

ARAŞTIRMA MAKALESİ/RESEARCH ARTICLE

Aspergillus niger ÜRİKAZININ BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Figen ERTAN¹, Erol AKSÖZ²

ÖZ

Aspergillus niger'den ürikaz enziminin saflaştırılması, amonyum sülfat çöktürmesi, Sefadex G-200 ve DEAE Cellulose kromatografi teknikleri ile gerçekleştirildi. Enzimin spesifik aktivitesi 0.059-2.386 (U/mg protein) arasında bulunmuştur. Enzimin bazı genel özellikleri araştırılmıştır. Optimum reaksiyon pH'ı 8.5 ve sıcaklığı 35°C'dir. Enzim pH 8.0-9.0 aralığında kararlıdır. 50°C'de 15 dakika inkübasyondan sonra ürikaz başlangıç aktivitesinin yaklaşık % 50'si korundu. Enzimin K_m değeri 1.69×10^{-5} M civarında hesaplandı. KCN ve PCMB' (10 mM) in enzim aktivitesini tamamen inhibe ettiği, 10^{-3} M Hg^{+2} % 95; Zn^{+2} % 89 ve Cu^{+2} 'in % 48 inhibisyon meydana getirdiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Aspergillus niger*, Ürikaz (ürat oksidaz), Saflaştırma, Üretim.

DETERMINATION OF SOME BIOCHEMICAL PROPERTIES OF URICASE FROM *Aspergillus niger*

ABSTRACT

The purification of uricase from *Aspergillus niger* was carried out by precipitation with ammonium sulphate then further proceeded with Sephadex G-200 and DEAE- Cellulose chromatographies. The specific activity of the enzyme was enhanced from 0.059-2.386 (U/mg protein). Some of the general properties of enzyme were investigated. The optimum reaction pH and temperature were 8.5 and 35°C. After incubation at 50°C for 15 min, the uricase remained at about 50 % of initial activity. The apperent K_m value of the enzyme was calculated to be about 1.69×10^{-5} M. KCN and pCMB (10 mM) completely inhibited the enzyme activity. Furthermore, the metal ions such as 10^{-3} M Hg^{+2} 95 %, Zn^{+2} 89 % and Cu^{+2} 48 % were inhibited the activity.

Key Words: *Aspergillus niger*, Uricase(urate oxidase), Purification, Production.

1. GİRİŞ

Ürikaz (Urate oxidase E.C. 1.7.3.3), peroksizomal bir enzim olup, ürik asidin allantoine oksidasyonunu katalizler. Bu enzim, birçok memelinin karaciğerinde bulunur. Fakat bazı primatlar ve insanda aktivite göstermez. Ürik asidin azalan atılımı yada fazla üretimi insanda serum ürik asit seviyesinin yükselmesi sonucu gut artritlerinin gelişmesine öncülük edebilir (Yeldandi vd., 1990).

Serum ürik asit miktarlarının bilinmesi özellikle hastalıkların teşhisinde önem taşımakta ve ürik asit tayini zorunlu olmaktadır. Ürikaz enzimi serum ürik asit

konsantrasyonunu saptamada teşhis enzimi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Liu vd., 1994; Bhargava vd., 1999). Ürikaz klinikte sadece teşhis enzimi olmayıp, ürik asit metabolizmasındaki bozukluklara bağlı olarak meydana gelen hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Ürikaz plazma ürik asit seviyelerini düşürücü ilaçlar arasında yer almıştır (Pawlotsky, 1994).

Mikrobiyal kaynaklı ürikaz eldesi ve enzimin serum ürik asit tayininde uygulanabilirliği ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır (Lehejekova vd., 1986; Ramana ve Sastry, 1993; Chevalet vd., 1993). Ürikaz enzimi-

¹ Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Edirne.

Faks: 0284 230 40 10; **E-posta:** fertan@trakya.edu.tr

² Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara.

Geliş: 15 Aralık 2000; **Düzeltilme:** 28 Mayıs 2001; **Kabul:** 23 Ekim 2001.

nin klinikte uygulanabilirliği öncelikle düşük K_m değerine sahip olması ve kararlılığını koruyabilmesi ile yakından ilişkilidir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada ise ürikaz enzimi ürik asit miktarının saptanmasında biosensörlerin yapımında kullanılmaktadır (Miland vd., 1996; Hasebe vd., 1998; Nakaminamid vd., 1999).

Bu çalışmada, ürikaz enziminin *Aspergillus niger* V. Tiegh'den saflaştırılarak, bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ürikaz kaynağı olarak doğada yaygın bulunabilmesi, üretiminin kolay olması gibi özelliklerinin yanısıra, sahip olduğu ürikaz enziminin biyokimyasal özelliklerinin ve klinikte uygulanabilirliğinin araştırılmamış olması nedeniyle *A. niger* tercih edilmiştir.

2.MATERYAL VE METOD

2.1. Fungus ve Enzim Üretimi: Stok fungus üretimi Czapek Dox Agar'da gerçekleştirildi. Stok kültürler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere ayda bir kez pasaj edilerek +4°C'de saklandı. Ürikaz üretimi % 3 Glukoz, % 0.1 MgSO₄, % 0.1 KCl, % 0.3 Na₂HPO₄ ve % 0.1 ürik asit içeren, 500 ml'lik erlenlerde, 30°C'de, pH 6'da, 3 günlük çalkalamalı (150 rpm) üretim ile gerçekleştirildi (Yokoyama vd., 1988).

2.2. Enzim Ekstraksiyonu: Üretimi takiben, miseller çift katlı tülbent bezinden süzülerek toplandı. Toplanan miseller üç kez distile su ile yıkandı. Süzülüp sıkıştırılan misel kitlesi -80°C'de bir gece boyunca donduruldu. Daha sonra miseller oda ısısında çözüldü. Ağırlıklarının eşdeğer ağırlığında asitle yıkanmış deniz kumu ve 50 mM pH 7.2 Tris - HCl tamponunda (gr/ml) +4°C'de porselen havanda 5 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenat süzüldükten sonra 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi (Nahm ve Marzluf, 1987). Santrifügasyon sonrası dökelti kaba enzim olarak kullanıldı.

2.3. Enzim Aktivite Tayini: Ürikaz aktivitesi kaybolan substrat miktarının hesaplanmasıyla ölçüldü. Substrat olarak 50 mM, pH 8.5 borat tamponunda hazırlanmış 0.1 mM stok ürik asit çözeltisi kullanıldı. Aktivite ölçümleri 0.1 ml enzim, 1.5 ml stok ürik asit çözeltisi, 1.5 ml 50 mM pH 8.5 borat tamponu ile hazırlanmış, enzim - substrat karışımındaki absorbansın 290 nm'deki (ürik asit için $E = 1.22 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^2$) azalması izlenerek spektrofotometrik (Jenway 6105 UV/VIS spectrophotometer) olarak gerçekleştirildi (Yokoyama vd., 1988; Nahm ve Marzluf, 1987).

1 ünite ürikaz aktivitesi: 1 mikromol ürik asidi dakikada verilen deney koşullarında, oksitleyen enzim miktarı olarak tanımlandı.

2.4. Enzim Saflaştırılması: *A. niger*'den ürikaz enziminin saflaştırılması, amonyum sülfat çöktürmesi, diyaliz, jel filtrasyonu ve iyon değiştirici kromatografi yöntemleri kullanılarak +4 °C'de gerçekleştirildi. Saflaştırma basamaklarında 50 mM pH 8.5 borat tamponu kullanıldı. Saflaştırma basamaklarının her kademesinde enzim aktivitesi ve protein miktar tayinleri yapıldı. Protein tayinleri Warburg-Christian yöntemine göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi (Warburg ve Christian, 1941).

2.4.1. Amonyum Sülfat Çöktürmesi: Kaba enzim % 25 oranında amonyum sülfat eklendi. 20 dakika sonra, 35.000 x g'de santrifüj (MSE 60 Sanyo Ultracentrifuge) edildi. Elde edilen dökeltinin amonyum sülfat içeriği % 65'e çıkarıldı. 20 dakika sonra 35.000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen çökelti minimum haciminde tamponda çözüldü. Aynı tampona karşı bir gece boyunca diyaliz edildi.

2.4.2. Jel Filtrasyonu: Diyaliz edilmiş enzim solusyonu (diyalizat), 10 x 250 mm'lik Sephadex G-200 kolonundan geçirildi. Filtrasyon 24 ml/saat akış hızı ile sürdürülerek, 3 ml'lik fraksiyonlar toplandı.

2.4.3. İyon-değiştirici Kromatografi: Jel filtrasyonundan elde edilen aktif fraksiyonlar birleştirilerek, DEAE- Cellulose kolonuna (16 x 55 mm) uygulandı. Öncelikle kolon dengelendi. Daha sonra kolona 0-1.0 M tuz (NaCl) gradienti uygulandı. Kolon akış hızı 1ml/dakika olacak şekilde ayarlandı. 2ml'lik fraksiyonlar toplandı.

2.5. A. niger Ürikazının pH Kararlılığının Araştırılması: Çalışmanın bu bölümünde substrat ve tampon çözeltileri farklı pH derecelerine (7-10) dengelendi. Her bir pH değeri için enzim aktivitesi ölçüldü.

2.6. A. niger Ürikazının Termal Kararlılığının Araştırılması: Farklı sıcaklık derecelerinde, artan inkübasyon süresine bağlı olarak enzim aktivitesinin ne kadarının korunabildiğinin araştırılması amacıyla, enzim 35, 40, 45 ve 50°C'de; 5-30 dakika süreyle inkübe edildi. Daha sonra enzim aktiviteleri ölçüldü.

2.7. A. niger Ürikazının K_m Değerinin Hesaplanması: Enzimin ürik asit için K_m değerinin bulunması amacıyla artan konsantrasyonlarda substrat çözeltileri hazırlandı. Her bir konsantrasyon için enzim aktiviteleri ölçüldü. $1/[S]$ ve $1/V$ değerlerine karşı, en küçük kareler yöntemine göre Lineweaver-Burk grafiği çizildi. Bu yöntemle göre *A. niger* ürikazının ürik asit için K_m değeri hesaplandı.

2.8. Bazı Metal İyonlarının Enzim Aktivitesine Etkisi: Enzim aktivitesi üzerine +2 değerlikli metal iyonlarından Ba⁺², Zn⁺², Hg⁺², Fe⁺², Cu⁺² ve Mg⁺² etkilerini araştırmak amacıyla farklı iki konsantrasyonda (10⁻³ M ve 10⁻⁴ M) metal tuzları enzim örneği ile

Tablo 1. *A. niger* Ürikazının Saflaştırma Basamakları.

Saflaştırma basamakları	Protein (mg)	Total aktivite Ünite (U)	Özgül aktivite (U/mg)	Saflaşma faktörü	Verim (%)
Kaba homojenat	610	36	0.059	1	100
NH ₄ (SO) ₂ fraksiyonu	90	15.2	0.168	2.8	42
Sephadex G-200	10.8	9.72	0.900	15.2	27
DEAE-Cellulose	3.52	8.4	2.386	40.4	23

35°C' de 15 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda ortama substrat çözeltileri eklenerek enzim aktiviteleri ölçüldü.

2.9. KCN, EDTA, Tiyüore ve pCMB'nin Enzim Aktivitesine Etkisi: KCN (potasyum siyanür), EDTA (Etilendiamintetraasetik asit), Tiyüore ve pCMB (parakloromerküribenzoat) üç farklı konsantrasyonda (1.0, 5.0 ve 10 mM) hazırlandı. Enzim örneği ile 35°C' de 5 dakika bekletildikten sonra substrat çözeltileri eklendi. Enzim aktiviteleri ölçülerek bu ajanlardan hiçbirini içermeyen enzim örneklerinin aktivite değerleri ile karşılaştırıldı.

3. BULGULAR

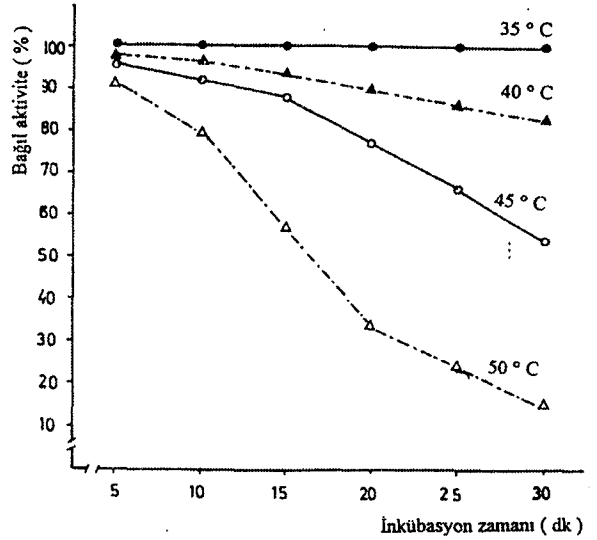
3.1. Saflaştırma: Ürikaz enzimi *A. niger*'den, amonyum sülfat çöktürmesi, diyaliz, jel filtrasyonu ve iyon değiştirici kromatografi yöntemleri kullanılarak 40.4 kez saflaştırıldı (Tablo 1).

3.2. *A. niger* Ürikazının pH Kararlılığının Araştırılması: Tablo 2' de görüldüğü gibi *A. niger* ürikazı pH 8.0–9.0 arasında oldukça kararlı olup, denenen en düşük pH değeri olan 7.0' de de aktivitesinin %54' ünü koruyabilmektedir (Tablo 2).

3.3. *A. niger* Ürikazının Termal Kararlılığının Araştırılması: *A. niger* ürikazı 35°C' de 30 dakika boyunca aktivitesini tamamen korumakta, 50°C' de 15 dakika beklediğinde aktivitesinin yaklaşık % 50'sini kaybetmektedir. *A. niger* ürikazı için termal kararlılık ($t_{1/2}$), 50°C' de 15 dakika olarak belirlendi (Şekil 1).

Tablo 2. pH'nin Enzim Kararlılığına Etkisi.

pH	Bağlı Aktivite (%)
7.0	54
7.5	76
8.0	85
8.5	100
9.0	80
9.5	78
10	68.2

Şekil 1. *A. niger* Ürikazının Termal Kararlılığının Araştırılması.

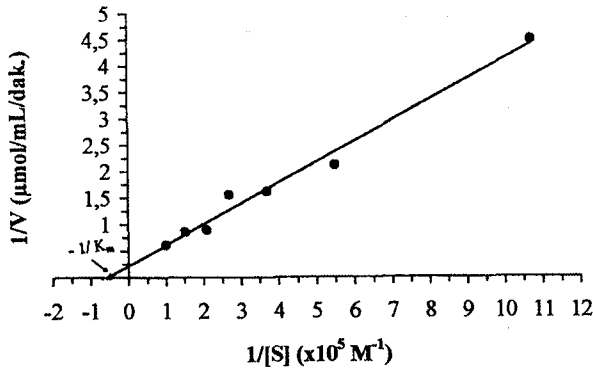
3.4. *A. niger* ürikazının K_m Değerinin Hesaplanması: *A. niger* ürikazının ürik asit için K_m değeri en küçük kareler yöntemine göre 1.69×10^{-5} M olarak hesaplandı (Şekil 2).

3.5. Bazı Metal İyonlarının Enzim Aktivitesine Etkisi: 10^{-3} M'lık metal tuzlarından HgCl₂, ZnCl₂ ve CuSO₄'ün aktiviteyi önemli ölçüde engellediği, en yüksek inhibisyona ise 10^{-3} M'lık HgCl₂'ün neden olduğu saptandı (Tablo 3).

3.6. KCN, EDTA, Tiyüore ve pCMB'nin Enzim Aktivitesine Etkisi: KCN'ün denenen üç farklı konsantrasyonunun da enzim aktivitesini tamamen engellediği belirlendi. pCMB'nin konsantrasyonuna bağlı olarak enzim aktivitesini büyük ölçüde engellediği, tiyüorenin zayıf bir inhibisyona neden olduğu, EDTA'nın ise herhangi bir etki meydana getirmediği saptandı (Tablo 4).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bacillus fastidiosus ürikazı ile yapılan bir çalışmada, enzim saflaştırması sephadex G-200, DEAE – Sephadex A- 50 kromatografi yöntemleri ile 2.07 kez saf-



Şekil 2. *A. niger* Ürikazının K_m Değerininin Hesaplanması (Lineawear-Burk Grafığı).

Tablo 3. Bazı Metal İyonlarının Enzim Aktivitesine Etkisi.

Metal Tuzları (10 ⁻³ M)	Bağlı Aktivite (%)	Metal Tuzları (10 ⁻⁴ M)	Bağlı Aktivite (%)
(-)	100	(-)	100
BaCl ₂	88	BaCl ₂	93
ZnCl ₂	11	ZnCl ₂	15
HgCl ₂	0.7	HgCl ₂	4.4
FeSO ₄	84	FeSO ₄	102
CuSO ₄	52	CuSO ₄	74
MgSO ₄	100	MgSO ₄	100

Tablo 4. KCN, EDTA, Tiyoüre ve pCMB'm Enzim Aktivitesine Etkisi.

Konsantrasyon (mM)	Bağlı Aktivite (%)
(-)	100
KCN (1)	0.00
KCN (5)	0.00
KCN (10)	0.00
Tiyoüre (1)	94
Tiyoüre (5)	89
Tiyoüre (10)	78
EDTA (1)	100
EDTA (5)	100
EDTA (10)	100
PCMB (1)	60
PCMB (5)	8.70
PCMB (10)	0.00

laştırılmış, ürik asit için K_m değeri 1.8×10^{-4} M olarak bildirilmiştir (Bongaerts vd., 1978).

Balık karaciğer ürikazı amonyum sülfat çöktürmesi ve jel elemesi ile 21 kez saflaştırılmış olup, K_m değeri 80 µM olarak açıklanmıştır (Kinsella vd., 1985).

Candida utilis ile yapılan bir başka çalışmada ise, ürikaz enzimi amonyum sülfat çöktürmesi, DEAE Cellulose ve FPLC kromatografisi ile 60 kez saflaştırılmış, K_m değeri 1×10^{-5} M olarak belirtilmiştir (Adamek vd., 1989).

Candida sp. ile yapılan bir başka çalışmada ise, ürikaz enzimi amonyum sülfat çöktürmesi, sephadex G-200, DEAE Cellulose DE 52 kromatografi yöntemleri kullanılarak 109 kez saflaştırılmış ve K_m değeri 5.26×10^{-6} M olarak bulunmuştur (Liu vd., 1994).

Balık karaciğer ürikazının pH 7.0' de önemli derecede (% 60) aktivitesini koruduğu ve pH 7.1' de yapılan serum ürik asit tayininde bu bulgunun önemli bir avantaj olduğu savunulmuştur (Kinsella vd., 1985). *Candida sp.* ürikazının pH 8.5-9.5 aralığında kararlılığını koruduğu belirtilmiştir (Liu vd., 1994).

B. fastidiosus ürikazının 50°C' de 30 dakika süreyle bekletildiğinde aktivitesinin yaklaşık % 50' sini kaybettiği açıklanmıştır (Bongaerts vd., 1978). *Clamydomonas reinhardtii* ürikazı 30, 45, 60, 75°C' de 20, 40, 60 dakika süreyle bekletilip aktivitesi ölçüldüğünde, 45°C' de 60 dakika bekleyen enzim örneğinin aktivitesinin yaklaşık % 50' sini kaybettiği belirtilmiştir (Alamillo vd., 1991).

Yukarıda belirtilen tüm çalışmalarda elde edilen ürikaz enzimlerinin sahip oldukları biyokimyasal özelliklere dayanılarak klinikte serum ürik asit miktar tayininde kullanılabilecekleri savunulmuştur. Bazı çalışmalarda ise, amonyum sülfat fraksiyonlamasından sonra elde edilen enzimin klinikte kullanıma sunulduğu belirtilmiştir (Liu vd., 1994).

Bu çalışmada, amonyum sülfat çöktürmesi, diyaliz, jel filtrasyonu ve iyon değişim kromatografisi ile 40.4 kez saflaştırılan *A. niger* ürikazının, ürik asit için K_m değeri 1.69×10^{-5} M olarak saptandı. Enzimin pH 8.0-9.0 aralığında oldukça kararlı olduğu, pH 7.0' de de aktivitesinin % 54' ünü koruyabildiği belirlendi. 35°C' de 30 dakika boyunca aktivitesini tamamen koruduğu, termal stabilitesinin ($t_{1/2}$) 50°C' de 15 dakika olduğu bulundu.

Bazı metal iyonlarının *A. niger* ürikazına etkileri araştırıldığında, 10^{-3} M Hg⁺²' nin % 95, Zn⁺²' nin % 98 ve Cu⁺²' in % 48 inhibisyon meydana getirdiği bulundu. Benzer olarak *B. fastidiosus* ürikazının Zn⁺² ve Cu⁺² ile inhibe olduğu, Mg⁺² ile inhibe olmadığı belirtilmiştir (Bongaerts vd., 1978). *C. utilis* ve *Candida sp.* ürikazları ile yapılan çalışmalarda ise Cu⁺², Hg⁺², Zn⁺² ve Fe⁺³' in enzim aktivitesini önemli ölçüde engellediği bildirilmiştir (Nishimura vd., 1982; Liu vd., 1994).

KCN ve pCMB' in *A. niger* ürikaz aktivitesini kuvvetle inhibe ettiği, tiyoürenin daha zayıf bir inhibisyona

neden olduğu, EDTA'nın ise herhangi bir değişime neden olmadığı saptandı. Benzer olarak, deve karaciğer ürikazına tiyollü bileşiklerin ve metal kelatlayıcı ajanların etkisi araştırıldığında, p-hidroksimerkürü benzoat'ın ve dithioeritol'un konsantrasyona bağlı olarak enzim aktivitesini engellediği, buna karşın EDTA'nın enzim aktivitesine etkisiz kaldığı savunulmuş ve enzimin -SH grubu içerebileceği ileri sürülmüştür (Osman vd., 1989). Ayrıca *B. fastidiosus* ve balık karaciğer ürikazları 10^{-3} M'lık EDTA'dan ya çok az yada hiç etkilenmezken, 10^{-3} M KCN ile tamamen inhibe olduğu belirtilmiştir (Bongaerts vd., 1978; Kinsella vd., 1985). *C. utilis* ürikazının da 10^{-6} M yada 10^{-4} M pCMB ve siyanür ile kuvvetle inhibe olduğu, enzimin -SH grubu içerdiği bildirilmiştir (Nishimura vd., 1982).

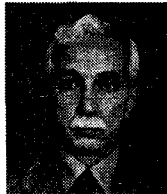
Sonuç olarak, bu çalışmada *A.niger* ürikazının saptanmış olan biyokimyasal özellikleri, daha önceki çalışmalarda belirlenmiş ve klinikte tayin için uygun olduğu belirtilen diğer ürikazların biyokimyasal özellikleri ile benzerdir. Bu nedenle *A. niger* ürikazı da, klinikte ürik asit tayini için kullanılabilir özelliktedir.

KAYNAKÇA

- Adamek, Y., Kralova, B., Suchova, M., Valentova, O. ve Demnerova, K. (1989). Purification of microbial uricase. *J. Chromatogr.*, 497, 268-275.
- Alamillo, J.M., Canderas, J. ve Pineda, M. (1991). Purification and molecular properties of urate oxidase from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1076, 203-208.
- Bhargava, A.K., Lal, H. ve Pundir, C.S. (1999). Discrete analysis of serum uric acid with immobilized uricase and peroxidase. *J. Biochem. Biophys. Methods.*, 39(3), 125-136.
- Bongaerts, G.P.A., Uitzetter, J., Brouns, R. ve Vogel, G.D. (1978). Uricase of *Bacillus fastidiosus* properties and regulation of synthesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, 527, 348-358.
- Chevalet, L., Tiraby, G., Cabane, B. ve Losion, G. (1993). Genetic improvements of an industrial strain of *Aspergillus flavus* for urate oxidase production. *J. Biotech.*, 27, 239-247.
- Hasebe, Y., Nawa, K., Ujita, S. ve Uchiama, S. (1998). High sensitive flow detection of uric acid based on an intermediate regeneration of uricase. *Analyst*, 123(8), 1775-1780.
- Kinsella, J.E., German, B. ve Shetty, J. (1985). Uricase from fish liver: Isolation and some properties. *Comp. Biochem. Physiol.*, 82B, 621-624.
- Lehecjkova, R., Demnorava, K. ve Kralova, B. (1986). Screening of microorganism with uricase activity. *Biotech. Lett.*, 8(5), 341-342.
- Liu, J., Li, G., Liu, H. ve Zhou, X. (1994). Purification and properties of uricase *Candida* sp. and its application of uric acid analysis in serum. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 47(1), 57- 63.
- Miland, E., Ordieres, A.J.M., Blanco, P.T., Smyth, M.R. ve Fagain, C.O. (1996). Poly (o-aminophenol) -modified bienzyme carbon-pestle electrode for the detection of uric acid. *Talanta*, 43(5), 785-796.
- Nahm, B.H. ve Marzluf, G.A. (1987). Induction and de novo synthesis of uricase a nitrogen-regulated enzyme in *Neurospora crassa*. *J. Bacteriol.*, 169(4), 1943-1948.
- Nakaminami, T., Ho, S., Kuwabata, S. ve Yoneyama, H. (1999). Uricase-catalysed oxidation of uric acid artificial electron acceptor and fabrication amperometric uric acid sensors with use of a redox ladder polymer. *Anal. Chem.*, 71(10), 1928-1934.
- Nishimura, H., Yashida, K., Yokota, Y., Matsushiam, A. ve Inada, Y. (1982). Physicochemical properties and states of sulfhydryl groups of *Candida utilis*. *J. Biochem.*, 91, 41-48.
- Osman, A.M., Corso, A.D., Ipata, P.L. ve Mura, U. (1989). Liver uricase in *Camelus dromedarius*: Purification and properties. *Comp. Biochem. Physiol.*, 94B(3), 469-474.
- Pawlotsky, Y. (1994). Hyperuricemia and gout: Therapeutic indication. *Rev. Prat.*, 44(2), 206-209.
- Ramana, V.V. ve Sastry, K.S. (1993). Chromium-uric acid complexes as growth substrate and inducer of uricase in *Neurospora crassa*. *J. Inorg. Biochem.*, 50(2), 107-117.
- Warburg, O. ve Christian, W. (1941). Ultraviolet absorption analysis at $E_{280/260}$ nm after removal of non-protein material by dialysis or fractionation. *Biochim.*, 2, 384-392.
- Yeldandi, A. V., Wang, X., Alvares, K., Kumar, S., Rao, M.S. ve Reedy, J.K. (1990). Human urate oxidase gene: Cloning and partial sequence analysis reveal a stop codon within the fifth exon. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 171(2), 641-646.
- Yokoyama, S., Ogawa, A. ve Obayashi, A. (1988). Rapid extraction of uricase from *Candida utilis* cells by use of reducing agent plus surfactant. *Enzy. Microb. Technol.*, 10, 52-55.



Figen Ertan, 1966 yılında Kırıkkaile'de doğdu. 1987'de Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. 1989'da aynı bölümün Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandı. 1991'de Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden Bilim Uzmanlığı, 1998'de Doktora derecesini aldı. 1992'de Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak, 1998'de Yardımcı Doçent olarak atandı.



Erol Aksöz, 1947'de Ankara'da doğdu. Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 1972 yılında mezun oldu. Aynı bölümde Doktorasını 1977 yılında tamamladı. 1984 yılında Genel Biyoloji (Biyokimya) Anabilim Dalında Doçent ve 1990 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Profesörlüğe atandı. Halen Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Başkanlığını yürütmektedir.