**Zeytin(Olea europae L.) Lipaz Enziminin Rekombinant Üretimi ve Analizi**

**Sümeyye Pınar ÖZTEKİN1\*, Munise YURTSEVER1, Şenay VURAL KORKUT1**

¹Yıldız Technical University, Faculty of Science and Literature, Molecular Biology and

Genetics Department, İstanbul, Turkey

senay\_vural@yahoo.com

**Özet**

Lipazlar bitki, hayvan ve mikroorganizmalarda bulunan katalitik ve çok yönlü enzimlerdir. Bu enzimler triaçilgliserollerin gliserol ve serbest yağ asitlerine dönüşümünü sağlarlar. Aynı zamanda belirli koşullarda da esterifikasyon ve transesterfikasyon gibi reaksiyonları katalizlerler. Bu çok yönlü özelliklerinden dolayı lipazlar, gıda endüstrisi, ilaç ve biyoyakıt üretimi gibi pek çok alanlarda kullanılmaktadır. Bu alanlarda en çok mikrobiyal lipazlar kullanılırken, bitkisel lipazlar çok daha az çalışılmıştır. Bitkilerde lipazlar genelde yağlı tohumlarda, yapraklarda, kauçuk ve lateks bölgelerinde bulunur. Bu çalışmada, laboratuarımızda yapılan daha önceki bir çalışmada zeytin yaprak lipazının tam uzunlukta cDNA’sı elde edilmiştir (GenBank:MG663218.2). Bu cDNA KpnI ve NotI kesim bölgeleri taşıyan primerlerle klonlanarak pGAPZαA vektörüne aktarıldı. *E.coli* DH5α hücrelerinde çoğaltılan rekombinant plazmit lineerize edilerek *Pichia pastoris* X33 kompetent hücrelerine transforme edilerek maya genomuna entegrasyonu sağlandı. 96 saat 28°C’de ekspresyon gerçekleştirildi. His kuyruğundan faydalanılarak Ni-NTA resin ile pürifiye edilen enzimin, pNPP substratı kullanılarak farklı reaksiyon sıcaklık ve sürelerinde aktivite analizleri yapıldı. Kontrol olarak kullanılan X33’te 37 °C’de 1 saatlik reaksiyonda aktivite 182,4 U/mg iken zeytin lipazında 323,6 U/mg olarak hesaplandı. Yapılan denemelerde zeytin lipazının pH 8-9 aralığında aktivite gösterdiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Lipaz, zeytin, rekombinant ekspresyon

\*Bu çalışma, TÜBİTAK 2210-D Yurtiçi Sanayiye Yönelik Yüksek Lisans Burs Programı ile desteklenmektedir.

**Recombinant Production and Analysis of Olive (Olea europae L.) Lipase Enzyme**

**Abstract**

Lipases are catalytic and versatile enzymes found in plants, animals and microorganisms. These enzymes provide the conversion of triacylglycerols to glycerol and free fatty acids. They also catalyze reactions such as esterification and transesterification under certain conditions. Due to these versatile properties, lipases are used in many areas such as the food industry, pharmaceutical and biofuel production. Although mostly microbial lipases are used in these areas, plant lipases are much less studied. Lipases are commonly found in oilseeds, leaves, rubber, and latex of plants. The full-length cDNA of olive leaf lipase was obtained in an earlier study in our laboratory (GeneBank:MG663218.2). In the present study, this cDNA was cloned with primers including KpnI and NotI recognition sites and transferred into the pGAPZαA vector. The recombinant plasmid amplified in E.coli DH5α cells was linearized and transformed into Pichia pastoris X33 competent cells and integrated into the yeast genome. Expression was carried out at 28°C for 96 hours. The activity analyses of the enzyme purified with Ni-NTA resin using the His tail were performed at different reaction temperatures and times using the pNPP substrate. For X33 control group, the activity was calculated as 182.4 U/mg in the 1-hour reaction at 37°C, while it was 323.6 U/mg for the olive lipase. Our tests showed olive lipase active in the range of pH 8-9.

Key Words: Lipase, olive, recombinant expression

\*This study was supported by TUBITAK 2210-D National Scholarship Programme for MSc Students.