

Olağandışı Mikroorganizmalar

Onların Süper Güçleri Var

Bilim insanlarına göre bazı mikroorganizmalar “eşsiz”. Bu mikroorganizmalar okyanusların derinliklerinde, kutup denizlerinde, aşırı tuzlu sularda, dağların zirvesinde, buzullarda, kaynayan kaplıca sularında ve hatta nükleer atıkların arasında dahi canlılıklarını sürdürebiliyor, hücre bileşenleri de bu uç koşullara uyum sağlıyor.

Bir canlının yaşayabileceği normal çevre koşulları genel olarak yaklaşık 20-30° C sıcaklık, 7 civarında pH, deniz suyundaki tuzluluğa denk bir tuzluluk oranı ve yaklaşık 1 atmosfer (atm) basınç olarak bilinir. Fakat yerkürede bu parametrelerden birinin ya da bir kaçının bu ideal değerlerden çok farklı olduğu “olağandışı ortamlar” var. Fiziksel ve kimyasal bakımdan olağandışı koşullarda yaşayan “olağandışı mikroorganizmaların” bu koşullara nasıl uyum sağlayabildiği, ne tür stratejiler geliştirdiği ise bilim dünyasının merak konusu olmuş hep.

“Olağandışı mikroorganizmalar” genel olarak termofil (sıcak seven), psikrofil (soğuk seven), barofil (yüksek basınç seven), asidofil (asidik ortam seven), alkalifil (alkali ortam seven), halofilik (yüksek tuz yoğunluğu seven) olarak gruplandırılıyor. Her birinin sonundaki “seven” anlamına gelen -fil eki bu zor koşullara sağladıkları uyumu vurguluyor.

Üstün yetenekli bu mikroorganizmalar arasında birden fazla uç koşulun üstesinden gelebilenler de var. Öyle ki hem çok yüksek sıcaklıkta hem de çok asidik ortamlar onlar için sorun yaratmıyor. Örneğin asidofilik *P. oshimae* aynı zamanda 90°C sıcaklıkta yaşayabilen bir termofilik, alkalifilik *N. gregoryi* aynı zamanda % 20 NaCl (tuz) yoğunluğunda çoğalabilen bir halofil.

Olağan dışı ortamlarda yaşayan mikroorganizmalardan ve bu koşullardan örnekler

Olağandışı koşul	Mikroorganizmanın genel ismi	Tür	Yaşam Alanı	En az	En uygun	En yüksek
Yüksek Sıcaklık	Hipertermofil	<i>Pyrolobus fumarii</i>	Deniz tabanındaki hidrotermal bacalar	90°C	106°C	113°C
Düşük sıcaklık	Psikrofil	<i>Polaromonas vacuolata</i>	Deniz buzu	0°C	4°C	12°C
Düşük pH	Asidofil	<i>Picrophilus oshimae</i>	Asidik sıcak su kaplıcaları	-0,6	0,7	4
Yüksek pH	Alkalifil	<i>Natronobacterium gregoryi</i>	Soda gölleri	8,5	10	12
Yüksek basınç	Barofil	<i>Moritella yayanosii</i>	Derin okyanus sedimentleri	500 atm	700 atm	> 1000 atm
Yüksek tuz (NaCl) yoğunluğu	Halofil	<i>Halobacterium salinarum</i>	Tuz fabrikaları	% 15	% 25	% 32 (doygunluk)



Yüksek Sıcaklıkta Mutlular: Termofiller

1960'lı yıllara kadar, sıcak su kaynaklarında büyüebilen siyanobakteriler örneğinden yola çıkan bilim insanları mikroorganizmalar için üst sıcaklık sınırını 73°C olarak düşünüyordu. 1966 yılında ABD'deki Yellowstone Ulusal Parkı'ndaki bir havuzdan 80°C'de bile canlılığını koruyan bir termofilik bakteri *Thermus aquaticus* izole edildiğinde mikroorganizmaların yaşayabildiği sıcaklık sınırları tekrar gözden geçirilmeye başlandı. En uygun büyüme sıcaklığı 12°C'den düşük olan mikroorganizmalar psikrofil, yaklaşık 37°C olanlar mezofil, 50°C'den yüksek olanlar termofil, 90°C'den yüksek olanlar ise hipertermofil olarak isimlendirildi.

Mikroorganizmaların termal çukurlarda, okyanus tabanındaki hidrotermal bacalarda, sıcak su kaynaklarında canlılıklarını sürdürebilmesi hücre zarı, protein, lipid ve nükleik asit gibi hücre sel bileşenlerinin bu koşullara karşı geliştirdikleri uyum mekanizmaları sayesinde gerçekleşiyor. Her şeyden önce hücre bütünlüğünü hücre zarlarındaki yapısal değişikliklerle koruyorlar. Örneğin termofilik *Archaea*'ların hücre zarındaki moleküllerin birbirlerine bakterilerdeki ester bağından daha dayanıklı eter bağı ile bağlı olması, hücre zarının tek tabakadan oluşması, yapılarında özel lipidlerin bulunması hücre zarı geçirgenliğini azaltıyor, böylece hücre yüksek sıcaklıktan en düşük seviyede etkileniyor. Ancak hücre içi bileşenlerin, örneğin proteinlerin de yüksek sıcaklığa karşı geliştirdiği yapı-

sal değişimler var. Proteinler aralarındaki sayısı artan tuz köprüleri, hidrofobik etkileşimler, hidrojen ve iyonik bağlarla yüksek sıcaklık değerlerinde yapılarını ve işlevlerini koruyor. Termofilik ve mezofilik mikroorganizmalardan izole edilen proteinlerin kristal yapılarının karşılaştırıldığı araştırmada, termofilik mikroorganizmaların proteinlerinin yapılarında yüksek sıcaklığa dayanıksız olduğu bilinen asparajin ve sistein aminoasitlerinin daha az bulunduğu görülmüş. Ayrıca proteinlerin aminoasitleri arasında oluşturulan daha çok hidrojen bağı, gene aminoasitlerin pozitif ve negatif yükleri arasında daha fazla iyonik bağ olması gibi özelliklerin, proteinlerin ve enzimlerin yüksek sıcaklıklarda üç boyutlu yapılarını koruyup kararlılıklarını sürdürebilmesini sağladığı anlaşılmış.



Isı şok proteinleri de mikroorganizmaların yüksek sıcaklık, kuraklık, kimyasal stres ve açlık gibi koşullara karşı savunma mekanizmalarından biri. Bu proteinler hücre içinde proteinlerin kümeleşmesini önüyor, yapısı bozulmuş proteinlerin tekrar üç boyutlu yapılarına dönmesini ve yeni sentezlenen proteinlerin de üç boyutlu yapı kazanmasını sağlıyor.

Hipertermofillerin DNA'sı da yüksek sıcaklıklarda daha fazla kararlılık ve dayanıklılık gösteriyor. Hipertermofilik *Archaea*'ların DNA'ları, ökaryotlarda DNA'yı koruyan histonlara benzeyen pozitif yüklü DNA'ya bağlanabilen proteinler (DNA bağlayıcı proteinler) sayesinde yüksek sıcaklıktan etkilenmiyor. DNA çift sarmalının % 50'sini tek sarmal haline getiren ve erime noktası olarak adlandırılan sıcaklık değerini de bu proteinler 20-30°C yükseltebiliyor. Aralarında 3 hidrojen bağı bulunan guanin sitozin baz çiftlerinin miktarının artırıl-

masıyla ve ters giraz enziminin ayrılmış DNA zincirlerini tekrar çift sarmal haline getirebilmesiyle DNA'nın yüksek sıcaklıklarda kararlı olması sağlanıyor.

Termometrenin diğer ucundakiler: Psikrofiller

Peki, termometrenin diğer ucundaki sıcaklık değerlerinde, mesela Dünya yüzeyinin $\frac{3}{4}$ 'ünü oluşturan ve yüzey sıcaklığı yaklaşık 5°C olan okyanuslarda ve kutuplarda canlılığını sürdürebilen mikroorganizmaların yaşamlarında durum ne? Bugüne kadar 4-8°C sıcaklık aralığında çoğalabilen pek çok mikroorganizma izole edilmiş. Bu mikroorganizmaların düşük sıcaklıklarda canlılıklarını sürdürebildiği, ama 25-35°C aralığında daha iyi gelişim gösterdikleri görülmüş. Ancak asıl psikrofil olarak tanımlanan mikroorganizmalar için 12°C'den daha düşük sıcaklıklar yani kutuplar,

Antarktika gibi her daim soğuk bölgeler ideal ortamlar olarak biliniyor.

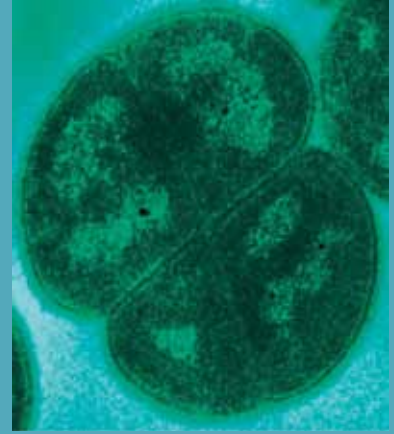
Psikrofil mikroorganizmaların biyokimyasını ve moleküler biyolojisini çözmeye yönelik çalışmalar termofilik ve hipertermofillere göre henüz çok yeni. Bu mikroorganizmalar antifiriz özelliğe sahip glikoprotein ve peptidler sentezleyerek sitoplazma ve hücre organellerindeki sıvıların donma sıcaklığını önemli derece düşürebiliyor. Böylece hücre içinde buz kristalleri oluşması ve hücre organellerinin hasar görmesi engelleniyor. Hücre zarı doymamış yağ asitlerince hayli zengin. Bu özellikleri sayesinde hücre zarı donma sıcaklık değerlerinde dahi akışkanlığını koruyor ve hücre zarının yapısı bozulmuyor. Aynı doymamış yağ asitlerince zengin margarinin buzdolabında tereyağına göre daha yumuşak bir kıvamda olması gibi. Proteinlerinin de hipertermofillerin proteinlerine göre daha polar ve daha az hidrofobik olması sayesinde yapılarındaki esneklik korunuyor.

NaCl Bol Olsun: Halofiller

Doğal tuz gölleri, tuzlanmış yiyecekler, tuzlu topraklar... Halofilik mikroorganizmalar işte yüksek tuz yoğunluklu bu ortamlarda yaşıyor, canlılıklarını sürdürebilmek için yaklaşık % 25-32 oranında NaCl yoğunluğuna ihtiyaç duyorlar. Bu kadar yoğun tuz ortamlarında canlılıklarını sürdürürken, sentezledikleri glisin-betaine, ektoin, KCl gibi organik maddelerle hücre içinde çözünen madde yoğunluğunu artırıyor ve böylece sitoplazmalarından fazla miktarda su kaybını önüyorlar. Hücre içinde gerçekleşen tepkimelere zarar vermeyen "uyumlu çözünen" bu organik maddeler, mikroorganizmalara göre değişiklik gösterebiliyor. Örneğin halofilik *Archaea Halobacterium*'un tercih ettiği uyumlu çözünen KCl'ün yoğunluğu hücre dışındaki NaCl yoğunluğuna ya eşit ya da biraz fazla oluyor. Ayrıca hücre zarındaki negatif yüklü glutamat ve aspartat aminoasitlerini içeren glikoproteinlere Na⁺ iyonları bağlandığı için hücre zarı çevresel basınca dayanıyor, bu sayede hücre de zarar görmüyor. Pek çok bakteri ve *Archaea* aşırı kuraklık koşullarında endospor oluşturuyor. Örneğin *Bacillus* türü bakteriler tuz kristalleri içinde oluşturdukları endospor sayesinde bir nevi uyku durumuna geçerek binlerce hatta milyonlarca yıl canlılıklarını koruyabiliyorlar.

Asidofil ve Alkalifil Mikroorganizmalar

Picrophilus oshimae, asidofilik mikroorganizmalara verilecek en güzel örneklerden biri. Çünkü bulunduğu ortamın pH değerinin 0,7 olması gerekiyor. Tercih ettiği sıcaklık ise 60°C, yani asidofil olma özelliğinin yanı sıra aynı zamanda termofilik bir mikroorganizma. Volkanik etkinliklerin olduğu, aşırı asidik ve sıcak topraklar gibi yerleri tercih eden asidofilik mikroorganizmaların hücre zarının zarar görme ihtimali, ortam pH değeri nötral değere çıkarsa artıyor. Bu arada hücre içi moleküllerin zarar görmemesi için sitoplazma pH değerinin 7 yani nötral değerde ya da nötral değere yakın ve sabit olması büyük önem taşıyor. Bu nedenle bu mikroorganizmaların hücre zarında mezofilik mikroorganizmalarinkine göre daha fazla proton pompası bulunuyor. Bu proton pompaları hücre içindeki fazla protonu uzaklaştırırken hem sitoplazma pH değerinin 7 civarında sabit kalmasını sağlıyor hem de hücre dışı pH değerinin asidik olmasına katkıda bulunuyor.



Görsel Kaynak: Michael Daly Laboratuvarı, Uniformed Services Üniversitesi, Bethesda, ABD.

Guinness Rekorlar Kitabı'nda Bir Mikroorganizma

Deinococcus radiodurans

5000-30.000 gray

(birim kütle başına depolanan enerji) radyasyon dozuna dayanıklı olma özelliğiyle bilim çevrelerinde şaşkınlık yaratan bir bakteri. 5 gray radyasyonun bir insanı öldürmek için yeterli doz olduğu düşünüldüğünde bu bakterinin dayanıklılığının yarattığı şaşkınlık anlaşılabilir. İşte bu özelliği ile de Guinness Rekorlar Kitabı'nda "dünyadaki en dayanıklı bakteri" olarak yerini almış. Bu mikroorganizma ilk kez radyasyon ile içindeki tüm mikroorganizmalardan arındırıldığı düşünülen etten izole edilmiş. *D. radiodurans* güçlü DNA onarım mekanizması sayesinde parçalanmış kromozomlarını onarıyor ve maruz kaldığı yüksek radyasyona rağmen canlılığını sürdürüyor. Radyasyona direnç gösterebilmek bir canlı için gerçekten üstün hem de çok çok üstün bir özellik. İşte bu özelliği nedeniyle *D. radiodurans*'ın radyoaktif madde sızıntısı nedeniyle kirlenmiş toprakların biyolojik olarak arıtılmasında temizleyici ajan olarak büyük potansiyele sahip olduğu düşünülüyor.



Karbonatlı topraklar, sodalı göller gibi pH değeri 8 ve daha yüksek olan ortamlarda yaşayan alkalifil mikroorganizmalar da hücre içi pH değerlerini, aynı asidik mikroorganizmalar gibi, 7'de ya da 7'ye yakın değerlerde tutmak zorunda. Aksi takdirde özellikle başta RNA olmak üzere biyomolekülleri parçalanma riskiyle karşı karşıya kalıyor. Alkalifil mikroorganizmaların hücre duvarında fosforik asit, aspartik asit, galakturonik asit, glutamik asit ve glukonik asit gibi çok çeşitli asidik bileşikler bulunuyor.

Bu negatif yüklü bileşikler sayesinde hücre zarı tarafından pozitif yüklü Na^+ ve H^+ iyonlarının emilimi sağlanırken, aynı zamanda hücre içinde yüksek yoğunlukta bulunan OH^- iyonları da hücreden uzaklaştırılıyor. Böylece mikroor-

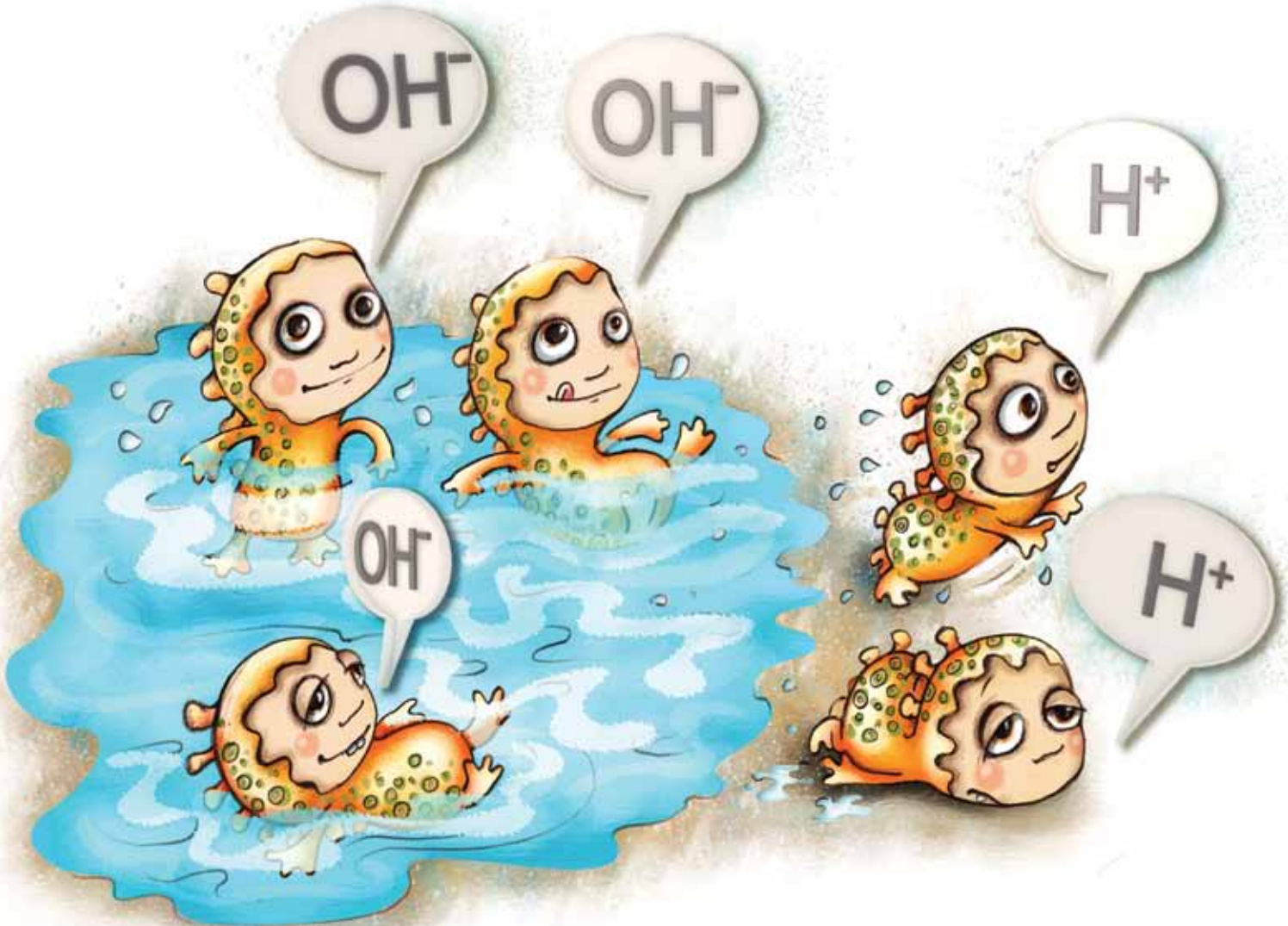
ganizmanın çevresinde alkali bir ortam, hücre içinde de nötral pH değeri korunuyor.

Onların Evi Okyanusların Derinlikleri: Barofiller

Yüksek hidrostatik basınç altında yaşamını sürdüren mikroorganizmalar, yani barofiller. Yüksek basınç bu koşula uyum sağlayamayan bir mikroorganizmanın büyüme hızının ve biyokütlesinin düşmesinde önemli bir neden. Hücre zarının yapısının bozulması, enzimlerinin etkinliğini kaybetmesi, organellerinin zarar görmesi yüksek basıncın sadece birkaç etkisi. Örneğin 600 atm'den (atmosfer) daha yüksek basınçta *E.coli*

ribozomlarının alt birimlerine ayrıştığı biliniyor. Ama 10 km derinde, 1300 atm basınçta yaşayabilen barofiller için bu durum geçerli değil.

E.coli başta olmak üzere, barofil mikroorganizmaların genetik malzemesinin diğer bakterilerin genetik malzemesiyle karşılaştırılması sonucunda barofil mikroorganizmaların hücre bileşenlerinde, yüksek basınca uyum göstermelerini sağlayan koruyucu-düzenleyici sistemler olduğu tespit edilmiş. Hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinde artış, enzimlerin substrat bağlama kapasitesini korumak için katlanıp kıvrılarak bir paket haline gelmesi, hücre zarında besin taşınmasından sorumlu özel yapısal proteinlerin sentezlenmesi, bu sistemlere birkaç örnek.



Olağandışı mikroorganizmaların enzimlerinden ve endüstride kullanımlarından örnekler.

Mikroorganizma	Enzimleri	Uygulamaları
Termofiller	Proteaz	Deterjan endüstrisi, gıda endüstrisi, hayvan yemi
	Glikozil hidrolazlar (amilaz, pullunaz, glukoamilaz, sellülaz)	Gıda endüstrisinde nişasta, selüloz, pektin hidrolizi, tekstil endüstrisi
	Kitinaz	Gıda ve kâğıt endüstrisi için kitinin hidrolizi
	Ksilanaz	Kâğıt beyazlatma, kâğıt endüstrisi
	Lipaz, esteraz	Deterjan endüstrisi, organik moleküllerin biyosentezi
	DNA polimeraz	Moleküler biyoloji (PCR)
Psikrofil	Proteaz	Deterjan endüstrisi, süt ürünleri endüstrisi
	Amilaz	Deterjan endüstrisi, ekmek ve pasta yapımı
	Sellülaz	Deterjan , hayvan yemi, tekstil
	Dehidrojenaz	Biyosensör
Halofiller	Proteaz	Peptit sentezi
	Dehidrojenaz	Düşük su içeriğine sahip ortamlarda biyokataliz
Alkalifil	Proteaz, sellülaz, lipaz	Deterjan endüstrisi
	Pektinaz	Kâğıt endüstrisi, atık arıtımı
	Ksilanaz, proteinaz	Kâğıt endüstrisi
Asidofil	Amilaz, glukoamilaz	Nişastanın hidrolizi, uzaklaştırılması
	Proteaz, sellülaz	Hayvan yemi bileşeni
	Oksidaz	Kömürden kükürt uzaklaştırma işlemi

Olağandışı Mikroorganizmaların Enzimleri Hayatımızın İçinde

Mikrobiyal enzimler organik kimya yöntemleriyle gerçekleştirilmesi zor olan tepkimelerde, yüksek etkinliğe sahip olmaları, tepkime sonunda istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, ekonomik olmaları gibi avantajlara sahip olmaları nedeniyle özellikle tercih ediliyor. Ancak mezofilik mikroorganizmalardan elde edilen bu enzimlerin yüksek ya da düşük sıcaklık ve pH gibi fiziksel koşullarda gösterdikleri sınırlı kararlılık ve dayanıklılık nedeniyle, endüstride kullanımları da belli bir ölçüye kadar oluyor. İşte bu nedenle olağandışı mikroorganizmaların enzimleri endüstriyel uygulamalarda mezofilik mikroorganizmaların enzimlerinin yerini alıyor.

Çamaşırlardaki lekelerden düşük sıcaklıkta yıkarak kurtulabilmek deterjanlardaki psikrofil mikroorganizmaların proteazı, lipazı, amilazı ya da sellülazı sayesinde gerçekleşiyor. Bu sayede enerji tasarrufu da sağlanmış oluyor. Pektinaz meyve sularındaki pektini uzaklaştırmak için kullanılırken, prote-

az et yumuşatma işleminde kullanılıyor. Glisin-beta-in, ektoin ve hidroksiektoin ise halofilik mikroorganizmaların sentezleyip hücre içinde depoladığı, biyolojik olarak etken maddeler. Mikroorganizmaların yüksek tuz yoğunluğundaki ortama uyum göstermesini sağlayan bu maddeler aynı zamanda gıda endüstrisinde, kozmetikte, ilaç endüstrisinde ve moleküler biyolojide de kullanılıyor. Olağandışı mikroorganizmaların bu özel enzimleri, endüstride yaygın olarak kullanılmalarının dışında, protein mühendisliği araştırmalarında proteinlerin yapısı, etkinliği, kararlılığı ve dayanıklılığı arasındaki ilişkinin anlaşılması için de model olarak kullanılıyor. Uç pH değerlerinde yaşayabilen mikroorganizmaların enzimlerinden, özellikle çok asidik ya da çok alkalik tepkime koşulları altında gerçekleşen uygulamalarda, örneğin deterjan üretiminde yararlanılıyor. Özellikle deterjan endüstrisinde önemli uygulamaları olan alkalik proteazlar ve lipazlar, yüksek pH değerindeki sabunlarda ya da deterjan solüsyonlarında etkin olmaları açısından önemliler.

Her ne kadar bizler günlük hayatımıza bu kadar girmiş olduklarının farkında olmasak da, bu üstün yetenekli mikroorganizmaların ve biyolojik moleküllerin hayatımızdaki yeri ve önemi tartışılmaz. Bilim insanları da olağanüstü ortamlarda yaşayan ve keşfedilmeyi bekleyen mikroorganizmaları, diğer bir deyişle bu doğal genetik kaynakları insanlığın yararına sunmak için çalışıyor. Ancak olağandışı mikroorganizmaların saf kültürünü elde edebilmek ve laboratuvar koşullarında çoğaltabilmek bu çalışmaların zor kısmı. Bugüne kadar sadece % 10 gibi küçük bir bölümü laboratuvarında çoğaltılabilmiş. Ancak bunların enzimleri ve biyomolekülleri endüstride kullanılmalarına yetecek miktarda elde edilemiyor. Bu aşamada yardıma gen teknolojileri koşuyor. Örneğin termofilik *Rhodothermus marinus* bakterisinin ksilanaz enziminin üretiminden sorumlu genin *E.coli*'ya aktarılması ya da *Desulfurococcus mucosus* bakterisinin pullunaz enziminin üretiminden sorumlu genin *Bacillus subtilis* aktarılması gibi yöntemlerle bu özel enzimlerin yüksek miktarda üretilmesi sağlanıyor. Gen teknolojilerindeki gelişmelerle olağandışı mikroorganizmalardan yararlanma imkânlarının hızlanacağı düşünülüyor.

Çizimler: Ayşe İnan Alican

Kaynaklar

Morozkina, E. V., Slutskaya, E. S., Fedorova, T. V., Tugay, T. I., Golubeva, L. I., Koroleva, O. V., "Extremophilic Microorganisms: Biochemical Adaptation and Biotechnological Application", Applied Biochemistry and Microbiology, Sayı 46, s. 1-14, 2010. Kumar, L., Awasthi, G., Singh, B., "Extremophiles: A Novel Source of Industrially Important Enzymes",

Biotechnology, Sayı 10, s. 121-135, 2011. Satyanarayana, T., Raghukumar, C., Shivaji, S., "Extremophilic microbes: Diversity and Perspectives", Current Science, Sayı 89, s. 78-90, 2005. Madigan, M., Martinko, J., Brock Biology of Microorganisms, 11. baskı, Prentice Hall, 2005.

