

Enzim	Kaynak	Termotoleransı
Proteazlar		
<i>Thermolysin</i> (nötral proteaz)	<i>B. thermoproteolyticus</i>	Ca iyonları varlığında 80 °C'ta 1 saat stabildir.
<i>Aqualysin I</i> (alkalin proteaz)	<i>T. aquaticus</i>	
<i>Aqualysin II</i> (nötral proteaz)	<i>T. aquaticus</i>	
<i>Caldolysin</i> (pH 4-12 de 75 °C'ta stabildir)	<i>T. aquaticus</i>	Ca iyonları varlığında 80 °C'ta 30 saat stabildir.
Sellulazlar		
<i>Sellulaz</i>	<i>C. thermocellum</i>	70 °C'ta 15 dakika stabildir.
<i>Hemisellulaz</i>		
<i>Sellobiyaz</i>	<i>Termofilik Bacillus sp.</i>	15 dakika 70 °C'ta stabildir.
Amilazlar		
α -amilaz	<i>Termofilik Bacillus sp.</i>	90-95 °C'ta aktivite gösterebilir.
β -amilaz	<i>B. licheniformis</i>	
Diğerleri		
<i>Glikoz izomeraz</i>	<i>B. coagulans</i>	
<i>Alkol dehidrojenaz</i>	<i>Thermoanaerobium ethanolicus</i>	
β -Galaktosidaz	<i>T. aquaticus</i>	65 °C'ta 36 gün sonra %10 aktivite kaybeder.

Tablo 2 Termofillerden Elde Edilen Bazı Önemli Enzimler.

Eksoenzimler	Katalizlediği Reaksiyonlar
Proteazlar	Proteinleri protoz, pepton, peptitlere ayırır.
Gelatinaz	Gelatini hidrolizlemek üzere birçok bakteri tarafından sentezlenir.
Pepsin	Hayvanlarda bulunan proteinleri hidrolizler.
Tripsin	Hayvanlarda bulunan proteinleri hidrolizler.
Karbonhidratazlar	Polisakkaritler ve Disakkaritleri hidrolizler.
Sellulaz	Seluloz — $C_{12}H_{22}O_{11}$ (sellobioz)
Amilaz	Nişasta — $C_{12}H_{22}O_{11}$ (maltoz)
Maltaz	$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ — $2C_6H_{12}O_6$ (glükoz)
β -Galaktosidaz	$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ — $C_6H_{12}O_6$ (glükoz) + $C_6H_{12}O_6$ (galaktoz)
Sukraz	$C_{12}H_{22}O_{11}$ (sukroz) + H_2O — $C_6H_{12}O_6$ (glükoz) + $C_6H_{12}O_6$ (fruktoz)
Lipazlar	Yağları gliserin ve yağ asitlerine parçalar.

Tablo 3 Bakterilerin Eksoenzimlerinden Bazıları ve Katalizlediği Reaksiyonlar.

depo polisakkarittir. Molekül ağırlığı birkaç binden 500.000 dalton'a kadar değişmektedir. Amilopektin daha yüksek molekül ağırlığına sahip bir depo polisakkarittir(13).

Nişastanın ana maddesi enzimatik olarak hidrolize olmaktadır. Tükrükte ve sindirim kanalında bulunan α -amilaz nişastanın α (1-4) bağlarını hidroliz etmektedir. Tükrük ve sindirim kanalına salgılanan α -amilaz dışında bakteriler tarafından salgılanan α -amilazda nişastayı hidrolize etme yeteneğindedir. Son yıllarda özellikle B. subtilis'ten izole edilen α -amilaz (14) üzerinde yoğun çalışmalar vardır. Ortamda bir karbon kaynağı ve inorganik tuzların varlığında amilaz üretimi birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir(15). Bakterial amilaz'ın termostabil özellik gösterdiği yine birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir(14,16).

Deschneider çalışmalarında α -amilaz'ın varlığını poliakrilamid jel elektroforezinde göstermiş ve izolasyonu ile ilgili çalışmalar yapmıştır(17). Ramesil yaptığı çalışmalarda termostabil α -amilaz'ın 4 °C'taki ekstraksiyonu ve 28 °C'taki ekstraksiyonunu karşılaştırdığında 4 °C ta % 12'lik bir artışın olduğunu göstermiştir(18). Yine yapılan çalışmalar α -amilazın termostabil özelliğini kofaktörden kaynaklandığını göstermiştir(18,19). Ortamda protein, peptit, pepton gibi organik maddelerin varlığında bakterinin bunları kaynak olarak kullanarak eksoenzim sentezini artırdığı saptanmıştır. Anderson ve arkadaşları hazırladıkları birçok organik ve inorganik madde içeren puding'te Bacillus türlerini üreterek fazla miktarda aktivitesi yüksek termostabil α -amilaz üretimi gerçekleştirmişlerdir(14). Özellikle üretim sırasında sıcaklıktan dolayı α -amilaz aktivitesinin korunması için yapılan deneylerde ortamda albumin varlığında amilazın korunduğu gösterilmiştir(14,16). Ortamda Ca^{++} iyonları,

nişasta ve albumin varlığında amilazın stabilize olduğu ancak ısının 143 °C tan düşük olması gerektiği gösterilmiştir(20).

PROTEAZLAR

Proteolitik enzimleri endüstriyel enzimlerin 1/2, 1/3'ünü oluşturmaktadır(15). Bunların 25 tanesi termostabildir. Alkalın proteazlar deterjan endüstrisinde kullanılmaktadır.

B. subtilis'ten iki tip proteaz izole edilmiştir. Bunlar nötral pH'da aktif metal enzimleri (21,22) ve alkali pH'da aktif serin enzimleridir(23,24). Bu enzimlerin inhibitörlere karşı davranışlarında da farklılık gözlenmiştir. Enzimlerin estrolitik aktivitelerinde de yine farklılıklar gösterilmiştir(21,22,25). Millet yaptığı çalışmalarda proteazların B. subtilis'in sporlaşma döneminde metabolik rolleri olduğunu ileri sürmüştür. Yaptığı diğer çalışmalar ile bu proteazların kinetiklerinin özel inhibitörler ile incelenebileceğini göstermiştir(26). Minamiura ve arkadaşları B. subtilis'in alkali proteazlarının etkisiyle parçalanan kazein'in peptitlerinin amino asit dizilerini araştırmışlardır(27). Millet yaptığı çalışmalarda proteazların eldesi için 0,40 gr/ml amonyum sülfat çöktürmesinin uygulanması ile total proteazların elde edildiğini elektroforetik olarak ispat etmiştir(28).

PROTEİN SENTEZ İNHİBİTÖRLERİ

Protein sentezi karakteristik olarak birçok antibiotik tarafından inhibe edilmektedir. Antibiotikler bazı mikroorganizmalar tarafından kimyasal savunma aracı olarak sentezlenmektedir. Organizmanın sentez ettiği bu bileşikler kendileri dışında kalan diğer mikroorganizmalar için son derece toksiktir. Faaliyet mekanizmaları spesifik

olan antibiotikler biokimyasal çalışmalar için son derece faydalı bileşiklerdir.

CHLORAMPHENICOL : Ribozomun 50S subunitesinde bulunan peptidil transferaz aktivitesini inhibe ederek protein sentezini engeller.

TETRACYCLIN : Ribozomun 30S subunitesine bağlanır ve aminoasıl-tRNA'nın bağlanmasını inhibe eder.

STREPTOMYCIN : Sentezin başlamasını inhibe eder ve mRNA üzerinde yanlış okumalara neden olur.

PUROMYCIN : Aminoasıl-tRNA analogu olarak hareket eder 70S ribozomun aminoasıl bölgesine bağlanır. Varolan protein ile peptit bağı yapar ve protein zincir uzaması durur kısa zincirli proteinlerin ortama salınmasına neden olur.

BETA-LAKTAM GRUBU : Ampicillin ve Cephalosporin grubu antibiyotikler bu gruba girerler. Hücre duvar yapısında bulunan murein sentezini inhibe ederek etki gösterirler(29).

ERITROMİSİN : Ribozomun 50S subunitesine bağlanır ve translokasyonu inhibe ederek protein sentezini engeller.

SİKLOHEKSİMİD : Ribozomun 60S subunitesinde bulunan peptidil transferas aktivitesini inhibe ederek protein sentezini engeller.

DİFTERİ TOKSİNİ : Ökariyotik hücrelerde EF2' ye bağlanarak protein sentezini inhibe eder.