATCACTTTAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAG	306
6F11	AATGGCACTATTGCAATTGATCACTTTAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAG	310
6f15	AATGGCACTATTGCAATTGATCACTTTAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAG	306
6f2	AATGGCACTATTGCAATTGATCACTTTAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAG	310
1F7	AATGGCACTATTGCAATTGATCACTTTAATATGTTCAAGGACGATGTTGTCGTGATGAAG	306

AY083162	AAATTGGGTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGG-	412
0F7	AAATTGGGTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGG-	365
6F11	AAATTGGGTTTGAAAGCATACAGATTTTCAATTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGGG	370
6f15	AAATTGGGTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGG-	365
6f2	AAATTGGGTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGG-	369
1F7	AAATTGGGTTTGAAAGCATACAGATTTTCACTTTTCATGGCCTAGAATCTTGCCAGGAGG-	365

AY083162	AAGACTGTGTACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATTGATGC	472
0F7	AAGACTGTGTACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATTGATGC	425
6F11	AAGACTGTGTACGGTGAATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATTGATGC	430
6f15	AAGACTGTGTACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATTGATGC	425
6f2	AAGACTGTGTACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATTGATGC	429
1F7	AAGACTGTGTACGGTGTATCTAAAGAAGGAGTTCAGTTCTATAACGATCTCATTGATGC	425

AY083162	ACTCTTGGCAGCTGACATAGAGCC-ATATATAACTATCTTTCACTGGG-ATATTCCCCAA	530
0F7	TCTCTTGGCAGCTGACATAGAGCC-ATATATAACTATCTTTCACTGGG-ATATTCCCCAA	483
6F11	TCTCTTGGCAGCTGACATAGACCCATATATAACTATCTTTCACTGGGATATTTCCCCAA	490
6f15	ACTCTTGGCAGCTGACATAGAGCC-ATATATAACTATCTTTCACTGGG-ATATTCCCCAA	483
6f2	ACTCTTGGCAGCTGACATAGAGCC-ATATATAACTATCTTTCACTGGG-ATATTCCCCAA	487
1F7	TCTCTTGGCAGCTGACATAGAGCC-ATATATAACTATCTTTCACTGGG-ATATTCCCCAA	483

Şekil 4. 1 cDNAdan elde edilen dizinlerin ve AY083162 dizinin hizalama analizi

AY083162	TGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTT-CCTACATGAAA-GAGTTGTG-AAGGATTTTATT	587
0F7	TGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTT-CCTACATGAAA-GAGTTGTG-CAGGATTTTAAAT	540
6F11	TGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTTTCCTACATGAAAAGAGTTGTGCAAGGATTTTATT	550
6f15	TGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTT-CCTACATGAAA-GAGTTGTGCA-GGATTTTATT	540
6f2	TGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTT-CCTACATGAAA-GAGTTGTGCA-GGATTTTATT	544
1F7	TGTTTGCAACTAGAGTATGGTGGCTT-CCTACATGAAA-GAGTTGTGCA-GGATTTTATT	540

AY083162	GAGTATCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG	647
0F7	GAGTATCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG	600
6F11	GAGTATCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG	610
6f15	GAGTATCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG	600
6f2	GAGTATCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG	604
1F7	GAGTATCTGAGATTTGCTTCTGGGAATTTGGTGATCGGGTGAAATATTGGATTACCTTG	600

AY083162	AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTC AAGGATATGTGGCTGGCGCTTTTCCGCCCAATCGT	707
0F7	AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTC AAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGT	660
6F11	AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTC AAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGT	670
6f15	AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTC AAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGT	660
6f2	AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTC AAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGT	664
1F7	AATGAGCCATGGTCCTTTACTGTTC AAGGATATGTGGCTGGTGCTTTTCCGCCCAATCGT	660

AY083162	GGTGTAAC TCCGAAAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA	767
0F7	GGTGTAAC TCCGAAAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA	720
6F11	GGTGTAAC TCCGAAAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA	730
6f15	GGTGTAAC TCCGAAAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA	720
6f2	GGTGTAAC TCCGAAAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA	724
1F7	GGTGTAAC TCCGAAAGATACTGAAGAACTCAAAGCATGCCCGTCTTCATAGAGGTGGA	720

AY083162	GGAAAACTTCTAGCTGCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCA	827
0F7	GGAAAACTTCTAGCTGCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCA	780
6F11	GGAAAACTTCTAAGTCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCA	790
6f15	GGAAAACTTCTAAGTCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCA	780
6f2	GGAAAACTTCTAGCTGCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCA	784
1F7	GGAAAACTTCTAAGTCTTTCAAGTATGGAAATCCCGGCACGGAACCATATAAAGTGGCA	780

AY083162	CACAATTTAATCCTTTGTGCATGCACATGCTGTGGATATATACAGAACGAAATATCAGGAA	887
0F7	CACAATTTAATCCTTTGTGCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAA	840
6F11	CACAATTTAATCCTTTGTGCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAA	850
6f15	CACAATTTAATCCTTTGTGCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAA	840
6f2	CACAATTTAATCCTTTGTGCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAA	844
1F7	CACAATTTAATCCTTTGTGCATGCACATGCTGTGGACATATACAGAACGAAATATCAGGAA	840

AY083162	AGTCAGGGAGGTAAGATAGGG-ATTACAAATTGCATTAGTT-GGAATGAGCCTCTTACTG	945
0F7	AGTCAGGGAGGTAAGATAGGG-ATTACAAATTGCATTAGTT-GGAATGAGCCTCTTACTG	898
6F11	AGTCAGGGAGGTAAGATAGGGGATTACAAATTGCATTAGTT-GGAATGAGCCTCTTACTG	909
6f15	AGTCAGGGAGGTAAGATAGGG-ATTACAAATTGCATTAGTT-GGAATGAGCCTCTTACTG	898
6f2	AGTCAGGGAGGTAAGATAGGG-ATTACAAATTGCATTAGTTTGGAAATGAGCCTCTTACTG	903
1F7	AGTCAGGGAGGTAAGATAGGG-ATTACAAATTGCATTAGTT-GGAATGAGCCTCTTACTG	898

AY083162	ACTCTCAAGAAGATAAAGATGCTGCTACTAGAGGAAATGATTTT-ATGCTTGG-ATGGTT	1003
0F7	ACTCTCAAGAAGATAAAGATGCTGCTACTAGAGGAAATGATTTT-ATGCTTGG-ATGGTT	956
6F11	ACTCTCAAGAAGATAAAGATGCTGCTACTAAAGGAAATGATTTTATGCTTGGAGGGTT	969
6f15	ACTCTCAAGAAGATAAAGATGCTGCTACTAGAGGAAATGATTTT-ATGCTTGGATGGTT	957
6f2	ACTCTCAAGAAGATAAAGATGCTGCTACTAGAGGAAATGATTTT-ATGCTTGG-ATGGTT	961
1F7	ACTCTCAAGAAGATAAAGATGCTGCTACTAGAGGAAATGATTTT-ATGCTTGG-ATGGTT	956

AY083162	TGTGGAA-CCAGTGGTAAGTGG-AGAGTACCCAGAAAGTATGATTAATATGTTGGC-GA	1060
0F7	TGTGGAA-CCAGTGGTAAGTGGAGAGTACCCAGAAAGTATGATTAATATGTTGGCCGA	1015
6F11	TGTGGAA-CCAGTGGTAACCGGGAGAGTACCCAGAAAGGATGATTAATATGCTGGG-GA	1027
6f15	TGTGGAA-CCAGAGGTAAGTGG-AGAGTACCCAGAAAGTATGATTAATATGTTGGT-GA	1014
6f2	TGTGGAAACCAAGTGGTAAGTGG-AGAGTACCCAGAAAGTATGATTAATATGTTGGC-GA	1019
1F7	TGTGGAA-CCAGTGGTAAGTGG-AGAGTACCCAGAAAGTATGATTAATATGTTGGT-GA	1013

Şekil 4. 1 cDNAdan elde edilen dizinlerin ve AY083162 dizininin hizalama analizi (devam)

AY083162	TCGCCTTCCTAAATTTTCTGAAAAAGAGGAGAAGCTAGTGAAAGGATCCTACGACTTTC-	1119
0F7	TCGCCTTCCTAAATTTTCTGAAAAAGAGGAAAACCTAGTGAAAGGATCCTACGACTTTC	1075
6F11	TCGCCTTCCTAAATTTTCTGAAAAAGAGGAGAAGCTAGTGAAAGGATCCTATGACTTTC-	1086
6f15	TCGCCTTCCTAAATTTTCTGAAAAAGAGGAGAAGCTAGTGAAAGGATCCTATGACTTTC-	1073
6f2	TCGCCTTCCTAAATTTTCTA-----	1039
1F7	TCGCCTTCCTAAATTTTCTGAAAAAGAGGAGAAGCTAGTGAAAGGATCCTATGACTTTC-	1072

AY083162	TAGGCATAAACTACTACAC-GTCTACTTATACCAGCGA-TGAT-CCAACAAAGCCGA-CA	1175
0F7	TAGGCATAAACTACCACACCGTCTACTTATACCAACGAATGAT-CCAACAAAGCCGA-CA	1133
6F11	TAGGCATAAACTACTACACG-TCTACTTATACCAGCGA-TGAT-CCGACAAAGCCGA-CA	1142
6f15	TAGGCATAAACTACTACACGGTTCACGTATACCAAGCGA-TGATTCCGACAAAGCCGAACA	1132
6f2	-----	
1F7	TAGGCATAAACTACTACCCG-TCTACTTATACCAGCGA-TGAT-CCGACAAAGCCGA-CA	1128
AY083162	ACTGAT-AGTTACTTTACTGATTCGCA--CACTAAGA-CTTCACAT-GAACGCAATAAGG	1230
0F7	ACTGAT-AGTTACTTTACTGATTCGCA--CACTAAGA-CTTCACAT-GAACGCAATAAGG	1188
6F11	ACTGAT-AGTTACTTGACTGATTCGCG--CACTAAGA-CTTCACAT-GAACGCAATAAGG	1197
6f15	ACTGATTAGGTACTTGACTGATTCGCGGCCACTAAGAACTTCACATTGAACCAAGG	1192
6f2	-----	
1F7	ACTGGATAGTTACTTGACTGATTCGCC--GACTAAAA-CTTCCAAT-GAACGCAATAAGG	1184
AY083162	TGCCTATTGGTGCACA-GGCTGGTTC-GGACTGGTTATACATAGTT-CCATGGGGAATCT	1287
0F7	TGCCTATTGGTGCACA-GGCTGGTTC-GGATTGGTTATACATAGTT-CCATGGGGAATCT	1245
6F11	TGCCTATTGGTGCACA-GGCTGGTTC-GGATTGGTTATACATAGTT-CCATGGGGAATTT	1254
6f15	TGCCTATTGGTGCACA-GGCTGGTTC-GGATTGGTTATACATAGTT-CCATGGGGAATTT	1249
6f2	-----	
1F7	TGCCTATTGGTGGCCAAGGCTGGTTCGAATTGGTTAACCATAGTTTCCATGGGGAATTT	1244
AY083162	ACAGAGTTATGGTTGATATGAAGAAAA-GATATAATGATCCGGTTATATACATCACCGAG	1346
0F7	ACAGAGTTATGGTTGATATGAAGAAAA-GATATAATGATCCGGTTATTTACATTACAGAG	1304
6F11	ACAGAGTTATGGTTGATATGAAGAAAA-GATATAATGATCCGGTTATTTACATTACAGAG	1313
6f15	ACAGAGTTATGGTTGATATGAAGAAAA-GATATAATGATCCGGTTATTTACATTACAGAG	1308
6f2	-----	
1F7	CAAAAGTTATGGTTGAATTGGAGAAAAAGATATAAGGTTCCGGGTATTTTCAATTACGAGA	1304
AY083162	AACGGAGTGGATGAAGTAAACGATAAGTCCAAGACTAGTACCGAAGCTCTCAAGGACGAT	1406
0F7	AATGGAGTGGATGAAGTAAACGATAAGTCCAAGACTAGTACCGAAGCTCTA-----	1355
6F11	AATGGAGTGGATGAAGTAAATGATAAGTCCAAGAC-----	1348
6f15	AATGGAGTGGATGAAGTAAATGATAAGTCCAAGACTAGTACCGAAGCTCTCAAGGATGAT	1368
6f2	-----	
1F7	AAGGGGGGAATGAAGATAAGGGAAAGTCCAC-----	1337
AY083162	ATAAGGATTCACTATCACCAAGAACATCTCTACTACCTTAAGCTAGCGATGGATCAAGGT	1466
0F7	-----	
6F11	ATAGGGA-----CCAA----ATCTCT-----TAGTG-----CAA---	1373
6f15	ATAAGGATTCACTATCACCAAGAACATCTCTACTACCTTAAGCTAGCGATGGACCAAGGT	1428
6f2	-----	
1F7	-CAATAATC-----CCAA----CTCTCCA-----AGGG-----	1360
AY083162	GTAAATGTGAAGGGTTACTTCATATGGTCGTTGTTTCGACAATTTTGAATGGGCTGCTGGA	1526
0F7	-----	
6F11	-----TTCGAC-----GGGCCCCAGA	1390
6f15	GTAAATTTGAAGGGTTACTTCATATGGTCGTTGTTTCGACAATTTTGAATGGGCTGCTGGA	1488
6f2	-----	
1F7	-----TGATAAA-----GGGTTCCTCA	1378
AY083162	TTCAGTGTTAGATTTGGCGTTATGTATGTAGACTATGCTAATGGTCGTTACACAAGGTTG	1586
0F7	-----	
6F11	--CA-----	1392
6f15	TTCAGTGTTAGATTTGGCGTTACGTATGTAGACTACGCTAATGGTCGTTACACAAGGTTG	1548
6f2	-----	
1F7	CCCA-----AAAAATTCTTAC-----	1394

Şekil 4. 1 cDNAdan elde edilen dizinlerin ve AY083162 dizininin hizalama analizi
(devam)

AY083162	CCAAAACGTTTCAGCTGTATGGTGGAGGAACCTTCCTCACCAAGCCTACAGCAGTTCATTG	1646
0F7	-----	
6F11	-----	
6f15	CCAAAACGTTTCAGCTGTATGGTGGAGGAACCTTCCTCACCAAGCCTACAGCAGTTCATTG	1608
6f2	-----	
1F7	-----	
AY083162	AAGAATGAACCTGAAAAATCTGAAGATCGTCGTAAGGCTTAGAGGCAGCACCTAGTTT	1706
0F7	-----	
6F11	-----	
6f15	AAGAATGAACCTGAAAAATCTGAAGATCGTCGTAAGGCTTAGAGGCA-----	1657
6f2	-----	
1F7	-----	
AY083162	AGCTTATGAACTAGTGCTTCCTTGATTTTATGTTGAATAATGCACGGTGGAGGATGTTG	1766
0F7	-----	
6F11	-----	
6f15	-----	
6f2	-----	
1F7	-----	
AY083162	CTTTAAATTTTGTGTGTCGTTGTTGTTGGTTGAAAAGTCATGTCATTGTTGTTGAATGA	1826
0F7	-----	
6F11	-----	
6f15	-----	
6f2	-----	
1F7	-----	
AY083162	CGCATGGTTCAACTTGTACTCGTTATGTTCCAATAAAGGAGTTGGGCTCCATGTCAAAAA	1886
0F7	-----	
6F11	-----	
6f15	-----	
6f2	-----	
1F7	-----	
AY083162	AAAAAAAAAAAAAAAAA	1902
0F7	-----	
6F11	-----	
6f15	-----	
6f2	-----	
1F7	-----	

Şekil 4. 1 cDNAdan elde edilen dizinlerin ve AY083162 dizinin hizalama analizi (devam)

β -glukozidazların bitkilerde hücre duvarı lignifikasyonu, fitohormonların aktivasyonu ve kimyasal savunma bileşiklerinin aktivasyonu gibi pek çok önemli olayda görev aldığı bulunmuştur. Ayrıca farklı bitkilerde kamptotesin, striktosidin, raucaffricine gibi alkaloidlerin sentezinden sorumlu olduğu belirlenmiştir [98], [99], [100]. Bunların dışında bu enzim ailesinde bulunan çeşitli enzimler, meyve suyu ve şarap üretiminde kullanılır. Üretim sırasında veya sonrasında eklendiğinde ürünlerin tad, lezzet, aroma ve diğer kalite faktörlerinde artış gözlenir [7]. Ayrıca zeytinin acı tadının ortadan kaldırılması için de β -glukozidaz enzimi kullanılmaktadır [32].

İleriki çalışmalarda elde edilen tam uzunluktaki cDNA uygun primerler kullanılarak sentezlenecek ve *Pichia pastoriste* vektörlerine eklenecektir. *Pichia pastoriste* rekombinant enzim elde edilerek biyoteknolojik anlamda kullanım olanakları araştırılacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Laine, R.A. , (1994). "A Calculation Of All Possible Oligosaccharide Isomers Both Branched And Linear Yields 1.05×10^{12} Structures For Reducing Hexasaccharide: The Isomer Barrier To Development Of Single Method Saccharide Sequencing Or Synthesis Systems", *Glycobiology*, 4: 759-767.
- [2] Esen, A., Whitaker, J., Vorage, A. ve Wong, D. (2003). " β -Glucosidases", In *Handbook of Food Enzymology*, New York, 791- 803.
- [3] Esen A., (1993). β -Glucosidases-Biochemistry and Molecular Biology, American Chemical Society. Symposium Series 553, Washington DC.
- [4] Persson, I., Tjerneld, F. ve Hagerdal, H.B., (1991). "Fungal Cellulolytic Enzym Production". *Process Biochemistry*, 26: 65-74.
- [5] Kakes P., "Function And Variation Of The B-Glucosidase Linamarase In Natural Populations Of *Trifolium Repens*"; Derleyen: Esen A., (1993). " β -glucosidases-Biochemistry and Molecular Biology, ACS Symposium Series 553, Washington DC., 145-152.
- [6] Brzobohaty B., Moore I., Kristoffersen P., Bako L., Campos N., Schell J. ve Palme K., (1993). "Release Of Active Cytokinin By A Beta-Glucosidase Localized To The Maize Root Meristem", *Science*, 262; 1051-1054.
- [7] Günata, Z., Dugelay, I., Sapis, J.C., Baumes, R. ve Bayonove, C., (1993). "Role Of The Enzymes In The Use Of The Flavour Potential From Grape Glycosides In Vinemaking." In: Schreier, P., Winterhalter, P. *Progress in flavour precursor Studies*. Allured Publ.
- [8] James, R. ve Esen, A., (2010). Beta-Glucosidases, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67:3389–3405.
- [9] Wiesmann. C., Beste, G., Hengstenberg, W. ve Schulz,G.,(1995). "The Threedimensional Structure Of 6-Phospho-B-Galaktosidazfrom *Lactococcus Lactis*." *Structure*, 3: 961–968.
- [10] Sanz-Aparicio, J., Hormoso, J.A., martinez-Ripoll, M. ve Lequerica, J. (1998). "Crystal Structure Of β -glucosidase A From *Bacillus Polymixia*: Insights In To

The Catalytic Activity In Family1 Glycosyl Hydrolases.” J. Mol. Biol. 275: 491-502.

- [11] Nelson, DL., Cox, MM. ve N. Lehninger, (2005). Biyokimyanın İlkeleri. Palme Yayıncılık. 3.. Baskıdan çeviri, 184.
- [12] Czjzek, M., Cicek, M., Zamboni, V., Burmeister, WP., Bevan, DR., Henrissat, B. ve Esen, A., (2001). “ Crystal Structure Of A Moncotyledon (Maize ZMGluc1) β -glucosidase And A Model Of Its Complex With P-Nitrophenyl β -Dthioglucoside”, Biochem J., 354: 37-46.
- [13] Verdoucq, L., Morinie`re, J., Bevan, D.R., Esen, A., Vasella, A., Henrissat, B. ve Czjzek, M., (2004). “Structural Determinants Of Substrate Specificity In Family 1 Beta-Glucosidases: Novel Insights From The Crystal Structure Of Sorghum Dhurrinase-1, A Plant Beta-Glucosidase With Strict Specificity, In Complex With Its Natural Substrate.” J. Biol. Chem., 279: 31796-31803.
- [14] Yılmaz, T., (2005). Aloe vera Yaprak Pulpası β -glukozidazının Saflaştırılması ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul.
- [15] Mc Cleary, B.V. ve Harrington, J., (1998). “Pürification Of Beta-D-Glucosidase From Aspergillus niger”, Methods Enzymology, 160:575-583.
- [16] Mustafa Altınışik, (2009), Enzimler, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf>, 10 Şubat 2013.
- [17] Czjzek, M., Zamboni, V., Burmeister W.P., Bevan D.R., Henrissat, B. Ve Esen, A., (2001). “Crystal Structure of A Moncotyledon (Maize ZMGluc1) β -glucosidase and A Model of Its Complex With P-nitrophenyl β -Dthioglucoside”, Biochem J., 354:37-46.
- [18] Withers, SG., Warren, R.A.J. ve Street, I.P., (1990). “Unequivocal Demonstration Of The Involvement Of A Glutamate Rezidu Of A Reatining Glucosidase” J. Am. Chem. Soc., 112.
- [19] Park, J.K., Wang, L.X., Patel, H.V. ve Roseman, S., (2002). “Molecular Cloning and Characterization of A Unique β - glucosidase From Vibrio Cholerae”, J. Bio. Chem., 277: 29555–29560.
- [20] Henrissat, B. ve Davies, G.J., (2000). “Glycoside Hydrolases and Glycosyltransferases. Families, Modules, and Implications For Genomics”, Plant. Physiol., 124: 1515-1519.
- [21] Davies, G. ve Henrissat, B., (1995). “Structures and Mechanisms Of Glycosyl Hydrolases”, Structure, 3: 853-859.
- [22] Withers, S., Street, I., Bird, P. ve Dolphin, D., (1987). “2-Deoxy-2-Fluoroglucosides: A Novel Class Of Mechanism Based Inhibitors”, J. Am. Chem. Soc., 109:7530–7531.
- [23] Withers, S., Warren, R., Street, I., Rupitz, K., Kempton, J. ve Aebersold, R., (1990). “Unequivocal Demonstration Of The Involvement Of A Glutamate

- Residue As A Nucleophile In The Mechanism Of A Retaining Glycosidase”, J. Am. Chem. Soc., 112:5887–5889.
- [24] Enari, T.M., ve Niku-Paavola, M.L., (1987). “Enzymatic Hydrolysis Of Cellulose: Is The Current Theory Of The Mechanism Of Hydrolysis Valid”, Critical Reviews in Biotechnology, 5: 67-87.
 - [25] Opassiri, R., Pomthong, B., Akiyama, T., Nakphaichit, M., Onkoksoong, T., Ketudat-Cairns, M. ve Ketudat Cairns, JR., (2007). “A Stress-Induced Rice β -Glucosidase Represents A New Subfamily Of Glycosyl Hydrolase Family 5 Containing A Fascin-Like Domain”, Biochem. J., 408:241–249.
 - [26] Selmar, D., Lieberei, R., Biehl, B. ve Voigh, J., (1987). “Hevea Linemarase, Anonspecific β -glucosidase”, Plant Physiol., 83: 557-567.
 - [27] Czjzek, M., Cicek, M., Zamboni, V., Bevan, D.R., Henrissat, B. ve Esen A.,(2000). “The Mechanism Of Substrate (Aglycone) Specificity in Beta–Glucosidases is Revealed By Crystal Structures Of Mutant Maize Beta-Glucosidase-DIMBOA, - DIMBOAGlc, And Dhurrin Complexes”, Proc. Natl. Acad. Sci., 97:13555–13560.
 - [28] Clarke, A.J., Bray, M.R. ve Strating, H., (1993). β -glucosidases, β -glucanases, and xylanases, Esen, A., β -Glucosidases: Biochemistry and Molecular Biology, ACS Symposium Series 533. American Chemical Society, Washington DC: 27-41.
 - [29] Riou, C., Salmon, J.M., Vallier, M.J., Günata, Z. ve Barre, P., (1998). “Pürification, Characterization and Substrate Specificity Of A Novel Highly Glucose-Tolerant Beta-Glucosidase From *Aspergillus oryzae*”, Applied and Environmental Microbiology, 64:3607-3614.
 - [30] Soler-Rivas, C., Espin, J.C., Wichers, H.J., (2000). “Oleuropein and Related Compound”, J. Sci. Food Agric., 80:1013–1023.
 - [31] Amiot, M.J., Fleuriet A. ve Macheix J.J., (1989), “Accumulation Of Oleuropein Derivatives During Olive Maturation”, Phytochemistry, 28:67–69.
 - [32] Odoux, E., Chauwin, A. ve Brillouet, J.M. (2003). “Purification And Characterization Of Vanilla Bean (*Vanilla planifolia* Andrews) β -Glucosidase”, J. Agric. Food Chem., 51:3168–3173.
 - [33] Wang, D., Yoshimura, T., Kubota, K. ve Kobayashi, A., (2000). “Analysis Of Glycosidically Bound Aroma Precursors In Tea Leaves. I. Qualitative And Quantitative Analyses Of Glycosides With Aglycons As Aroma Compounds”, J. Agric. Food Chem., 48:5411–5418.
 - [34] Lecas, M., Günata, Z., Sapis, J. ve Bayanove C.L., (1991). “Pürification and Partial Characterization Of Beta-Glucosidase From Grape”, Phytochemistry, 30: 451-454.
 - [35] Fenwick, G.R., Heaney, R.K. ve Mullin, W.J., (1983). “Glucosinolates and Their Breakdown Products in Food and Food Plants”, CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.,18:123-201.

- [36] Nayir, S.M., (2008). Sütün Yoğurda Dönüşümü Sırasında İçerdiği Fenolik Antioksidan Maddelere Probiyotik Bakteri Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [37] Thayer, S.S. ve Conn, E.E., (1981), "Subcellular Localization Of Dhurrin Bglucosidase And Hydroxynitrile Lyase In The Mesophyll Cells Of Sorghum Leaf Blades", *Plant Physiol.*, 67:617–622.
- [38] Esen, A. ve Stetler, D.A., (1993). "Subcellular Localization Of Maize Beta-Glucosidase", *Maize Genet. Coop. News Lett.*, 67:19–20.
- [39] Bianco, A.D., Piperno, A., Romeo G. ve Uccella, N., (1999). "NNMR Experiments Of Oleuropein Biomimetic Hydrolysis", *J. Agric. Food Chem.*, 47:3665–3668.
- [40] K. Konno, C. Hirayama, H. Yasui ve M. Nakamura (1999). "Enzymatic Activation Of Oleuropein: A Protein Crosslinker Used As A Chemical Defense In The Privet Tree, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 96: 9159–9164.
- [41] Bisignano, G., Lagana, M.G., Trombetta, D., Arena, S., Nostro, A., Uccella, N., Mazzanti, G. ve Saijia, A., (2001). "In Vitro Antibacterial Activity Of Some Aliphatic Aldehydes From *Olea europaea* L.", *FEMS Microbiol. Lett.*, 198: 9–13.
- [42] Kubo, A., Lunde, C.S. ve Kubo, I., (1995). "A Multichemical Defense Mechanism Of Bitter Olive *Olea europaea* (Oleaceae). Is Oleuropein A Phytoalexin Precursor?", *J. Chem. Ecol.*, 11:251–263.
- [43] Poulton, J.E., (1990). "Cyanogenesis In Plants", *Plant Physiol*, 94:401-405.
- [44] Maleck, K., Levine, A., Eulgem, T., Morgan, A., Schmid, J., Lawton, K.A., Dangl, J.L. ve Dietrich, R.A., (2000). "The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance", *Nat. Genet.*, 26:403-410.
- [45] Piao, H.L. ve Hwang, I., (2000). "A Transgenic *Arabidopsis* Plant Overexpressing An ER Localized Beta-Glucosidase Homolog That Is Transcriptionally Suppressed By NaCl Is Hypersensitive To NaCl Stres", *GenBank*.
- [46] Vidhayasekaran, P., (1997). "Pathogenesis-related proteins and other antifungal proteins In: *Fungal pathogenesis in plants and crops*", M. Dekkar press, Madison Avenue, New-York; Derleyen: Arıcı Ş.E. ve Yardımcı, N., (2001). "Bitkilerde Uyarılmış Dayanıklılık", *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32: 83-86.
- [47] Mielenz, R.J., (2001). "Ethanol Production From Biomass: Technology and Commercialization Status", *Current Opinion in Microbiology*, 4: 324-329.
- [48] Wood, T., Garcia-Campayo, V., (1990). "Enzymology Of Cellulose Degradation", *Biodegradation*, 1: 147–161.
- [49] Beguin, P., (1990). "Molecular biology of cellulose degradation", *Annu. Rev. Microbiology*, 44: 219–248.
- [50] Lynd, L.R., Weimer, P.J., Van-Zyl, W.H. ve Pretorius, I.S., (2002). "Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66: 506–577.

- [51] Coşkun, A., (2010). Endüstriyel Enzimler Üreten Yeni *Bacillus* sp. Suşlarının İzolasyonu Ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [52] Hatfield, R. ve Vermerris W., (2001). "Lignin Formation in Plants. The Dilemma of Linkage Specificity", *Plant Physiology*, 126: 1351–1357.
- [53] Leah, R., Kigel J., Svendsen, I. ve Mundy, J. (1995). "Biochemical and Molecular Characterization Of A Barley Seed B-glucosidase", *J. Biol. Chem.*, 270: 15789–15797.
- [54] Dharmawardhana, D.P., Ellis, B.E. ve Carlson, J.E., (1995). "A Beta-Glucosidase From Lodgepole Pine Specific For The Lignin Precursor Coniferin", *Plant Physiol.*, 107: 331–339.
- [55] Schliemann, W., (1984). "Hydrolysis of Conjugated Giberellins by Beta-Glucosidase From Dwarf Rice (*Oryza sativa* L. cv. Tan-ginbozu)", *J. Plant Physiol.*, 116:123-132.
- [56] Butters, T.D., (2007). "Gaucher disease", *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 11: 412–418.
- [57] Grabowski, G.A., Berg-Fussman ve A., Grace, M., (1993). "Molecular Biology and Enzymology of Human Acid Beta-Glucosidase"; Derleyen Esen, A., (1993). "Beta-Glucosidases-Biochemistry and Molecular Biology", ACS Symposium Series 553, Washington D.C., American Chemical Society, 66-82.
- [58] Dvir, H., Harel, M., McCarthy, A.A., Toker, L., Silman, I., Futerman, A.H. ve Sussman, J.L., (2003). "X-ray Structure Of Human Acid-B-Glucosidase, The Defective Enzyme In Gaucher Disease", *EMBO Rep.*, 4: 704–709.
- [59] Lieberman, R.L., Wustman, B.A., Huertas, P., Powe, A.C., Pine, C.W., Khanna, R., Schlossmacher, M.G., Ringe, D. ve Petsko, G.A., (2007). "Structure Of Acid B-Glucosidase With Pharmacological Chaperone Provides Insight Into Gaucher Disease", *Nat. Chem. Biol.*, 3: 101–107.
- [60] Barton, N.W., Furbish, F.S., Murray G.J. ve Brady, R.O., (1990). "Therapeutic Response to Intravenous Infusions Of Glucocerebrosidase In A Patient With Gaucher Disease", *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 87: 1913-1916.
- [61] Steinberg, F. ve Raso, J., (1998). "Biotech Pharmaceutical and Biotherapy: An overview", *J. Pharm. Sci.*, 1: 48-49.
- [62] Price, R. G. ve Dance, N., (1967). "The Cellular Distribution Of Some Rat Kidney Glycosidases", *Biochem J.*, 105: 877-883.
- [63] Patel, V. ve Tappel, A.L., (1969). "β- Glucosidase and β- Xylosidase Of Rat Kidney", *Biochim. Biophys. Acta.*, 191: 653-662.
- [64] Glew, H.R., Gopalan, V., Forsyth, G.W. ve Vanderjagt D.J. "The Mammalian Cytosolic Broad-specificity β- Glucosidase"; Derleyen: Esen, A., (1993). "β- Glucosidases, Biochemistry and Molecular Biology", ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington D.C.

- [65] Daniels, L.B., Coyle, P.J., Chiao, Y.B., Glew, R.H. ve Labow R.S., (1981). "Pürification and Characterization of a Cytosolic Broad Specificity β -Glucosidase From Human Liver", J. Biol. Chem., 256: 13004-13013.
- [66] Legler, G. ve Bieberich, E., (1988). "Active Site Directed Inhibition of a Cytosolic β -Glucosidase From Calf Liver By Bromconduritol B Epoxide and Bromoconduritol", F. Arch. Biochem. Biophys., 260: 437-442.
- [67] La Marco, K.L. ve Glew, R.H., (1986). "Hydroloysis Of A Naturally Occuring β -Glucoside By A Broad-specificity β - Glucosidase From Liver", Biochem. J., 237: 469-476.
- [68] Arıcan, E., Stres Biyolojisi, www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1317191898.pdf, 7 Şubat 2013.
- [69] Vanetten, H.D., Mansfield, J.W., Bailey, J.A. ve Farmer, E.E., (1994). "2 Classes Of Plant Antibiotics – Phytoalexins Versus Phytoanticipins", Plant Cell 6: 1191–1192.
- [70] Joel A., K., Yajun, W., Hur-Song, C., Tong, Z., Xun, W. ve Jeff F., H., (2002). "Transcriptome Changes for Arabidopsis in Response to Salt, Osmotic, and Cold Stress", Plant Physiol., 130: 2129-2140.
- [71] Edreva, A., Sotirova, V., Georgieva, D., Stoimenova, E., Rodeva, R., (2000). "Differential Expression Of β - Glucosidase In Tomato - Stress Stimuli Systems", D. Kostoff Institute of Genetics, Bulgarian Academy of Sciences Sofia, Bulgaria.
- [72] Kara, H., (2010). β - Glukozidaz Enziminin Hidrofobik Etkileşim Kromotografisi ile Olea europea Meyvesinden Saflaştırılması, Karakterizasyonu ile Bazı Pestisit ve Ağır Metaller Karşı Afinitesinin Araştırılması, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [73] Molina, C., Rotter, B., Horres, R., Udupa, S., Besser, B., Luis Bellarmino, L., Baum, M., Matsumura, H., Terauchi, R., Kahl, G. ve Winter, P., (2008). "SuperSAGE: The Drought Stress-responsive Transcriptome of Chickpea Roots", BMC Genomics, 9: 553.
- [74] Green P.S., (2002). "A revision of Olea L. (Oleaceae)", Kew Bulletin, 57: 91-140.
- [75] Aksu, B., (2003). Türkiye ve Dünyada Zeytin Ekonomisinin Genel Görünümü, Zeytin Yetiştiriciliği Kursu, İzmir.
- [76] Aksoy, B., Organik Zeytin ve Zeytinyağı Üretimi, http://www.undp-pff.org/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=70, 10 Şubat 2013.
- [77] Altıntaş, G., (2009). Zeytinyağının Ülkemiz Ekonomisine Katkıları, Sorunları ve Beklentileri, Ar-Ge Bülten, İzmir Ticaret Odası.
- [78] Acerbo G., (1937). La Marcia Storica Dell'olivo Nel Mediterraneo. Atti Della Società Per Il Progresso Delle Scienze, Riun. XXV (1), 2: 1-22.
- [79] Bedestenci H.Ç. ve Vuruş H., (2000). "Türkiyede Zeytin Üretiminin Geleceği", Fen ve Mühendislik Dergisi, 2 (3): 136-144.

- [80] Tenhunen, J.D., Pearcy, R.W. ve Lange, O.L., (1987). "Diurnal Variation In Leaf Conductance And Gas Exchange In Natural Environments". Derleyen: Zeiger, E., Farquhar, G.D., Cowan, I.R., Stomatal function. Stanford University Press, 323-351.
- [81] Bonghi, G., Soldatini, G.F. ve Hubick, K.T., (1987). "Mechanism Of Photosynthesis In Olive Tree (*Olea europaea* L.)", *Photosynthetica*, 21: 572-578.
- [82] Chartzoulakis, K., Loupassaki, M.H., Bertaki, M. ve Androulakis, I., (2002). "Effects Of NaCl Salinity On Growth, Ion Content And CO₂ Assimilation Rate Of Six Olive Cultivars", *Scientia Hort.*, 1814: 235-247.
- [83] Chartzoulakis, K., Patakas, A., Bosabalidis, A., Horvath, G. ve Szigeti, Z., (1999). "Comparative Study On Gas Exchange, Water Relations And Leaf Anatomy Of Two Olive Cultivars Grown Under Well-Irrigated And Drought Conditions, *Zeitschrift fur Naturforschung*", Section C. Biosciences 54: 688-692.
- [84] Dichio M., Xiloyannis, Sofo A. ve Montanaro G., (2005). "Osmotic Regulation in Leaves and Roots of Olive Trees During a Water Deficit and Rewatering", *Tree Physiology*, 26: 179-185.
- [85] El Gazzar, A.M., El Azab, E.M. ve Sheata, M., (1979). "Effect Of irrigation With Fractions Of Sea Water And Drainage Water On Growth And Mineral Composition Of Young Grapes, Guavas, Oranges And Olives", *Alexandria J. Agric.*
- [86] Tattini, M. ve Gucci, R. (1999). Ionic Relations And Osmotic Adjustment In Olive Plants under Salinity Stress. *Physiol. Plant.* 95: 203-210.
- [87] Bonghi, G. ve Loreto, F., (1989). Gas-Exchange Properties Of Salt Stressed Olive (*Olea europea* L.) Leaves. *Plant Physiol.* 90: 1408-1416.
- [88] Goreta, S., Bucevic-Popovic, P., Pavela-Vrancic, M. ve Perica S., (2007). "Salinity-Induced Changes in Growth, Superoxide Dismutase Activity, and Ion Content of Two Olive Cultivars", *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170 (3): 398-403.
- [89] Matteucci M., D'Angeli S., Errico S., Lamanna R., Perrotta G. ve Altamura M. M., (2011). "Cold Affects the Transcription of Fatty Acid Desaturases and Oil Quality in the Fruit of *Olea europaea* L. Genotypes with Different Cold Hardiness", *Journal of Experimental Botany*, February: 1-18.
- [90] Gómez-del-Campo, M. ve Barranco, D., (2005). "Field Evaluation Of Frost Tolerance In 10 Olive Cultivars", *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 3 (3): 385-390.
- [91] Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D. ve Di Fonzo, V., (2006). "Factors Affecting The Contents Of Iridoid Oleuropein In Olive Leaves (*Olea europaea* L.)". *J. Agric. Food Chem.*, 54; 434-440.
- [92] Fabbri, A., Galaverna, G. ve Ganino, T. (2008). "Polyphenol Composition Of Olive Leaves With Regard To Cultivar, Time Of Collection And Shoot Type.

Proceeding Of The Fifth International Symposium On Olive Growing”, Acta. Horticulturae, 791; 459-464.

- [93] Primer3 (v. 0.4.0) programı, <http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>, 10 Şubat 2013.
- [94] NCBI Blast programı, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi?CMD=Web&PAGE_TYPE=BlastHome, 10 Şubat 2013.
- [95] EMBOSS Transeq internet programı, <http://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/transeq/>, 10 Şubat 2013.
- [96] Özdemir Özgentürk, N., Oruç, F., Sezerman, U., Küçükural, A., Vural Korkut, Ş. ve Ün, C., (2010). “Generation and Analysis of Expressed Sequence Tags from *Olea europaea* L.”, Comparative and Functional Genomics, 10.1155/2010/757512.
- [97] NCBI Blast programı <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/25989473?report=genbank&to=1902>, 10 Şubat 2013.
- [98] Sun, Y., Luo, H., Li, Y., Sun, C., Song, J., Niu, Y., Zhu, Y., Dong, L., Lv, A., Tramontano, E. ve Chen, S., (2011). “Pyrosequencing of the *Camptotheca acuminata* transcriptome reveals putative genes involved in camptothecin biosynthesis and transport.”, BMC Genomics, 12; 533.
- [99] Geerlings, A., Ibanez, M.M., Memelink, J., Van Der Heijden, R. ve Verpoorte, R., (2000). “Molecular cloning and analysis of strictosidine beta-D-glucosidase, an enzyme in terpenoid indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*.”, J. Biol. Chem., 275(5):3051-6.
- [100] Xia, L., Ruppert, M., Wang, M., Panjikar, S., Lin, H., Rajendran, C., Barleben, L. ve Stöckigt, J., (2012). “Structures of alkaloid biosynthetic glucosidases decode substrate specificity”, ACS Chem. Biol., 7(1):226-34.

0F7 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI

A-1 0F7 BLASTN Analizi Sonuçları

BLASTN 2.2.27+

Reference: Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

RID: 4GSWK7TF01N

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
16,443,641 sequences; 42,239,105,370 total letters

Query= 0F7

Length=1355

Sequences producing significant alignments:		Score (Bits)	E Value
gb AY083162.1	Olea europaea subsp. europaea beta-glucosidase...	2362	0.0
gb EU513349.1	Olea europaea beta-glucosidase (bglc) mRNA, pa...	606	1e-169
ref NM_115876.4	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 (BG...	65.8	9e-07
ref NM_001084847.1	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 ...	65.8	9e-07
ref NM_001035822.2	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 ...	65.8	9e-07
gb AY113935.1	Arabidopsis thaliana putative beta-glucosidase...	65.8	9e-07
gb AY045953.1	Arabidopsis thaliana putative beta-glucosidase...	65.8	9e-07
emb BX824238.1	Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complet...	65.8	9e-07
dbj AB047804.1	Arabidopsis thaliana YLS1 mRNA for beta-gluco...	65.8	9e-07

A-2 0F7 BLASTP Analizi Sonuçları

BLASTP 2.2.27+

Reference: Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

Reference for compositional score matrix adjustment: Stephen F. Altschul, John C. Wootton, E. Michael Gertz, Richa

Agarwala, Aleksandr Morgulis, Alejandro A. Schaffer, and Yi-Kuo Yu (2005) "Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices", FEBS J. 272:5101-5109.

RID: 4GT66BYE01N

Database: All non-redundant GenBank CDS translations+PDB+SwissProt+PIR+PRF excluding environmental samples from WGS projects

20,191,133 sequences; 6,915,215,180 total letters

Query= 0F7_1

Length=452

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
gb AAL93619.1 beta-glucosidase [Olea europaea subsp. europaea]	687	0.0
gb AES93119.1 putative strictosidine beta-D-glucosidase [Cam...	357	2e-114
gb ABW77570.1 strictosidine-O-beta-D-glucosidase [Catharanth...	341	6e-108
gb AAF28800.1 AF112888_1 strictosidine beta-glucosidase [Cath...	338	6e-107
pdb 2JF6 A Chain A, Structure Of Inactive Mutant Of Strictosi...	336	3e-106
dbj BAK01899.1 predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	334	1e-105
gb EEC80501.1 hypothetical protein OsI_22753 [Oryza sativa I...	331	1e-104
sp Q5Z9Z0.1 BGL24_ORYSJ RecName: Full=Beta-glucosidase 24; Sh...	330	4e-104
pdb 4A3Y A Chain A, Crystal Structure Of Raucaffricine Glucos...	330	7e-104
pdb 3U57 A Chain A, Structures Of Alkaloid Biosynthetic Gluco...	328	2e-103
ref XP_003563902.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Brac...	325	2e-102
ref XP_003597482.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	324	5e-102
ref XP_003597509.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	321	8e-101
ref XP_003620203.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	319	5e-100
ref XP_002305150.1 predicted protein [Populus trichocarpa] >...	318	1e-99
ref XP_003539378.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	318	2e-99
ref XP_003540541.1 PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	316	6e-99
gb ACD65511.1 beta-glucosidase D7 [Lotus japonicus]	315	1e-98
gb AAG25897.1 AF170087_1 silverleaf whitefly-induced protein ...	314	2e-98
dbj BAC78656.1 beta-primeverosidase [Camellia sinensis]	314	4e-98
ref XP_003539373.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	314	7e-98
emb CBI24820.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	313	1e-97
ref XP_003540706.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	313	1e-97
dbj BAA11831.1 furostanol glycoside 26-O-beta-glucosidase (F...	314	2e-97
gb AEB61485.1 beta-glucosidase [Consolida orientalis]	312	2e-97
ref XP_002276051.2 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	312	2e-97
gb ABW76288.1 beta-glucosidase G3 [Medicago truncatula]	312	2e-97
gb ABY48758.1 glycosylhydrolase 1 [Leucaena leucocephala]	311	6e-97
ref XP_003537944.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	311	7e-97
ref XP_003537945.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	311	7e-97
ref XP_003539051.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	311	9e-97
ref XP_003540006.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	311	1e-96
ref XP_002277732.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	310	1e-96
gb ACD65510.1 beta-glucosidase D2 [Lotus japonicus]	310	1e-96
ref XP_003546992.1 PREDICTED: beta-glucosidase 11-like [Glyc...	310	1e-96
ref XP_003633571.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	310	1e-96
emb CAK97604.2 beta-glucosidase-like protein [Camellia sinen...	309	3e-96
ref XP_002277408.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12 isoform 1 ...	309	3e-96
ref XP_002277198.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	309	3e-96
ref XP_002513440.1 beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	309	5e-96
ref XP_003539052.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	312	7e-96
ref XP_003620196.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	308	8e-96
ref XP_003539053.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	308	8e-96
dbj BAH02551.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	309	9e-96
dbj BAH02547.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	309	1e-95
dbj BAH02549.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	309	1e-95
dbj BAH02550.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	309	1e-95
gb AAD31364.1 putative beta-glucosidase [Arabidopsis thaliana]	303	1e-95
dbj BAH02546.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	308	1e-95
dbj BAH02548.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	308	1e-95
dbj BAH02544.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	308	1e-95
dbj BAH02545.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	308	2e-95
emb CBI24835.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	311	4e-95
ref XP_002285582.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	306	5e-95
gb AFH35016.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	306	6e-95

gb AFH35012.1	prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	306	7e-95
gb ACD65509.2	beta-glucosidase D4 [Lotus japonicus]	306	8e-95
ref NP_199277.1	beta glucosidase 13 [Arabidopsis thaliana] >...	305	8e-95
gb AFB70991.1	strictosidine beta-D-glucosidase, partial [Mit...]	297	8e-95
ref XP_003579957.1	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	305	9e-95
gb AFH35017.1	prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	306	1e-94
gb AFH35013.1	prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	306	1e-94
ref XP_003539371.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	305	1e-94
ref XP_003539050.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	305	1e-94
gb ABW76287.1	beta-glucosidase G2 [Medicago truncatula]	305	2e-94
ref NP_850065.1	beta glucosidase 14 [Arabidopsis thaliana] >...	303	3e-94
gb AEB61486.1	beta-glucosidase [Consolida orientalis]	304	4e-94
gb ACJ85659.1	unknown [Medicago truncatula]	304	4e-94
gb AFK37869.1	unknown [Medicago truncatula]	304	4e-94
ref XP_002865339.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	303	8e-94
ref NP_001237501.1	isoflavone conjugate-specific beta-glucos...	303	1e-93
ref NP_199041.1	beta glucosidase 12 [Arabidopsis thaliana] >...	303	1e-93
ref XP_003579958.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	302	1e-93
ref XP_002285585.2	PREDICTED: beta-glucosidase 12 [Vitis vin...	302	1e-93
ref XP_003597483.1	Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	301	2e-93
ref XP_003539048.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like, part...	302	2e-93
gb AEN94900.1	beta-glucosidase [Malus x domestica]	303	2e-93
ref XP_002512138.1	beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	301	6e-93
ref XP_002298155.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	300	7e-93
ref XP_003589430.1	Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	300	7e-93
ref XP_002880114.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	300	8e-93
ref XP_003620192.1	Beta-glucosidase [Medicago truncatula] >g...	300	1e-92
gb AFK35893.1	unknown [Medicago truncatula]	300	1e-92
ref XP_002302853.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	299	2e-92
ref XP_003540705.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	300	2e-92
dbj BAJ93012.1	predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	299	2e-92
ref XP_003534473.1	PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	298	3e-92
gb AAV34606.1	beta-glycosidase [Dalbergia nigrescens]	299	5e-92
emb CBI24830.3	unnamed protein product [Vitis vinifera]	310	8e-92
ref XP_002330966.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	297	9e-92
ref XP_002298156.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	295	2e-91
gb ABK60303.2	glycosylhydrolase family 1 [Leucaena leucoceph...	289	3e-91
ref XP_003597481.1	Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	296	4e-91
sp P26204.1 BGLS_TRIRP	RecName: Full=Non-cyanogenic beta-gluc...	295	4e-91
gb ABV54754.1	beta-glucosidase-like protein [Trifolium repens]	295	5e-91
ref XP_002330884.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	295	7e-91
ref NP_181973.1	beta glucosidase 15 [Arabidopsis thaliana] >...	295	8e-91
ref XP_003539381.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Glyc...	295	1e-90
ref XP_002330885.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	295	1e-90
ref XP_002299251.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	295	1e-90

1F7 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI

B-1 1F7 BLASTN Analizi Sonuçları

BLASTN 2.2.27+

Reference: Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

RID: 562W98RH01N

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
16,502,268 sequences; 42,414,925,569 total letters

Query= 1F7

Length=1394

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
gb AY083162.1 Olea europaea subsp. europaea beta-glucosidase...	2156	0.0
gb EU513349.1 Olea europaea beta-glucosidase (bglc) mRNA, pa...	466	2e-127

B-2 1F7 BLASTP Analizi Sonuçları

BLASTP 2.2.27+

Reference: Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

Reference for compositional score matrix adjustment: Stephen F. Altschul, John C. Wootton, E. Michael Gertz, Richa Agarwala, Aleksandr Morgulis, Alejandro A. Schaffer, and Yi-Kuo Yu (2005) "Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices", FEBS J. 272:5101-5109.

RID: 5HTXG00S014

Database: All non-redundant GenBank CDS translations+PDB+SwissProt+PIR+PRF excluding environmental samples from WGS projects 20,414,753 sequences; 7,002,679,596 total letters Query= 1F7_1 Length=465		
Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
gb AAL93619.1 beta-glucosidase [Olea europaea subsp. europaea]	775	0.0
gb AES93119.1 putative strictosidine beta-D-glucosidase [Cam...	415	1e-136
gb ABW77570.1 strictosidine-O-beta-D-glucosidase [Catharanth...	384	1e-124
pdb 4A3Y A Chain A, Crystal Structure Of Raucaffricine Glucos...	382	6e-124
pdb 3U57 A Chain A, Structures Of Alkaloid Biosynthetic Gluco...	380	1e-123
sp Q8GU20.1 SG1_RAUSE RecName: Full=Strictosidine-O-beta-D-gl...	380	3e-123
gb AAF28800.1 AF112888_1 strictosidine beta-glucosidase [Cath...	380	6e-123
dbj BAK01899.1 predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	374	7e-121
ref XP_003620203.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	370	1e-119
gb EEC80501.1 hypothetical protein OsI_22753 [Oryza sativa I...	369	2e-119
sp Q5Z9Z0.1 BGL24_ORYSJ RecName: Full=Beta-glucosidase 24; Sh...	368	6e-119
ref XP_003540541.1 PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	367	2e-118
ref XP_003597509.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	366	5e-118
ref XP_003597482.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	366	5e-118
ref XP_003539378.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	365	1e-117
ref XP_003563902.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Brac...	365	1e-117
ref XP_002305150.1 predicted protein [Populus trichocarpa] >...	365	2e-117
gb AEB61485.1 beta-glucosidase [Consolida orientalis]	364	3e-117
gb ACD65511.1 beta-glucosidase D7 [Lotus japonicus]	364	3e-117
sp Q75W17.1 FURH_VIBFR RecName: Full=Furcatin hydrolase; Shor...	362	3e-116
gb ABW76288.1 beta-glucosidase G3 [Medicago truncatula]	360	6e-116
gb ABY48758.1 glycosylhydrolase 1 [Leucaena leucocephala]	360	6e-116
ref XP_003540706.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	361	7e-116
gb ACD65510.1 beta-glucosidase D2 [Lotus japonicus]	360	8e-116
dbj BAC78656.1 beta-primeverosidase [Camellia sinensis]	360	9e-116
ref XP_003620196.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	360	2e-115
ref XP_003539373.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	360	2e-115
ref XP_003539051.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	360	2e-115
ref XP_003540006.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	359	5e-115
ref XP_003633571.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	357	9e-115
dbj BAA11831.1 furostanol glycoside 26-O-beta-glucosidase (F...	359	1e-114
ref XP_003537944.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	357	2e-114
ref XP_002276051.2 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	357	2e-114
gb AAG25897.1 AF170087_1 silverleaf whitefly-induced protein ...	356	2e-114
ref XP_003537945.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	357	3e-114
ref XP_003539052.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	360	3e-114
emb CBI24820.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	357	3e-114
ref XP_003539053.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	356	4e-114
emb CAK97604.2 beta-glucosidase-like protein [Camellia sinen...	355	5e-114
ref XP_003546992.1 PREDICTED: beta-glucosidase 11-like [Glyc...	355	5e-114
gb AAD31364.1 putative beta-glucosidase [Arabidopsis thaliana]	349	3e-113
ref XP_002277408.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12 isoform 1 ...	353	3e-113
ref XP_003620192.1 Beta-glucosidase [Medicago truncatula] >g...	353	3e-113
gb AFK35893.1 unknown [Medicago truncatula]	353	4e-113
ref NP_199277.1 beta glucosidase 13 [Arabidopsis thaliana] >...	353	5e-113
gb ABW76287.1 beta-glucosidase G2 [Medicago truncatula]	353	6e-113
ref XP_003579957.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	352	9e-113
ref XP_002285582.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	352	1e-112
ref XP_002277198.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	352	1e-112
gb ACJ85659.1 unknown [Medicago truncatula]	352	1e-112
ref XP_003539050.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	352	1e-112
gb AFK37869.1 unknown [Medicago truncatula]	352	1e-112
ref XP_002865339.1 glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	351	4e-112
ref XP_002513440.1 beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	351	5e-112
ref XP_003534473.1 PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	350	6e-112
gb AFH35016.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	351	6e-112
gb AFH35012.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	351	7e-112
gb AFH35013.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	351	8e-112
gb AFH35017.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	351	8e-112
ref NP_850065.1 beta glucosidase 14 [Arabidopsis thaliana] >...	349	8e-112
ref XP_002880114.1 glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	349	1e-111
gb ACD65509.2 beta-glucosidase D4 [Lotus japonicus]	349	2e-111
gb AEN94900.1 beta-glucosidase [Malus x domestica]	350	2e-111

ref XP_002277732.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	349	2e-111
ref XP_002512138.1	beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	348	3e-111
ref XP_003579958.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	348	4e-111
ref NP_001237501.1	isoflavone conjugate-specific beta-glucos...	348	4e-111
ref XP_002285585.2	PREDICTED: beta-glucosidase 12 [Vitis vin...	348	4e-111
ref XP_003540705.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	348	4e-111
dbj BAH02550.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	349	6e-111
dbj BAH02551.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	348	9e-111
dbj BAH02547.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	348	9e-111
ref XP_003589430.1	Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	347	1e-110
dbj BAH02548.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	348	1e-110
dbj BAH02549.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	348	1e-110
dbj BAH02546.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	348	1e-110
dbj BAH02544.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	348	1e-110
dbj BAH02545.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	348	1e-110
sp P26204.1 BGLS TRIRP	RecName: Full=Non-cyanogenic beta-gluc...	346	1e-110
gb AEB61486.1	beta-glucosidase [Consolida orientalis]	345	4e-110
gb AAV34606.1	beta-glycosidase [Dalbergia nigrescens]	346	4e-110
ref NP_181973.1	beta glucosidase 15 [Arabidopsis thaliana] >...	345	5e-110
sp A3RF67.1 BAGBG DALNI	RecName: Full=Isoflavonoid 7-O-beta-a...	347	5e-110
ref XP_003539371.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	345	6e-110
emb CBI24835.3	unnamed protein product [Vitis vinifera]	350	7e-110
ref XP_002330884.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	345	1e-109
ref XP_003597481.1	Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	344	1e-109
ref XP_002302853.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	343	1e-109
ref NP_199041.1	beta glucosidase 12 [Arabidopsis thaliana] >...	344	1e-109
ref XP_003597483.1	Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	342	2e-109
ref XP_002330885.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	344	2e-109
dbj BAA78708.1	beta-glucosidase [Polygonum tinctorium]	343	2e-109
dbj BAJ93012.1	predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	342	7e-109
ref XP_002330966.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	342	8e-109
ref XP_003539048.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like, part...	341	3e-108
ref XP_002894292.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	341	3e-108
gb AAF04007.1 AF163097.1	dalcochinin 8'-O-beta-glucoside beta...	341	5e-108
dbj BAG13451.1	beta-glucosidase [Rosa hybrid cultivar]	341	5e-108
ref XP_003539381.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Glyc...	340	5e-108
emb CBI24830.3	unnamed protein product [Vitis vinifera]	353	6e-108

6F2 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI

C-1 6F2 BLASTN Analizi Sonuçları

BLASTN 2.2.27+

Reference: Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

RID: 5HPZ4YJR01N

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
16,509,497 sequences; 42,432,376,979 total letters

Query= 6F2

Length=1046

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
gb AY083162.1 Olea europaea subsp. europaea beta-glucosidase...	1845	0.0
gb EU513349.1 Olea europaea beta-glucosidase (bg1c) mRNA, pa...	106	4e-19

C-2 6F2 BLASTP Analizi Sonuçları

BLASTP 2.2.27+

Reference: Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

Reference for compositional score matrix adjustment: Stephen F. Altschul, John C. Wootton, E. Michael Gertz, Richa Agarwala, Aleksandr Morgulis, Alejandro A. Schaffer, and Yi-Kuo Yu (2005) "Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices", FEBS J. 272:5101-5109.

RID: 5HV8K6WN014

Database: All non-redundant GenBank CDS translations+PDB+SwissProt+PIR+PRF excluding environmental samples from WGS projects		
20,414,753 sequences; 7,002,679,596 total letters		
Query=		
Length=349		
Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
gb AAL93619.1 beta-glucosidase [Olea europaea subsp. europaea]	594	0.0
gb AES93119.1 putative strictosidine beta-D-glucosidase [Cam...	318	9e-101
pdb 4A3Y A Chain A, Crystal Structure Of Raucaffricine Glucos...	291	2e-90
pdb 3U57 A Chain A, Structures Of Alkaloid Biosynthetic Gluco...	290	4e-90
sp Q8GU20.1 SG1_RAUSE RecName: Full=Strictosidine-O-beta-D-gl...	290	4e-90
dbj BAK01899.1 predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	290	5e-90
gb ABW77570.1 strictosidine-O-beta-D-glucosidase [Catharanth...	290	1e-89
gb EEC80501.1 hypothetical protein OsI_22753 [Oryza sativa I...	288	2e-89
gb AAF28800.1 AF112888_1 strictosidine beta-glucosidase [Cath...	288	7e-89
sp Q5Z9Z0.1 BGL24_ORYSJ RecName: Full=Beta-glucosidase 24; Sh...	286	7e-89
ref XP_003563902.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Brac...	284	5e-88
ref XP_003620203.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	281	8e-87
gb AFB70991.1 strictosidine beta-D-glucosidase, partial [Mit...	272	2e-86
ref XP_002305150.1 predicted protein [Populus trichocarpa] >...	277	3e-85
ref XP_003539373.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	277	5e-85
ref XP_003540541.1 PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	276	5e-85
gb AEB61485.1 beta-glucosidase [Consolida orientalis]	276	7e-85
ref XP_003539378.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	275	3e-84
ref XP_003597482.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	273	1e-83
ref XP_003539051.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	273	1e-83
ref XP_003597509.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	273	1e-83
gb AAG25897.1 AF170087_1 silverleaf whitefly-induced protein ...	272	1e-83
ref NP_001237501.1 isoflavone conjugate-specific beta-glucos...	273	1e-83
ref XP_003620196.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	273	1e-83
ref XP_003633571.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	273	1e-83
ref XP_002513440.1 beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	273	1e-83
dbj BAA11831.1 furostanol glycoside 26-O-beta-glucosidase (F...	273	3e-83
sp P26204.1 BGLS_TRIRP RecName: Full=Non-cyanogenic beta-gluc...	271	4e-83
dbj BAH02551.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	271	9e-83
dbj BAH02549.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	271	9e-83
ref XP_003537944.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	271	9e-83
dbj BAH02550.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	271	9e-83
ref XP_003540706.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	271	1e-82
dbj BAH02547.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	271	1e-82
ref XP_003537945.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	270	1e-82
ref XP_003539052.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	273	1e-82
dbj BAH02548.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	271	1e-82
dbj BAH02546.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	271	1e-82
ref XP_002277732.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	270	1e-82
ref XP_003540006.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	271	1e-82
dbj BAH02544.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	271	1e-82
dbj BAH02545.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	271	1e-82
gb ACD65511.1 beta-glucosidase D7 [Lotus japonicus]	270	2e-82
gb AEB61486.1 beta-glucosidase [Consolida orientalis]	269	3e-82
ref XP_002330883.1 predicted protein [Populus trichocarpa] >...	261	4e-82
gb ABK60303.2 glycosylhydrolase family 1 [Leucaena leucoceph...	261	6e-82
dbj BAC78656.1 beta-primeverosidase [Camellia sinensis]	268	7e-82
gb ACD65510.1 beta-glucosidase D2 [Lotus japonicus]	268	1e-81
ref XP_003546992.1 PREDICTED: beta-glucosidase 11-like [Glyc...	268	1e-81
ref XP_002276051.2 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	267	1e-81
ref XP_002277198.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	267	2e-81
gb AAD31364.1 putative beta-glucosidase [Arabidopsis thaliana]	263	2e-81
ref XP_002277408.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12 isoform 1 ...	267	2e-81
emb CBI24820.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	267	2e-81
gb ABW76288.1 beta-glucosidase G3 [Medicago truncatula]	266	2e-81
ref XP_002285582.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	267	3e-81
emb CBI24835.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	270	3e-81
ref XP_002273684.2 PREDICTED: furcatin hydrolase-like [Vitis...	266	4e-81
ref XP_002512138.1 beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	266	4e-81
ref XP_003539053.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	266	5e-81
ref XP_003539050.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	266	7e-81
gb ABW76287.1 beta-glucosidase G2 [Medicago truncatula]	266	9e-81
gb ACJ85659.1 unknown [Medicago truncatula]	265	9e-81
gb AFK37869.1 unknown [Medicago truncatula]	265	1e-80
ref XP_002285585.2 PREDICTED: beta-glucosidase 12 [Vitis vin...	265	1e-80

ref NP_199277.1	beta glucosidase 13 [Arabidopsis thaliana] >...	265	1e-80
ref XP_002448029.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_06g019860...	264	2e-80
ref XP_003589430.1	Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	264	2e-80
dbj BAG13451.1	beta-glucosidase [Rosa hybrid cultivar]	265	2e-80
dbj BAA78708.1	beta-glucosidase [Polygonum tinctorium]	264	3e-80
ref XP_003539371.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	264	3e-80
ref NP_199041.1	beta glucosidase 12 [Arabidopsis thaliana] >...	264	3e-80
ref XP_003579957.1	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	264	3e-80
ref XP_003633586.1	PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: furcatin ...	259	3e-80
ref NP_850065.1	beta glucosidase 14 [Arabidopsis thaliana] >...	263	3e-80
ref XP_002330884.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	264	4e-80
ref XP_002865339.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	263	6e-80
ref XP_002330885.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	263	7e-80
gb ABY48758.1	glycosylhydrolase 1 [Leucaena leucocephala]	263	9e-80
ref XP_002880114.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	263	1e-79
emb CAK97604.2	beta-glucosidase-like protein [Camellia sinen...	262	2e-79
dbj BAJ93012.1	predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	262	2e-79
gb AAV34606.1	beta-glycosidase [Dalbergia nigrescens]	262	2e-79
ref XP_003540705.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	261	4e-79
ref XP_003539048.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like, part...	261	5e-79
emb CAG14979.1	non-cyanogenic beta-glucosidase [Cicer ariet...	260	8e-79
ref XP_003579958.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	260	1e-78
ref XP_002302853.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	259	1e-78
gb ACD65509.2	beta-glucosidase D4 [Lotus japonicus]	260	1e-78
ref XP_003534473.1	PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	259	2e-78
ref NP_181973.1	beta glucosidase 15 [Arabidopsis thaliana] >...	259	3e-78
ref XP_003620192.1	Beta-glucosidase [Medicago truncatula] >g...	258	3e-78
gb AEN94900.1	beta-glucosidase [Malus x domestica]	259	3e-78
gb AFK35893.1	unknown [Medicago truncatula]	259	4e-78
ref XP_002298155.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	257	5e-78
ref XP_002512142.1	beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	256	6e-78
ref XP_003539387.1	PREDICTED: beta-glucosidase 10-like [Glyc...	258	7e-78
emb CAN72287.1	hypothetical protein VITISV_036888 [Vitis vin...	256	7e-78
ref XP_002330966.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	257	9e-78
emb CBI24830.3	unnamed protein product [Vitis vinifera]	267	1e-77

6F11 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI

D-1 6F11 BLASTN Analizi Sonuçları

BLASTN 2.2.27+

Reference: Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

RID: 5HSTK9M301N

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
16,509,497 sequences; 42,432,376,979 total letters

Query= 6F11

Length=1392

Sequences producing significant alignments:		Score (Bits)	E Value
gb AY083162.1	Olea europaea subsp. europaea beta-glucosidase...	2230	0.0
gb EU513349.1	Olea europaea beta-glucosidase (bglc) mRNA, pa...	649	0.0
ref NM_115876.4	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 (BG...	67.6	3e-07
ref NM_001084847.1	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 ...	67.6	3e-07
ref NM_001035822.2	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 ...	67.6	3e-07
gb AY113935.1	Arabidopsis thaliana putative beta-glucosidase...	67.6	3e-07
gb AY045953.1	Arabidopsis thaliana putative beta-glucosidase...	67.6	3e-07
emb BX824238.1	Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complet...	67.6	3e-07
dbj AB047804.1	Arabidopsis thaliana YLS1 mRNA for beta-gluco...	67.6	3e-07

D-2 6F11 BLASTP Analizi Sonuçları

BLASTP 2.2.27+

Reference: Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

Reference for compositional score matrix adjustment: Stephen F. Altschul, John C. Wootton, E. Michael Gertz, Richa

Agarwala, Aleksandr Morgulis, Alejandro A. Schaffer, and

Yi-Kuo Yu (2005) "Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices", FEBS J. 272:5101-5109.

RID: 5HVNJ7YP01N

Database: All non-redundant GenBank CDS translations+PDB+SwissProt+PIR+PRF excluding environmental samples from WGS projects

20,414,753 sequences; 7,002,679,596 total letters

Query= 6F11_2

Length=464

Sequences producing significant alignments:		Score (Bits)	E Value
gb AAL93619.1	beta-glucosidase [Olea europaea subsp. europaea]	481	3e-162
gb AES93119.1	putative strictosidine beta-D-glucosidase [Cam...	241	6e-70
gb EEC80501.1	hypothetical protein OsI_22753 [Oryza sativa I...	214	4e-60
sp Q8GU20.1 SG1_RAUSE	RecName: Full=Strictosidine-O-beta-D-gl...	215	5e-60
gb ABW77570.1	strictosidine-O-beta-D-glucosidase [Catharanth...	214	1e-59
sp Q5Z9Z0.1 BGL24_ORYSJ	RecName: Full=Beta-glucosidase 24; Sh...	213	1e-59
ref XP_003540541.1	PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	212	2e-59
gb AAF28800.1 AF112888_1	strictosidine beta-glucosidase [Cath...	212	7e-59
pdb 3U57 A	Chain A, Crystal Structure Of Raucaffricine Glucos...	211	3e-58
pdb 3U57 A	Chain A, Structures Of Alkaloid Biosynthetic Gluco...	209	6e-58
ref XP_003620203.1	Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	209	6e-58
ref XP_003563902.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Brac...	207	1e-57
dbj BAK01899.1	predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	207	3e-57
ref XP_003589430.1	Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	206	5e-57
ref XP_003539378.1	PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	206	1e-56
dbj BAA11831.1	furostanol glycoside 26-O-beta-glucosidase (F...	206	2e-56
ref XP_002305150.1	predicted protein [Populus trichocarpa] >...	204	2e-56
sp Q75W17.1 FURH_VIBFR	RecName: Full=Furcatin hydrolase; Shor...	202	3e-55
ref XP_003532867.1	PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	201	5e-55
gb AFB70991.1	strictosidine beta-D-glucosidase, partial [Mit...	192	1e-54
ref XP_002277198.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	198	6e-54
gb AAG25897.1 AF170087_1	silverleaf whitefly-induced protein ...	197	9e-54
dbj BAH02549.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	198	9e-54
dbj BAH02544.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	198	9e-54
dbj BAH02546.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	198	9e-54
dbj BAH02551.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	198	9e-54
dbj BAH02548.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha] >db...	198	1e-53
dbj BAH02545.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	198	1e-53
dbj BAH02550.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	197	1e-53
dbj BAH02547.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	197	1e-53
gb AEB61486.1	beta-glucosidase [Consolida orientalis]	196	4e-53
ref XP_002513440.1	beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	196	5e-53
emb CBI24830.3	unnamed protein product [Vitis vinifera]	197	6e-52
gb AEM17055.1	beta-D-glucosidase precursor [Zea mays]	191	5e-51
ref NP_001105892.1	beta-D-glucosidase precursor [Zea mays] >...	191	6e-51
emb CBI16442.3	unnamed protein product [Vitis vinifera]	194	6e-50
pdb 1HXJ A	Chain A, Crystal Structure Of The Maize Zm-P60.1 B...	186	2e-49
pdb 1E1E A	Chain A, Crystal Structure Of A Monocot (Maize Zmg...	186	2e-49
pdb 1H49 A	Chain A, Crystal Structure Of The Inactive Double ...	185	3e-49
ref NP_001105454.1	beta-glucosidase, chloroplastic precursor...	186	4e-49
sp P49235.1 BGLC_MAIZE	RecName: Full=Beta-glucosidase, chloro...	186	4e-49
pdb 1E4L A	Chain A, Crystal Structure Of The Inactive Mutant ...	184	5e-49
ref XP_002285584.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12 [Vitis vin...	184	5e-49
gb AAL07490.1 AF414607_1	putative prunasin hydrolase precursor...	184	8e-49
gb AAF34651.2 AF221527_1	putative prunasin hydrolase isoform ...	184	9e-49
ref XP_002962270.1	hypothetical protein SELMODRAFT_76384 [Se...	183	2e-48
dbj BAH02552.1	beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	183	2e-48
ref XP_003632118.1	PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	182	3e-48
emb CAN73154.1	hypothetical protein VITISV_040682 [Vitis vin...	178	8e-48
gb AFN69080.1	putative strictosidine beta-D-glucosidase [Unc...	180	3e-47
ref XP_002442031.1	hypothetical protein SORBIDRAFT_08g007586...	179	1e-46
dbj BAD10730.1	putative beta-glucosidase isozyme 2 precursor...	176	1e-46
ref NP_001062201.1	Os08g0509200 [Oryza sativa Japonica Group...	176	5e-46

ref XP_002965185.1	hypothetical protein SELMODRAFT_167232 [S...	174	2e-45
emb CAA55196.1	beta-D-glucosidase [Avena sativa]	174	8e-45
ref XP_002880113.1	predicted protein [Arabidopsis lyrata sub...	169	2e-43
gb AAV71147.1	myrosinase [Armoracia rusticana]	169	2e-43
emb CAB75927.1	beta-glucosidase-like protein [Arabidopsis th...	169	3e-43
ref NP_191571.4	beta glucosidase 27 [Arabidopsis thaliana] >...	169	3e-43
ref XP_002885436.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	166	2e-42
ref XP_002876537.1	glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	164	1e-41
emb CAC08209.2	beta-glucosidase [Cicer arietinum]	162	1e-41
gb AAL39079.1	AF411009_1 prunasin hydrolase isoform PH B prec...	162	5e-41
ref XP_001850320.1	lactase-phlorizin hydrolase [Culex quinqu...	162	7e-41
gb AAL06338.1	AF411928_1 prunasin hydrolase isoform PH B prec...	162	8e-41
ref ZP_10975264.1	beta-galactosidase [Clostridium sp. 7_2_43...	160	1e-40
dbj BAJ33862.1	unnamed protein product [Thellungiella haloph...	160	2e-40
gb EEC67808.1	hypothetical protein OsI_35375 [Oryza sativa I...	159	3e-40
ref XP_003604643.1	Beta-glucosidase G1 [Medicago truncatula]...	158	9e-40
ref NP_197972.2	myrosinase 1 [Arabidopsis thaliana] >gb AED9...	157	2e-39
dbj BAB17226.1	myrosinase [Raphanus sativus]	158	2e-39
gb AAL25596.1	AT5g26000/T1N24_7 [Arabidopsis thaliana]	158	2e-39
gb AAL06896.1	AT5g26000/T1N24_7 [Arabidopsis thaliana]	157	2e-39
ref NP_851077.1	myrosinase 1 [Arabidopsis thaliana] >sp P377...	157	3e-39
gb AAL27856.1	raucaffricine-O-beta-D-glucosidase-like protei...	150	3e-39
emb CAH40802.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	3e-39
emb CAH40814.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40819.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40810.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40817.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40804.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40809.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40799.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40803.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40805.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
emb CAH40808.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	4e-39
ref YP_005470321.1	broad-specificity cellobiase [Fervidobact...	155	4e-39
emb CAH40824.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	156	5e-39
emb CAH40811.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	7e-39
emb CAH40806.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	7e-39
emb CAH40823.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	7e-39
emb CAH40800.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	8e-39
emb CAH40813.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	8e-39
emb CAH40801.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	8e-39
emb CAH40815.1	thioglucoside glucohydrolase [Arabidopsis tha...	155	8e-39
ref XP_001650340.1	glycoside hydrolases [Aedes aegypti] >gb ...	155	1e-38
ref XP_001659855.1	glycoside hydrolases [Aedes aegypti] >gb ...	155	1e-38
ref XP_316461.3	AGAP006425-PA [Anopheles gambiae str. PEST] ...	155	2e-38
ref NP_001062202.2	Os08g0509400 [Oryza sativa Japonica Group...	155	2e-38
gb EJS07030.1	beta-galactosidase [Bacillus cereus VDM022]	154	2e-38

6F15 BLAST ANALİZİ SONUÇLARI

E-1 6F15 BLASTN Analiz Sonuçları

BLASTN 2.2.27+

Reference: Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

RID: 4GS2SNSU01N

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
16,443,641 sequences; 42,239,105,370 total letters

Query=
Length=1657

Sequences producing significant alignments:		Score (Bits)	E Value
gb AY083162.1	Olea europaea subsp. europaea beta-glucosidase...	2835	0.0
gb EU513349.1	Olea europaea beta-glucosidase (bglc) mRNA, pa...	673	0.0
ref NM_115876.4	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 (BG...	67.6	3e-07
ref NM_001084847.1	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 ...	67.6	3e-07
ref NM_001035822.2	Arabidopsis thaliana beta glucosidase 16 ...	67.6	3e-07
gb AY113935.1	Arabidopsis thaliana putative beta-glucosidase...	67.6	3e-07
gb AY045953.1	Arabidopsis thaliana putative beta-glucosidase...	67.6	3e-07
emb BX824238.1	Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complet...	67.6	3e-07
dbj AB047804.1	Arabidopsis thaliana YLS1 mRNA for beta-gluco...	67.6	3e-07

E-2 6F15 BLASTP Analiz Sonuçları

BLASTP 2.2.27+

Reference: Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

Reference for compositional score matrix adjustment: Stephen F. Altschul, John C. Wootton, E. Michael Gertz, Richa

Agarwala, Aleksandr Morgulis, Alejandro A. Schaffer, and Yi-Kuo Yu (2005) "Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices", FEBS J. 272:5101-5109.

RID: 4GNZR97B01N

Database: All non-redundant GenBank CDS translations+PDB+SwissProt+PIR+PRF excluding environmental samples from WGS projects

20,191,133 sequences; 6,915,215,180 total letters

Query= EMBOSS_001_1

Length=553

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
gb AAL93619.1 beta-glucosidase [Olea europaea subsp. europaea]	968	0.0
pdb 4A3Y A Chain A, Crystal Structure Of Raucaffricine Glucos...	445	4e-147
pdb 3U57 A Chain A, Structures Of Alkaloid Biosynthetic Gluco...	441	5e-146
ref XP_003597509.1 Beta-glucosidase D2 [Medicago truncatula]...	434	3e-143
ref XP_003597482.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	433	5e-143
ref XP_003620203.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	433	7e-143
gb ABY48758.1 glycosylhydrolase 1 [Leucaena leucocephala]	430	1e-141
ref XP_003546992.1 PREDICTED: beta-glucosidase 11-like [Glyc...	430	1e-141
gb ACD65511.1 beta-glucosidase D7 [Lotus japonicus]	428	9e-141
ref XP_003540706.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	425	2e-139
ref XP_003539373.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	423	7e-139
gb AEN94900.1 beta-glucosidase [Malus x domestica]	423	2e-138
ref XP_002277198.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	421	3e-138
emb CBI24820.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	421	4e-138
ref XP_002276051.2 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	421	5e-138
ref XP_002285582.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	420	1e-137
ref XP_003539051.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	419	3e-137
ref XP_003633571.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	418	3e-137
ref XP_002285585.2 PREDICTED: beta-glucosidase 12 [Vitis vin...	417	1e-136
ref XP_002277408.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12 isoform 1 ...	416	2e-136
gb ABW76288.1 beta-glucosidase G3 [Medicago truncatula]	415	9e-136
gb ACD65509.2 beta-glucosidase D4 [Lotus japonicus]	415	1e-135
ref XP_003632118.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Viti...	412	1e-134
gb ABW76287.1 beta-glucosidase G2 [Medicago truncatula]	412	2e-134
gb AFK35893.1 unknown [Medicago truncatula]	412	2e-134
gb ABW77570.1 strictosidine-O-beta-D-glucosidase [Catharanth...	413	2e-134
ref XP_003620192.1 Beta-glucosidase [Medicago truncatula] >g...	411	2e-134
ref XP_003597481.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	411	2e-134
ref XP_003539053.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	412	2e-134
gb ACJ85659.1 unknown [Medicago truncatula]	411	3e-134
ref XP_003597483.1 Beta-glucosidase D4 [Medicago truncatula]...	409	3e-134
ref XP_003539052.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	414	7e-134
gb AFK37869.1 unknown [Medicago truncatula]	409	3e-133
ref XP_002299251.1 predicted protein [Populus trichocarpa] >...	408	3e-133
gb AAF28800.1 AF112888_1 strictosidine beta-glucosidase [Cath...	410	3e-133
ref XP_003540705.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like [Glyc...	408	5e-133
ref XP_003537944.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	407	1e-132
ref XP_003537945.1 PREDICTED: beta-glucosidase 24-like isofo...	407	1e-132
dbj BAG13451.1 beta-glucosidase [Rosa hybrid cultivar]	407	2e-132
ref XP_002512138.1 beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	405	7e-132
ref XP_002285584.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12 [Vitis vin...	403	3e-131
emb CBI24830.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	417	1e-130
ref NP_001237501.1 isoflavone conjugate-specific beta-glucos...	401	2e-130
ref XP_003615724.1 Beta-glucosidase D7 [Medicago truncatula]...	401	4e-130
ref XP_002513439.1 beta-glucosidase, putative [Ricinus commu...	398	2e-129
ref XP_002273684.2 PREDICTED: furcatin hydrolase-like [Vitis...	397	5e-129
gb AFH35017.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	395	1e-127
emb CBI24818.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	395	1e-127
dbj BAH02552.1 beta-glucosidase [Psychotria ipecacuanha]	395	1e-127
gb AFH35016.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	395	1e-127
gb AFH35013.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	394	2e-127
gb AFH35012.1 prunasin hydrolase [Prunus dulcis]	394	3e-127
gb ABV54754.1 beta-glucosidase-like protein [Trifolium repens]	392	4e-127
ref XP_003579958.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like isofo...	392	6e-127

emb CBI16442.3 unnamed protein product [Vitis vinifera]	418	6e-127
pdb 3PTK A Chain A, The Crystal Structure Of Rice (Oryza Sati...	392	9e-127
dbj BAC78656.1 beta-primeverosidase [Camellia sinensis]	391	1e-126
ref XP_002270422.2 PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Viti...	390	2e-126
ref XP_003534473.1 PREDICTED: beta-glucosidase 13-like [Glyc...	390	3e-126
gb AEB61486.1 beta-glucosidase [Consolida orientalis]	390	3e-126
emb CAH66812.1 OSIGBa0135C13.7 [Oryza sativa Indica Group] >...	390	4e-126
ref XP_002269979.2 PREDICTED: vicianin hydrolase-like [Vitis...	394	4e-126
ref XP_003539381.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like [Glyc...	390	5e-126
sp Q7XKV4.2 BGL12_ORYSJ RecName: Full=Beta-glucosidase 12; Sh...	389	8e-126
sp Q75W17.1 FURH_VIBFR RecName: Full=Furcatin hydrolase; Shor...	389	3e-125
gb ABV54753.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	387	5e-125
gb ABV54752.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	386	8e-125
gb ABV54730.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	386	1e-124
gb AAA93234.2 amygdalin hydrolase isoform AH I precursor [Pr...	388	1e-124
ref XP_003539387.1 PREDICTED: beta-glucosidase 10-like [Glyc...	386	1e-124
gb ABV54751.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	385	2e-124
gb AAL07489.1 AF414606_1 amygdalin hydrolase isoform AH I pre...	386	3e-124
ref XP_003539048.1 PREDICTED: beta-glucosidase 12-like, part...	385	3e-124
gb ABV54745.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	385	3e-124
gb ABV54750.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	384	4e-124
gb ABV54739.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	384	5e-124
gb ABV54737.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	384	5e-124
pdb 1CBG A Chain A, The Crystal Structure Of A Cyanogenic Bet...	384	7e-124
gb ABV54720.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	384	8e-124
gb ABV54716.1 cyanogenic beta-glucosidase, partial [Trifolium...	384	8e-124
gb AFN69080.1 putative strictosidine beta-D-glucosidase [Unc...	385	1e-123
emb CAG14979.1 non-cyanogenic beta-glucosidase [Cicer arieti...	383	2e-123
gb AAV34606.1 beta-glycosidase [Dalbergia nigrescens]	384	2e-123
emb CAK97604.2 beta-glucosidase-like protein [Camellia sinen...	381	1e-122
gb AAF04007.1 AF163097_1 dalcocinin 8'-O-beta-glucoside beta...	381	3e-122
ref XP_003633570.1 PREDICTED: LOW QUALITY PROTEIN: beta-gluc...	375	2e-120
sp A3RF67.1 BAGBG_DALNI RecName: Full=Isoflavonoid 7-O-beta-a...	375	5e-120
ref XP_003556662.1 PREDICTED: beta-glucosidase 40-like [Glyc...	370	1e-118
gb ABL01537.1 beta glucosidase [Hevea brasiliensis]	369	8e-118
gb AAO49267.1 AF480476_1 P66 protein [Hevea brasiliensis]	368	3e-117
dbj BAK06497.1 predicted protein [Hordeum vulgare subsp. vul...	365	3e-116
ref XP_002986009.1 hypothetical protein SELMODRAFT_271823 [S...	364	3e-116
ref XP_002981889.1 hypothetical protein SELMODRAFT_268527 [S...	357	2e-113
emb CAA64442.1 beta glucosidase [Manihot esculenta]	351	1e-110
ref XP_002328320.1 predicted protein [Populus trichocarpa] >...	349	3e-110
ref XP_002891641.1 glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	348	9e-110
ref XP_002894292.1 glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	347	2e-109
ref NP_175558.3 myrosinase 5 [Arabidopsis thaliana] >sp Q3EC...	347	2e-109
ref XP_002891287.1 glycosyl hydrolase family 1 protein [Arab...	346	5e-109
ref NP_175191.2 myrosinase 4 [Arabidopsis thaliana] >sp Q8GR...	345	7e-109

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gizem ÇAVUŞOĞLU DOLMA
Doğum Tarihi ve Yeri : 03.11.1985 / Bulgaristan
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : gizcavusoglu@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Mol. Biyo. ve Genetik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2013
Lisans	Biyoloji	İstanbul Üniversitesi	2007
Lise	Fen	Büyükşehir Hüseyin Yıldız Anadolu Lisesi	2003

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2013	Yıldız Teknik Üniversitesi	Asistan Öğrenci
2009	Kültür Dersanesi	Biyoloji Öğretmeni