



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ**

**TERMAL KAYNAKLARDAN İZOLE ELDE EDİLEN ÇEŞİTLİ *Bacillus*
TÜRLERİNDEN 1,4- β -ENDO KSİLANAZ ENZİMİNİN ÜRETİLMESİ,
SAFLAŞTIRILMASI VE TİCARİ KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Orhan ULUÇAY

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Erzurum

2018

Her hakkı saklıdır



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ**

**TERMAL KAYNAKLARDAN İZOLE ELDE EDİLEN ÇEŞİTLİ *Bacillus*
TÜRLERİNDEN 1,4- β -ENDO KSİLANAZ ENZİMİNİN ÜRETİLMESİ,
SAFLAŞTIRILMASI VE TİCARİ KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Orhan ULUÇAY

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Erzurum

2018

Her hakkı saklıdır

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY FORMU

**TERMAL KAYNAKLARDAN İZOLE ELDE EDİLEN ÇEŞİTLİ *Bacillus*
TÜRLERİNDEN 1,4- β -ENDO KSİLANAZ ENZİMİNİN ÜRETİLMESİ,
SAFLAŞTIRILMASI VE TİCARİ KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ danışmanlığında, Orhan ULUÇAY tarafından hazırlanan bu çalışma 20/02/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ (Danışman)	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. Metin ÖĞÜN	İmza	:
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ	İmza	:
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ	İmza	:

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Doç. Dr. Arzu Görmez

Enstitü Müdürü

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi **2016-FM-24** numaralı BAP projesi kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: **2016-FM-24**

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

20/02/2018

Orhan ULUÇAY

ÖZET

DOKTORA TEZİ

TERMAL KAYNAKLARDAN İZOLE ELDE EDİLEN ÇEŞİTLİ *Bacillus* TÜRLERİNDEN 1,4- β -ENDO KSİLANAZ ENZİMİNİN ÜRETİLMESİ, SAFLAŞTIRILMASI VE TİCARİ KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Orhan ULUÇAY

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ

Bu çalışmada; Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde bulunan sıcak su kaynaklarından termofilik bakteriler izole edilmiştir. İzole edilen örneklerin morfolojik özellikleri tespit edilerek total ksilanaz aktiviteleri belirlenmiştir. İzole edilen DNA'lardan 16s rDNA bölgeleri PCR ile amplifiye edildikten sonra klonlanmış ve sekans analizleri gerçekleştirilmiştir. Yüksek aktivite gösteren *Bacillus subtilis* türüne ait ksilanaz enzimini kodlayan gen dizileri biyoinformatik analiz yöntemleri ile belirlenmiştir. Nikel affinitesi ile 6X-His takısına sahip rekombinant proteinlerin saflaştırılması gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan enzim ANADOLUCA yöntemi ile kafeslenmiştir. 5 farklı izolat (*Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* ve *Geobacillus kaustophilus*) tanımlanmış olup bunlardan en yüksek aktivite gösteren *B. subtilis* izolatının ksilanazı saflaştırılarak rekombinant olarak üretilmiştir. Rekombinant ve rekombinant nano ksilanaz enziminin her ikisinin de optimum pH'nın 7.0, optimum sıcaklık değerinin ise rekombinant enzim için 68 °C, nano enzim için ise 75 °C olarak belirlenmiştir. Optimum enzim aktivitesi rekombinant enzim için 1803 U/mg, nano enzim için ise 1898 U/mg olduğu belirlenmiştir. İzolatların Km ve Vmax değerleri rekombinant enzim için sırasıyla 2,298 (mM) ve 5,691 (EU/mL.dk.), Nano enzim için ise 2,402 (mM) ve 6,195 (EU/mL.dk.) olarak belirlenmiştir. Metal iyonlarının rekombinant ksilanaz enzimi için MgSO₄ (%80), CuSO₄ (%57), CaCl₂ (%74), ZnSO₄ (%5) ve FeSO₄ (%72), rekombinant nano ksilanaz enzimi için ise MgSO₄ (%85), CuSO₄ (%71), CaCl₂ (%85), ZnSO₄ (%50) ve FeSO₄ (%94) farklı rölatif aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Şubat 2018, 165 sayfa

Anahtar Kelimeler: Termofilik bakteri, *Bacillus subtilis*, 1,4- β -Endo Ksilanaz, 16s rDNA, SDS-PAGE, Anadolu

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

PURIFICATION, PRODUCTION AND INVESTIGATION OF COMMERCIAL USE OF 1,4- β -ENDO XYLANASE IN VARIOUS *Bacillus* SPECIES ISOLATED FROM THERMAL RESOURCES

Orhan ULUÇAY

Erzurum Technical University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetic
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Arzu GÖRMEZ

In this study; thermophilic bacteria have been isolated from hot water springs in Eastern and Southeastern Anatolia. The morphological characteristics of the isolated samples were identified and total xylanase activities were determined. The 16s rDNA regions from the isolated DNAs were amplified by PCR and then cloning and sequence analysis was performed. Gene sequences coding for xylanase enzyme from *Bacillus subtilis* strain with high activity were determined by bioinformatics analysis methods. Purification of recombinant proteins with 6X-His tag was performed through nickel affinity chromatography. The purified enzyme was caged by the ANADOLUCA method. Five different isolates (*Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* and *Geobacillus kaustophilus*) were identified and the xylanase from *B. subtilis* isolate which showed highest activity was produced as recombinant enzyme. The optimal pH of both the recombinant and recombinant nano-xylanase enzyme was 7.0, the optimum temperature was 68 °C for the recombinant enzyme and 75 °C for the nano-enzyme. Optimum enzyme activity was determined to be 1803 U/mg for the recombinant enzyme and 1898 U / mg for the nano-enzyme. The K_m and V_{max} values of the isolates were determined to be 2,298 (mM) and 5,691 (EU/mL.dk) for the recombinant enzyme, 2,402 (mM) and 6,195 (EU/mL.dk) for the Nano enzyme, respectively. It was found that the recombinant and nano xylanase showed different relative activity when metal ions were included: recombinant xylanase; MgO₄ (80%), CuSO₄ (57%), CaCl₂ (74%), ZnSO₄ (5%) and FeSO₄ (72%), nano xylanase; MgO₄ (85%), CuSO₄ (71%), CaCl₂ (85%), ZnSO₄ (50%) and FeSO₄ (94%).

February 2018, 165 pages

Keywords: Thermophilic bacteria, *Bacillus subtilis*, 1,4- β -Endo Xylanase, 16s rDNA, SDS-PAGE, Anadolu

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmamda bana araştırma ve kendimi geliştirme olanağı sağlayan, katkı ve fikirleriyle yol gösteren danışmanım Sayın Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ'e, yardımlarını ve laboratuvar deneyimlerini benimle paylaştıkları için Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Mitat ŞAHİN ve laboratuvar ekibine, çalışma arkadaşım Uzman Mahmut AYDIN'a, tez çalışmamda büyük emeği geçen ve laboratuvardaki çalışmalarım sırasında beni yalnız bırakmayarak tüm bilgi birikimleri ve bunun yanında maddi manevi tüm özverisiyle ailem kadar yanımda olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ' e saygı ve teşekkürü bir borç bilirim. Aynı zamanda tez çalışmamın desteklenmesinde Kafkas Üniversitesi BAP (2016-FM-24) koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Son olarak hayatımın her anında maddi manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, ilgi ve sevgilerini her zaman hissettiğim sevgili aileme hep yanımda oldukları için sonsuz sevgilerimi sunarım.

Orhan ULUÇAY

Şubat 2018

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	8
2.1. Enzimler ve Biyoteknolojide Kullanımı	8
2.2. Ksilanaz Enzimi	10
2.2.1. Ksilanaz Enziminin Genel Özellikleri.....	12
2.2.2. Ksilanaz Enziminin Kullanım Alanları	12
2.3. <i>Bacillus</i> Türleri ve Genel Özellikleri	15
2.3.1. <i>Bacillus</i> Türleri ve Biyoteknolojide Kullanımı	16
2.4. Amaç	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Biyolojik Materyal	18
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	18
3.1.3. Kullanılan Kitler.....	19
3.1.4. Kullanılan Besiyerleri	19
3.1.5. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	20
3.2. Yöntem	21
3.2.1. Biyolojik Materyalin Toplanma Yöntemi	21
3.2.2. Sıcak Su Kaynaklarının Kimyasal Analizi.....	23
3.2.3. Bakterilerin İzolasyonu	23
3.2.4. Bakteri Örneklerinin Gelişim Gösterdiği Sıcaklıkların Tespiti.....	23
3.2.5. Bakteri İzolatlarının Tanılanması.....	24
3.2.5.1. Morfolojik Tanılama	24
3.2.5.2. Moleküler Tanılama	25
3.2.6. İzolatların Total Ksilanaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	30

3.2.7. Rekombinant Ksilanaz Üretimi	31
3.2.7.1. Biyoinformatik Analizler	31
3.2.7.2. 1,4- β -endo Ksilanaz Proteinlerine Ait Genlerin Klonlanması	32
3.2.7.3. 1,4- β -endo Ksilanaz Enzimine Ait Proteininin <i>E. coli</i> 'de Heterolog Protein Olarak Üretimi, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu	36
3.2.7.4. ANADOLUCA Yöntemi ile Enzimin Kafeslenmesi	40
3.2.7.5. Ksilanaz Enziminin Aktivitesinin Tayini	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	43
4.1. Sıcak Su Kaynaklarının Kimyasal Analiz Sonuçları	43
4.2. Bakteri İzolatlarının Gelişim Sıcaklıkları	43
4.3. Bakterileri İzolatlarının Tanısı	45
4.3.1. Morfolojik Tanılama	45
4.3.2. Moleküler Tanılama	49
4.4. İzolatların Total Ksilanaz Aktivitesi	54
4.5. <i>B. subtilis</i> 'ten Rekombinant Ksilanaz Üretimi	56
4.6. Anadolu Metoduyla Enzimin Kafeslenmesi	61
4.7. Rekombinant Ksilanaz ve Nano Ksilanaz Enzimlerinin Aktivitesinin Belirlenmesi	64
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
KAYNAKLAR	79
EKLER	88
ÖZGEÇMİŞ	152

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Ksilanazların Ksilan Omurgasına Etki Noktaları.....	11
Şekil 2.2 Ksilanaz Enziminin Kristal Yapısı.....	11
Şekil 3.1 A: Köprü sıcak su kaynağı, B: Davut sıcak su kaynağı	22
Şekil 3.2 Davut sıcak su kaynaklarının genel doğal görünümü	22
Şekil 3.3 Sıvı besiyerine ekim yapılan örnekler.....	24
Şekil 3.6 Ni-NTA Agarose Boncuk Sistemi	38
Şekil 4.1 Gram Boyama; A: Davut çamur kaynağı, B: Pasinler su kaynağı.....	45
Şekil 4.2 İzolatların PCR ürünlerinin elektroforez jel sonucu	49
Şekil 4.3 Ksilanaz geninin PCR amplifikasyon sonucunun agaroz jel görüntüsü	56
Şekil 4.4 Ksilanaz geninin (Btx6 izolatı) jel saflaştırma sonucu. M: Marker	57
Şekil 4.5 Ksilanaz genini taşıyan PGEMTeasy plazmidinin kesim sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü. M: Lambda DNA/EcoRI /Hind III Marker, Ürünler; A: PGEMeasy plazmit bant büyüklüğü B: Ksilanaz geni bant büyüklüğü	58
Şekil 4.6 Ni-NTA saflaştırılması sonucu oluşan SDS jelin görüntüsü. M: Marker (SDS-PAGE Moleküler Ağırlık Standartları Broad Range (Bio-RAD, Kat. no:161-0317)), 1: 1 Saat İndüklenmiş, 2: 2 Saat İndüklenmiş, 3: 3 Saat İndüklenmiş ve 4: Total Proteinin SDS Jel Görüntüsü.	60
Şekil 4.7 Rekombinant ksilanaz proteininin Western Blot Analizi ile görüntülenmesi. M: Marker (Kaleidoscope Pretained Standarts BİORAD), 1: 1 Saat İndüklenmiş, 2: 2 Saat İndüklenmiş, 3: 3 Saat İndüklenmiş ve 4: Total Protein Antihistidin ve İkincil Antikor ile yapılan Western Blot görüntüleri	60
Şekil 4.8 Rekombinant Ksilanaz Zeta Boyut Analizi	61
Şekil 4.9 Rekombinant Nano Ksilanaz Zeta Boyut Analizi.....	61
Şekil 4.10 Rekombinant Ksilanaz'ın CD Spektroskopisi	63
Şekil 4.11 Rekombinant Nano Ksilanaz'ın CD Spektroskopisi.....	63
Şekil 4.12 Rekombinant Ksilanaz ve Rekombinant Nano Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği pH.....	64
Şekil 4.13 Rekombinant Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık	65
Şekil 4.14 Rekombinant Nano Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık.....	65

Şekil 4.15 Rekombinant Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği substrat konsantrasyonu.....	66
Şekil 4.16 Rekombinant Nano Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği substrat konsantrasyonu.....	66
Şekil 4.17 Metal iyonlarının rekombinant Ksilanaz enzimine etki grafiği	67
Şekil 4.18 Metal iyonlarının rekombinant Nano Ksilanaz enzimine etki grafiği.....	67
Şekil 4.19 <i>B. subtilis</i> 'den elde edilen rekombinant Ksilanazın Lineweaver Burke denklemi ile K_m ve V_{max} değerinin ölçülmesi	68
Şekil 4.20 <i>B. subtilis</i> 'den elde edilen rekombinant Nano Ksilanazın Lineweaver Burke denklemi ile K_m ve V_{max} değerinin ölçülmesi	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Mikrobiyal Kaynaklı Enzimler ve Kullanım Alanları	9
Çizelge 3.1 PCR Temel Bileşenleri.....	27
Çizelge 3.2 PCR Reaksiyon Koşulları	27
Çizelge 3.3 Aday genlerin PCR amplifikasyonunda kullanılan primer DNA dizileri	32
Çizelge 4.1 Su örneklerinin kimyasal analizi.....	43
Çizelge 4.2 Bakteri izolatlarının gelişim sıcaklık değerleri	44
Çizelge 4.3 Bakteri izolatlarının morfolojik test sonuçları	46
Çizelge 4.4 İzolatların sekans analiz sonuçları	51
Çizelge 4.5 Farklı saatlerde türlere ait total ksilanaz aktivitesinin ölçümü	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

μL	Mikrolitre
ANADOLUCA	AminoAcid Decorated and Light Underpinning Conjugation Approach
BHI	Brain Heart İnfusion
CaCl₂	Kalsiyum Klorür
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNS	Dinitro Salisilik Asit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
L	Litre
LB	Luria Bertani
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
ng	Nanogram
°C	Santigrat
OD	Optik Yoğunluk
RNA	Ribonükleik Asit
Rpm	rounds per minute
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SDS PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat, Poliakrilamit Jel
sn	Saniye
TAE	Tris Asetik Asit EDTA
Tris	2-Amino-2-(hidroksimetil)-1,3-propanediol
Tris-HCl	Tris Hidroklorik asit

1. GİRİŞ

Temelde biyolojik organizmalardaki özel kimyasal reaksiyonların katalizlenmesinde oldukça etkin yeteneğe sahip enzimlerin geneli protein yapıdadır. Enzim sentezleme yeteneğine sahip olan mikroorganizmalarda, enzimler hücre içinde oluşturulur. Bu sentezlenen enzimlerin bir kısmı hücre içinde yapım ve yıkım olaylarına etki için hücre içinde kalır (Gangadhar 2013). Enzimler, her ne kadar canlı hücreler tarafından oluşturulsa da aktivitelerine doğal olmayan ortamlarda da yani '*in vitro*' koşullarda da devam edebilme yeteneğine sahiptir (Temîzkan and Arda 1999). Enzimler hücre içinde gerçekleşen pek çok çalışmanın özgünlüğünü ve hızını düzenledikleri gibi, *În vitro* ortamda da pek çok kimyasal reaksiyonları katalizlemede görev yapmaktadırlar (Ekinci *et al.* 2016).

Canlı yapısında önemli metabolik görevleri olan enzimler; insanoğluna, günlük yaşamının bir parçası olarak ekonomi, gıda, tarım ve sanayii gibi birçok alanda, farklı amaçlarda kullanılarak önemli katkılarda bulunmaktadır (Wiseman 1983). Günümüzde üretim ve kullanım amaçları gittikçe artan enzimlerin eldesi bitkisel, hayvansal ve mikroorganizma kaynaklıdır (Akcan 2011). Gelişen ve büyüyen dünya pazar sektöründe enzimlerin oldukça geniş ve yaygın kullanımı mevcuttur (Turker 2004), bu dağılım oranlarının sanayide deterjan ürünlerinde %29, kâğıt endüstrisinde % 11, deri, tekstil ürünlerinde % 17 ve tarım ve gıda sektöründe ise yaklaşık olarak % 34'lük bir oranda olduğu bilinmektedir (Outtrup and Jorgensen 2002). Daha hızlı çoğalabilme, üretiminin kolay olması, ekstrem koşullarda üreyebilmesi ve hücre yapılarından dolayı mikroorganizmalardan ticari enzim üretimi bilim adamları tarafından oldukça popüler bir çalışma alanı haline gelmiştir (Aehle 2007). Mikroorganizmaların yaşam şartları oldukça değişkenlik göstermektedir. Jeotermal bölgeler ile volkanik alanlardaki yüksek sıcaklıklara sahip bölgelerde yaşayan mikroorganizmalara ek olarak, derin denizlerde, kutuplarda, çok yüksek ya da çok düşük basınç altındaki bölgelerde ve değişken olan aşırı asidik veya bazik pH şartlarına adapte olan ekstremofilik mikroorganizmalar da bulunmaktadır. Bu ekstrem koşullardaki yaşayan organizmalar ve onların sahip oldukları enzimler izole edilerek karakterize edilmişlerdir (Petti and Carroll 2011). Ekstremofil organizmalardan elde edilen enzimler standart enzimlerin aktif olarak çalışmadığı ekstrem şartlarda çalışabilmektedirler (Kulkarni *et al.* 1999). Mikroorganizmalar

bulunduğu dış ortam şartlarına göre; asidofilik, barofilik, halofilik, alkafilik ve termofilik olarak sınıflandırılmaktadır.

Uchino and Nakane (1981) tarafından yapılan bir çalışmada; termofilik asidofilik bakteri türü olan *Bacillus* sp. 11-1S'ın, ksilan içeren ortamda hücre dışına ksilanaz enzimi ürettiği bildirilmiştir.

Bernier *et al.* (1983) tarafından yapılan bir çalışmada; *B. subtilis*'ten kromatografi ile izole edilen bir hücre dışı ksilanazın kısmi karakterizasyonu neticesinde molekül ağırlığının 32.000, optimum pH'sının 5.0, optimum sıcaklığının ise 50   C olduğu tespit edilmiştir.

Fukusaki *et al.* (1984) tarafından yapılan bir çalışmada; ksilanaz (EC 3.2.1.8) geninin (xyw1) ve ksilanazın hiper üreticisi olan *Bacillus pumilus* IPO'nun tam nükleotid dizisi belirlenmiştir. Çalışmada ksilanaz geni için 684 bp okuma  er evesi gözlemlenmişlerdir.

Honda *et al.* (1985) tarafından yapılan bir çalışmada; alkalofilik *Bacillus* sp. C-125 suşundan Ksilanaz A geni saflaştırılarak klonlanmıştır.

Paul and Varma (1992) tarafından yapılan bir çalışmada; mezofilik *Bacillus* sp. izolatının büyümesi sırasında karbon kaynağı olarak pirinç kabuğunun kullanılması neticesinde, substratın selülozik ve hemiselülozik bileşenlerinin parçalanmasından sorumlu bir dizi hücre dışı enzimin salgılandığı bildirilmiştir. Çalışmada sırasıyla % 1 CMC'ye ve % 0.5 ksilan'a karşı aktif olan 30 kd ve 15.7 kd'lik molekül ağırlıklarına sahip iki önemli glikoprotein kültür süpernatantından tespit edilmiş ve afinite kromatografisi kullanılarak kısmen saflaştırılmıştır. Her iki proteinin de *Km* değerlerinde, karbonhidrat içeriğinde, pH ve sıcaklık kararlılıklarında farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Bağlanmış fraksiyon üzerinde gerçekleştirilen IEF jel elektroforezi, her iki protein için de asidik pI ( zoelektrik nokta) saptamıştır. Böylelikle çalışmada bu proteinlerin katalitik özellikleri araştırılmış ve parçalanma sürecinde olası rolleri tartışılmıştır.

Jung and Pack (1993) tarafından yapılan bir çalışmada; *Clostridium thermocellum*'dan izole edilen bir ksilanaz geninin C-terminal bölgesinin ksilanaz etkinliği ile ilgili olmayan bir kısmı çıkarılmıştır. Modifiye ksilanaz geni, *B. subtilis*'e transforme edilmiştir. Ksilanaz geni *B. subtilis*'de iyi ifade edilmiş ve büyüme OD₆₀₀'üne ulaştığında hücre dışı ksilanaz, ml başına 30 üniteye kadar üretilmiştir.

Wolf *et al.* (1995) tarafından yapılan bir çalışmada; ekstraselüler ksilanaz (~rynA) enzimini kodlayan gen, *B. subtilis* 168 DNA'sından 770 bp'lik bir DNA parçası olarak amplifiye edilmiştir. Endo- β -1,4 - glukana ve endo- β , 1,3 - 1,4 - glukana kodlayan genler *B. subtilis* 168'in genomik kütüphanesinden izole edilmiştir. Çalışmada XynA ve eglS dizilerinin *B. subtilis* PAP115'de bulunan ksilanaz ve selüloz genleriyle aynı olduğunu gözlemlenmiştir.

Davoodi *et al.* (1998) tarafından yapılan bir çalışmada; *Bacillus circulans* ksilanaz ve bir disülfid köprü içeren mutantın (SIOOC / N148C) stabilitesi, diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) ve termal inaktivasyon kinetiği ile incelenmiştir. Her iki proteinin termal denatürasyonunun geri döndürülemez olduğu ve görünür geçiş sıcaklığının tarama hızı üzerinde önemli bir bağımlılık gösterdiği bulunmuştur.

Lin *et al.* (1998) tarafından yapılan bir çalışmada; endüstri ve biyoteknoloji alanında yaygın olarak kullanılan *Bacillus* sınıfında yer alan birçok enzim tespit edilmiştir. Sanayi ve ticari sektörde sıklıkla tercih edilen amilaz ve ksilanaz enzimlerinin ticari olarak üretilmelerinde en çok tercih edilen türlerin; *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* ve *B. licheniformis* türleri olduğu bildirilmiştir.

Cordeiro *et al.* (2002) tarafından yapılan bir çalışmada; termal ortamlardan elde edilen bakterilerin 16s rRNA sekans analizleri çıkarılmış ve izolatların ribozomal DNA sekanslarının % 94 oranında *Bacillus coldoxylolyticus* ve *Bacillus* sp AK1 suşu ile benzer olduğu bildirilmiştir.

Damiano *et al.* (2003) tarafından yapılan bir çalışmada; alkalofilik *B. licheniformis* 77-2'den, mısır samanını içeren ortamda selüloz aktivitesine sahip ve hücre dışı alkaliye dayanıklı bir ksilanaz enzimi üretilmiştir. Okaliptüs Kraft küspesinin

işlenmesine yönelik ham ksilanazın etkinliği değerlendirilmiş, klor tasarrufu ile enzim tarafından işlenmiş ve işlenmemiş pulpa karşılaştırmak için bir biyolojik ağartma deneyi gerçekleştirilmiştir. İki aşamalı ağartmada ClO_2 ve NaOH ekstraksiyonu (DE serisi) kullanılarak yapılmıştır. Enzimatik muamele ile aynı Kappa sayısı ve parlaklık değerini elde etmek için enzimatik olarak muamele edilmemiş numunelere kıyasla sırasıyla % 28.5 ve % 30 daha az ClO_2 gerektiği bildirilmiştir.

Tolan and Collins (2004) tarafından yapılan bir çalışmada; termofil bakterilerden elde edilen ksilanazların yüksek sıcaklıklarda yapılarının tamamen bozulmadığı, sadece ileri derecede olmayan yüzeysel modifikasyonların oluştuğu tespit edilmiştir.

Yapılan birçok araştırmada *Bacillus sp.* suşlarının optimum aktivite gösterdikleri pH aralıklarının farklı değerlerde pH (5.5, 5.6, 6.0, 6.5 ve 7.0) olduğu belirtilmiştir (Blanco *et al.* 1995; Pham *et al.* 1998b; Dhillon and Khanna 2000; Lama *et al.* 2004; Avcioglu *et al.* 2005).

Sapre *et al.* (2005) tarafından yapılan bir çalışmada; ksilanaz enziminin ksilan substratının hidrolizi haricinde başka hiçbir şekilde aktivitesini göstermediği anlaşılmıştır. Enzim aktivitelerinde optimal sıcaklığın 50 °C olduğu görülmüştür. Ksilanaz aktivitesi için optimum pH'nın sırasıyla, 6.5, 8.5 ve 10.5 seviyelerinde olduğu ve enzimin pH değerinin 6.0'dan 10.5'e kadar geniş bir pH aralığında kararlı yapı gösterdiği tespit edilmiştir.

Choudhury *et al.* (2006) tarafından yapılan bir çalışmada; *B. coagulans* izolatından ksilanaz üretimi; çevresel parametrelere, karbon kaynağına ve sallama düzeyi seviyesindeki karbon kaynağının konsantrasyonuna göre incelenmiştir. Kullanılan çeşitli karbon kaynakları arasında buğday tozu yüksek enzim üretimi göstermiştir. Buğday tozundan izole edilen ksilanın, birchwood ksilana kıyasla daha yüksek enzim üretimi sağladığı belirtilmiştir. Çalışmada % 2 buğday tozu ile maksimum 165 IU / ml enzim aktivitesi elde edilmiştir.

Ayyachamy and Vatsala (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; tarımsal bitki atıklarından ksilanaz üretimi için katı ekimler optimize edilmiş ve ksilanazın odunsu

olmayan bitki materyalleri üzerindeki biyolojik etkinliği test edilmiştir. Enzim yardımlı biyolojik ağartma sonuçları; ksilanazın odunsu olmayan bitki hamuru posasının parlaklığını arttırmada potansiyel uygulama alanı olduğunu göstermiştir.

Bocchini *et al.* (2008) tarafından yapılan bir çalışmada; *B. circulans* D1 izolatının, hücre dışı termostabil ksilanazın iyi bir üreticisi olduğu belirtilmiştir. Farklı karbon kaynaklı ksilanaz üretimi değerlendirilmiş ve enzim sentezi çeşitli karbon kaynakları ile indüklenmiştir. D-glikoz ve D-arabinoz, bazal ksilanaz düzeylerine yol açarken, D-maltozun enzim sentezinde indükleyici olduğu gözlemlenmiştir.

Yasinok *et al.* (2010) tarafından yapılan bir çalışmada; topraktan izole edilen *B. pumilus* SBM13 suşundan izole edilen ksilanaz geni dizisinin diğer *B. pumilus* suşlarından elde edilen ksilanaz genlerine % 89-94 benzerlik gösterdiği belirtilmiştir.

Garg *et al.* (2011) tarafından yapılan bir çalışmada; katı hal fermentasyonu altında *B. pumilus* ASH'dan ksilanaz üretimini optimize etmek için iki aşamalı istatistiksel tasarım kullanılmıştır. Üretim parametrelerinin seçimi için Plackett-Burman tasarımı (PB) kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda pepton, maya özütü, inkübasyon süresi, nem seviyesi ve pH, ksilanaz üretimi için kritik faktörler olarak gözlemlenmiştir.

Battan *et al.* (2012) tarafından yapılan bir çalışmada; pamuklu ve mikro-poli kumaşların desikasyonu, *B. pumilus* ASH'den izole edilen termostabil ksilanaz kullanılarak yapılmıştır. Enzim varlığında mikropoli kumaşların aynı koşullar altında pamuktan daha iyi desizasyon gösterdiği saptanmıştır.

Banka *et al.* (2014) tarafından yapılan bir çalışmada; *Escherichia coli*'de, *B. subtilis* M015'den izole edilen ksilanaz ve β -ksilosidaz'ın enzimlerinin klonlanması, ekspresyonu ve karakterizasyonu yapılmıştır. Genlerin ksilanaz geninin (glikozid hidrolaz (GH) ailesi 11) 213 amino asit ile β -ksilosidazın ise 533 amino asit tarafından (GH ailesi 43) kodlandığı saptanmıştır.

Chutani and Sharma (2016) tarafından yapılan bir çalışmada; Hindistan'ın farklı bölgelerinden; tarım toprakları ve endüstriyel kullanıma açık topraklardan, toplam altmış

mantar kültürü izole edilmiştir. On beş mantar kültürü ksilanaz ve selüloz üretimi için seçilmiş ve çeşitli primerler (ITS, NS ve MNS) kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda 3811 IU/g ksilanaz ve 9.9 IU/g selülozdan oluşan *Trichoderma longibrachiatum* MDU-6'dan elde edilen enzim kokteyli, çeşitli kağıt atıklarının dejenerasyonu için nicel olarak uygun olduğu tespit edilmiştir.

Gong *et al.* (2016) tarafından yapılan bir çalışmada; iyon değişim kromatografisi kullanılarak, üç farklı endo1,4- β -ksilanaz (An_xyn1, An_xyn2 ve An_xyn3) enziminin, SDS-PAGE ile ayırmış olduğunu tespit etmişlerdir.

Kim *et al.* (2016) tarafından yapılan bir çalışmada; *Acidothermus cellulolyticus*'tan izole edilen ksilanazın heterolog ekspresyonu sağlanmıştır.

Anbarasan *et al.* (2017) tarafından yapılan bir çalışmada; termofilik *Thermoplasma flexuosa* GH10 ksilanazı (TfXYN10A), biyofaz çözücü hidrofilik iyonik sıvılar ile (IL) [EMIM] OAc (asetat), [EMIM] DMP (2,2-dimetoksiopropan) ve [DBNH] OAc'nin varlığında çalışılmıştır. 65-70 °C'de ve TfXYN10A'nın optimum sıcaklık değerinde selüloz içerikli çözülmeyen ksilan, 70-75 °C'de % 1 ksilan ve 75-80 °C'de % 3 ksilan ile çözündürülmüştür. Bu nedenle, çözünür substrat miktarının seviyesinin, yüksek sıcaklıklarda enzim aktivitesini etkilediği belirtilmiştir.

Walia *et al.* (2017) tarafından yapılan bir çalışmada; ksilanaz enzimi ile kağıt hamuru parlaklığının artırılması, çevre kirliliğinin azaltılması ve bununla ilgili biyolojik arındırma işlemlerinin gerçekleştirildiği potansiyel endüstriyel uygulamaları çalışılmıştır.

Zheng (2017) yaptığı bir çalışmada; *Pichia pastoris* GS115'de *B. pumilus* G1-3'den elde edilen rekombinant alkalın ksilanazın (xynG1-3-opt) ekspresyon seviyesini iyileştirmek için *P. pastoris*'da heterojen ekspresyonu için kodon optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimize edilmiş gen (xynG1-3-opt) tarafından kodlanan ksilanazın aktivitesinin, 33641 U / mL'ye kadar olduğu belirlenmiş ve bu yabancı türün, xynG1-3 geninden % 37 daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, *P. pastoris*'teki rekombinant proteinlerin üretiminin artırılmasına ve alkalın ksilanazın endüstriyel üretiminin geliştirilmesine etkisinin büyük ölçüde katkıda bulunacağı öngörülmüştür.

Zhan *et al.* (2017) tarafından yapılan bir çalışmada; pirinçte tanımlanan bir XIP-Tipi ksilanaz inhibitörü geni olan riceXIP, *E. coli*'de klonlanmış ve eksprese edilmiştir. Rekombinant protein riceXIP'in, *Aspergillus niger*'den izole edilen ksilanaza karşı aktif olarak, doğru bir şekilde eksprese olduğu belirtilmiştir. Çalışmada transgenik teknikler kullanılarak, riceXIP geninin aşırı ekspresyonu gerçekleştirilmiş ve bitkilerde gen nakavt ve diğer metotlarla otoburlara karşı bitki savunmasına katkı sağlayacağı açıklanmıştır.

Cano *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmada; % 1 poliakrilamid jel elektroforezi ile farklı kaynaklardan elde edilmiş bakteri ve mantarların, selülaz ve ksilanaz aktivitelerini % 1 (w/v) poliakrilamid jeller kullanarak ayırmışlardır. Bu yöntemin, selülaz ve ksilanaz üreticilerinin taranması, bu aktiviteleri gösteren polipeptidlerin tanımlanması ve moleküler ağırlıklarının belirlenmesi için uygun bir metot olduğunu bildirmişlerdir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Enzimler ve Biyoteknolojide Kullanımı

Enzimler, organizmalarda substratların biyolojik ve kimyasal olaylarını katalizleyen moleküllerdir. Dış ortamda da aktivite gösterebilen enzimler, çeşitli canlı gruplarından biyoteknolojik yöntemlerle izole edilerek farklı endüstriyel alanlarda kullanılabilirler. Biyoteknolojinin gelişmesi ve ilerlemesi ile birlikte, canlı hücrelerden elde edilen enzimler; bira üretiminde, sütçülükte, etlerin işlenmesinde, meyve şuruplarının berraklaştırılmasında, gıda alanında, yağ atıklarının parçalanması için deterjan sektöründe, deri ve dokuma sanayide, tıpta tanı ve teşhislerde, tıbbi tedavi yöntemlerinde, deterjan ve diğer kimyasal temizleyicilerin ağartma işlemlerinde de büyük katkı sağlamaktadır (Voget *et al.* 2006). Giderek gelişen ve büyüyen enzim teknolojisi, üretilen ürünlerin çeşitlilik gösteren kullanım alanları ve yüksek ekonomik değere sahip olması nedeniyle son yıllarda biyoteknolojik alanlarda endüstriyel enzimlere olan ilgi artmış ve bu alanda çalışmalar ve araştırmalar yapılması oldukça büyük bir önem kazanmıştır. Yine rekombinant DNA teknolojisi ile de enzim üretim çalışmaları oldukça büyük önem kazanmıştır (Hols *et al.* 1994). Biyoteknolojik gelişmeler ile birlikte mikroorganizma kaynaklı spesifik enzimler çeşitli alanlarda ticari olarak kullanılmaktadırlar. Mikrobiyal kaynaklı enzimler ve bunların kullanım alanları Çizelge 2.1’ de belirtilmiştir (Kennedy and Rehm 1987).

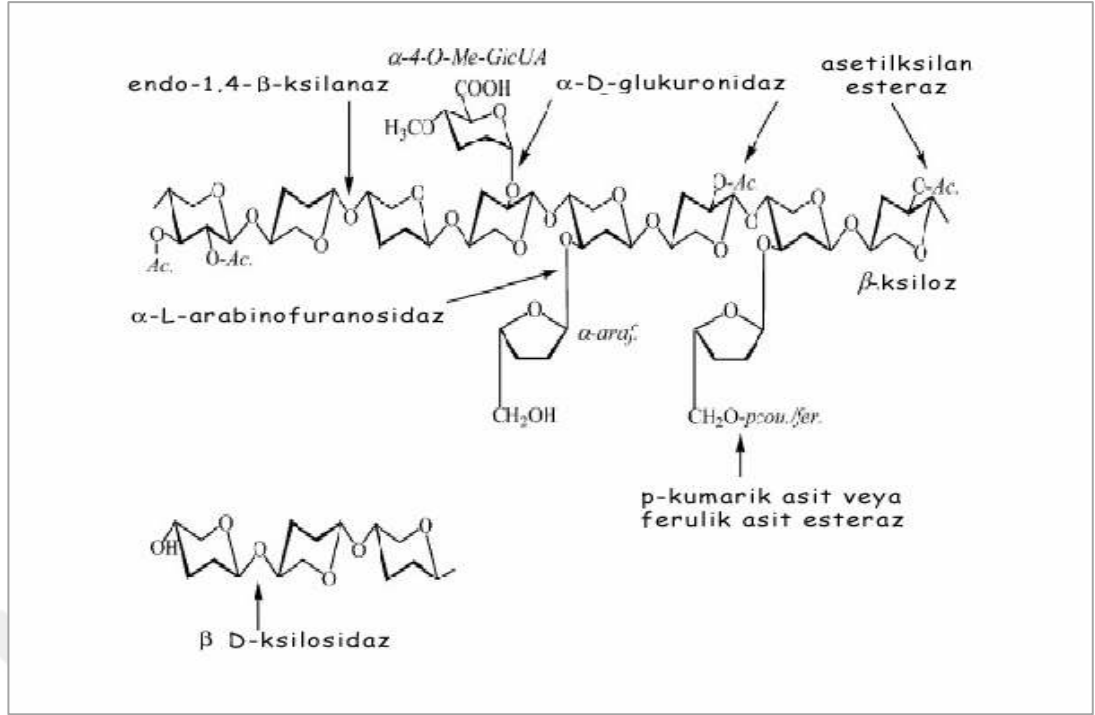
Çizelge 2.1 Mikrobiyal Kaynaklı Enzimler ve Kullanım Alanları

Enzim Sınıfı	Kullanıldığı Alanlar	Mikroorganizma Örnekleri
α -amilaz	Dekstrin ve Maltoz reaksiyonunda Ekmek yapımı Glikoz yapımı	<i>B. subtilis</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>B. licheniformis</i>
β -glucanaz	Bira berraklaştırılması	<i>A. oryzae</i> <i>B. subtilis</i>
Katalaz	İçecek korunması	<i>A. niger</i> <i>Micrococcus lysodelticus</i>
Selüloz	Deterjan yapımı Atık yıkımında	<i>Penicillium spp.</i>
Glukoz izomeraz	Glukoz, Fruktoz dönüşümü	<i>Aspergillus spp.</i>
Glukoz oksidaz	Biyosensor	<i>A. niger</i>
Laktaz	Peynir altı suyu Laktozsuz gıda üretimi	<i>Kluyveromyces lactis</i>
Lipaz	Deterjan yapımı Deri Endüstrisi, Sindirime yardımcı	<i>A. oryzae</i>
Renin	Peynir Endüstrisi	<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Mucor spp.</i>
Sukraz (invertaz)	Şekerleme yapımı	<i>Saccharomyces spp.</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>B. circulans</i> <i>B. licheniformis</i>
Ksilanaz	Kâğıt hamuru sanayisi, Hayvan yemleri Meyve ve şıra suyu yapımı ve berraklaştırılması Gıda endüstrisi	<i>Bacillus ginsengihumi</i> <i>Cellulomonas fimi</i> <i>Micrococcus sp</i> AR-135, <i>Trichoderma longibrachiatum</i> <i>Thermoascus aurantiacus</i> <i>Rahnella aquatilis</i> <i>Pseudomonas monteilii</i>
Bacterial α -amilaz	Maltoz ve dekstrinin yıkılması Leke çıkarıcı Glikoz şurubu	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ,
Hemiselulaz	Deterjan katkı maddesi Atıkların değerlendirilmesi	<i>B. subtilis</i> , <i>Aspergillus niger</i>
Pullulanaz	Biyo-yakıt üretimi	<i>Bacillus sp.</i> <i>Clostridium pasteurianum</i> ,
Pektinaz	Meyve suyu yapımında Şarap ve diğer içeceklerin berraklaştırılması	<i>Erwinia spp</i>

2.2. Ksilanaz Enzimi

Bitkilerde bulunan hücre duvarı, mikroorganizmaların hücreye girişini engellemek için önemli bir bariyer konumundadır. Bitkilerde doğal olarak var olan ve yaklaşık olarak biyokütlenin % 20-30'luk kısmını heteropolisakkarit yapıda olan hemiselülozik tabaka oluşturur (Gamerith, G 1992). Bu biyokütle dünyanın yakıt ihtiyacını karşılamada da önemli bir konumdadır (Alvarez-Cervantes *et al.* 2016). Ksilan, çoğu bitki hücre duvarının hemiselülozik olan temel yapısıdır (Anbarasan *et al.* 2017). Kullanışlı ve son ürüne parçalanabilen bir yapıdadır (Yang *et al.* 1995). Büyüyen ve gelişen dünyamızda katı ve sıvı atıkların büyük bir kısmının da yine bu hemiselüloz yapısından kaynaklandığı bilinmektedir (Lee *et al.* 2015). Mantarların ve bakterilerin büyük çoğunluğu ksilan'ı parçalayabilmek için ksilanaz enzimine mutlak olarak sahip olmaları gerekmektedir. Bu sebepten ötürü patojen ve saprofit türler hücre duvarının temel bileşeni ve aynı zamanda bitki hücrelerinin orta lamelinde bulunan ksilanı parçalamak için ksilanaz enzimini üretir (Salles *et al.* 2000). Ksilanaz enzimi, ksilan yapısında bulunan β -1,4-D-ksilozidik bağlarını hidrolizle parçalamaktadır. Bu nedenle ksilanaz enzimi doğada yaygın şekilde görülen ve bitki patojenlerince bitki hücresinin enfeksiyonunda gerekli olan bir enzim çeşiti olarak bilinmektedir (Collins *et al.* 2005).

Ksilan içeriğinin tamamen hidrolizi geniş bir grup mikrobiyal enzim işbirliği ile sağlanabilmektedir (Amerah *et al.* 2017). Bu enzimlerin en önemlisi ksilan yapısındaki glikozid bağı kırarak β -1,4-endoksilanaz grubu olan ksilanohidrolazlardır (Gilbert and Hazlewood 1993). Endoksilanazlar, ksilan iskeletindeki iç glikozit bağlarını hidrolize ederken, ekzoksilanazlar ise endoksilanazların aktivitesi neticesinde meydana gelen ksilooligosakkaritleri hidroliz etmektedirler (Wong *et al.* 1988). Şekil 2.1 ve Şekil 2.2'de ksilanaz enzimlerinin kristal yapısı ve ksilan iskeletindeki yapısal bölgeler gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Ksilanazların Ksilan Omurgasına Etki Noktaları (Collins *et al.* 2005).



Şekil 2.2 Ksilanaz Enziminin Kristal Yapısı (St John, Franz J., et al. 2009)

2.2.1. Ksilanaz Enziminin Genel Özellikleri

Genel olarak mikrobiyal kaynaklı ksilanazlar asidik veya nötral pH'larda optimum aktivite gösterirler. Bakteri kaynaklı ksilanazlar ise genellikle pH 5-9 arasında, büyük bir alanda etkin olmasına rağmen çoğu nötral pH'larda da optimum aktiviteye sahiptirler (Beg *et al.* 2001). Endoksilanazların izoelektrik noktaları PI 3-10 aralığındadır. Ksilanazlar, katalitik, hidrolitik ve termal kararlılıktan sorumludurlar. Sıcaklık değerlerinin optimum 34 ile 75 °C aralığında değişebildiği ancak 75-90 °C sıcaklıklar arasında aktivite gösteren ksilanazların bulunduğu bilinmektedir. Ksilanaz aktivitelerinin, düşük amonyum sülfat konsantrasyonunda bile sıcaklıkla artış gösterdiği bilinmektedir. Fungal ksilanazlar genelde bakteriyel ksilanazlara göre daha düşük sıcaklık direncine sahiptirler (Abdulla *et al.* 2017). Ksilanaz çeşitlerinde molekül ağırlığı ve pH değeri arasında belli sabit bir ilişki vardır; düşük molekül ağırlıklarında bazik iken, yüksek molekül ağırlığında ise asidik yapı gözlemlenmiştir (Wong *et al.* 1988).

2.2.2. Ksilanaz Enziminin Kullanım Alanları

Ksilan, yüksek bitkilerin hücre duvarının hemiselülozik tabakasının temel bileşenidir ve endüstride doğaya zararı en aza indirgeyerek kullanılabilirliği bakımından oldukça önemli bir yere sahiptir (Gessesse 1998). Dünyada ksilandan en çok gıda ve yem alanında faydalanılmakta aynı zamanda, kâğıt sanayisinde ve atıkların arıtım işlemlerinde değerlendirme prosesleri olarak da ksilana yönelik uygulamalar bulunmaktadır. Ksilanın ve ksilanaz enziminin en önemli özelliklerinin başında sanayi endüstrisinde kullanılan bitkisel veya bitkisel kaynaklı olmayan atıkların enzimatik olarak hidrolizi gelmektedir. Ksilanın enzimatik hidrolizindeki en önemli enzim ise β -1,4 bağları ile bağlanan ve ksiloz birimlerinden oluşan iskeleti hidrolizleyen β -1,4 ksilanazlardır (Sargın *et al.* 2003).

Doğa kirliliğini önlemek ve çevresel düzenlemeler çerçevesinde kâğıt hamuru ve kâğıt endüstrisinde beyazlatma ve ağartma işlemleri genellikle yüksek yoğunluktaki klor ile yapılmaktaydı. Ancak klor kullanımının sınırlandırılması, ağartma işlemlerinde enzim kullanılmasına, akabinde araştırmacıların mikrobiyal enzimlere yönelmesine neden olmuştur (Eren-Kıran Ö. 2006). Kâğıt endüstrisindeki kirliliği azaltmak için mikrobiyal enzimlerin uygulanması ile birlikte ağartma işlemlerinde klorun kullanımı azaltılmış ve

böylelikle çevreye vermiş olduğu zararın indirgenmesi sağlanmıştır. Kuzey Amerika’da ve Batı Avrupa ülkelerinde ksilanazlar, ağaç mantar dokulu kabuk ekstraktında, geri dönüşüm ürünlerinin ağartılmasında ve kullanılmış olan kâğıt hamurunun beyazlatılması işleminde selülozun hidroliz edilmesiyle tekrar kullanılmaktadır (Yang *et al.* 1995). Gıda sanayisinde ise ksilanazlar, ekmek yapımında hamurun yoğrulması esnasında kullanılmakta ve böylelikle hamurun kabarık, yumuşak ve kıvamlı bir hal almasına neden olmaktadır (Güneri vd. 2008). Bunun temel nedeni buğday unundaki ksilanaz için substrat olan ve su içerisinde çözölemeyen arabinoxylan (AX)’ın çözünmesi olduğu bilinmektedir. Ksilanaz, meyve ve şıra sularının arıtılması, sebze ve meyve sularının eldesi için de yoğun olarak kullanılmaktadır. Ksilanazın diğer önemli kullanım alanı ise yem ve hayvancılıkta piliçlerin besinleri olan çavdar tabanlı diyetlerin içerisine dâhil edilmek suretiyle yemlerde viskozitenin azaltılmasıdır. Bunun sonucunda ise hem yemlerin ağırlıkları artmakta hem de piliçlerin ağırlıkları artmaktadır. Gıda endüstrisindeki atıklarda ksilan miktarı oldukça yüksektir. Bu sonuçla birlikte ksilanın kullanım alanları ksilanazlar sularında bulunan ksilan’ı iskeletini ksiloz’a dönüştürmek içinde kullanılır. Çizelge 2.2’de ksilanaz enziminin dünya çapındaki kullanılabilirliği ve işlemlerdeki önceliği işlevsel ve ayrıntılı olarak verilmektedir (Collins *et al.* 2005).

Çizelge 2.2 Ksilanaz enziminin kullanım alanları

Sanayi Katkısı	Kullanım Alanı	Özelliği
Sanayii kuruluşlarındaki meyve, sebze ve şarap üretim ve işleme alanlarında	Yağ, meyve suyu, şarap ve diğer meyve ve sebzelerin atık ve işlemlerinde kullanılır	Yağ, meyve suyu, şarap ve diğer meyve sularının kalitesinin arttırılmasında ve berraklaştırılmasında kullanılır
Ekmek ve unlu mamül üretim tesislerinde	Ekmek yapımında ve diğer hamur ürünlerinin üretiminde	Hamurun daha şişkin, yumuşak ve kıvamlı bir hal almasını sağlar.
Hayvancılık	Yem ürünlerinin üretilmesinde ve geliştirilmesinde	Hayvanlarının aldıkları yemlerden içerik yoğunluğunu azaltarak proteinlerden ve diğer bileşiklerden en üst düzeyde faydalanmasını sağlar.
Kâğıt endüstrisinde	Kâğıt üretiminde kâğıt renginin kalitesinin artmasına ve ağartma işleminin daha net olmasında	Kâğıt endüstrisinden kullanılan zararlı kimyasalların sayısının azaltılması sağlar.
Glukoz ve Nişasta	Nişastanın diğer ürünlerden ayırımına	Hanur işlerindeki yoğunluğu azaltır ve daha kıvamlı bir hal verir.
Giyim ve tekstil sanayisinde	Giyim sanayide kullanılan kot, keten ve kendir gibi ürünlerin işlenmesinde	Enzimatik yüzeye etki eder.
Biyoyakıt üretim tesislerinde dönüşüm	Elde edilen atıkların zararının en aza indirgenmesinde ve uzaklaştırılmasında	Fabrika ve diğer sanayi kuruluşlarındaki atıkların arıtımını sağlar.

2.3. *Bacillus* Türleri ve Genel Özellikleri

İlk olarak 1872’de Ferdinand Cohn tarafından adlandırılan *Bacillus*’lar gram pozitif, krem ya da beyaz renkli farklı koloni tiplerine sahip, olumsuz koşullara oldukça dayanıklı endospor oluşturan peritrik kamçılı aerobik veya fakültatif aneorobik bir bakteri cinsidir (Lin *et al.* 1998). Vejetatif hücre yapıları 0.5x1.2 µm ile 2.5x10 µm çapı arasında değişkenlik göstermektedir (Buchanan 1994). Bilinen yaklaşık elliye yakın *Bacillus* türü bulunmaktadır. Bu türlerin bazılarında endosporun hücre içindeki konumunda farklılıklar gözlemlenmektedir. Endosporlarının konumuna göre sentral, terminal ya da subterminal olarak ayrılabilirler. Yine Turnbell and Kramer’in yapmış olduğu çalışmada *Bacillus* türlerinin teşhisinde spor morfolojilerinin temel alındığı ve buna göre *Bacillus*’ların 3 gruba ayrıldığı bildirilmiştir. İlk grup *Bacillus*’lar kendi içlerinde A ve B olmak üzere ayrılmaktadırlar. Bu grupların ikisinde de sporangia şiş değildir. Sporlar merkezi veya terminal konumlu ve elips veya silindirik şekilli yapıdadır ve gram pozitiflerdir. Bu gruplardan A grubunda hücreler 1µm’den küçüktür. B grubunda ise hücreler 1µm’den büyüktür. A grubunda; *B. megaterium* ve *B. cereus* gibi türler var iken; B grubunda ise *B. pumilus*, *B. firmus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* ve *B. coagulans* gibi türler vardır. Diğer grupta ise *Bacillus* türlerinde sporangia şiş durumdadır. Elips, sentral veya terminal şeklinde sporlar vardır. *B. circulans*, *B. stearothermophilus*, *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. alvei*, *B. laterosporus* ve *B. brevis* gibi türler bunlara örnektir. Üçüncü grup *Bacillus* türlerinde de sporangia şiş konumdadır. Küresel, subterminal veya terminal konumlu sporlar vardır. *B. sphaericus* bu gruba örnek olarak verilebilir (Turnbell *et al.* 1991). Bazı *Bacillus* türleri polipeptit yapıda kapsül geliştirmişlerdir (*B. subtilis*, *B. anthracis*, *B. megaterium* ve *B. licheniformis*). DNA’larındaki G + C oranı yaklaşık olarak % 32 ile % 62 arasında değişmektedir (Con *et al.* 1997). Birçok *Bacillus* türünde hücre duvarı mezo-diamino pimelik asitten meydana gelir (Özçelik 1995). Tüm *Bacillus* türleri kanlı agar, nutrient agar, trypticase soy agar ve brain heart infusion besi ortamlarında rahatlıkla üreyebilmektedirler. Sentetik ortam büyüme koşullarında ise en iyi ortam nitrojen kaynağı olan amonyum bulunduran ortamlar iken, karbon içeren organik asit, şeker ve alkol de çok iyi bir büyüme ortamıdır (Kaynar and Beyatli 2008). Genel olarak şekerleri fermente ederek asit üretebilirken, proteinleri de kullanarak amonyak oluşturacak şekilde parçalamakta ve böylelikle kokuşmaya neden olabilmektedirler. *Bacillus* türleri genellikle saprofit olup toprakta, su, bitki, bitki atıkları ve hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. *Bacillus* türlerinin genel olarak çalışılmasının nedenlerinden biri, bazı

biyolojik kaynaklı metabolitlerin üretimi ve sıcaklık dirençli spor oluşturma yetenekleridir (Silo-Suh *et al.* 1998).

2.3.1. *Bacillus* Türleri ve Biyoteknolojide Kullanımı

Biyoteknoloji; biyoloji, moleküler biyoloji ve genetik alanlarındaki gelişmelere paralel olarak gelişen ve sürekli olarak güncellenen yeni, güvenilir ve gelecek vadeden bir çalışma alanıdır. Enzim teknolojisinin gelişmesi ve ekonomik değeri yüksek olan ürünlerin kullanım alanının çeşitliliği nedeniyle, biyoteknolojik alanda endüstriyel enzimlerin önemi de giderek artmıştır. Özellikle mikroorganizmalar hızlı üremeleri yanında gelişimlerinin kolay ve ekonomik olması gibi nedenlerden dolayı enzim kaynağı olarak tercih edilmişlerdir. Ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmalar ve onların ürettiği enzimler bu anlamda büyük önem kazanmıştır. *Bacillus* türleri ekstra sellüler enzimler üretme yetenekleri ve diğer enzim kaynaklarına göre daha az ürün oluşturmaları nedeni ile en çok tercih edilen bakteri grupları arasındadır.

Bacillus'lar genel olarak mezofiliktirler, termofilik ve psikrofilik türleri de bulunmaktadır (Ayhan 2000.). Termofilik açıdan değerlendirildiğinde *Bacillus* cinsine ait sıcaklığa en dirençli türün *B. subtilis*, en hassas türün ise *B. coagulans* olduğu; pH açısından değerlendirildiğinde, *B. coagulans* (*B. thermoacidurans*) ve *B. stearothermophilus* gibi bazı türlerin 4,2 gibi oldukça düşük pH'larda gelişim süreçlerini devam ettirebildiği bilinmektedir. Ekstrem türler dışında *Bacillus* türleri genellikle çamur, su, toprak ve çeşitli besinlerde kolaylıkla bulunabilmektedirler.

Bacillus türlerinden amilaz, proteaz, lipaz, azoredüktaz, katalaz-peroksidaz ve pektat liyaz gibi pek çok enzim çalışması yapılmıştır (Gomes ve Steiner 2004). Bunun yanında *Bacillus* türlerinin ekstradan ürettiği çeşitli bileşiklerinde biyoteknolojik açıdan önem arz ettiği ve pek çok çalışmada kullanıldığı bilinmektedir. *B. subtilis*'den subtilin, *B. licheniformis*'den basitrasin, *B. polymyxa*'dan ise polimiksin antibiyotiklerinin üretimi bunlara örnek olarak verilebilir (Ayhan 2000).

2.4. Amaç

Çalışmanın amacı Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde bulunan sıcak su kaynaklarından toplanan su ve çamur örneklerinden termofilik bakterilerin izole edilerek tanımlanmasıdır. Bunun yanı sıra izole edilen bakterilerden ksilanaz enzim aktivitelerinin tespit edilmesi ve ksilanaz enzim aktivitesi yüksek olan türün seçilerek enzimin saflaştırılması, saflaştırılan enzimin rekombinant ve nano kapsüllenmiş formunun aktivite sonuçlarının kıyaslanıp ticari olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Biyolojik Materyal

Pasinler (Erzurum), Hasanabdal (Van), Hıstaçermiği (Siirt), Diyadin; Davut ve Köprü çermiği (Ağrı), Dargeçit (Mardin) ve Güçlükönak (Şırnak) termal kaynaklardan alınan su ve çamur örneklerinden izole edilen bakteriler çalışmanın materyalini oluşturmaktadır.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Çalkamalı inkübatör: LABWİT ZWYR-200D Orbital

Distile su cihazı: Nüve ND 4L

Elektroforez: WEALTEC ELİTE 300 PLUS

Etüv: Nüve FN500

Hassas terazi: Vibra AJ3200H Shinko

Isıtıcılı magnetik karıştırıcı: Are VELP Scientifica

Jel görüntüleme: Dnr Bio-imaging Systems MiniLumi

Nanodrop spektrometre: ACTG Gene UVS-99

Otoklav: Nüve OT 40 Otoklav

PCR cihazı: BİOER GenePro

pH metre: AZ 8685

Pipetler: Eppendorf

Santrifüj: ScanSpeed mini

Sıcak su banyosu: Labo BMS 5200

Vortex: PV-1 Grant-bio Vortex Mixer

Western blot: WEALTEC

3.1.3. Kullanılan Kitler

pGEMTeasy vektörü: 1.2µg pGEM®-T Vektör (50ng/µL) • 12µL Kontrol Insert DNA (4ng/µL) • 100u T4 DNA Ligaz • 200µL 2X Rapid Ligasyon Solüsyonu, T4 DNA Ligaz (Promega)

pET16b vektör: Novagen pET-16b vektör (Kat. No. 69662-3)

Proteo qwest kiti: Sigma (LC6070)

QIAGEN plazmid kiti: Plasmid Midi Kit (Kat. No. 12143)

Quick Gel Extraction Kit: İnvitrogen (K210012)

3.1.4. Kullanılan Besiyerleri

Kanlı Agar: Toplamda 40 gr; (Oxoid) Blood Agar Base çözeltisinden, (2.5 gr Liver digest, 15 gr proteose peptone, , 5 gr sodium chloride, 5 gr yeast extract) ve 12 gr agar alınıp 1000 ml su ile çözündürülmüştür. Hazırlanan çözelti 121 °C’de yüksek basınç altında 15 dk otoklanmıştır.

Luria Bertani (LB): Toplamda; 10 gr tripton (Sigma), 5 gr Yeast infusion (Merck) ve 5 gr NaCl (Merck) karışımı 600 ml H₂O ile çözülerek pH 7.4’e ayarlanır ve toplam hacim 1000 ml olacak şekilde H₂O ile tamamlanır. Hazırlanan besi ortamı 121 °C’de 1,5 atm basınçta 15 dk otoklavlanır.

Nutrient Broth (NB): Toplamda 13 gr; (Oxoid) NB çözeltisinden, (1 gr `Lab-Lemco' powder, 5 gr peptone, 5 gr sodium chloride, 2 gr yeast extract) alınıp 1000 ml su ile çözündürülmüştür. Hazırlanan besi ortamı 121 °C'de 1,5 atm basınçta 15 dk otoklavlanır.

3.1.5. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

10x TAE: Tris Acetate-EDTA buffer BioReagent, 50x suitable for electrophoresis

Ampisilin: Sigma A 6140 Solüsyon, 1000x ampisilin stok solüsyonu

Brain Heart Infusion (BHI): Toplamda 37 gr; (Oxoid) 12.5 gr Brain heart infusion, 5 gr Beef Heart infusion, 10 gr Proteose peptone, 2 gr Glukoz, 5 gr Sodyum klorid, 2.5 gr Disodium phosphate üzerine 1000 ml distile su içinde çözülerek pH 7.4'e ayarlanır. Hazırlanan besi ortamı 121 °C'de 1,5 atm basınçta 15 dk otoklavlanır.

DNS: Enzim aktivitesinin belirlenmesinde reaksiyonu durdurmak ve aktivite sonucu açığa çıkan indirgen şeker miktarını belirlemek için kullanılır. 1g DNS 50 mL dH₂O içerisinde çözülür ve daha sonra son hacim 30g K-Na-Tartarat ve 20 mL 2N NaOH ile 100 mL'ye tamamlanır.

EDTA: Fluka Kat no: 03620

Etanol: Merck 100983 Ethanol absolute for analysis ACS, ISO, Reag. Ph Eur 2.5 L

Etidyum bromür: 10 mg/ml stok çözelti Ethidium bromide hazırlandı [EB], (Kod: 802511)

Fenol Kloroform İzooamilalkol: Sigma

Gliserol: Emsure® ACS, Reag. Ph Eur. CAS 56-81-5, EC Number 200-289-5 % 80'lik gliserol kullanıldı

İzopropanol: Sigma EC no: 200-661-7

Kalsiyum Klorür: 25:24:1, Saturated with 10mM Tris, pH 8.0, 1mM EDTA, 7.34 gr CaCl₂ üzerine 1lt H₂O eklenir.

Kloroform: Sigma Anhydrous, ≥ % 99 contains % 0.5-1.0 ethanol as stabilizer

TE: Sigma Tris EDTA pH:8.0

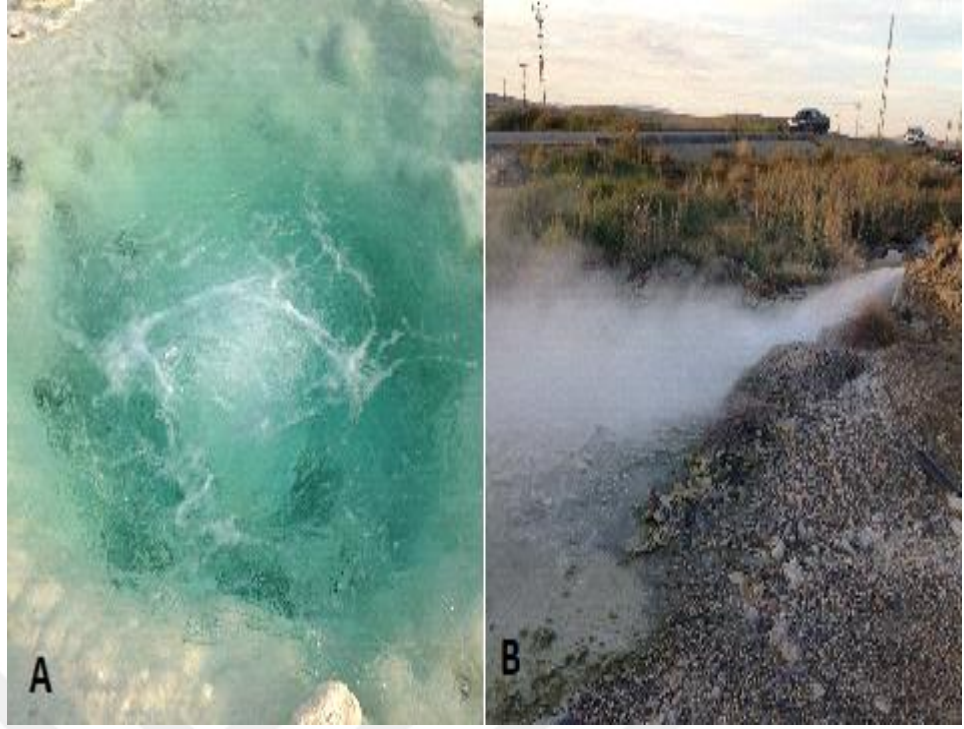
Tris: Sigma EC No: 201-064-4

X-gal: (Bio Basic Katalog no: 12872) 50 mg/ml hazırlandı (N-N dimetilformamide Sigma Katalog no:38H0812)

3.2. Yöntem

3.2.1. Biyolojik Materyalin Toplanma Yöntemi

İzolasyon yapılan alanlardan alınan su ve çamur örnekleri 2 lt'lik cam kavanozlara konularak etrafı güneş ışığı almayacak şekilde alüminyum folyo ile tamamen kapatıldı ve alınan bölgenin bilgileri ve koordinatları kaydedildi (Wulf 1989). Çalışmada; Ağrı (Diyadin; Davut ve Köprü çermiği) Lat. :39,493548, Lng. : 43,649362 kaynak suyu sıcaklığı 70 °C (Şekil 3.1), Davut sıcak su kaynaklarının genel doğal görünümü (Şekil 3.2), Pasinler (Erzurum) Lat. : 39,978194 Lng. : 41,664286, kaynak suyu sıcaklığı 38 °C, Hasanabdal (Van) Lat: 39,225049, Lng. : 43,388236 kaynak suyu sıcaklığı 70 °C, Hıstaçermiği (Siirt) Lat.: 37,707582, Lng. :42,002020 kaynak suyu sıcaklığı 60 °C, Dargeçit (Mardin) Lat. : 37,546184, Lng. : 41,720381 kaynak su sıcaklığı 60 °C ve Güçlükonak (Şırnak) Lat. : 37,476818, Lng. :41,939351 kaynak suyu sıcaklığı 60 °C, olarak tespit edildi ve alınan örneklerden izolasyon gerçekleştirildi.



Şekil 3.1 A: Köprü sıcak su kaynağı, B: Davut sıcak su kaynağı



Şekil 3.2 Davut sıcak su kaynaklarının genel doğal görünümü

3.2.2. Sıcak Su Kaynaklarının Kimyasal Analizi

Toplanan su örneklerinin kimyasal analizleri Kars Halk Sağlığı İl Müdürlüğü su analiz laboratuvarında yapılmıştır. Örneklerde pH, iletkenlik, NO_3^{-1} (Nitrat), NH_4^{+1} (Amonyum), NO_2^{-1} (Nitrit), Fe (Demir), Al^{+3} (Alüminyum), Cu (Bakır), Pb (Kurşun) ve suyun kaynak sıcaklıkları rapor edilmiştir.

3.2.3. Bakterilerin İzolasyonu

Termal kaynaklarından alınan su ve çamur numuneleri distile su içeren tüplere (1 mL örnek 9 mL distile su olacak şekilde aktarılmış) alınarak 10^{-1} ve 10^{-6} 'lık dilüsyonları yapılmıştır. Her bir dilüsyondan 25 μL alınarak sıvı besi ortamlarında geliştirilmiş (Şekil 3.3) ve gelişen her bir besi ortamından da 100 μL inokulum alınarak katı besi ortamlarına ekilmiş ve 55-58 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreci sonunda gelişen kolonilerden öze ile alınan bakteri izolatları ayrı besi ortamlarına çizgi ekim yöntemi ile ekilerek saf kültürleri elde edilmiştir.

Mikroorganizmaların stoklanması amacıyla 2 mL'lik ependorf tüplerine 500 μL (% 30'luk gliserol) ile 500 μL LB eklendi. Çalışma sonucunda saflaştırılan her bir izolattan bir öze dolumu bakteri tüplere alınarak vortekslendi. İzolat numaraları kaydedilen her bir tüp -80 °C'de stoklandı.

3.2.4. Bakteri Örneklerinin Gelişim Gösterdiği Sıcaklıkların Tespiti

İzolatlara ait örnekler farklı sıcaklık (40 °C, 55 °C, 65 °C, 70 °C, 75 °C, 85 °C ve 90 °C) değerlerine sahip parametreler baz alınarak ölçülerek sonuçlar rapor edilmiştir.

3.2.5. Bakteri İzolatlarının Tanılanması

3.2.5.1. Morfolojik Tanılama

Tüm bakteriler mikroskop altında incelenerek morfolojik yapıları gözlenmiş olup aynı zamanda endospor ve gram boyama testleri yapılmıştır.



Şekil 3.3 Sıvı besiyerine ekim yapılan örnekler

Hücre Morfolojileri

İzole edilen bakteriler LB agar besi ortamında 70 °C’de 48 saat süre ile inkübe edilmişlerdir. Bu süre sonunda izolatların oluşturduğu hücreler mikroskop altında incelenerek hücre morfolojileri tespit edilmiştir. (Jampaphaeng *et al.* 2017).

Endospor Oluşumları

Endospor elverişsiz yaşam şartlarında bakterilerin yaşamda kalmalarını sağlamak amaçlı oluşturdukları bir yapıdır. Bir gece LB besiyerindeki kültürden saf koloni alınarak lam üzerine yayılarak alevden geçirilerek fikse edildi. Hazırlanan preperat 5 dk boyunca karbon fuksin ile boyandı. Daha sonra yıkanan preperatlar 10 sn boyunca %10’luk nitrik

asitle muamele edildikten sonra 2 dk boyunca metilen mavisi ile boyandı ve mikroskop ile incelendi.

Gram Boyama

İzole edilen bakterilerin gram özelliklerini tespit etmek amacıyla izolatlar LB besi ortamında geliştirilmiş ve lam üzerine alınarak fikse edilmiştir (Yang *et al.* 1995). Fikse edilen örnek ilk aşamada kristal viyole boyasında 1 dk boyunca muamele edilmiş ve bu sürenin ardından distile su ile yıkanmıştır. Böylelikle kristal viyole, ortamda bulunan tüm hücrelerin mor renge boyanmasını sağlamıştır. Akabinde lügol çözeltisi ile örnekler 1 dk kadar muamele edilerek, % 96'lık etil alkol ile yıkanmıştır. Bu aşamalardan sonra hücre duvarları yapılarından dolayı lam üzerinde bulunan ve gram negatif özelliğe sahip bakteriler rengini kaybederken, gram pozitif bakteriler ise mor renkte görülmüşlerdir. Son olarak distile su ile yıkanan örnekler yaklaşık 15 sn. kadar safranin boyasıyla muamele edilip, distile su ile tekrar yıkanarak preparatlar kurumaya bırakılmıştır. İmmersiyon yağı yardımı ile preparatlar mikroskopta incelenmiş, inceleme sonucunda gram pozitif bakterilerin mor renkte, gram negatif bakterilerin ise pembe renkte olduğu gözlenmiştir (Bernard *et al.* 2017).

3.2.5.2. Moleküler Tanılama

Bakterilerden DNA İzolasyonu

Bakterilerden genomik DNA izolasyonu için izlenen protokol aşağıda verilmiştir.

1) Bakteri izolatları 5 mL NB besi yeri içeren ortama alınarak 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra besiyerinden ependorflara 1.5 mL kadar alınmış ve 7000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Üst kısım sıvısı atılmış ve hücre peletinin üzerine; 200µl dH₂O, 50µl 0,5M EDTA, 10µl % 20 sarkosyl, 10µl proteinaz K (10mg/ml), 10µl 1M Tris- HCl (pH:8) ve 5µl 5M NaCl eklenerek karışım 5 dk. boyunca vortekslenmiştir.

- 2) Örnekler 30 dk. boyunca 65°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir. Süreç boyunca örnekler her 10 dakikada bir vortekslenmiştir.
- 3) Örneklerle aynı hacimde olacak şekilde fenol: kloroform: izoamilalkol (25: 24: 1) eklenmiş ve hafifçe ters/düz edilmiştir.
- 4) 13000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüj yapılmış ve süpernatant kısım pipet yardımı ile alınarak yeni ependorf tüpüne aktarılmıştır.
- 5) Fenol: kloroform: izoamilalkol (25: 24: 1) işlemi 3 defa yukarıda belirtildiği şekilde yapılmıştır. Her basamakta santrifüj sonunda elde edilen ürünlerden süpernatant kısmı alınmış ve yeni ependorf tüpüne aktarılmıştır.
- 6) Yeni ependorfa alınan süpernatant hacminin 1/10'u kadar 3M NaOAc ve hacminin 2 katı kadar absolüt etanol eklenip -20°C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır.
- 7) Süre bitiminde örneklere 13000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj yapılarak süpernatant uzaklaştırılmış ve pelet kurutulmuştur. Kurutulan pelet 200µl dH₂O eklenip pelet çözündürülerek, çözülmüş olan peletin üstüne 1/10 hacminde 0,3M NaOAc ve 440µl etanol eklenmiş ve örnekler -20°C'de 1 gece inkübe edilmiştir.
- 8) Süre bitiminde örnekler 13000 rpm'de 10 dk. boyunca santrifüj edilerek süpernatant kısmı tüpten uzaklaştırılmış ve pelet kurumaya bırakılmıştır.
- 9) Kurutulan pelet 100 µL dH₂O ile çözündürülerek % 0.8'lik agaroz jelde yürütüldü. Aynı zamanda DNA'nın kalitesi ve saflığını tespit amacıyla spektrofotometrik ölçümler dalga boyu 260 ve 280 nm olacak şekilde nanodrop'ta gerçekleştirildi. Ölçümlerde kör olarak peletlerin çözündürüldüğü tampon kullanılarak bakteri izolatlarının nanodrop sonuçları kayıt altına alındı (Ozic 2012).

16S rRNA PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Reaksiyon Koşulları ve Amplifikasyonu

Bakteri izolatlarının 16S rRNA bölgelerinin amplifikasyonu için gerekli olan tüm PCR temel bileşenleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Çalışılacak örnek sayısı kadar bileşenlerin yoğunluğu ve miktarları hazırlanarak hazırlanan bu karışımlar PCR tüplerine aktarılmış ve Çizelge 3.2’ de verilen reaksiyon koşulları dikkate alınarak örnekler amplifiye edilmiştir. PCR sonrası elde edilen ürünlerin DNA konsantrasyonları ölçülerek kayıt altına alınmıştır. (Baltacı vd 2016).

Çizelge 3.1 PCR Temel Bileşenleri

Bileşenler	Bileşen Miktarları
Taq Polimeraz (5U/μL)	0,25 μL
10x Buffer PCR	2,5 μL
MgCl ₂ (25 mM)	2 μL
Primer 27 F (25pmol/ μL)	2,5 μL
Primer 1385 R (25pmol/ μL)	2,5 μL
DNA (Genomik)	1 μL
dNTP (25mM)	1,5 μL
Distile Su	12,75 μL

Çizelge 3.2 PCR Reaksiyon Koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü
94 °C	5 dakika	40 Döngü
94 °C	1dakika	
55 °C	1dakika	
72 °C	1dakika	
72 °C	5 dakika	
4 °C	∞	

16S rRNA PCR ürünlerinin Klonlanması

Kompetent Hücre

PCR ampliconları taşıyıcı vektörlere ve ardından *E. coli*'ye aktarılmıştır. Çalışmamızda daha önceden stoklanmış hazır *E.coli* DH5- α kompetent hücre stokları kullanılmıştır.

PCR ürününün plazmite ligasyonu

PCR ürününün taşıyıcı plazmite eklemesi T-A klonlanması (plazmitdeki T nükleotid ile Taq polimeraz tarafından PCR ürününün uçlarına eklenen A nükleotidin birleştirilmesi) temeline dayandırılmıştır.

PCR ürünlerine A ekleme reaksiyonu: 1 μ l 10X tampon, 1 μ l 25 mM MgCl₂, 0,5 μ l 2.5 μ M dATP, 6.5 μ l PCR ürünü, 1 μ l Taq DNA Polimeraz ile hazırlanan karışım 70°C 'de 30 dk. bekletilmiş ve sonra PCR ürünü ligasyona alınmıştır.

Ligasyon: Klonlama reaksiyonlarında genel olarak pGEMTEasy (Promega) vektörü kullanılmıştır. Vektörler ilgili firmadan temin edilmiştir. Ligasyon, plazmit içeriğinde bulunan T nükleotitleri ile PCR ile ürün amplifikasyonu yapıldığında Taq polimeraz enziminin ürünün uçlarına eklediği A nükleotidinin bir araya gelmesi ile T-A klonlanması olayı temeline dayanmaktadır. Hazırlanan karışım 70°C 'de 30 dk. inkübe edildikten sonra PCR ürünü ligasyon için hazırlanmıştır.

Transformasyon: Daha önceden stoklanmış ve -80°C' de muhafaza edilen kompetent hücreler çıkarılmış ve buz üzerinde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir. Ligasyon aşamasında elde edilen ürün daha önceden temin edilmiş olan kompetent hücrenin üzerine aktarılmış ve buz üzerinde yaklaşık 30 dk. boyunca bekletilmiştir. Bu süre zarfı sonucunda buz üzerinden alınan örnekler 42 °C'ye ayarlanan ısı bloğuna 1 dk. ısı şokuna bırakılmıştır. Süre sonunda ısı bloğu üzerinden alınan örnekler tekrar buz üzerine alınmış ve buzda 3 dk. bekletilmiştir. Süre sonunda üzerine 500 μ L LB eklenmiş ve 37 °C'de 35 dk. inkübe edilmiştir. İnkübe edilen örnekler 10000 rpm'de 2 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Besiyerlerinin ekimi yapılacağı petriler 40'ar μ L X-Gal ile muamele edilmiştir. Tüp

içerisinde süpernatanttan 50 µL kalacak şekilde süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelet 50 µL içerisinde çözölmüş, sonra LB-agar-ampisilin - XGal plate yüzeyine dağıtılmış ve bir gece 37 °C’de inkübe edilmiştir. Yapılan bu transformasyon basamağından sonra oluşacak olan mavi-beyaz kolonilerden beyaz renkli olan koloniler seçilerek alınmıştır. Aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak, önceden hazırlanmış olan 40 µL X-Gal içeren LB Agar Amfisilin (100 µg/µL) petrilere çizgi ekimleri yapılmıştır. İşlemden artı kalan öze uçlarındaki amfisilinli kısım 100 ml sıvı besiyeri içeren erlenlere alınmıştır. X-Gal içeren LB Agar amfisilin petrilere ve LB besiyerleri 37 °C’de bir gece inkübe edilmiştir.

Plazmid İzolasyonu: Plazmid izolasyonu için izole edilen beyaz kolonilerden plazmid izolasyonu yapmadan önce koloniler 1 gece boyunca 120 rpm’de 37°C’de ampisilin (100 µg/µL) içeren LB agar besiyeri yerinde büyütölmüştür. Daha sonra besiyerleri falkon tüplerine transfer edilmiş ve 8000 rpm’de 5 dk. santrifüje tabi tutulmuştur. Elde edilen süpernatant uzaklaştırılarak tüplerine pH’ı 8.0 olan 1000 µL 50 mM Tris-HCl ilave edilmiştir. Vorteks yardımı ile elde edilen peletler çözöndürölmüş ve ependorf tüplerine transfer edilmişlerdir ve bu aşamadan sonra 1 dk. boyunca 8000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Bakteri peletinin parçalanmasında ise 150 µL Lizozim-Tris ve pH’ı 8.0 olan 20 µL 0.5 M EDTA karıştırılarak pelet üzerine aktarılmış ve pelet solösyon çözöndürölmüştür. Çözöndürölen pelet 30 dk. boyunca buz üzerinde inkübe edilmiştir. Plazmit DNA’sının çöktürölmesi aşamasında ise her bir tüpe 400 µL 0.2 M NaOH ve 1:1 oranında % 1’lik SDS eklenmiş ve 5 dk. buzda inkübe edilmiştir. Bu süreç zarfı sonunda pelete 300 µL 7.5 M amonyum asetat eklenmiştir. Tüpler nazikçe ters düz edilmiştir ve 10 dk. boyunca buzda inkübe edilmiştir. Bu aşamadan sonra çöken plazmitin saflaştırılması için süre sonunda tüpler buzdan alınarak 8000 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı yeni ependorflara aktarılmıştır. Fenol-kloroform uygulama aşamasında süpernatantın üzerine 800 µL fenol: kloroform: izoamilalkol (25: 24: 1) eklenmiştir. Çalkalamalı tabla üzerinde 5 dakika karıştırılmış ve tüpler 8000 rpm’de 2 dk santrifüj yapılmıştır. Oluşan üç fazdan plazmit içeren en üst faz yeni bir ependorfa alınmış ve üzerine hacminin 0.6 katı kadar 2-Propanol ilave edilmiştir. Nazikçe karıştırılmış ve 15 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra 8000 rpm’de 10 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatant uzaklaştırılmış ve pelette kalan sıvının kuruması sağlanmıştır. Kurutulan pelet üzerine 200 µL 0.3 M NaOAc eklenmiş ve çözöndürölmüştür. Tüpe 400 µL absolut etanol ilave edilmiş ve -20 °C’de gece boyunca

inkübasyonu sağlanmıştır. Daha sonra 8000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant uzaklaştırılmış ve pelet kurumaya bırakılmıştır. Pelet üzerine 30 µL TE ilave edilmiş ve -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

Çalışmada bakteriler için spesifik olan ve evrensel olarak kabul edilen primerler [Primer 1: 27 F (5’-GAG TTT GAT CCT GGC TCA-3’) ve Primer 2: (1385R) (5’-CGGTGTGT[A/G]CAAGGCCC-3’)] kullanılmıştır. Primerler kullanılarak amplifiye edilen PCR ürünlerinin 5µL’ si % 1’lik agaroz jelde yürütülerek 16s rRNA bölgelerinin elde edilip edilmediği yani istenilen bölgenin çoğaltılıp çoğaltılamadığı doğrulanmıştır. (Yanmis ve Adiguzel 2014).

% 1’lik agaroz jel hazırlamak için 22 gram agaroz 220 ml 1xTAE solüsyona eklenerek mikrodalga fırında homojen bir şekilde çözülmesi sağlanmış, homojen karışım yaklaşık olarak 45 °C ile 50 °C arasına kadar soğumaya bırakılıp ve son konsantrasyonu 0,3 µL/mL olacak şekilde 8 µL Etidyum Bromür eklenmiş, daha sonra agaroz jel kasete yüklenerek 35- 60 dakika boyunca donması için bekletilmiş daha sonra taraklar çıkarılmış ve jel, 1x TAE buffer bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

Bakteri İzolatlarının Dizi Analizi

Klonlaması yapılan örneklerin PCR ürünleri hizmet alımı ile sekans analizine gönderilmiş, buradan elde edilen veriler (sekans dizi sonuçları) National Center for Biotechnology Information (NCBI) üzerinden BLAST edilerek hangi türe veya türlere yakınlık gösterdiği belirlenmiştir. Sekans analiz sonuçları EMBL, GenBank, DDBJ Basic Local Alignment Search Tools (BLAST) programı ile karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir (Altschul *et al.* 1990).

3.2.6. İzolatların Total Ksilanaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının enzim aktivitelerinin belirlenmesi amacı ile sıvı besi yerinde geliştirilen kültürlerden 1,5 mL ependorf tüplerine alınarak 12000 rpm’de 5 dk. boyunca santrifüj edilmişlerdir. Santrifüj sonunda ependorf tüplerinin süpernatant kısmından 0.5 ml’lik kısmı alınarak, aynı oranda % 1’lik ksilan çözeltisiyle Hungate tüpünde

kariştırılmıştır. Daha sonra 1 saat boyunca 65 °C’de bekletilmiştir. Surenin bitiminde Hungate tüpünün üzerine 1’er ml DNS  z ltisi eklenerek reaksiyon işleminin durdurulması sağlanmıştır. Daha sonra 5 dk. boyunca sıcak su banyosunda tutulmuş ve üzerlerine 5 ml kadar dH₂O ilave edilmiştir. Distile su ilave edilen tüpler ters düz edilerek kariştırılmış ve akabinde spektrofotometrik ölçüm yapan nanodrop cihazı ile 540 nm dalga boyunda O.D. yoğunlukları ölçülmüştür. Aktivitesi yüksek olan bakterilerden ksilanaz enzimi rekombinant olarak üretilmiştir.

3.2.7. Rekombinant Ksilanaz  retilmesi

3.2.7.1. Biyoinformatik Analizler

Çalışma kapsamında klonlanarak rekombinant protein olarak üretilcek 1,4- -endo ksilanaz geninin çeşitli *Bacillus* türlerinin genomunda belirlenmesi, belirlenen aday genin diğer organizmalardaki genler ile benzerliklerinin ortaya konması, *E. coli*’de heterolog protein ekspresyonunun gerçekleştirilmesi amacıyla yapılan klonlama çalışmalarında kullanılacak primer DNA dizilerinin belirlenebilmesi için NCBI Genbank gibi veri tabanları ile BLAST, ClustalW, WebCutter gibi çeşitli temel biyoinformatik araçlardan yararlanılmıştır.

Aday genlerin tayini için 1,4- -endo ksilanaz enziminin rekombinant olarak üretilmesi amaçlandığından, *Bacillus* türleri seçilmiştir. Organizmanın genomunda yer alan 1,4- -endo ksilanaz enzimini kodlayan protein ve DNA dizilerine NCBI veri tabanından ulaşılmıştır.

Primer dizilerin tasarımı; belirlenen aday genin PCR ile çoğaltılması amacıyla kullanılan primer DNA’ların tasarımı için;

- i) İlk olarak aday gen dizileri Webcutter ile restriksiyon kesim analizine alınmış ve gen bölgesini kesmeyen restriksiyon enzimleri belirlenmiştir.
- ii) Sonrasında bu enzimlerden pET 16b vektörünün çoklu klonlama bölgesinde bulunanlar primer dizilere eklenerek primer dizilerin tasarımı gerçekleştirilmiştir.

Tasarlanan primerler BLAST ile analiz edilmişlerdir. PCR reaksiyonlarında kullanılan primer DNA dizileri Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 Aday genlerin PCR amplifikasyonunda kullanılan primer DNA dizileri

Gen	Primer Adı	Primer DNA dizisi	Restriksiyon Enzimi	Bç. Uzunluğu	Tm
1,4-β- endo ksilana z	F- Ksilanaz	GTCGAGATGAAA AAATTACTTGGT GTCTTA	SalI	27	57°C
	R- Ksilanaz	AAGCTTTCAAAC AAGGAAAATATC TCCAAA	HindIII	28	61°C

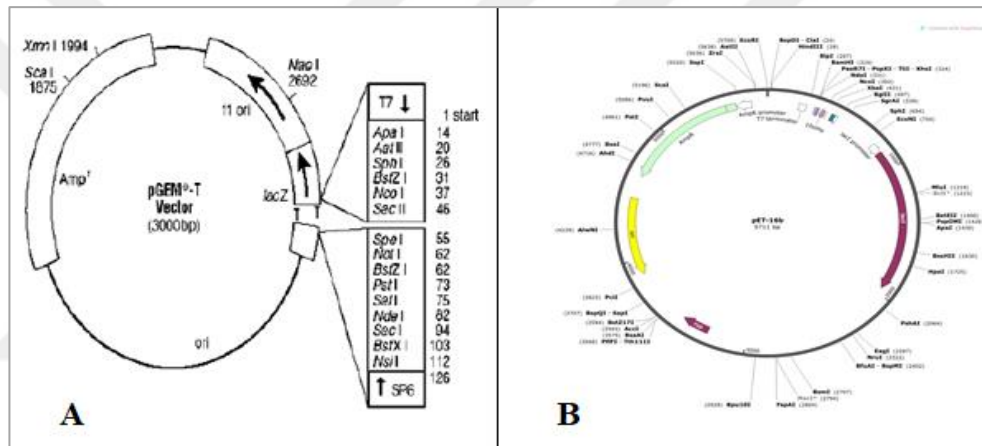
* sarı ile gösterilen kısımlar restriksiyon tanıma bölgelerini göstermektedir.

3.2.7.2. 1,4-β-endo Ksilanaz Proteinlerine Ait Genlerin Klonlanması

Çizelge 3.3.'de belirlenmiş olan genler PCR ile amplifiye edilerek PCR ampliconları taşıyıcı vektörlere ve ardından *E. coli*'ye aktarılmıştır. Bu amaçla ilk olarak genomik DNA izolasyonu Chong (2001)'dan alınan metoda göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA kalıp olarak kullanılarak aday genlerin amplifikasyonu yukarıda belirtilen primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri % 1'lik agaroz jelde analiz edilmiş ve ilgili genlere ait istenen büyüklükteki DNA bantları jelden kesilip saflaştırılmıştır. Elde edilen ampliconlar TA klonlama ile pGEMT-Easy vektörüne ve ardından *E. coli* DH5-α konakçısına ısı şoku ile aktarılmıştır. Belirlenen pozitif klonlardan saflaştırılan plazmit DNA'lar XbaI ve KpnI enzimleri ve primer DNA'lar üzerinde tanıma dizileri bulunan uygun restriksiyon enzimleri ile kesim reaksiyonuna alınmış ve saflaştırılmıştır. Restriksiyon analizi sonucunda belirlenen plazmit DNA'lar dizi analizi ile kontrol edilmiş ve pozitif klonlar belirlenmiştir. Dizi analizi işlemi hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan Vektörler

Bacillus türlerinden 1,4- β -endo ksilanaz geninin klonlanması amacı ile pGEMT-Easy vektörü (Promega), rekombinant protein ifadesi için ise pET 16b vektörü (Qiagen) kullanılmıştır (Şekil 3.3). pGEMT-Easy vektörünün klonlama bölgesine sarkık timin bazları oturtulmuş ve plazmitde bulunan 3' uçlarındaki fosfatlar çıkartılmıştır. Buradaki amaç plazmitin ligasyon aşamasında halkasal yapı alması engellenerek klonlama olasılığının artırılmasıdır. Klonlama bölgesi plazmit üzerinde β -galaktosidaz enzimini üreten lac-Z geni içerisine yerleştirilmiştir. Bu sonuçla pozitif klonların seçilmesi ve kolonilerdeki mavi-beyaz seleksiyon seçimi bu farklılığa göre yapılmıştır (Ozic 2012).



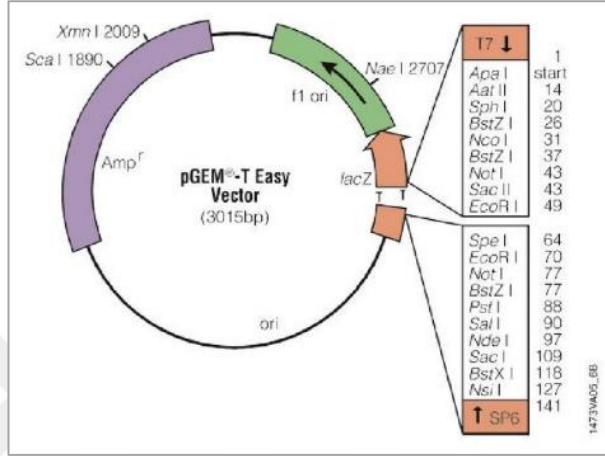
Şekil 3.3 Çalışmada kullanılan vektörler, A: pGEMT-Easy Vektörü (Promega); B: pET 16b Vektörü (Novagen)

PCR Reaksiyonu Sonucu Oluşan Ürünün Ligasyonu

Ligasyon, plazmit içeriğinde bulunan Timin (T) nükleotitleri ile PCR ile ürün amplifikasyonu yapıldığında Taq polimeraz enziminin ürünün uçlarına eklediği Adenin (A) nükleotidinin bir araya gelmesi ile T-A klonlanması olayı temeline dayanmaktadır. PCR ürünlerine A ekleme reaksiyonu: 1 µL 10x tampon, 1 µL 25 mM MgCl₂, 0,5 µL 2.5 µM dATP, 6.5 µL PCR ürünü, 1 µL Taq DNA Polimeraz ile hazırlanan karışım 70°C 'de 30 dk. inkübe edildikten sonra PCR ürünü ligasyon için hazırlanmıştır. Ligasyon aşamasında belirtildiği gibi pGEMT Easy vektörü kullanılmıştır (Şekil 3.4). Bu vektörler projeler ile hizmet alımı şeklinde elde edilmişlerdir. Ligasyon için gerekli olan bileşenler,

miktarları ve insert oranı firma tarafından gönderilen uygun protokole göre uygulanmıştır.

Reaksiyonda; 2x Rapid Ligation Bufer 5 µL, pGEM-T Easy Vektör 1 µL, İnsert X µL, T4 DNA Ligaz (5u/µL) 1 µL, Deiyonize su 10µL'ye tamamlanmıştır. Reaksiyonun tamamlanma süresi ve ortam sıcaklığı, 16 °C'de 24 saattir (Ozic 2012).



Şekil 3.4 pGEM-T Easy Vektör Sistemi

***E. coli* (Kompetent) Suşlarının Tranformasyonu**

-80°C' de muhafaza edilen kompetent hücreler çıkarılmış ve buz üzerinde yaklaşık 5 dk. bekletilmiştir. Ligasyon aşamasında elde edilen ürün daha önceden temin edilmiş olan kompetent hücrenin üzerine aktarılmış ve buz üzerinde yaklaşık 30 dk. boyunca bekletilmiştir. Bu süre zarfı sonucunda buz üzerinden alınan örnekler 42 °C'ye ayarlanan ısı bloğuna 1 dk.ısı şokuna bırakılmıştır. Süre sonunda ısı bloğuna alınan örnekler tekrar buz üzerine alınmış ve buzda 3 dk. bekletilmiştir. Süre sonunda üzerine 500 µL LB eklenmiş ve 37 °C'de 35 dk. inkübe edilmiştir. Süre sonunda 10000 rpm'de 2 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Besiyerlerinin ekimi yapılacağı petriler 40'ar µL X-Gal ile muamele edilmiştir. Tüp içerisinde süpernatanttan 50 µL kalacak şekilde süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelet 50 µL içerisinde çözülmüş, sonra LB-agar-ampisilin - XGal içeren besi ortamına alınmış ve bir gece 37 °C'de inkübe edilmiştir. Yapılan bu transformasyon basamağından sonra oluşacak olan mavi-beyaz kolonilerden beyaz renkli olan koloniler seçilerek alınmıştır. Aseptik koşullar altında öze yardımıyla alınarak, önceden hazırlanmış olan 40 µL X-Gal içeren LB Agar Amfisilin (100 µg/µL) petrilerine

izgi ekimleri yapılmıştır. İşlemde arta kalan ze uçlarındaki amfisilinli 100 ml sıvı besiyeri içeren erlenlere alınmıştır. X-Gal içeren LB Agar amfisilin petrileri ve LB besiyerleri 37  C’de bir gece inkübe edilmiştir (Ozic 2012).

Plazmid İzolasyonu

Elde edilen beyaz kolonilerden plazmit izolasyonu yapmadan önce koloniler 1 gece boyunca 120 rpm’de 37 C’de ampisilin (100  g/ L) içeren LB agar besi yerinde bytlmştr. Daha sonra besiyerleri falkon tüplerine transfer edilmiş ve 8000 rpm’de 5 dk. santrifüje tabi tutulmuştur. Elde edilen süpernatant uzaklaştırılmıştır üzerlerine pH’ı 8.0 olan 1000  L 50 mM Tris-HCl ilave edilmiştir. Vorteks yardımı ile elde edilen peletler zndrlmş ve ependorf tüplerine transfer edilerek 1 dk. boyunca 8000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Bakteri peletinin parçalanmasında ise 150  L Lizozim-Tris ve pH’ı 8.0 olan 20  L 0.5 M EDTA karıştırılarak pelet üzerine aktarılmış ve pelet solüsyonda zndrlmştr. zndrlen pelet 30 dk. boyunca buz üzerinde inkübe edilmiştir. Plazmit DNA’sının ktrlmesi aşamasında ise her bir tüpe 400  L 0.2 M NaOH ve 1:1 oranında % 1’lik SDS eklenmiş ve 5 dk. buzda inkübe edilmiştir. Bu süreç zarfı sonunda pelete 300  L 7.5 M amonyum asetat eklenmiştir. Tüpler nazikçe ters düz edilerek 10 dk. boyunca buzda inkübe edilmiştir. Bu aşamadan sonra çöken plazmitin saflaştırılması için süre sonunda tüpler buzdan alınarak 8000 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı yeni ependorflara aktarılmıştır. Fenol-kloroform uygulama aşamasında süpernatantın üzerine 800  L fenol: kloroform: izoamilalkol (25: 24: 1) eklenmiştir. Çalkalamalı tabla üzerinde 5 dakika karıştırılan tüpler 8000 rpm’de 2 dk santrifüj yapılmıştır. Oluşan üç fazdan plazmit içeren en st faz yeni bir ependorfa alınmış ve üzerine hacminin 0.6 katı kadar 2-Propanol ilave edilmiştir. Nazikçe karıştırılan tüpler 15 dk. oda sıcaklığında inkübe edilerek 8000 rpm’de 10 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatant uzaklaştırılarak kurutulan pelet üzerine 200  L 0.3 M NaOAc eklenmiş ve zndrlmştr. Tüpe 400  L absolut etanol ilave edilmiş ve -20  C’de gece boyunca inkübasyonu sağlanmıştır. Daha sonra 8000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant uzaklaştırılmış ve pelet kurumaya bırakılmıştır. Pelet zerine 30  L TE ilave edilmiş ve -20  C’de muhafaza edilmiştir (Ozic 2012).

Plazmitin Restriksiyon Enzimleriyle Kesimi

Plazmitlerin istenilen DNA bölgesini içerip içermediğinin kontrolü için bu bölgeye özel restriksiyon enzimleriyle (XbaI ve KpnI) kesimi sağlanmıştır. Kullanılan kesim reaksiyonu; 1 µL (Fermentas XbaI ve KpnI 10,000 u/ml) enzimi, 1 µL 10X enzim tamponu, 1 µL Plazmit (1.380 ng/µL) ve 7 µL H₂O'dan meydana gelmektedir. Karışımı hazırlanan reaksiyon tüpü 37 °C'de 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kesime uğrayan ve içinde klonlanmış DNA parçası içerenler “pozitif koloni” olarak tanımlanmıştır (Ozic 2012).

PCR Ürünlerinin Jelden Saflaştırılması

Jelde yürütülen örneğe ait ürünün oluşturduğu bant büyüklüğü uygun marker yardımı ile tespit edilmiştir. Beklenen marker büyüklüğündeki bant, UV ışık altında jelden dikkatlice kesilerek alınmış ve Invitrogen PureLink Quick Gel Extraction Kit protokolü uygulanarak saflaştırma işlemi yapılmıştır.

3.2.7.3. 1,4-β-endo Ksilanaz Enzimine Ait Proteininin *E. coli*'de Heterolog Protein Olarak Üretilmesi, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu

Çalışmada elde edilen pozitif klonlarda enzimlerin üretilmesi, saflaştırılmaları ve enzimatik karakterizasyonları yapılmıştır. Moleküler klonlama işlemleri sonucunda elde edilen pozitif klonlardan enzimlerin saflaştırılması için klonlar amfisilin (0,1 mg/ml) içeren LB ortamında 37 °C'de OD₆₀₀ değeri 0,6-0,8 değerine gelinceye kadar inkübe edilmiş ve ardından IPTG ile indüklenerek (yaklaşık 3 saat) proteinin aşırı şekilde ifade edilmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrasında hücrelerden toplam protein izolasyonu ve bunu takiben de Nikel afinitesi ile 6X-His takısına sahip rekombinant proteinlerin saflaştırılması gerçekleştirilmiştir. Histidin takısına sahip rekombinant proteinlerin saflaştırılmasında yüksek miktarda ve yüksek saflıkta ürün elde edilebildiği için Nikel afinitesi ile saflaştırma tercih edilmiştir (Steinert *et al.* 1997). Saflaştırma sonrasında elde edilen proteinlerin başarılı bir şekilde ifade edilip edilmedikleri ve saflaştırılan proteinin moleküler ağırlığı SDS-PAGE ile analiz edilmiştir. Ayrıca Western blot tekniği

kullanılarak saflaştırılan proteinin histidin takısına sahip olup olmadığı Anti-His antikoruna ile teyit edilmiştir.

Ksilanazın *E. coli*'de Rekombinant Olarak Üretilmesi ve Saflaştırılması

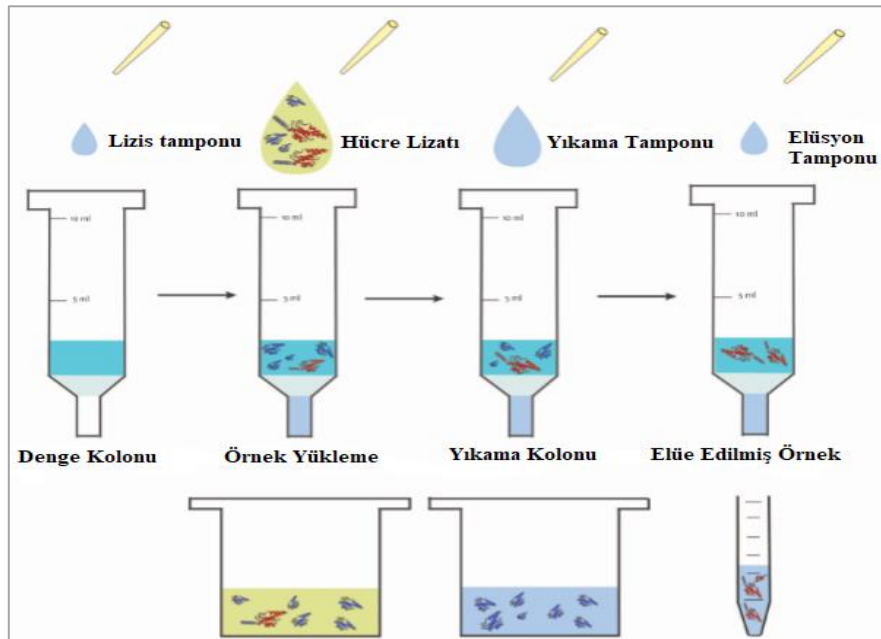
Rekombinant proteinin üretilmesi aşaması ksilanazın ekspresyon plazmitine aktarılması, proteinin izolasyonu, saflaştırma ve SDS Page aşamalarından oluşmaktadır. Rekombinant proteinlerin ifadesi amacıyla kullanılan pET 16b vektörü *E. coli*'de yüksek miktarda protein ifadesi için oluşturulmuş bir vektördür. Vektör yapısında yüksek transkripsiyon için sentetik bir ribozom bağlama bölgesi yer almaktadır. Ayrıca vektör üretilen rekombinant proteinlerin saflaştırılması amacıyla N terminalde altı adet histidin artığına, birçok restriksiyon enziminin tanıma dizilerinin yer aldığı çoklu klonlama bölgesine ve amfisilin direnç bölgesine sahiptir.

Protein İzolasyonu Aşaması

Elde edilen beyaz kolonilerden yani pozitif kolonilerden 10 ml'lik kültür amfisilinli LB besiyeri yerine aktarılmış ve 16 saat boyunca inkübe edilmiştir, bu sürenin sonunda 0.1 M IPTG (izopropil- beta- D- tiogalaktopiranosit) 100 µL eklenmiş ve 3 saatlik süreç boyunca saat başı hücreler alınmıştır. Alınan hücreler 6000 rpm'de 15 dk. boyunca santrifüj edilmiş ve 1 ml TES (100 mM Tris HCL pH: 7.5, 100 mM EDTA ve 100 mM NaCl ile 50 ml) ile yıkanmışlardır. Daha sonra aynı santrifüj koşullarında tekrar peletlenmiş ve 180 µL TES ile çözündürülmüştür. Bu örneklerle 10 mg/ml lizozimden 0.02 gr lizozim ve 50 mM TrisHCL ve pH:8 ile çözündürülüp distile su eklenerek 2 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra 2 µL ve 10 µL deterjan kokteyli 150 µL Tween 20 ile 150 µL Triton x100 eklenmiş ve 20 dk. buz üzerinde inkübe olması sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası 50 µL 50 mM Tris HCL, 0.8 µL Endonükleaz ve 1.5 µL 1 M MgCl₂ eklenip 20 dk. oda koşullarında bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra iki kez tekrarlı olmak kaydıyla, - 80°C'de 20 dk. tutulan karışım oda koşullarında bekletilmiştir. Elde edilen karışım soğutmalı santrifüjde +4 °C'de yaklaşık 12000 rpm'de 15 dk. boyunca santrifüj edilip süpernatant kısmı farklı bir ependorfa alınıp saflaştırma işlemine geçilmiştir.

Saflaştırma Aşaması

Saflaştırma aşamasında ksilanazı tanıyan ve tutan saflaştırma boncuğu kullanılmıştır. Bu boncuk Ni-NTA agarose (QIAGEN Kat. no: 30230) Histidin affinitesine yakınlık göstererek bunları tutan boncuklardır (Şekil 3.6). Bu boncuklar pET16b içinde 6X His'lere affinite duymaktadır. Ni-NTA agarose'dan 120 µL alınıp soğutmalı santrifüjde +4°C'de 3,000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüje tabi tutulmuştur. Ni-NTA agarozları kitle belirtildiği gibi Buffer C; 8 M urea, 100 mM NaH₂PO₄ ve 10 mM Tris HCl ile pH:6.3 olacak şekilde 1.000 ml tamamlanır. Daha sonra 3 dk. boyunca karıştırıcı tabla üzerinde karıştırıldıktan sonra 3,000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Bu işlem 3 defa tekrarlanmıştır. Protein süpernatantları Ni-NTA agarose boncukları ile karıştırıldıktan sonra gece boyunca +4 °C'de karıştırıcı tabla üzerinde bekletilmiştir. Bu sürecin ardından örnekler +4 °C'de 3,000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen pelet 500 µL Buffer C (Ni-NTA için) ve 1X PBS ile yıkanmış, 3 dk. boyunca karıştırıcı üzerinde çalkalandıktan sonra 3,000 rpm'de 5 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Bu işlem 5 defa tekrarlanmıştır. Son santrifüj ile birlikte süpernatant atıldıktan sonra 100 µL Leamli buffer (250 µL 0.5 M Tris HCl (pH:6.8), 200 µL % 20 SDS, 200 µL Gliserol, 100 µL β-merkaptoetanol, az miktarda Bromfenol blue eklenmiş ve dH₂O ile 1 ml'ye tamamlanır) eklenmiş ve 10 dk. boyunca kaynatılmıştır. Bu aşamadan sonra örneklerden 10 µL SDS-Page jeline yüklenmiştir (Ozic 2012).



Şekil 3.4 Ni-NTA Agarose Boncuk Sistemi (Chao *et al.* 2017), Anonim 2017

SDS Page Aşaması

SDS Page de kullanılan jel sistemi Bio-RAD firması tarafından temin edilmiştir. Biyoteknolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılan SDS-PAGE proteinlerin molekül ağırlıklarını belirlemek amacı ile kullanılan jel elektroforezidir. Deterjan türevi olan sodyum dodesil sülfat (SDS) proteinlerin yapısının bozulmasını sağlar. Yürütme tamponu (Running buffer) ve ayırma tamponu olmak üzere iki farklı tampon kullanılmıştır. Yürütme tamponu; Hazırlanışı itibari ile % 10'luk hazırlanacak şekilde, 3.3 ml % 30 Bis-akrilamid, 2.5 ml 1.5 M Tris HCl (pH:6,8), 0.1 ml % 10 SDS, 4.1 ml dH₂O, 5 µL TEMED ve 50 µL amonyom persülfat ile hazırlanmıştır. Ayırma tamponu (Stacking buffer) ise; yine % 10'luk hazırlanacak şekilde 1.7 ml % 30 Bis-akrilamid, 2.5 ml 0.5 M Tris HCl (pH:6,8), 0.1 ml % 10 SDS, 5.7 ml dH₂O, 10 µL TEMED (N,N,N',N'-tetrametiletilediamin) ve 50 µL amonyom persülfat ile süspanse edilmiştir. Bu tamponlar aracılığı ile hazırlanan jelle örnekten 10 µL yüklenmiş ve 80 V'da 2 saat yürütülmüştür ve renkli özelliğe sahip olan Kaleidoscope prestained standards (Bio-RAD, Kat. no:161-0324) markırı kullanılmıştır.

Rekombinant Olarak Üretilen Ksilanazın Western Blot Analizi

Western blot; spesifik antikorlar ile jel elektroforezinin rezolüsyonunu bir araya getirerek kullanan analiz metodudur. Çalışmada üretilen proteinin doğru protein olup olmadığını ve miktarı tespit etmek amacıyla bu yöntem kullanılmıştır.

SDS-Page'e yüklenen jeller öncelikle yıkama tamponu (3 gr TrisHCL, 14.4 gr glisin, 200 ml methanol, dH₂O ile 1,000 ml tamamlanmıştır) içinde 30 dk. boyunca karıştırıcı üzerinde tutulmuştur. mA değerinin hesaplanmasında ise $\text{Alan} \times 0,8 = ?\text{mA}$ formülüne 24 mA'lık bir değer bulunmuştur. Çalışmada Sigma Proteo qwest kiti kullanılmıştır. Blotma işleminin ardından ise membranlar kit içeriğinde toz halinde olan ve 500 ml distile su ile hazırlanan TBST ile 1 dk. boyunca yıkanmış ve süre sonunda TBST süzülerek atılmıştır. Süzülen membran üzerine kit içerisinde bulunan bloker çözeltisi aktarılmış ve 30 dk. boyunca karıştırıcı üzerinde etkin temas olması için karıştırılmıştır. Ni-NTA kullanılarak saflaştırılan membran için anti-Histidin antikor (Mouse monoklonal antibody Anti-His6 (Roche, Kat. no: 135508)) ve 30 dk. boyunca

karıştırıcı üzerinde etkin temas olması için karıştırılmıştır. Süre sonunda TBST ile membranlar 1 dk. boyunca karıştırıcı üzerinde yıkanmış ve TBST süzülerek atılmış ve ikinci bloklama aşamasına geçilmiştir. Tekrar western bloker çözeltisi eklenmiş ve 30 dk boyunca karıştırıcıda bekletilmeden ikincil antikor (Anti-mouse IgG (Sigma, Kat.no: A5225) 1:1000 ile muamele edilmiştir. Bu membranlar süre sonunda 5'er dk. boyunca 5'er kez TBST tamponu ile yıkanmıştır. Uzaklaştırılan TBST'den sonra membranlar ikinci bir plastik boyama tankına aktarılmış ve üzerlerine 4-kloro-1-naftol eklenerek 15 dk boyunca bekletilmiştir. Bantlaşmalar belirginleşince tampondan alınmış, dH₂O ile yıkanarak, kurutulmuştur. Kurutulan membranlar UV fotometrede beyaz ışıktaki görüntülenmiştir.

3.2.7.4. ANADOLUCA Yöntemi ile Enzimin Kafeslenmesi

Say *et al.* (2015) tarafından patentlenen ANADOLUCA yöntemi; biyoteknoloji, genetik ve moleküler biyoloji gibi alanlarda elde edilen ürünlerin kararlılık ve etkinliğini geliştiren bir yöntem olup, oligomerlerin, enzimlerin, aminoasitlerin ve bunun gibi biyoteknolojik ürünlerin; rutenyum tabanlı, ışığa duyarlı, konjugasyonunu ve çapraz bağlanmasını kurgulayan bir yöntemdir. Bu yöntemde çeşitli yapıların etrafı rutenyum tabanlı aminoasit monomerleri ile kuşatarak çapraz bağlı yapılar sayesinde moleküllerin; aktiviteleri, kararlılıkları, duyarlılıkları ve yeniden kullanılabilirliklerinin artırılması sağlanmaktadır. Bu yöntem ile enzimin kuşaklanmasından sonra enzimin geniş pH, sıcaklık ve tekrar tekrar kullanımında aktivitesinin daha geniş ve etkin bir biçimde uzun soluklu kalması sağlanmaktadır (Say *et al.* 2015). Çalışmada 45 mL distile suda çözünen 0.5 gr PVA (Poly vinyl alkol), mikro emülsiyon sistem ile hazırlanmıştır. 20 µL ksilanaz enzimi 10 µL MATry-Ru (biyr)₂ – MATyr (Methacroyl Tyrosine- Metracroyl Tyrosine ruthenium (II) ile 20 dk. boyunca karıştırılarak üzerine hazırlanmış PVA (Poly Vinyl Alkol) çözeltisinden 15 mL eklenmiştir. Başlatma solüsyon 0.02 gr APS (Amonyun Persulfate) ve 45 mL distile su ile çözündürülmüş ve reaksiyon karışımından 5 mL eklenerek gün ışığında Nitrojenli azot atmosferi altında 48 saat boyunca karıştırılmıştır. Ksilanaz nanopartikülleri tepkime çözeltisinden 6000 rpm'de 10 dk. santrifüjlenerek ayrılmış ve reaksiyona girmeyen maddeler distile su ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır.

3.2.7.5. Ksilanaz Enziminin Aktivitesinin Tayini

Enzim Aktivite Tayinini Etkileyen Faktörlerin Ölçümü

a. pH Değerinin Aktiviteye Etkisi

Farklı pH aralıklarında ksilanaz enziminin aktivite testlerinin yapılması amacı ile çeşitli tamponlar kullanılmıştır. Enzimin pH 4.0 ile 5.5 arasındaki aktivitesinin tespiti için sitrat tamponu (0.2 M sitrik asit ve 0.2M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve distile su), pH 6.0 ile 8.0 arasındaki aktivitesinin tespiti için Sodyum-Fosfat tamponu (0.2M NaH_2PO_4 ile 0.2M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve distile su) kullanılmıştır. pH 8.5-10.0 arasındaki aktivitenin tespiti için de Glisin-NaOH tamponu (0.2M Glisin ile 0.2M NaOH ve distile su) kullanılmıştır. Hazırlanan her bir tampon içerisinde farklı pH değerlerinde enzimlerin aktivite ölçümleri hesaplanmıştır (Temizkan ve Arda, 2004).

b. Sıcaklık Seviyesinin Aktiviteye Etkisi

Elde edilen enzimin aktivitesi için uygun sıcaklık aralıklarının belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık değerlerinde (37 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C, ve 90 °C'lik aralıklarda) aktivite testleri yapılmıştır. 0.5 ml enzim ve aynı hacimde substrat karışımı enzim aktivite test metodu ile belirtilen sıcaklıklarda 1 saat inkübe edildikten sonra karışıma 1.5 ml DNS eklenip 5 dk. boyunca kaynar su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra 550 nm dalga boyunda O.D. değerleri belirlenmiştir.

c. Substrat Miktarının Aktiviteye Etkisi

Elde edilen enzimin substrat miktarına dayalı olarak aktivitesini tespit etmek için farklı yoğunluklarda hazırlanan ksilan (% 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0) ependorflara aktarılmış, uygun pH ve sıcaklık değerlerinde 1 saatlik aralıklarla enzim aktivitesi ölçülmüştür.

d. Metal İyonlarının Aktiviteye Etkisi

Metal iyonlarının aktiviteye etkisinin belirlenmesi amacı ile MgSO_4 , CuSO_4 , CaCl_2 , ZnSO_4 , ve FeSO_4^2 içeren çözeltiler kullanılmıştır. Uygun pH ve sıcaklık değerlerinde 5 mM, 0,01 mL metal iyonu çözeltisi 0.5 ml örnek ile muamele edilmiştir. 15 dk boyunca ön inkübasyona bırakılarak örnekler uygun substrat ilave edilmiş ve optimum sıcaklıkta 60 dk.inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 550 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiştir. (Aygan ve Arıkan, 2009).

V_{max} ve K_m Değerinin Hesaplanması

B. subtilis'ten elde edilen ve saflaştırılan rekombinant ve rekombinant nano ksilanaz enzimlerinin V_{max} ve K_m değerleri 5 farklı substrat yoğunluğuna karşı ölçülmüştür. Substratın farklı konsantrasyonlarında (% 0,5, % 1, % 1,5, % 2, % 2,5, % 3, % 3.5 ve % 4 ksilan) hazırlanan enzimler optimum pH ve sıcaklıkta (75 °C ve pH=7'de) inkübe edilerek 540 nm'de spektrofotometrik absorbans değerleri ölçülmüştür. Lineveawer-Burk grafikleri belirlenerek elde edilen veriler neticesinde K_m ve V_{max} değerleri hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Sıcak Su Kaynaklarının Kimyasal Analiz Sonuçları

Toplanan su örneklerinin kimyasal analizleri, pH, iletkenlik, NO₃, NH₄, NO₂, Fe, Al, Cu, Pb ve S rapor edilmiştir. Analiz sonuçları içilebilir su kaynakları ve genel kaplıcalardaki referans aralıkları ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Su örneklerinin kimyasal analizi (Aksoy *et al.* 2009) (İSKİ, Su Kalite Raporları)

Sıcak Su Kaynakları	pH	İletkenlik (mS/cm)	NO ₂ (mg/l)	NH ₄ (mg/l)	NO ₃ (mg/l)	Fe (mg/l)	Al (mg/l)	Cu (mg/l)	Pb (mg/l)	S (mg/l)
İçilebilir Değer Sınırları	6,5-9,5	<2500	<0,5	<0,5	45-50	<0,2	<0,2	<0,05	<0,01	<0,01
Genel Kaplıcalar	7,79	1,899	0,007	2,15	38,5	0,377	0,09	0,5	1,69	0,02
Pasinler	6,94	3,177	0,378	1,06	0	0,749	0	0	0,860	0,03
Dargeçit	6,90	1,782	0,613	2,39	2,5	>1,000	0,134	8,26	>1,000	0,039
Güçlükonak	7,90	1,146	0,375	>2,58	0	0,925	0,50	3,19	>1,000	0,027
Hısta	9,1	942,9	0,390	>2,58	0	1,099	0,4	1,81	>1,000	0,029
Hasanabdal	6,2	5,158	0,395	0,008	0	0,389	0,181	0	0,666	0,021
Davut	8,5	1,551	0,254	2,01	0	0,611	0,17	0	0,728	0,019
Köprü	7,4	2,254	0,273	0,79	0	0,817	0,23	0	0,454	0,017

4.2. Bakteri İzolatlarının Gelişim Sıcaklıkları

İzolatlar farklı sıcaklık (40 °C, 55 °C, 65 °C, 70 °C, 75 °C, 85 °C ve 90 °C) değerlerinde inkübe edilerek sonuçlar değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2). Çalışma kapsamında yüksek sıcaklığa adapte olan bakteri izolatları tercih nedeni olduğundan, bundan sonraki aşamalarda yüksek sıcaklık değerlerinde üreyebilme yeteneğine sahip izolatlar üzerinden çalışmalar devam ettirilmiştir.

Çizelge 4.2 Bakteri izolatlarının gelişim sıcaklık değerleri

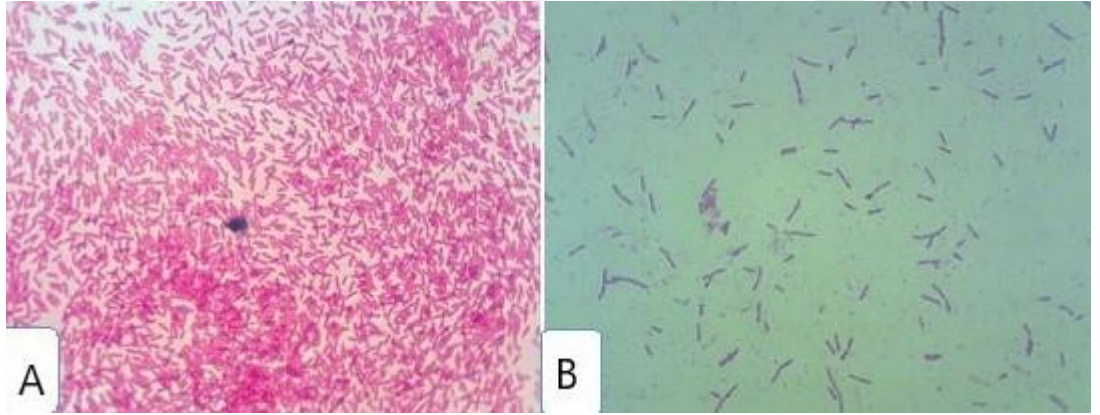
İzolatların Kodu	Sıcaklık Değerleri (°C)						
	40	55	65	70	75	85	90
BTX1,BTX2,BTX3 ,BTX4 ,BTX5 , BTX6 ,BTX7,BTX8, BTX9, BTX10, BTX11, BTX12,BTX13, BTX14, BTX15, BTX16, BTX17,BTX18, BTX19, BTX20, BTX21, BTX22,BTX23, BTX24, BTX25, BTX26, BTX27,BTX28, BTX29, BTX30, BTX31, BTX32, BTX33, BTX34, BTX35, BTX36,BTX51, BTX52, BTX53, BTX54, BTX55, BTX60, BTX61, BTX62, BTX63, BTX64, BTX65, BTX66, BTX67, BTX79, BTX80, BTX81, BTX82, BTX83	+	+	+	+	+	+	-
BTX37, BTX38, BTX39, BTX40,BTX41, BTX42,BTX43,BTX44,BTX45,BTX46, BTX47,BTX47,BTX49,BTX50,BTX58, BTX59,BTX68,BTX69,BTX70,BTX71, BTX72,BTX73,BTX74,BTX75,BTX76, BTX77,BTX78	+	+	+	+	+	-	-
BTX56,BTX57	+	+	+	+	-	-	-

4.3. Bakterileri İzolatlarının Tanısı

4.3.1. Morfolojik Tanılama

İzole edilen bakteri izolatları saf kültür olarak geliştirildikten sonra mikroskopik olarak incelenerek hücre morfolojileri tespit edildi. İzole edilen bakterilerin büyük bir çoğunluğu basil, tek bir türün ise (BTX16 izolatının) cocobasil olduğu tespit edilmiştir. Yapılan morfolojik incelemelerde hücrelerin bazılarının zincir formunda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4. 3).

Bakteri izolatlarının gram boyama sonucunda elde edilen mikroskop görüntüleri Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Gram boyama testleri sonucunda izole edilen toplam 83 bakteriden 14 türün Gram (-), diğerlerinin Gram (+) olduğu tespit edilmiştir. Yine 26 izolatın endospor oluşturmadığı, 57 izolatın tamamının ise endospor oluşturduğu belirlenmiştir. İzolatların morfolojik test sonuçları Çizelge 4.3’de özetlenmiştir.



Şekil 4.1 Gram Boyama; A: Davut çamur kaynağı, B: Pasinler su kaynağı

Çizelge 4.3 Bakteri izolatlarının morfolojik test sonuçları

İzolat Kodu	Lokasyon	Hücre morfolojisi	Zincir Oluşumu	Endospor	Gram Testi
BTX1	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX2	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX3	Ağrı/Davut	Basil	-	+	+
BTX4	Ağrı/Davut	Basil	-	+	+
BTX5	Ağrı/Davut	Basil	-	+	+
BTX6	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX7	Ağrı/Davut	İnce Basil	+	+	+
BTX8	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX9	Ağrı/Davut	Basil	-	+	+
BTX10	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX11	Ağrı/Davut	Basil	-	+	+
BTX12	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX13	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX14	Ağrı/Davut	Basil	+	+	+
BTX15	Ağrı/Davut	Basil	-	+	+
BTX16	Ağrı/Davut	Coco Basil	-	+	+
BTX17	Davut	Basil	-	+	+
BTX18	Davut	Basil	-	-	-
BTX19	Davut	Basil	+	+	+
BTX20	Davut	Basil	+	+	+
BTX21	Davut	Basil	+	+	+
BTX22	Davut	Basil	-	+	+
BTX23	Davut	Basil	+	+	+
BTX24	Davut	Basil	-	+	+
BTX25	Davut	Basil	-	-	-
BTX26	Davut	Basil	+	+	+
BTX27	Davut	Basil	+	+	+
BTX28	Davut	Basil	-	+	+
BTX29	Davut	Basil	+	+	+
BTX30	Davut	Basil	+	+	+
BTX31	Davut	Basil	-	+	+
BTX32	Davut	Basil	+	+	+
BTX33	Davut	Basil	+	+	+
BTX34	Davut	Basil	+	+	+

Çizelge 4.3 (Devam) Bakteri izolatlarının morfolojik test sonuçları

İzolat Kodu	Lokasyon	Hücre Morfolojisi	Zincir Oluşumu	Endospor	Gram Testi
BTX35	Davut	Basil	+	+	+
BTX36	Davut	Basil	-	+	+
BTX37	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX38	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX39	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX40	Pasinler	İnce Basil	+	+	+
BTX41	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX42	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX43	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX44	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX45	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX46	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX47	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX48	Pasinler	Basil	-	-	-
BTX49	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX50	Pasinler	Basil	-	-	-
BTX51	Hısta	Basil	-	+	+
BTX52	Hısta	Basil	+	+	+
BTX53	Hısta	Basil	+	+	+
BTX54	Hısta	Basil	+	+	+
BTX55	Hısta	Basil	-	+	+
BTX56	Güçlükönak	Basil	+	+	+
BTX57	Güçlükönak	Basil	-	+	+
BTX58	Dargeçit	Basil	-	-	-
BTX59	Dargeçit	Basil	+	+	+
BTX60	Hısta	Basil	+	+	+
BTX61	Hısta	Basil	-	-	-
BTX62	Davut	Basil	+	+	+
BTX63	Köprü	Basil	+	+	+
BTX64	Köprü	Basil	-	+	+
BTX65	Köprü	Basil	+	+	+
BTX67	Köprü	Basil	+	+	+
BTX68	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX69	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX70	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX71	Pasinler	Basil	-	+	+

Çizelge 4.3 (Devam) Bakteri izolatlarının morfolojik test sonuçları

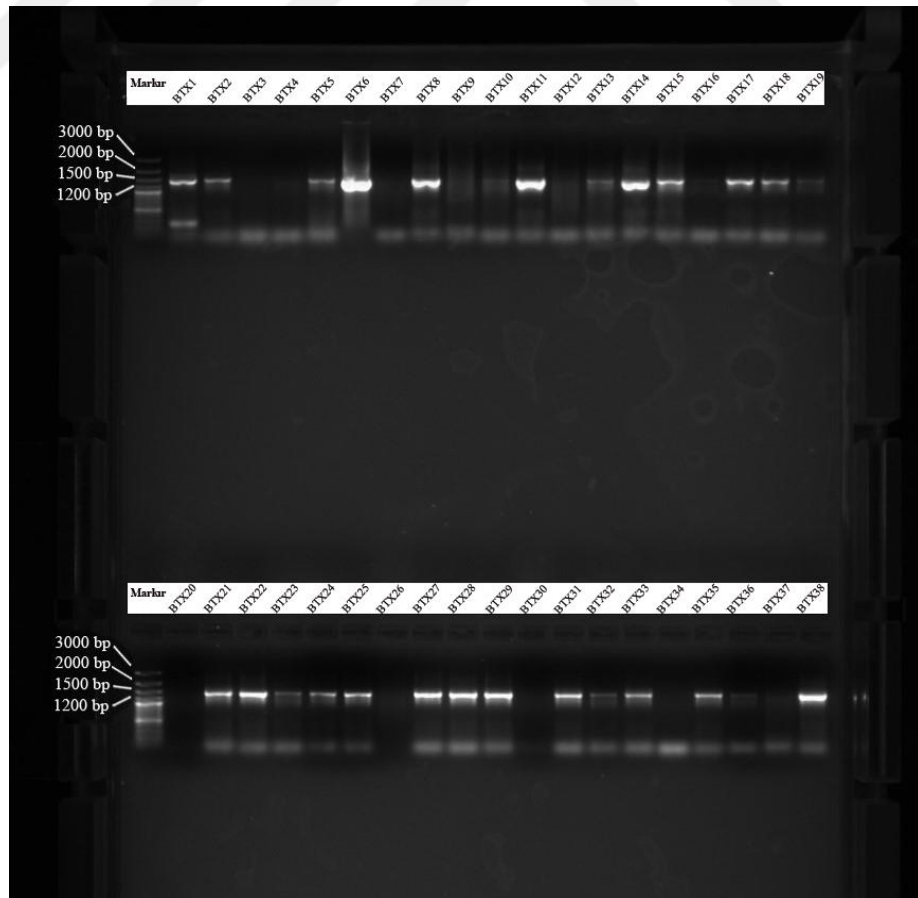
İzolat Kodu	Lokasyon	Hücre Morfolojisi	Zincir Oluşumu	Endospor	Gram Testi
BTX72	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX73	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX74	Pasinler	Basil	+	+	+
BTX75	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX76	Pasinler	Basil	-	+	+
BTX77	Pasinler	Basil	-	-	-
BTX78	Pasinler	Basil	-	-	-
BTX79	Köprü	Basil	+	+	+
BTX80	Köprü	Basil	+	+	+
BTX81	Köprü	Basil	+	+	+
BTX82	Köprü	Basil	+	+	+
BTX83	Köprü	Basil	+	+	+

4.3.2. Moleküler Tanılama

Bakterilerin moleküler tanılması için 16S rRNA gen bölgesi amplifiye edilerek baz dizisi çıkarılmıştır. Bu amaçla öncelikle genomik DNA izolasyonu, 16S rRNA PCR, klonlama, sekanslama ve sekans verilerinin karşılaştırılması yapılarak türler tanımlanmıştır.

Genomik DNA' nın Elde Edilmesi

Çalışmada izole edilen bakterilerin tamamının genomik DNA' ları izole edilerek DNA' ların konsantrasyonları spektrofotometrik olarak tespit edilmiş ve çalışma konsantrasyonu ayarlanmıştır (Ek 20). Genomik DNA izolasyonları sonucunda elde edilen DNA' lar 16S rRNA gen bölgelerine spesifik primerler ile çoğaltılarak PCR sonucu oluşan ürünler jel elektroforez ile görüntülenmiştir. PCR sonucu oluşan ürünler jel elektroforezinde yürütüldüğünde beklenen büyüklük olan 1300 baz çifti ürünlerin oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 İzolatların PCR ürünlerinin elektroforez jel sonucu

16S rRNA PCR ürünlerinin Klonlanması

Elde edilen izolatların tanımlanmasında evrensel olarak kabul gören ve kullanılan 16S rRNA gen bölgelerinin baz diziliminde öncelikle daha net ve kayıpların engellenmesi için klonlama işlemi yapılması önem arz etmektedir. Bu amaçla çalışmada izolatların kompetent *E. coli*'ye klonlama işlemi gerçekleştirilmiştir. İzolatlar daha sonra ligasyon ve transformasyon işlemlerine tabii tutularak, IPTG ve X-gal içeren besi ortamından mavi beyaz seleksiyon seçimi ile beyaz koloniler seçilmiştir. Daha sonra DNA markırında yaklaşık olarak 1300 bp büyüklüğündeki bandı veren en parlak koloni seçilerek antibiyotikli besi yerine ekimi yapılarak jelden ekstrakte edilmiştir. Ekimi yapılan kültürlerden plazmit izolasyonları yapılarak elde edilen ürünlerin hizmet alımı ile sekans analizleri gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin Dizi Analiz Sonuçları

PCR sonucu elde edilen ürünler klonlanarak sekans analizleri gerçekleştirilmiş ve sekans analizleri sonucunda 5 farklı *Bacillus* türü tanımlanmıştır. Tanımlanan türlerin sekans analiz sonuçları Çizelge 4.4'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4 İzolatların sekans analiz sonuçları

İzolatın Kodu	Tanı Sonucu	Genbank Numarası	Benzerlik Oranı	Baz Uzunluğu
BTX1	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101281	%99	1397 (bç)
BTX2	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101282	%99	1387 (bç)
BTX3	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101283	%99	1385 (bç)
BTX4	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101284	%99	1389 (bç)
BTX5	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101285	%99	1386 (bç)
BTX6	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101286	%99	1384 (bç)
BTX7	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101287	%99	1382 (bç)
BTX8	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101288	%99	1381 (bç)
BTX9	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101289	%99	1386 (bç)
BTX10	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101290	%99	1386 (bç)
BTX11	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101291	%99	1380 (bç)
BTX12	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101292	%99	1386 (bç)
BTX13	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101293	%99	1385 (bç)
BTX14	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101294	%99	1383 (bç)
BTX15	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101295	%99	1387 (bç)
BTX22	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101296	%99	1388 (bç)
BTX23	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101297	%99	1384 (bç)
BTX24	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101298	%99	1384 (bç)
BTX25	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101299	%99	1387 (bç)
BTX26	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101300	%99	1384 (bç)
BTX27	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101301	%99	1383 (bç)
BTX28	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101302	%99	1386 (bç)
BTX30	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101303	%99	1384 (bç)
BTX31	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101304	%99	1384 (bç)
BTX32	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101305	%99	1384 (bç)
BTX33	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101306	%99	1391 (bç)
BTX34	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101307	%99	1380 (bç)
BTX35	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101308	%99	1387 (bç)
BTX48	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101309	%99	1384 (bç)
BTX60	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101310	%99	1384 (bç)
BTX61	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101311	%99	1384 (bç)
BTX78	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101312	%99	1394 (bç)
BTX81	<i>Bacillus subtilis</i>	MH101313	%99	1387 (bç)
BTX16	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101314	%98	1417 (bç)
BTX17	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101315	%98	1410 (bç)
BTX18	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101316	%98	1411 (bç)

Çizelge 4.5 (Devam) İzolatların sekans analiz sonuçları

İzolatın Kodu	Tanı Sonucu	Genbank Numarası	Benzerlik Oranı	Baz Uzunluğu
BTX19	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101317	%98	1414 (bç)
BTX20	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101318	%98	1413 (bç)
BTX21	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101319	%98	1416 (bç)
BTX29	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101320	%98	1410 (bç)
BTX36	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101321	%98	1410 (bç)
BTX37	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101322	%98	1413 (bç)
BTX38	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101323	%98	1419 (bç)
BTX39	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101324	%98	1415 (bç)
BTX40	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101325	%98	1418 (bç)
BTX41	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101326	%98	1411 (bç)
BTX82	<i>Bacillus licheniformis</i>	MH101327	%98	1409 (bç)
BTX53	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101328	%100	873 (bç)
BTX54	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101329	%100	868 (bç)
BTX55	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101330	%100	866 (bç)
BTX56	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101331	%100	866 (bç)
BTX57	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101332	%100	866 (bç)
BTX58	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101333	%100	878 (bç)
BTX59	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101334	%100	864 (bç)
BTX72	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101335	%100	867 (bç)
BTX73	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101336	%100	862 (bç)
BTX79	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MH101337	%100	867 (bç)
BTX42	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101338	%98	1415 (bç)
BTX43	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101339	%98	1411 (bç)
BTX44	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101340	%98	1410 (bç)
BTX45	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101341	%98	1409 (bç)
BTX46	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101342	%98	1418 (bç)
BTX47	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101343	%98	1410 (bç)
BTX49	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101344	%98	1410 (bç)
BTX50	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101345	%98	1414 (bç)
BTX51	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101346	%98	1412 (bç)
BTX52	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101347	%98	1410 (bç)
BTX69	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101348	%98	1408 (bç)
BTX70	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101349	%98	1410 (bç)
BTX71	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101350	%98	1413 (bç)
BTX77	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101351	%98	1410 (bç)

Çizelge 4.6 (Devam) İzolatların sekans analiz sonuçları

İzolatın Kodu	Tanı Sonucu	Genbank Numarası	Benzerlik Oranı	Baz Uzunluğu
BTX80	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	MH101352	%98	1408 (bç)
BTX62	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101353	%98	1339 (bç)
BTX63	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101354	%98	1352 (bç)
BTX64	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101355	%98	1343 (bç)
BTX65	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101356	%98	1346 (bç)
BTX66	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101357	%98	1347 (bç)
BTX67	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101358	%98	1343 (bç)
BTX68	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101359	%98	1343 (bç)
BTX74	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101360	%98	1355 (bç)
BTX75	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101361	%98	1341 (bç)
BTX76	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101362	%98	1350 (bç)
BTX83	<i>Bacillus coagulans</i>	MH101363	%98	1343 (bç)

Sekans analiz sonuçlarına göre BTX1, BTX2, BTX3, BTX4, BTX5, BTX6, BTX7, BTX8, BTX9, BTX10, BTX11, BTX12, BTX13, BTX14, BTX15, BTX22, BTX23, BTX24, BTX25, BTX26, BTX27, BTX28, BTX30, BTX31, BTX32, BTX33, BTX34, BTX35, BTX48, BTX60, BTX61, BTX78, BTX81 kodlu izolatların yapılan BLAST analizi sonucunda *B. subtilis* türüne benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır (Ek 1, Ek 2, Ek 3). *B. subtilis* 16S rRNA geninin dizisi EK 21’de gösterilmiştir. BTX16, BTX17, BTX18, BTX19, BTX20, BTX21, BTX29, BTX36, BTX37, BTX38, BTX39, BTX40, BTX41 ve BTX82 kodlu izolatların yapılan BLAST analizi sonucunda *B. licheniformis* türüne benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır (Ek 4, Ek 5, Ek 6). *B. licheniformis* 16S rRNA geninin dizisi EK 22’de gösterilmiştir. BTX53, BTX54, BTX55, BTX56, BTX57, BTX58, BTX59, BTX72, BTX73 ve BTX79 kodlu izolatların yapılan BLAST analizi sonucunda *B. thuringiensis* türüne benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır (Ek 7, Ek 8, Ek 9). *B. thuringiensis* 16S rRNA geninin dizisi EK 23’de gösterilmiştir. BTX42, BTX43, BTX44, BTX45, BTX46, BTX47, BTX49, BTX50, BTX51, BTX52, BTX69, BTX70, BTX71, BTX77 ve BTX80 kodlu izolatların yapılan BLAST analizi sonucunda *G. kaustophilus* türüne benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır (Ek 10, Ek 11, Ek 12). *G. kaustophilus* 16S rRNA geninin dizisi EK 24’de gösterilmiştir. BTX62, BTX63, BTX64, BTX65, BTX66, BTX67, BTX68, BTX74, BTX75, BTX76 ve BTX83 kodlu izolatların yapılan BLAST analizi sonucunda *B. coagulans* türüne benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır (Ek 13, Ek 14, Ek 15). *B. coagulans* 16S rRNA geninin dizisi EK 25’de gösterilmiştir.

4.4. İzolatların Total Ksilanaz Aktivitesi

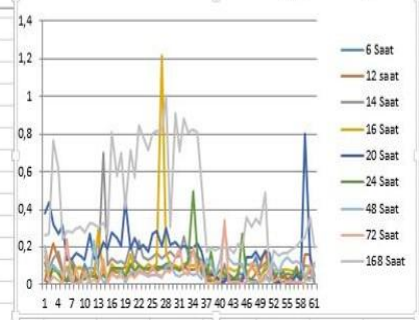
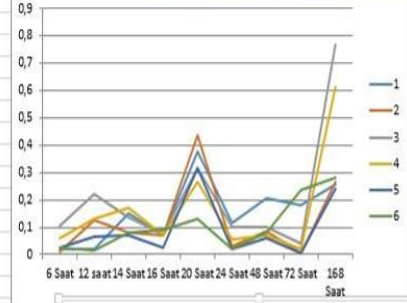
Elde ettiğimiz izolatların ksilanaz aktivitelerinin belirlenmesi amacı ile yapılan spektrofotometrik ölçüm sonuçları Çizelge 4.5’de (Ek 16’da izolat kodları ile birlikte) verilmiştir. İzolatlara ait aktivite tablosu ise EK 16’da gösterilmiştir. Total ksilanaz aktiviteleri incelendiğinde *B. subtilis* BTX6 örneğinin ksilanaz aktivitesinin diğer türlere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlardan sonra çalışmada rekombinant enzim üretmek amacıyla *B. subtilis* BTX6 kodlu izolatın ksilanazı seçilmiştir.

Çizelge 4.7 Farklı saatlerde türlere ait total ksılanaz aktivitesinin ölçümü

	6 Saat	12 saat	14 Saat	16 Saat	20 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	168 Saat		Sıra	6 Saat	12 saat	14 Saat	16 Saat	20 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	168 Saat
1	0,021	0,022	0,148	0,07	0,377	0,115	0,205	0,181	0,258	1	0,021	0,022	0,148	0,07	0,377	0,115	0,205	0,181	0,258	
2	0,009	0,127	0,082	0,068	0,436	0,03	0,084	0,005	0,268	2	0,009	0,127	0,082	0,068	0,436	0,03	0,084	0,005	0,268	
3	0,104	0,219	0,137	0,074	0,317	0,098	0,098	0,041	0,766	3	0,104	0,219	0,137	0,074	0,317	0,098	0,098	0,041	0,766	
4	0,059	0,129	0,172	0,07	0,266	0,055	0,069	0,022	0,612	4	0,059	0,129	0,172	0,07	0,266	0,055	0,069	0,022	0,612	
5	0,024	0,064	0,071	0,025	0,315	0,02	0,062	0,003	0,24	5	0,024	0,064	0,071	0,025	0,315	0,02	0,062	0,003	0,24	
6	0,023	0,014	0,079	0,092	0,131	0,021	0,08	0,237	0,282	6	0,023	0,014	0,079	0,092	0,131	0,021	0,08	0,237	0,282	
7	0,019	0,138	0,121	0,049	0,138	0,099	0,006	0,002	0,273											
8	0,021	0,014	0,083	0,083	0,165	0,028	0,006	0,089	0,298											
9	0,029	0,02	0,089	0,091	0,155	0,025	0,01	0,002	0,306											
10	0,109	0,061	0,077	0,04	0,13	0,031	0,001	0,063	0,277											
11	0,044	0,038	0,083	0,059	0,271	0,04	0,012	0,009	0,325											
12	0,043	0,074	0,084	0,045	0,14	0,04	0,235	0,027	0,321											
13	0,037	0,025	0,081	0,294	0,148	0,026	0,061	0,009	0,308											
14	0,048	0,101	0,702	0,049	0,225	0,047	0,014	0,137	0,325											
15	0,029	0,011	0,098	0,035	0,185	0,022	0,017	0,003	0,258											
16	0,077	0,079	0,138	0,106	0,276	0,083	0,063	0,057	0,808											
17	0,067	0,066	0,112	0,073	0,25	0,085	0,039	0,038	0,576											
18	0,079	0,076	0,125	0,08	0,204	0,09	0,073	0,044	0,697											
19	0,049	0,095	0,106	0,05	0,443	0,036	0,009	0,025	0,407											
20	0,095	0,067	0,208	0,161	0,187	0,106	0,063	0,048	0,716											
21	0,129	0,044	0,124	0,072	0,248	0,064	0,063	0,033	0,565											
22	0,103	0,065	0,236	0,107	0,191	0,103	0,067	0,081	0,848											
23	0,082	0,068	0,143	0,082	0,209	0,085	0,058	0,063	0,79											
24	0,088	0,054	0,127	0,111	0,173	0,076	0,046	0,049	0,716											
25	0,09	0,078	0,143	0,095	0,269	0,085	0,049	0,092	0,799											
26	0,091	0,073	0,17	0,105	0,286	0,09	0,051	0,056	0,815											
27	0,097	0,084	0,139	1,22	0,2	0,088	0,039	0,046	0,814											
28	0,109	0,083	0,158	0,167	0,299	0,099	0,093	0,069	1,007											
29	0,115	0,082	0,171	0,108	0,211	0,086	0,108	0,061	0,308											
30	0,097	0,084	0,145	0,099	0,224	0,087	0,05	0,147	0,909											
31	0,09	0,073	0,151	0,088	0,195	0,077	0,042	0,186	0,707											
32	0,105	0,096	0,257	0,108	0,2	0,089	0,06	0,068	0,879											
33	0,112	0,081	0,157	0,101	0,193	0,126	0,063	0,052	0,811											
34	0,179	0,078	0,183	0,102	0,196	0,498	0,052	0,195	0,825											
35	0,103	0,089	0,148	0,109	0,217	0,161	0,06	0,054	0,809											
36	0,097	0,117	0,128	0,071	0,177	0,058	0,038	0,121	0,531											

6 Saat 12 saat 14 Saat 16 Saat 20 Saat 24 Saat 48 Saat 72 Saat 168 Saat

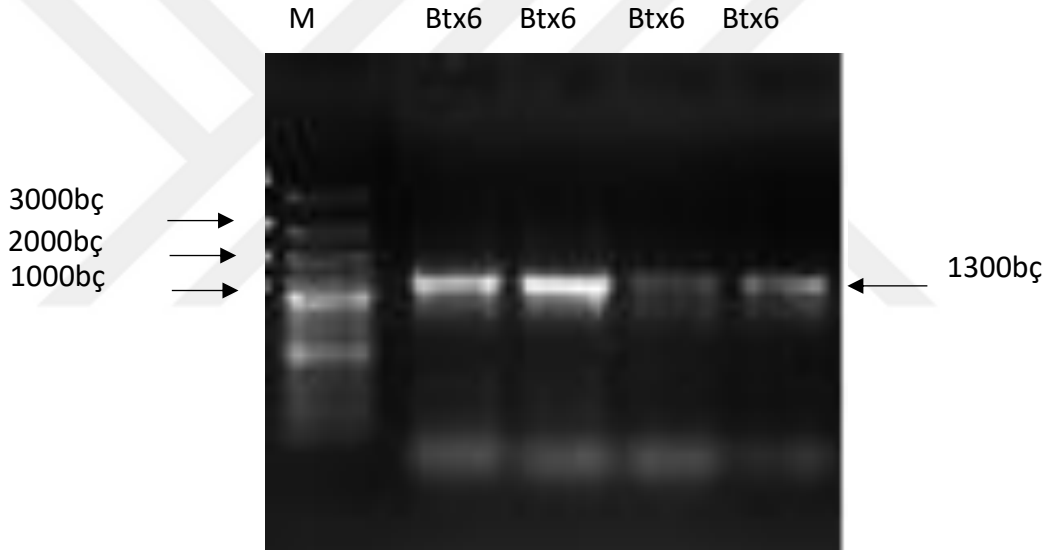
6 Saat 12 saat 14 Saat 16 Saat 20 Saat 24 Saat 48 Saat 72 Saat 168 Saat



4.5. *B. subtilis*'ten Rekombinant Ksilanaz Üretilmesi

B. subtilis'ten Ksilanaz Geninin Klonlanması

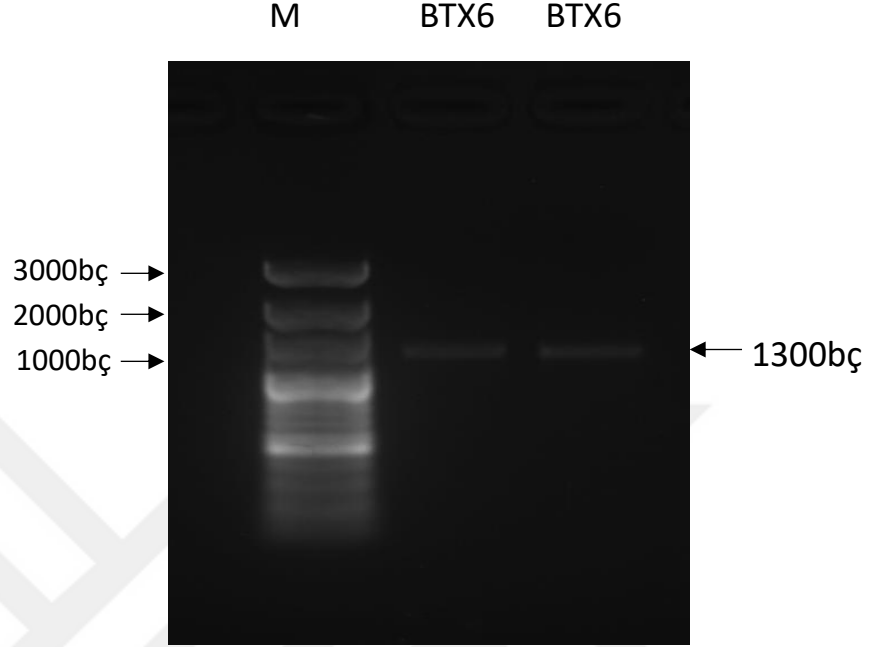
B. subtilis'ten ksilanaz geninin üretilmesi için sırasıyla; gDNA' lardan ksilanaz genine ait bölgenin PCR ile amplifikasyonu, insertün ligasyonu, transformasyonu, plazmit izolasyonu, restriksiyon enzimleri ile insertü taşıyıp taşımadığının belirlenmesi ve insertün dizi analizi yapılarak klonlamanın tamamlanması işlemleri yapılmıştır. Bu kapsamda öncelikli olarak gDNA' lardan biyoinformatik analizler ile gene ait tasarlanan ksilanaz geni primerleri kullanılarak ksilanaz gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Ksilanaz geninin PCR ampplifikasyon sonucunun agaroz jel görüntüsü (M:Marker)

Yapılan PCR çalışması sonucunda çoğaltılan gen bölgelerinin saf olarak eldesi için elektroforez üzerinden bantlar İnvitrogen (K210012) Quick Gel Extraction jel saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırma işlemindeki temel hedef PCR işleminde kullanılan diğer kimyasalların ve atıkların saflaştırılmış olan jelde bulunmamasıdır. Bu amaçla beklenen bant tamamen diğer bantlardan arındırılmış olmaktadır. Bu aşamada öncelikle boş ependorfun hassas terazide darası alınmış olup daha sonra kesilen jelin ependorfa eklenmesiyle jelin ağırlığı belirlenmiştir. Bu işlemde boş ependorf tüpünün ağırlığı 1.04 gr gelirken, eklenen jel ile birlikte ependorf tüpünün

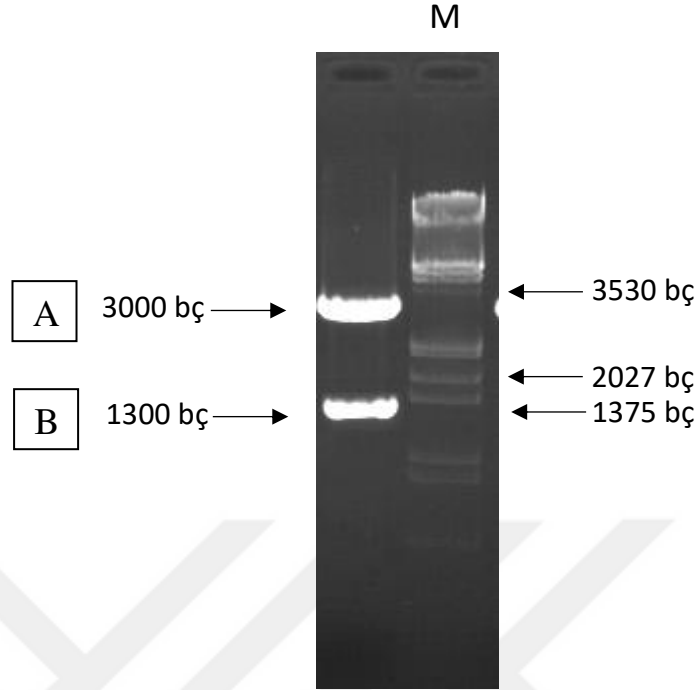
total ağırlığı 1.54 gr gelmiştir. Buradan jelin ağırlığının 0.5 gr geldiği belirlenmiştir. Jel saflaştırma protokolü uygulanarak saflaştırılan bant Şekil 4.4' de gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Ksilanaz geninin (Btx6 izolatu) jel saflaştırma sonucu. M: Marker (Mass Ruler 100bp.)

Agaroz jelden saflaştırılmış olan ürünün A ekleme reaksiyonu; Taq polimeraz enziminin ürünün uçlarına eklediği A reaksiyonuyla yapılmıştır. Daha sonra ligasyon aşamasında gerekli olan üründen 3 µL eklenmiş ve ligasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Transformasyon aşamasında oluşan mavi-beyaz kolonilerden ilgilenilen geni taşıyan beyaz koloniler seçilerek bunlardan plazmit izolasyonu yapılmıştır.

İzolasyonda PGEMTeasy vektörünün istediğimiz ksilanaz genini taşıyıp taşımadığını gözlemlemek amacı ile XbaI ve KpnI restriksiyon enzimleri ile kesim yapılmıştır. Restriksiyon enzimi ile kesim yapılan ürünlerden yaklaşık 3000 bç. büyüklüğündeki bandın PGEMTeasy vektörüne 1300 bç. büyüklüğündeki bandın ksilanaz genine ait olduğu görülmüştür (Şekil 4.5). Bu sonuçlar ksilanaz geninin başarılı bir şekilde klonlanmış olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.5 Ksilanaz genini taşıyan PGEMTeasy plazmidinin kesim sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsü. M: Lambda DNA/EcoRI /Hind III Marker, Ürünler; A: PGEMeasay plazmit bant büyüklüğü B: Ksilanaz geni bant büyüklüğü

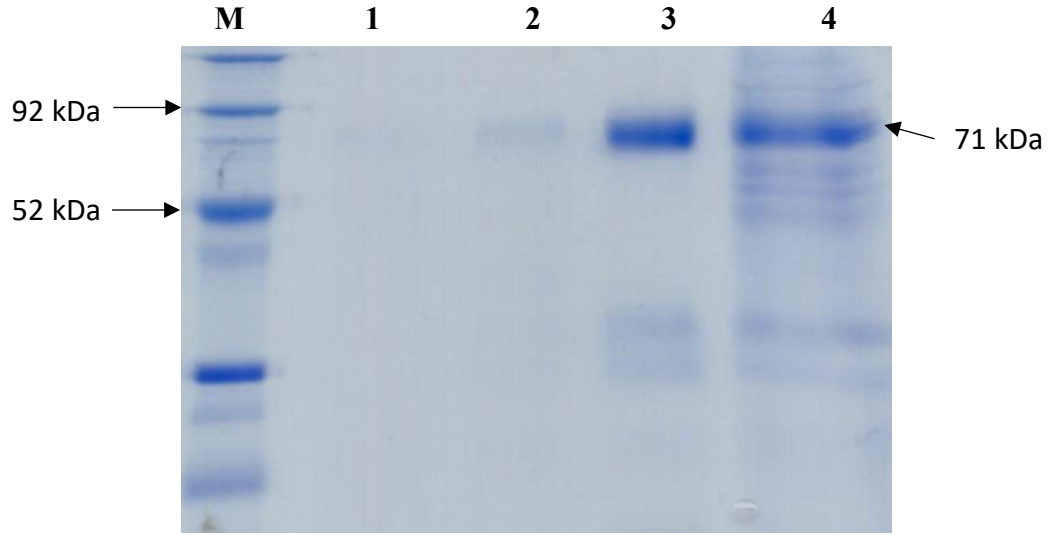
Elde edilen ürün NCBI üzerinden değerlendirilmiş ve oluşan ürünün ksilanaz genine ait diziler olduğu sekans sonuçları ile belirlenmiştir. Elde edilen sekans verileri ve pikleri EK 26’ da gösterilmiştir.

Ksilanazın Rekombinant Proteininin Ekspresyonu

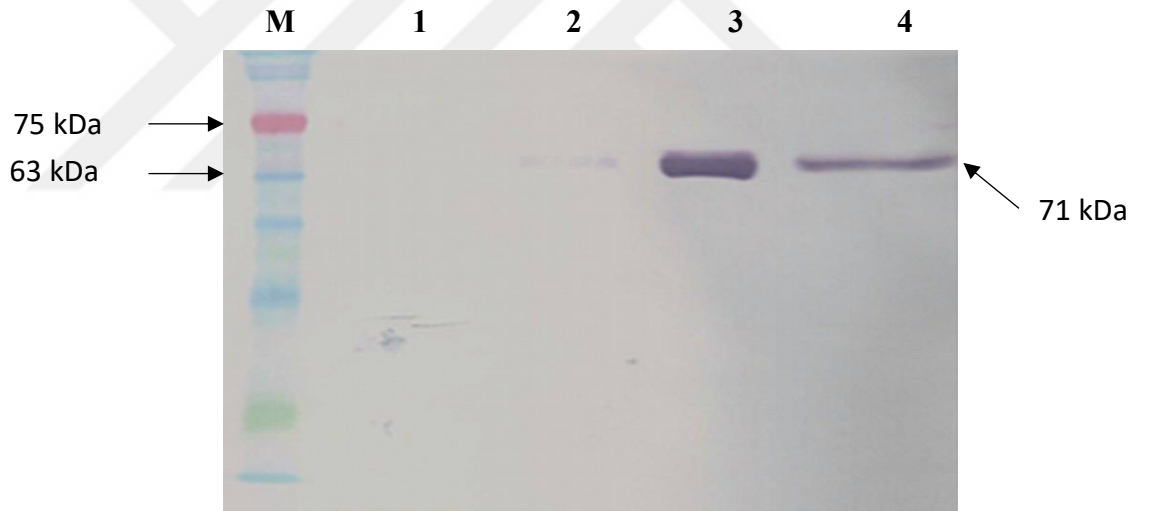
His takısı (6x His) bulunan pET16b vektörü protein ekspresyonunda, ekspresyon vektörü olarak kullanılmıştır. Ksilanaz genini taşıyan insörtümüz pET16b vektörüne yerleştirilmiş, daha sonra *E. coli* Rosetta’ya aktarılmış ardından protein izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen protein izolatları His affinitesi gösteren Nikel NTA bocukları bulunan agaroz ile 6x His histidin takılarını tutan Ni-NTA boncukları yardımı ile önce filtrede tutulmuş daha sonra kit solüsyonları ile enzim saflaştırılmıştır. Ni-NTA boncukları ile saflaştırılan enzimler belirlenmiştir. Şekil 4.6’da görüldüğü üzere saflaştırılan örnekler IPTG ile indüklenmelerine göre 1., 2. ve 3. saatler sonrasında sırası ile jele yüklenmiştir. 1. ve 2. saatlerde jele yüklenen proteinde bantlaşma çok az olarak görülürken, 3. saatte ise jelde protein bantlaşması net bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 4.6

[1, 2 ve 3] ve Şekil 4.7 [1, 2 ve 3]). Bu sonuçlar bize 3. saat sonunda proteinin ekspresyonun başarılı bir şekilde olduğunu göstermiştir. Anti-His antikoru ile yapılan Western blot analizi ile SDS-PAGE sonucunu doğrulanmış ve saflaştırılan proteinin *B. subtilis*'e ait ksilanaz olduğu belirlenmiştir. Böylece ekspresyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiği görülmüştür.





Şekil 4.6 Ni-NTA saflaştırılması sonucu oluşan SDS jelin görüntüsü. M: Marker (SDS-PAGE Moleküler Ağırlık Standartları Broad Range (Bio-RAD, Kat. no:161-0317)), 1: 1 Saat İndüklenmiş, 2: 2 Saat İndüklenmiş, 3: 3 Saat İndüklenmiş ve 4: Total Proteinin SDS Jel Görüntüsü.

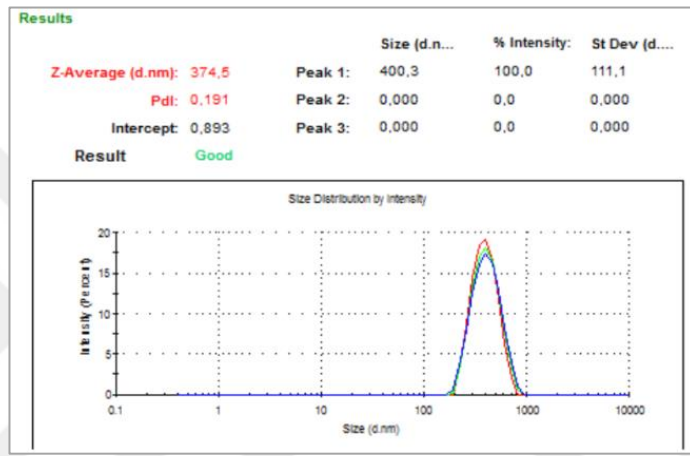


Şekil 4.7 Rekombinant ksilanaz proteininin Western Blot Analizi ile görüntülenmesi. M: Marker (Kaleidoscope Pretained Standarts BIORAD), 1: 1 Saat İndüklenmiş, 2: 2 Saat İndüklenmiş, 3: 3 Saat İndüklenmiş ve 4: Total Protein Antihistidin ve İkincil Antikor ile yapılan Western Blot görüntüleri

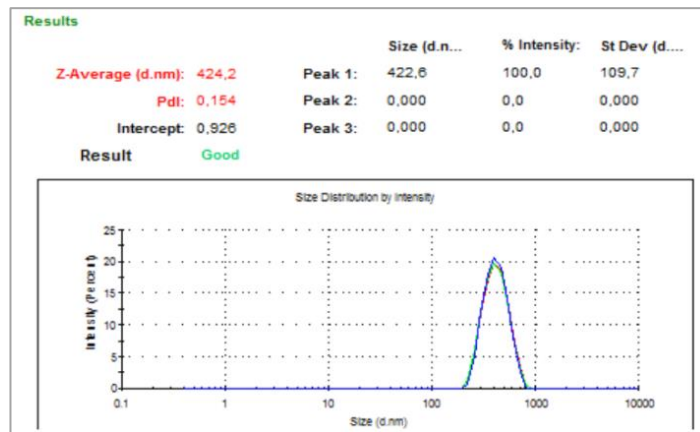
4.6. Anadoluca Metoduyla Enzimin Kafeslenmesi

Zeta Boyut Analizi

1000 ppm olarak hazırlanan rekombinant ksılanaz enzimi (Şekil 4.8) ve rekombinant nano ksılanaz (Şekil 4.9) ultrasonik su banyosunda dağıtıldıktan sonra zeta cihazında boyut analizi yapılmıştır. Şekil 4.8’de ve Şekil 4.9’da görüldüğü gibi enzimin boyutları sırası ile ortalama 400,3 nm ve 422,6 nm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.8 Rekombinant Ksılanaz Zeta Boyut Analizi

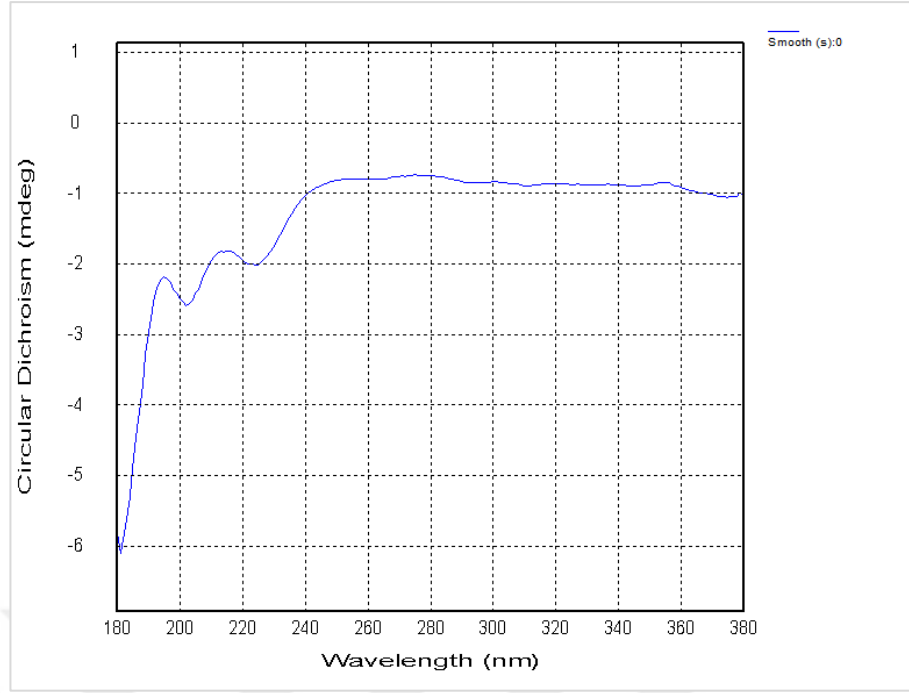


Şekil 4.9 Rekombinant Nano Ksılanaz Zeta Boyut Analizi

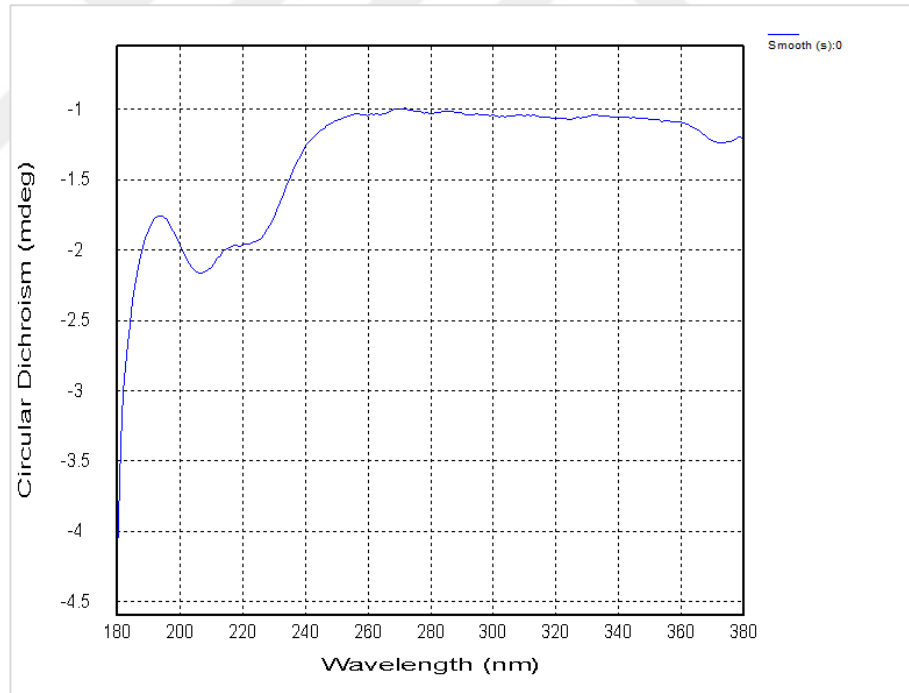
CD Spektroskopisi

Rekombinant Ksilanaz ve Rekombinant Nano Ksilanaz'nin CD spektroskopileri Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de belirtilmiştir. Şekil 4.10'de görüldüğü üzere, rekombinant ksilanazın yapısı CD analiziyle değerlendirildiğinde, spektrumdaki 190-200 nm de gelen pozitif pik ve 200-205 nm'de gelen negatif pik yapıdaki α heliks katlanmalarını, 210-220 nm'deki pik β katlanmasını ifade etmektedir. Ayrıca; 230-240 nm arasındaki bölgede rastgele katlanmaların olduğu görülmektedir. 350 nm'de gelen pozitif bant ise yapıdaki aromatik aminoasitlerin varlığını göstermektedir. Ksilanazın sekonder yapı analizi için karakteristik piklerin belirli bölgelerde gelmiş olması CD spektrumunun yapı analizinde kullanılabilirliğini göstermektedir.

Şekil 4.11'de görülen rekombinant Nano Ksilanazın yapısının CD spektrumuna bakıldığında, 190-210 nm arasındaki pozitif pik ve 210-221 nm arasındaki negatif pik α -heliks yapısını ve 220-230 nm arasındaki negatif bant β -katlanmasını göstermektedir. Bunun yanında, 232 nm'deki bant yapıdaki rastgele katlanmaları ifade etmektedir. Nano yapının CD spektrumunda görülen 320-340 nm arasındaki yayvan bant protein yapısındaki aromatik proteinleri işaret etmektedir. Belirtilen aralıklarda karakteristik piklerin gelmesi nano yapıda da protein yapısının bozunmadığını göstermektedir.



Şekil 4.10 Rekombinant Ksilanaz'ın CD Spektroskopisi

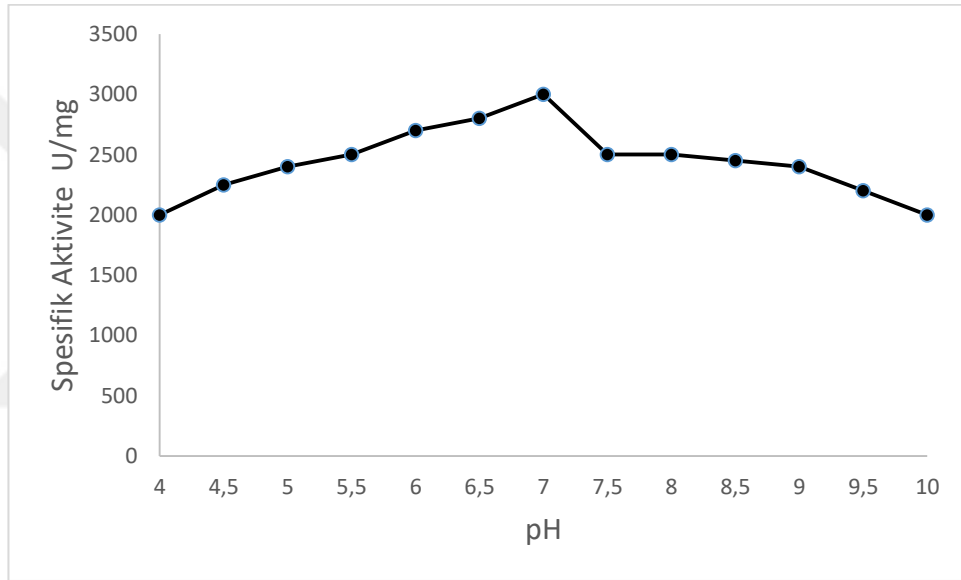


Şekil 4.11 Rekombinant Nano Ksilanaz'ın CD Spektroskopisi

4.7. Rekombinant Ksilanaz ve Nano Ksilanaz Enzimlerinin Aktivitesinin Belirlenmesi

a) Değişen pH düzeyinin Ksilanaz aktivitesine etkisi

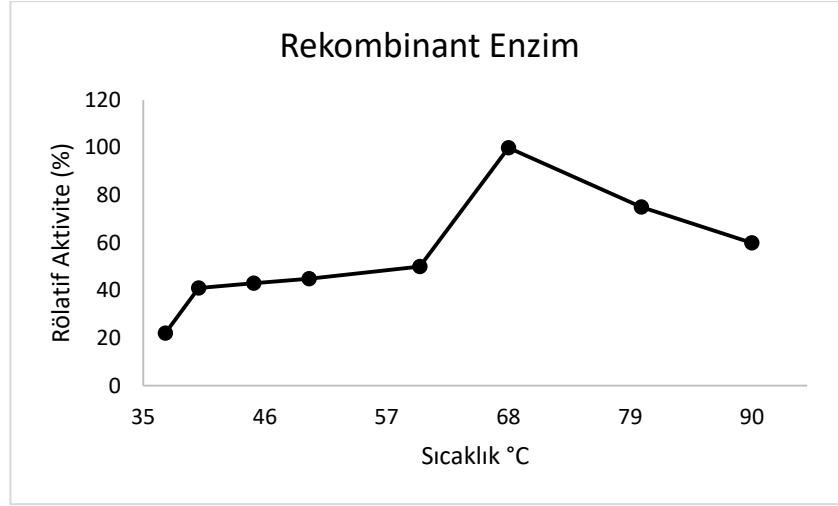
Enzim aktivitesi sonucunda yüksek aktivite gösteren *B. subtilis* türü izolatından saflaştırılan ksilanaz enzimi rekombinant olarak ve aynı enzim rekombinant nano enzim olarak üretilmiştir. Her iki enzim aktivitesi farklı pH aralıklarında değerlendirilmiş ve optimum pH'larının 7.0 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



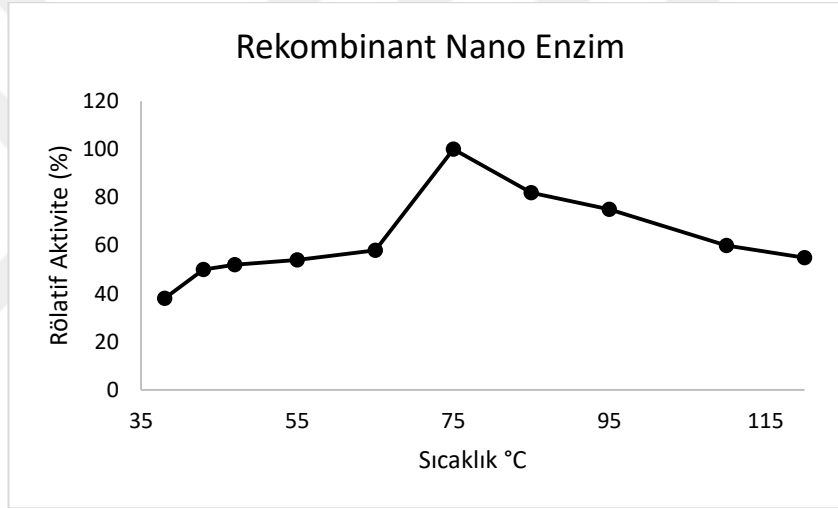
Şekil 4.12 Rekombinant Ksilanaz ve Rekombinant Nano Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği pH

b) Sıcaklık Seviyesinin Aktiviteye Etkisi

Rekombinant ve rekombinant nano ksilanaz olarak *B. subtilis*'den üretilen enzimin yapılan farklı sıcaklık (37 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C ve 90 °C) aralıklarındaki ve optimum pH'da (pH 7.0) aktivite testi sonucunda, optimum enzim aktivitesinin rekombinant ksilanaz enzimi için 68 °C (Şekil 4.13), rekombinant nano ksilanaz için ise 75 °C olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



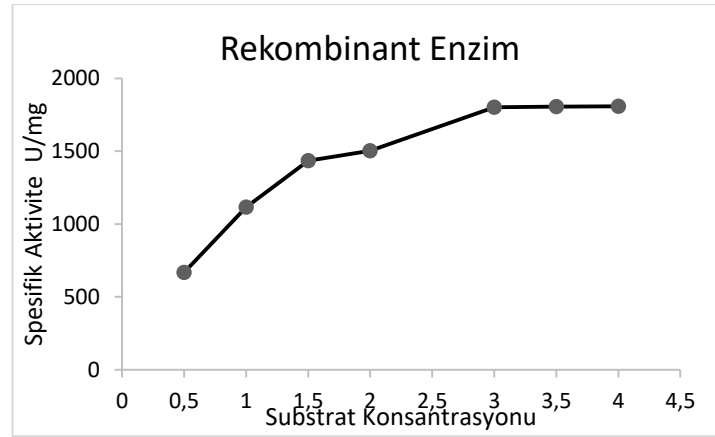
Şekil 4.13 Rekombinant Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık



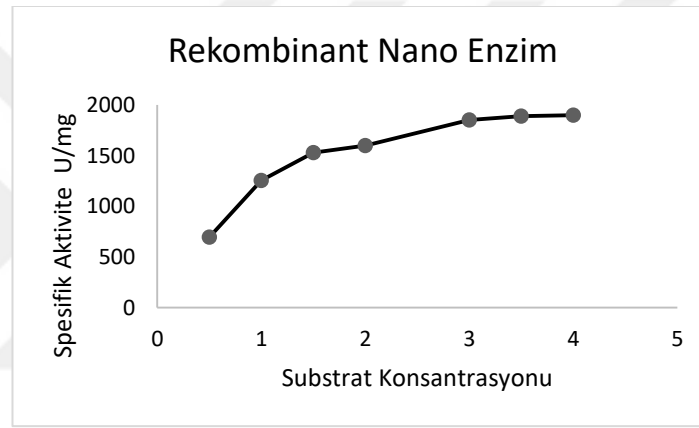
Şekil 4.14 Rekombinant Nano Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık

c) Substrat Miktarının Aktiviteye Etkisi

Rekombinant ve rekombinant nano ksilanaz olarak *B. subtilis*'den üretilen enzimin yapılan farklı substrat yoğunluklarındaki aktivite testleri sonucunda, optimum enzim aktivitesi rekombinant enzim için % 3 konsantrasyonda 1802 U/mg, rekombinant nano enzim için ise optimum konsantrasyon yoğunluğu % 3.5'da 1898 U/mg olarak ölçülmüştür. Çalışma sonucunda enzim üretimi için en uygun yoğunluk konsantrasyonunun rekombinant enzim için % 3, rekombinant nano enzim için ise % 3,5 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.15, Şekil 4.16).



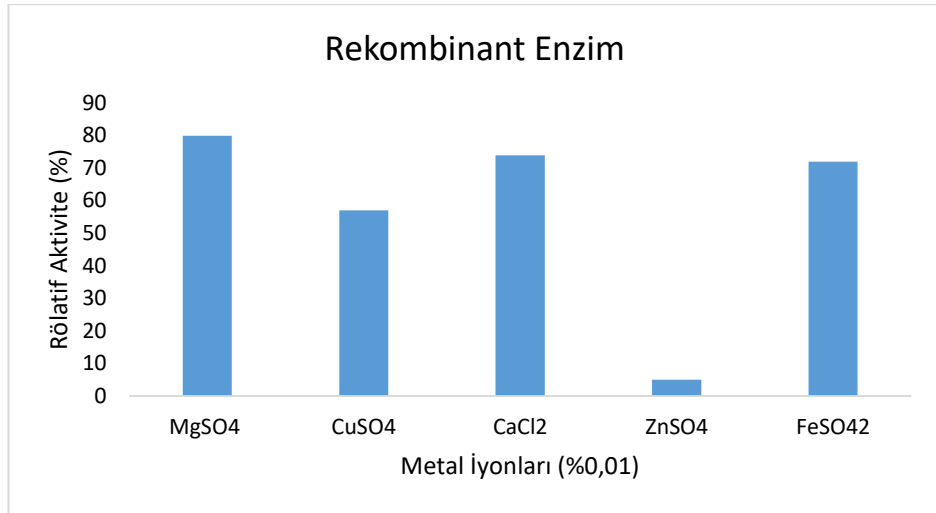
Şekil 4.15 Rekombinant Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği substrat konsantrasyonu



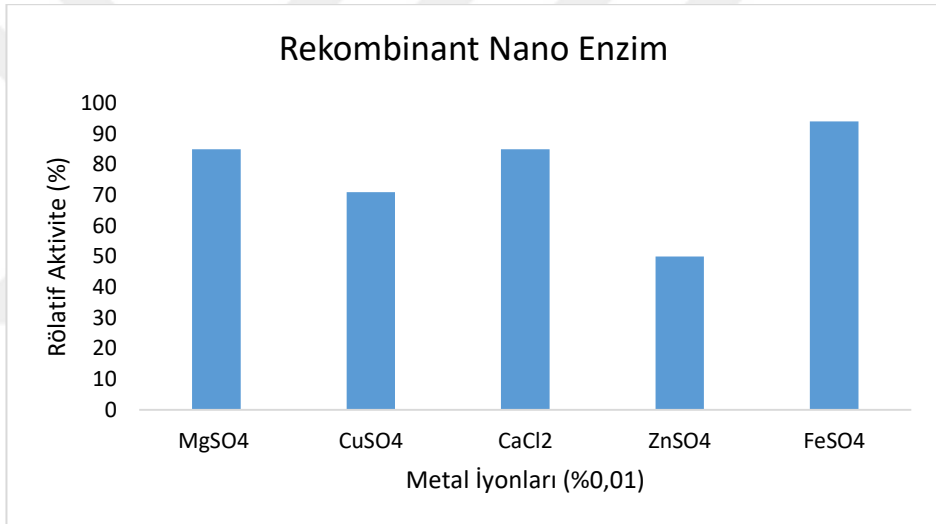
Şekil 4.16 Rekombinant Nano Ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği substrat konsantrasyonu

d) Metal İyonlarının Aktiviteye Etkisi

Çalışmada rekombinant ksilanaz ve rekombinant Nano ksilanaz enzim aktivitesine etki eden metal iyonlarının, 0,01 mL'lik konsantrasyonlarında rekombinant ksilanaz için MgSO_4 'ın % 80, CuSO_4 'ın % 57, CaCl_2 'in % 74, ZnSO_4 'ın % 5 ve FeSO_4^{2-} 'in % 72 oranında aktivitede artışa neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.17). Rekombinant Nano ksilanaz enzimi için ise MgSO_4 'ın % 85, CuSO_4 'ın % 71, CaCl_2 'in % 85, ZnSO_4 'ın % 50 ve FeSO_4^{2-} 'in % 94 oranlarında aktivitede artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



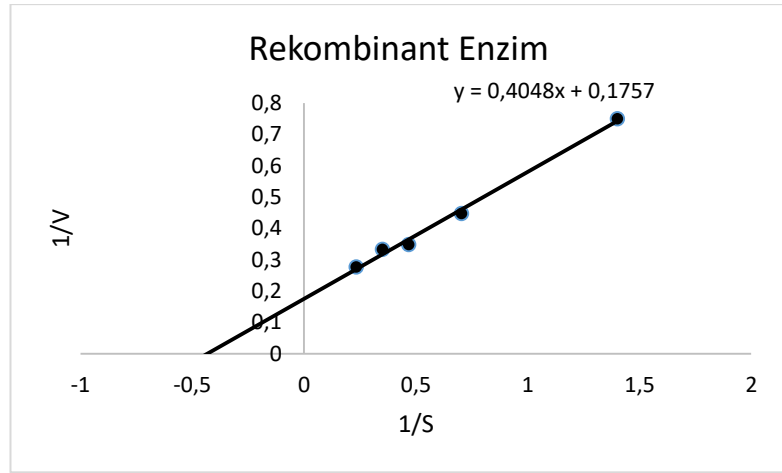
Şekil 4.17 Metal iyonlarının rekombinant Ksilanaz enzimine etki grafiği



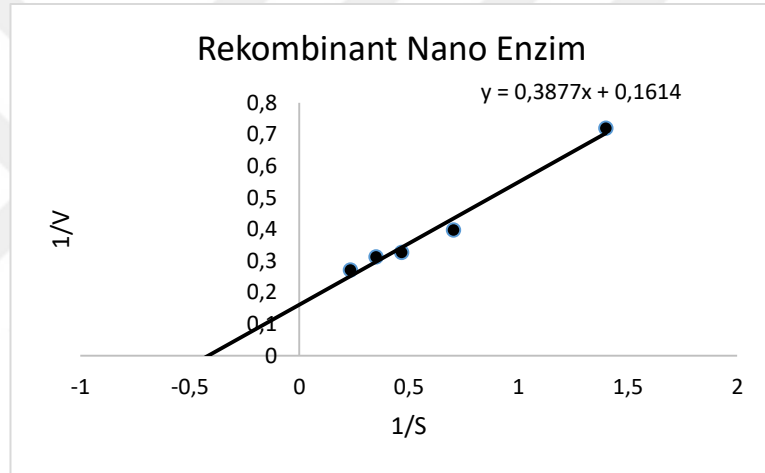
Şekil 4.18 Metal iyonlarının rekombinant Nano Ksilanaz enzimine etki grafiği

V_{max} ve K_m Değerinin Hesaplanması

Ksilanaz enziminin V_{max} ve K_m değerleri % 1'lik ksilan substratı kullanılarak belirlenmiştir. 5 farklı konsantrasyondaki ölçümler sonucunda grafik değerleri belirlenmiş ve aktivitenin substrat mikratındaki değişimleri gözlemlenmiştir. Grafikten elde edilen verilerden yararlanılarak Lineweaver Burke denklemi ile rekombinant enzim ve rekombinant nano enzimler için V_{max} ve K_m değerleri ölçülmüştür (Şekil 4.19, Şekil 4.20). Rekombinant enzim için V_{max} değeri 5,691 (EU/mL. dk.), K_m değeri ise 2,298 (mM), Rekombinant nano enzim için ise V_{max} değeri 6,195 (EU/mL. dk.), K_m değeri ise 2,402 (mM) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.19 *B. subtilis*'den elde edilen rekombinant Ksilanazın Lineweaver Burke denklemi ile K_m ve V_{max} değerinin ölçülmesi



Şekil 4.20 *B. subtilis*'den elde edilen rekombinant Nano Ksilanazın Lineweaver Burke denklemi ile K_m ve V_{max} değerinin ölçülmesi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki sıcak su kaynakları ile bu kaynakların yakınındaki çamur örneklerinden izole edilen bakterilerin, morfolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması, optimum gelişme koşullarının tespit edilmesi, özellikle termofilik özellik gösteren izolatların seçilerek ksilanaz enzim aktivitesinin belirlenmesi, aktivitesi yüksek izolatlardan enzimin rekombinant olarak üretilmesi amaçlanmıştır. Enzimin rekombinant olarak üretilmesi için öncelikle izolatların enzim aktivitesi ölçülmüş, yüksek aktivite gösteren izolat bu amaçla tercih edilmiştir. Ksilanaz enzimini kodlayan genler biyoinformatik araçlarla tespit edildikten sonra vektörler vasıtasıyla konakçılara aktarılıp, konakçıda proteinin ekspresyonu ve böylelikle enzimin üretimi gerçekleştirilmiştir. Say ve arkadaşları (2015) tarafından patentlenen ANADOLUCA yöntemi ile enzim kafeslenerek daha aktif, kararlı, geniş pH aralıklarına sahip, yüksek sıcaklık değerlerinde bile tekrar tekrar kullanımı mümkün olacak şekilde enzimin ticari olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir. Böylelikle bugün piyasada olan ve yüksek sıcaklıklara uyum sağlayamayan birçok enzim yerine, sanayi ve biyoteknolojik çalışmalarda daha çok tercih edilerek kullanılacak bir nano enzimin ticari olarak üretiminin önü açılmıştır.

Çalışma kapsamında alınan su örneklerinin kimyasal analiz değerleri incelendiğinde; Aksoy *et al.* (2009) yapmış oldukları çalışmada; Balçova bölgesindeki termal su kaynaklarını incelemiş yapılan inceleme sonucunda alınan tüm örneklerin iletkenlik değerlerinin 1000 (mS/cm)'nin üzerinde olduğu ve pH ve kimyasal içeriklerinin ortalamasının ise pH için 7.89, Bakır (Cu) da 17.14, Demir (Fe) de 0.377, Kurşun (Pb) da 1.69, Nitrat (NO_3^{-1}) da 38.5, Amonyum (NH_4^{+1}) da 2.15 ve Nitrit (NO_2^{-1}) de ise 0.007 olduğunu bildirmişlerdir. Negri *et al.* (2018) yaptıkları bir çalışmada Coastal ve Aysen termal su kaynaklarından elde ettikleri suların kimyasal testleri sonucunda iletkenlik değerinin bölgelere göre farklılık gösterdiğini Coastal termal kaynaklardan elde ettikleri sularda iletkenliğin 1000 (mS/cm)'nin üzerinde olduğunu ve pH değerinin ise 6,4 ile 8,4 arasında değiştiğini, Aysen termal kaynaklarından elde ettikleri suların ise iletkenlik değerinin 1000 (mS/cm)'nin altında olduğunu, pH'nın ise 7,9 ile 9,6 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise sadece Hısta termal kaynağından alınan numunelerde iletkenliğin 942,9 (mS/cm) ve pH değerinin 9,1 olduğu, diğer kaynakların tümünde iletkenliğin 1000 (mS/cm)'nin üzerinde, pH'nın ise 6,9 ile 8,5 arasında değiştiği

belirlenmiştir. Alınan kaynakların pH ortalamasının 7.3, kimyasal içeriklerinin ortalamasının ise, Bakır (Cu) da 2.02, Demir (Fe) de 0.931, Kurşun (Pb) da 1.12, Nitrat (NO_3^{-1}) da 0.41, Amonyum (NH_4^{+1}) da 2.043 ve Nitrit (NO_2^{-1}) de ise 0.381 olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre bölgesel olarak sularda kimyasal verilerin değişkenlik gösterdiği ve çalışmamızda diğer literatüre paralel olarak termal su kaynaklarının iletkenlik ve pH değerinin içilebilir su kaynaklarına göre daha yüksek olduğunu söylemek mümkündür.

Gelişen ve sürekli büyüyen dünyada biyoteknolojik yatırımların ve ihtiyaçların giderek artması, endüstriyel enzimlerin gerekliliğini arttırmıştır. Dünyada enzim üretimi konusunda çok az ülkenin kendi üretim çemberi bulunmakta ve bu ürettikleri ürünleri dünya pazarında satmaktadır. Bu sebeple bir enzimin sanayi ve endüstride kullanımı maliyetinin düşük olması, tekrar tekrar kullanılabilirliği, aktivitesinin yüksekliği, ekstrem koşullara dayanabilirliği büyük önem arz etmektedir (Sarıkaya, 1995). Özellikle endüstri ve sanayi alanında kullanılan, geniş bir alana sahip olan enzimlerin birçoğu bakterilerden temel almaktadır. Bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre daha ucuz ve daha verimli olan mikroorganizma kökenli enzimlerin elde edilme aşamaları da çok daha kolay ve uygun olabilmektedir. Bunun yanında endüstri alanında enzimlerin kullanılabilmesi için bu mikrobiyal kaynaklı enzimlerin zararlı etkilerinin de olmaması gerekmektedir (Wiseman and Dalton 1987). Mikrobiyal kaynaklı enzimler, özellikle de ekstremofil organizmalardan elde edilen enzimler bugün pek çok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ekstremofil organizmalar ortamın pH, sıcaklık ve diğer olumsuz faktörlerinden etkilenmeyeceğinden bunların ürettiği enzimlerin kararlılıkları ve aktiviteleri de oldukça yüksek olmaktadır. Termofilik organizmalar da ekstrem şartlara uyum sağlamış mikroorganizmalar olduğundan elverişsiz koşullarda bile kullanılabilir çeşitlilikte ürünler oluşturabilmektedirler. Termofil organizmalardan selüloz, ksilanaz, katalaz, laktaz, lipaz, sükröz, pullulanaz, pektinaz, amilaz, proteaz ve bunun gibi birçok enzim saflaştırılarak ticari olarak üretilmektedir. Bu enzimler tekstil, gıda, deterjan, sanayi, içecek sektörü ve en önemlisi sağlık alanı gibi birçok alanda yaygın olarak da kullanılmaktadır (Niehaus *et al.* 1999). Bu çalışmada izole edilen bakteriler de termofilik özelliklerinden dolayı oldukça kararlı yapıda, yüksek sıcaklık ve ekstrem koşullarda çalışabilen enzimler olması nedeniyle avantajlı konumda değerlendirilmiştir. Bu nedenle çalışmada; endüstri alanında sıklıkla kullanılan ve aranan enzim olan ksilanaz enzimi

üzerine odaklanılmış ve piyasada ticari olarak kullanılabilcek daha yüksek verimli ksilanazların elde edilmesi sağlanmıştır.

Sıcak su kaynakları yanında pek çok ortamdan da izole edilebilen *Bacillus* türleri enzim üretimi açısından büyük önem arz etmektedir. *Bacillus* türleri proteolitik ve karbohidratazların etkin kaynaklarının başında yer almakta ve özellikle nişasta, ekmek, meyve suyu, kâğıt ağartma ve bira yapımı gibi birçok alanda enzim ihtiyacını karşılamaktadır. Bu nedenle *Bacillus* türlerinin sentezledikleri birçok enzim sanayide oldukça farklı pek çok alanda kullanılmaktadır (Niehaus *et al.* 1999). Endüstride yaygın şekilde kullanılan enzimlerin en önemlilerinden biri olan ksilanazın üretiminde her ne kadar bazı funguslar kullanılsa da bakterilerin özellikle de *Bacillus* türlerinin büyük önem arz ettiği bilinmektedir (Gomes *et al.* 2017). *B. cereus* (Roy ve Rowshanul, 2009), *Bacillus sp.* (Hiremath vd. Patil, 2011), *B. subtilis*, *B. licheniformis* ve *Geobacillus thermodenitrificans* gibi pek çok *Bacillus* türünün ksilanaz ürettiği bilinmektedir (Guo *et al.* 2012). *B. subtilis* ticari olarak üretilen ksilanaz enzimi için en çok tercih edilen termofilik *Bacillus* türüdür (Banka *et al.* 2014). Literatürde verilen bu bilgilerle paralel olacak şekilde bizim çalışmamızda da *B. subtilis* izolatu en yüksek aktivite gösteren tür olarak tespit edilmiş olup çalışmalar bu tür üzerinden yürütülmüştür.

Çalışmada termal su kaynaklarından alınan örneklerden bakteriyel izolasyonlar yapılarak tanılanmıştır. Bakterilerin tanılanmasında morfolojik özellikler yanında organizmalar arasında ki filogenetik ilişkileri açığa çıkaran 16S rDNA bilgilerine dayanılarak da filogenetik tanılama yapılmıştır. Bakterilerin genomlarında bazı bölgeler özel olarak korunmuş bölgeler olarak bilinmektedir. Bu bölgeler ribozomun küçük alt birimini oluşturan 16s rRNA, 23s rRNA ve 5s rRNA bölgeleridir. Bakterilerde özellikle bu bölgelerden 16s rRNA bölgesi bakteriler arasındaki çeşitliliğin belirlenmesinde kilit rol oynamaktadır. Aynı zamanda filogenetik sınıflandırmanında temelinde bu korunmuş bölgelerdeki diziliş farklılıkları model olarak kullanılmaktadır (Tortoli 2003). Bu nedenle 16s rRNA geni, bakteriler arasındaki çeşitlilik ve evrimsel bağlantının çözülmesi aşamasında birçok çalışmada araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır (Harmsen and Karch 2004). Bu dizilerin tanılama ve filogenetik sınıflandırmada önemli yer almasının sebebi, bu korunmuş bölgelerin mutasyonlara kapalı olması ve ender durumlarda meydana gelebilecek olası mutasyonların ise çoğunlukla hızlı bir şekilde düzeltilmesi temeline dayanmaktadır. Aynı zamanda bakteriler arasında bu bölgelerin korunur

olmalarından dolayı tüm bakterilerde ortak alan olarak tanımlanmakta ve bu ortak alanlar içerisindeki değişimler bakterilerin tanımlanması ve birbirleri ile benzerlik ve farklılıklarının tespit edilmesine imkân sağlamaktadır (Woese 1987). Bu amaçla, 16s rRNA gen bölgesinin evrensel primerlerle PCR amplifikasyonu sonucunda elde edilen genlerin baz dizilimleri analiz edilerek var olan türler ile karşılaştırılmakta ve böylece bakterilerin tür tanısı yapılarak filogenetik olarak sınıflandırılmaktadır (Hakovirta *et al.* 2016). 16S rRNA bölgelerinin tanılamada başarılı olduğuna dair pek çok çalışma yapılmıştır. Bavykin *et al.* (2004) yapmış oldukları çalışmada *B. cereus* grupları arasındaki farklılıkları belirlemek için 183 türün 16s rRNA bölgelerini, 74 türün de 23s rRNA bölgesinin dizisini analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda *Bacillus anthracis*'in *B. cereus* grubundaki diğer mikroorganizmalardan (*B. cereus*, *B. thuringiensis* ve *B. mycoides*) ayırımında bu yöntemlerin etkili olduğunu vurgulamışlardır. Hakovirta *et al.* (2016) benzer şekilde yapmış oldukları çalışmada farklı bölgelerden elde ettikleri 50 farklı izolatın 16s rRNA genlerinin analizi ile *B. cereus* grubu, bunların da; *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides* ve *B. thuringiensis* izolatlarından oluştuğunu tespit etmişlerdir (Hakovirta *et al.* 2016). Bu çalışmada da bakterilerin tür tanımlarında 16s rRNA gen bölgesi hedef alınarak tanılamalar gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda izole edilen bakterilerden gDNA izolasyonları yapılarak türlerin 16s rRNA dizi sekansları yapılmıştır. Bu sekans sonucu elde edilen diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında taranarak bakterilerin tanımları gerçekleştirilmiştir. Buna göre çalışmamızda 5 farklı tür (*B. coagulans*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis* ve *Geobacillus kaustophilus* türleri) tanımlanmıştır. Yalnız *B. thuringiensis* (BTX53, BTX54, BTX55, BTX56, BTX57, BTX58, BTX59, BTX72, BTX73, BTX79) olarak tanımlanmış ve termofilik özellik göstermiş bu izolatların yüksek sıcaklıklarda elde edilmiş olması literatür bilgileriyle örtüşmemektedir. Termofilik *B. thuringiensis* izolatları varlığı belirlenmemiştir. Bu kapsamda bu 10 izolatın yeniden değerlendirilmesi uygun görülmüştür.

Adıgüzel *et al.* (2009) yaptıkları çalışmada Türkiye'deki çeşitli termal su kaynaklarından izole ettikleri izolatları 16s rRNA dizi analizleri kullanarak tanımlamışlardır. Çalışmalarının sonucunda elde ettiği izolatların *Geobacillus*, *Anoxybacillus* ve *Bacillus sp.* izolatlarına % 97- 99 oranında yakınlık gösterdiklerini bildirmişlerdir. Acar (2009) yapmış olduğu çalışmasında, Van Hasanabdal sıcak su kaynaklarından çeşitli bakteri izolasyonları yapmış ve elde ettiği bakterilerin 16s rRNA

gen dizisini PGEMT vektörüyle *E.coli*'ye transforme etmiştir. *E. coli*'ye klonlanan dizilerin sekans analizi sonucunda, izole edilen türlerin *B. licheniformis*, *Brevibacillus brevis*, *Geobacillus pallidus*, *Brevibacillus borstelensis* ve *B. pumilus* olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da aynı bölgeden alınan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda *B. licheniformis* türü belirlenmiş, diğer belirtilen türlere ise rastlanmamıştır. Pirinccioglu (2010) yapmış olduğu çalışmada Dargeçit ve Güçlükönak bölgesindeki termal su kaynaklarından elde ettiği su ve çamur örneklerinden yaptığı izolasyonlar sonucunda tanılama aracı olarak 16s rRNA gen bölgelerini sekanslamış ve sekans analizi sonucunda *Geobacillus* cinsine ait izolatlar tanılamıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde Dargeçit ve Güçlükönak bölgesinden alınan izolatların 16s rRNA gen bölgesinin sekans analizi sonucunda *Geobacillus kaustophilus* türüne % 100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda;

Bakteri tanılamalarının ardından, izolatlar arasında ksilanaz enzimi için aktivite testleri gerçekleştirilmiş olup yapılan testler sonucunda *B. subtilis* BTX6 izolatının diğer türlere nazaran daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiş ve çalışmaya bu izolat ile devam edilmiştir (Çizelge 4.5). Ağrı Diyadin'den izole edilen ve ekstrem şartlarda üreyebilme yeteneğine sahip olan *B. subtilis* izolatının Gram +, sporlu ve hücre morfolojisinde de basil şeklinde zincirler oluşturduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Çalışmanın bir sonraki aşamasında enzim aktivitesi yüksek olan *B. subtilis* BTX6' dan ksilanaz geni alınarak rekombinant olarak üretilmiştir. Bu amaçla klonlama vektörü olarak PGEMTeasy, plazmit izolasyon aşamasında restriksiyon enzimi olarak XbaI ve KpnI (Fermentas 10,000 u/ml), konakçı olarak ise *E.coli* DH5- α ırkı kullanılmıştır. Ekspresyon aşamasında ise restriksiyon enzimi olarak SalI ve HindIII, vektör olarak pET 16b vektörü, konakçı olarak da *E. coli* Rosetta ırkı kullanılmıştır. Rekombinant olarak üretilen enzim SDS PAGE ve Western Blot ile analiz edilmiş, SDS PAGE sonucunda enzimin 71 kDa olduğu tespit edilmiştir.

Yang *et al.* (1988) yaptıkları çalışmada, *B. polymyxa*'dan elde ettikleri ksilanaz geninden rekombinant ksilanaz enzimi üretmek için öncelikle, restriksiyon enzimleri olarak EcoRI, HindIII, ve BamHI kullanmışlardır. Klonlama vektörü olarak pBR322 ve konakçı olarak da *E. coli* kullanmışlardır. Ekspresyon vektörüne aktarılan insört BamHI-EcoRI restriksiyon enzimleri aracılığı ile pUC19 vektörüne aktarılmış ve *E. coli*'de protein saflaştırılması yapılmıştır. Bai *et al.* (2015) yapmış oldukları çalışmada bazı

alkalifik *Bacillus* türlerinde ksilanaz enzimini elde etmek istemişlerdir. Klonlama aşamasında izole edilen ksilanaz geni klonlama vektörü olan pUC18' in defosforile BamHI bölgesine lige edilerek *E. coli* DH5 α 'ya transforme edilmiştir. Ekspresyon aşamasında ise Rekombinant plazmid izole edilmiş, ilgili gen bölgesi pET28a-xyn11A vektörüne lige edilmiş ardından da *E. coli* BL21 (DE3)' ye transforme edilip protein üretimi sağlanmıştır. Saflaştırılan enzimin SDS-PAGE' deki moleküler ağırlığının 27 ile 43 kDa arasında olduğu bildirilmiştir. Zafar *et al.* (2016) yapmış oldukları bir çalışmada; *B. licheniformis* 9945A'nın ksilanaz genini (xynA) klonlamışlardır. Burada pET-22b'nin (+) vektörünün NdeI ve HindIII bölgelerinde lige edilmiş sonrasında *E. coli* BL21(DE3) konakçısında üremeleri sağlanmıştır. *E. coli* BL21 ekspresyon konakçısında ise protein üretimi yapılmıştır. Saflaştırılmış ksilanazın moleküler ağırlığı, SDS-PAGE ile belirlenmiş ve 23 kDa olarak bildirilmiştir.

Sunna and Antranikian (1997) yapmış oldukları çalışmada; *B. subtilis* izolatlarından elde edilen ksilanaz enzimlerinin moleküler ağırlıklarının yaklaşık olarak 8 ile 145 kDa arasında değişkenlik gösterdiğini bildirmişlerdir. *Bacillus* türlerindeki ksilanaz enziminin moleküler ağırlıkları ile yapılan çalışmalarda genellikle farklı değerlerde sonuçlar rapor edilmiştir (Kulkarni vd., 1999). Sa Pereira *et al.* (2002) bazı *B. subtilis* izolatlarından elde edilen ksilanaz enziminin molekül ağırlığını 340 kDa olarak bildirmişlerdir. Ryan *et al.* (2003) yapmış oldukları çalışmada, *Penicillium capsulatum* fungusundan izole edilen ksilanaz enziminin moleküler ağırlığının 22 kDa, *Aspergillus fumigatus*'dan elde edilen enzim ise 212 kDa moleküler ağırlığında olduğunu belirtmişlerdir. Lama *et al.* (2004) çalışmış oldukları bazı *Bacillus sp.* izolatlarının moleküler ağırlığının 24 ile 45 kDa arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Aygan (2008)'da yapmış olduğu çalışmasında bazı *Bacillus* türlerinden elde edilen ksilanaz enziminin molekül ağırlıklarını 108, 95, 80 ve 68 kDa olarak bildirmiştir. Bu veriler ksilanaz enziminin moleküler ağırlığının farklı türlerde hatta aynı tür içerisinde bile farklılıklar gösterebildiğini izah etmiştir.

Çolak (2011) çalışmasında Kitosan immobilizasyonu ile saflaştırılan paraoksonaz enzimini immobilize ederek enzimin bağlanma yüzdesini % 68, katalitik etki değerini ise 3,2229 olarak belirlemiştir. K_m ve V_{max} miktarları Lineweaver-Burk ile hesaplandığında; Paraoksonaz enziminin saf halinin 1,067 mM ve 125 U/ml dakika, immobilize enzimin ise 1,755 mM ve 181 U/ml dakika olarak belirlemiştir. Saf enzim ve immobilize

paraoksonaz enziminin benzer optimum (25-45 °C) ve pH (7.0) değerler gösterdiğini belirtmiştir.

Çalışmamızda rekombinant olarak üretilen enzimi nano rekombinant bir enzim olarak üretmek suretiyle kontrollü, üretimi kolay, kararlı, maliyeti düşük ürün elde edilmesi sağlanmıştır. Bu amaçla rekombinant teknoloji ile elde edilen ürün ANADOLUCA metodu ile nanobiyokonjugat halinde sentezlenmiş ve böylelikle nano-ksilanaz'ın uzun süre ve dış ortam koşullarına dayanabilirliği ve uzun soluklu kullanılabilirliği sağlanmıştır. Zeta boyut analizinde rekombinant olarak üretilen nano-ksilanazın boyutunun 422,6 nm olduğu görülmüştür. Karşılaştırmada rekombinant ksilanaz proteinin boyutunun 400,3 nm olduğu belirlenmiştir. CD spektrumlarına bakıldığında α -heliks yapıları ve β katlanmaları ile nano yapıya ait aromatik yapı bantları gözlenmiş ve bundan dolayı ikincil yapısının korunduğu ve aktif kaldığı gözlenmiştir. Yine ANADOLUCA yöntemi ile kafeslenen rekombinant nano enzim, rekombinant enzim ile kıyaslanmış benzer pH (7.0) ve substrat konsantrasyonlarına sahip oldukları, sıcaklık değerinde ise rekombinant enzimin optimum sıcaklık değerinin 68°C, rekombinant nano enzimin ise optimum sıcaklık eğerinin 75°C olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda rekombinant enzim için V_{max} değeri 5,691 (EU/mL. dk.), K_m değeri ise 2,298 (mM), Rekombinant nano enzim için ise V_{max} değeri 6,195 (EU/mL. dk.), K_m değeri ise 2,402 (mM) olarak belirlenmiştir. Bunun yanında metal iyonlarına karşı ise rekombinant nano enzimin daha fazla aktivite gösterdiği görülmüştür.

Abdel-Naby (1993) yapmış oldukları çalışmada; *Aspergillus niger* NRC 107'dan elde edilen ksilanaz ve β -ksilosidaz enzimlerinin çeşitli taşıyıcılar üzerinde fiziksel adsorpsiyon, kovalent bağlama, iyonik bağlama ve tuzaklanma gibi farklı immobilizasyon yöntemleri ile immobilize edilmiştir. Hareketsizleştirilmiş enzimler, tanen-kitosan üzerinde fiziksel adsorpsiyon, Dowex-50W üzerine iyonik bağlanma, kitosan boncuklarında glutaraldehit ile kovalent bağlanma ve poliakrilamid içerisine enjekte etme yoluyla en yüksek aktiviteleri elde etmişlerdir. İmmobilize olmayan ksilanazın optimum reaksiyon sıcaklığı, immobilizasyon sonrası 50 °C'den 52.5 °C - 65°C'ye çıkarken, immobilize β -ksilosidazın reaksiyon sıcaklığının 45 °C'den 50-60 °C'ye ulaştığını bildirmişlerdir.

Dusterhoft *et al.* (1997) yaptıkları çalışmada; pH 7.0'de *Sulfolobus solfataricus*'tan elde ettikleri ksilanaz enziminin optimum aktiviteye sahip olduğunu, Breccia *et al.* (1998) *B. amyloliquefaciens*'den izole edilen ksilanaz enziminin optimum aktivitesini çeşitli pH aralıkları ve sıcaklıklarda örneğin; pH 9.0'da % 71 oranında, pH 10.0'da ise % 43'e kadar koruduğunu, Dhillon *et al.* (2000) *B. circulans* ksilanaz enzimlerinin 50 °C'de, pH 8.0' de 10 dk. boyunca orijinal aktivitesinin % 60'a kadar korunduğunu, Cordeiro *et al.* (2002) ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği pH aralığının çeşitli termofilik *Bacillus sp.* türlerinde pH 6.5-7.0 arasında olduğunu ve aktivitenin pH 7.0 ve üzerinde gittikçe düştüğünü, Waino and Ingvorsen (2003) *Humicola insolens*'ten elde edilen ksilanaz enziminin optimum çalışma ve aktivite değerinin pH 6.0-6.5 aralığında olduğunu, Cannio *et al.* (2004) *Halorhabdus utahensis* izolatından elde ettikleri ksilanaz enziminin optimum aktivitesinin pH 7.0'de olduğunu, Kumar *et al.* (2004) alkali ortamda yaşayan *Bacillus*'ların optimum aktivite gösterdiği değerin pH 8.0 olduğunu, Annamalai *et al.* (2009) nehir suyu kenarından izole ettikleri *B. subtilis*'den izole edilen ksilanazın 7.0-10.0 pH aralığında en yüksek enzim üretim seviyesine 36 ile 48. saatlerde ulaştığını, Kamble *et al.* (2012) termofilik ortamdan izole edilen bazı *Bacillus* türlerinde üretilen ksilanaz enziminin aktivite aralıklarının pH 6.0-10.0 değerleri arasında değiştiğini, İrfan *et al.* (2016) *B. subtilis* ve *B. megaterium* ksilanazlarının optimum aktivite gösterdikleri üreme periyodunun sırasıyla 48. ve 72. saatte gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda farklı türler tarafından elde edilen ksilanazların *Penicillium capsulatum* türünde optimum pH değerinin 3.8, *Fusarium proliferatum*'da pH aralığının 5.0 - 5.5 ve *Aspergillus fumigatus*'da pH aralığının ise 6.0 ile 6.5 arasında değiştiğini göstermişlerdir (Saha 2002; Anthony *et al.* 2003). Yine literatürde optimum aktivitenin farklı pH (5.0, 5.5, 5.6, 6.0, 6.5 ve 7.0) aralıklarında olduğu bazı *Bacillus* türleri de rapor edilmiştir (Gallardo *et al.* 2004; Avcioglu *et al.* 2005). Bunun yanında Bhakyaraj *et al.* (2014) çeşitli pH aralıklarında ksilanaz aktivitesi gösteren, hem asidik hem de nötr şartlarda yapısı bozulmadan kalan ksilanazlar bildirmişlerdir. Ammoneh *et al.* (2014) yapmış oldukları çalışmada; alkali ortamlarda enzimin kararlılığının yüklü aminoasit artıklarından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Kararlı yapıdaki enzimlerde asidik yapılarında azalma, arjinin miktarında ise bir artış meydana geldiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada total aktivitede yüksek aktivite değeri gösteren *B. subtilis* BTX6 izolatının rekombinant ksilanaz ve aynı şekilde rekombinant nano ksilanazında optimum enzim aktivitesinin pH 7.0' de gerçekleştiği tespit edilmiş olup bu değer literatür bilgileriyle pek çok çalışmada benzer şekilde olduğu

görülmüştür. Çalışma sonucunda elde edilen enzimin bu sonuç itibari ile yem endüstrisinde, kâğıt endüstrisinde, ekmek yapımında ve diğer alanlarda da rahatlıkla uyum sağlayacak ideal pH özelliğinde olduğu düşünülmektedir.

Literatürde yapılan gözlemlerde ksilanaz enziminin aktivitesinin farklı sıcaklık skalalarında olduğu gözlemlenmiştir. Enzimler bazı proseslerde yüksek sıcaklıklarda ihtiyaç duyulması ve bu enzimlerinde bu yüksek sıcaklıklarda aktivite göstermeleri, ısı işlem uygulanmaları gerektiren bazı çalışmalarda istenilen ve arzulanan durumlardır. Bu nedenle termofilik ortamda aktivite gösteren enzimler mezofilik olanlara göre daha çok tercih edilme nedeni olmuşlardır. Breccia *et al.* (1998) çalışmalarında *Bacillus sp.* izolatlarının ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdikleri sıcaklıkların 60 °C ile 80 °C arasında olduklarını, Cordeiro *et al.* (2002) 90 °C’de optimum ksilanaz aktivitesi gösteren termofilik bazı *Bacillus sp.* türleri olduğunu bildirmişlerdir. Yine bazı çalışmalarda halofilik bakterilerden elde edilen ksilanaz enzimlerinin yaklaşık olarak 50 °C ile 90 °C arasındaki sıcaklıklarda optimum aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Dusterhoft *et al.* 1997; Wejse *et al.* 2003). Bazı mantar ve türevlerinde ise ksilanaz enziminin optimum aktivite gösterdiği sıcaklık değerinin 45 °C ile 60 °C arasında değiştiği rapor edilmiştir (Anthony *et al.* 2003; Ryan *et al.* 2003). Konsula and Liakopoulou-Kyriakides (2004) yapmış oldukları bir çalışmada; koyun sütünden orta derecede termofilik *B. subtilis* izolatları izole etmişlerdir. Elde ettikleri bu *B. subtilis* izolatından rekombinant hücre dışı a-amilaz üretmişlerdir. *In vitro* ortamda bu enzimin pH 6.5’da ve 135 °C’de bile kalsiyum ve nişasta varlığında aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Termofilik ortamlardan izole edilen bazı *Bacillus* türlerinin 40 °C ile 60 °C arasındaki sıcaklıklarda optimum ksilanaz aktivitesi gösterdikleri bildirilmiştir (Bernier *et al.* 1983, Pham *et al.* 1998a; Lama *et al.* 2004; Poorna and Prema 2006, Guo *et al.* 2012, Kamble and Jadhav 2012, Ammoneh *et al.* 2014). Çalışmamızda ise *B. subtilis* izolatından elde edilen ksilanaz enziminin rekombinant ksilanaz ve rekombinant nano ksilanaz enzimlerinin yapılan farklı sıcaklık (37 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C ve 90 °C) aralıklarındaki aktivite testi sonucunda, optimum enzim aktivitesinin rekombinant ksilanaz enzimi için 68 °C’de, rekombinant nano ksilanaz için ise 75 °C’de olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar literatüre bakıldığında bazı çalışmalara benzer niteliktedir. Ayrıca rekombinant nano ksilanaz formunda çok daha yüksek sıcaklıkta aktivite göstermesi bu metodun enzimlerin aktivitesini de ekstrem koşullara taşıdığını göstermiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda, *Bacillus* türlerinde genel olarak HgCl_2 'nin inhibitör etkiye neden olduğu ve ksilanaz enziminin Hg^{+2} iyonları tarafından inhibisyonunun nedenin ise Hg^{+2} iyonlarının sistinin sülfidril grupları ile temas içerisinde olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Khasin *et al.* 1993, Gessesse 1998, Faulet *et al.* 2006, Khandeparkar and Bhosle 2006, Gaur *et al.* 2015). Yine pek çok metal iyonlarının enzim aktivitesi üzerine etkileri (CaCl_2 , MgCl_2 , MgSO_4 , ZnSO_4 ve CoCl_2 ve Mn^{+2}) de pek çok araştırmacı tarafından araştırılmıştır (Khasin *et al.* 1993; Gessesse 1998; Annamalai *et al.* 2009; Gaur *et al.* 2015). Bazı çalışmalarda ksilanaz aktivitesinin Ca^{+2} ve MgCl_2 ile etkileşimde inhibe oldukları bildirilmiştir (Gessesse 1998; Faulet *et al.* 2006). Bizim çalışmamızda rekombinant ksilanaz ve rekombinant Nano ksilanaz enzimlerinin MgSO_4 , CuSO_4 , CaCl_2 , ZnSO_4 ve FeSO_4 gibi metal iyonlarının varlığında farklı tepkiler verdiği görülmüştür. Bu farklı tepkilerin metal iyonlarının rekombinant ksilanaz enzimi için MgSO_4 (% 80), CuSO_4 (% 57), CaCl_2 (% 74), ZnSO_4 (% 5) ve FeSO_4 (% 72), rekombinant nano ksilanaz enzimi için ise MgSO_4 (% 85), CuSO_4 (% 71), CaCl_2 (% 85), ZnSO_4 (% 50) ve FeSO_4 (% 94) farklı rölatif aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumun sadece ksilanazın ksilan bağ alanına değil, substratın hidrolizi ile ilgili olan non-katalitik ksilan bağlanma bölgesini de etkilemiş olmasından dolayı olabileceği rapor edilmiştir (Ratanakhanokchai *et al.* 1999). Yine çalışmamızın sonuçları incelendiğinde metal iyonlarının indirgeyici etkisinin rekombinant nano ksilanaz enzimlerinin aktiviteleri üzerinde etkili olmadığı ve rekombinant ksilanaz ile karşılaştırıldığında aktivitesinin arttığını söylemek mümkündür.

Ksilanaz enzimi ile ilgili yapılan çalışmalarda; Heck *et al.* (2002) *B. subtilis* BL53 izolatının 72 saatlik inkübasyonunun ardından ksilanaz aktivitesini 5.19 UI/mg olarak, Menon *et al.* (2010) saflaştırmış oldukları *B. pumilus* GESF1 ksilanazının aktivitesini 21.21 kat oranında yükselterek 112.42 U/mg olarak, Kapilan (2016) ise *B. subtilis* BS166 ksilanazının ham aktivite değerini 32.14, saflaştırılmış spesifik aktivite değerini ise 212.5 U/mg-1 olarak bildirmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise *B. subtilis* rekombinant nano ksilanazın spesifik aktivite değerinin rekombinant olarak üretilen ksilanaza ve literatürde verilen değerlere göre oldukça yüksek olduğu (1898 U/mg) tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu değerler göz önüne alınarak rekombinant nano ksilanazın, endüstriyel kullanım için oldukça uygun olduğunu söylemek mümkündür.

KAYNAKLAR

- Abdel-Naby, M.A., 1993. Immobilization of *Aspergillus niger* NRC 107 xylanase and β -xylosidase, and properties of the immobilized enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 38 (1), 69-81.
- Abdulla, J.M., Rose, S.P., Mackenzie, A.M. and Pirgozliev, V.R., 2017. Feeding value of field beans (*Vicia faba* L. var. minor) with and without enzyme containing tannase, pectinase and xylanase activities for broilers. *Archives of Animal Nutrition*, 71 (2), 150-164.
- Acar, S., 2009. Hasanabdal Köyü Termal Tesislerinden Alınan Su Örneklerinden Ėzole Edilen Termofilik Bakterilerin Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Adiguzel, A., Ozkan, H., Baris, O., Inan, K., Gulluce, M. and Sahin, F., 2009. Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. *Journal of Microbiological Methods*, 79 (3), 321-328.
- Aehle, W., 2007. *Enzymes in industry: production and applications*. John Wiley & Sons.
- Akcan, N., 2011. High level production of extracellular beta-galactosidase from *Bacillus licheniformis* ATCC 12759 in submerged fermentation. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (26), 4615-4621.
- Aksoy, N., Simsek, C. and Gunduz, O., 2009. Groundwater contamination mechanism in a geothermal field: A case study of Balçova, Turkey. *Journal of Contaminant Hydrology*, 103 (1-2), 13-28.
- Alvarez-Cervantes, J., Dominguez-Hernandez, E.M., Mercado-Flores, Y., O'Donovan, A. and Diaz-Godinez, G., 2016. Mycosphere Essay 10: Properties and characteristics of microbial xylanases. *Mycosphere*, 7 (10), 1600-1619.
- Amerah, A.M., Romero, L.F., Awati, A. and Ravindran, V., 2017. Effect of exogenous xylanase, amylase, and protease as single or combined activities on nutrient digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. *Poultry Science*, 96 (4), 807-816.
- Ammonieh, H., Harba, M., Akeed, Y., Al-Halabi, M., Bakri, Y., Isolation and identification of local *Bacillus* isolates from xylanase biosynthesis. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(2): 127-132. 2014
- Anbarasan, S., Wahlstrom, R., Hummel, M., Ojamo, H., Sixta, H. and Turunen, O., 2017. High stability and low competitive inhibition of thermophilic *Thermopolyspora flexuosa* GH10 xylanase in biomass-dissolving ionic liquids. *Applied microbiology and biotechnology*, 101 (4), 1487-1498.
- Annamalai, N., Thavasi, R., Jayalakshmi, S. and Balasubramanian, T., 2009. Thermostable and alkaline tolerant xylanase production by *B. subtilis* isolated from marine environment. *Indian Journal of Biotechnology*, 8 (3), 291-297.
- Anthony, T., Raj, K.C., Rajendran, A. and Gunasekaran, P., 2003. High molecular weight cellulase-free xylanase from alkali-tolerant *Aspergillus fumigatus* AR1. *Enzyme and Microbial Technology*, 32 (6), 647-654.
- Avcioglu, B., Eyupoglu, B. and Bakir, U., 2005. Production and characterization of xylanases of a *Bacillus* strain isolated from soil. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 21 (1), 65-68.
- Aygan A., Haloalkalofil *Bacillus* sp. İzolasyonu, Amilaz, Selüloz ve Ksilanaz Enzimlerinin Üretimi, Karakterizasyonu ve Biyoteknolojik Uygulamalarda Kullanılabilirliği, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008

- Ayhan, K., 2000. Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Yayını, 43-44. Sim Matbaacılık Ltd. Ankara.
- Ayyachamy, M. and Vatsala, T.M., 2007. Production and partial characterization of cellulase free xylanase by *B. subtilis* C 01 using agriresidues and its application in biobleaching of nonwoody plant pulps. *Letters in Applied Microbiology*, 45 (5), 467-472.
- Bai, W.Q., Xue, Y.F., Zhou, C. and Ma, Y.H., 2015. Cloning, expression, and characterization of a novel alkali-tolerant xylanase from alkaliphilic *Bacillus* sp SN5. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 62 (2), 208-217.
- Banka, A.L., Guralp, S.A. and Gulari, E., 2014. Secretory Expression and Characterization of Two Hemicellulases, Xylanase, and beta-Xylosidase, Isolated from *B. subtilis* M015. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174 (8), 2702-2710.
- Battan, B., Dhiman, S.S., Ahlawat, S., Mahajan, R. and Sharma, J., 2012. Application of Thermostable Xylanase of *Bacillus pumilus* in Textile Processing. *Indian Journal of Microbiology*, 52 (2), 222-229.
- Bavykin, S.G., Lysov, Y.P., Zakhariev, V., Kelly, J.J., Jackman, J., Stahl, D.A. and Cherni, A., 2004. Use of 16S rRNA, 23S rRNA, and gyrB gene sequence analysis to determine phylogenetic relationships of *Bacillus cereus* group microorganisms. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (8), 3711-3730.
- Beg, Q.K., Kapoor, M., Mahajan, L. and Hoondal, G.S., 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 56 (3-4), 326-338.
- Bernard, K., Burdz, T., Wiebe, D., Balcewich, B.M., Zimmerman, T., Lagace-Wiens, P., Hoang, L.M.N. and Bernier, A.M., 2017. Characterization of isolates of Eisenbergiella tayi, a strictly anaerobic Gram-stain variable *Bacillus* recovered from human clinical materials in Canada. *Anaerobe*, 44, 128-132.
- Bernier, R., Desrochers, M., Jurasek, L. and Paice, M.G., 1983. Isolation and Characterization of a Xylanase from *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 46 (2), 511-514.
- Bhakyaraj, R., Isolation, production and characterization of xylanase from *Bacillus* sp. isolated from soil samples. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research*, 1(1): 41-51. 2014.
- Bilgehan, H., 1995, *Bacillus* Genusu: Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, 529-532, İzmir.
- Blanco, A., Vidal, T., Colom, J.F. and Pastor, F.I.J., 1995. Purification and Properties of Xylanase-a from Alkali-Tolerant *Bacillus* sp Strain Bp-23. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (12), 4468-4470
- Bocchini, D.A., Gomes, E. and Da Silva, R., 2008. Xylanase production by *Bacillus circulans* D1 using maltose as carbon source. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 146 (1-3), 29-37.
- Breccia, J.D., Sineriz, F., Baigori, M.D., Castro, G.R. and HattiKaul, R., 1998. Purification and characterization of a thermostable xylanase from *Bacillus amyloliquefaciens*. *Enzyme and Microbial Technology*, 22 (1), 42-49.
- Buchanan, R.E., 1994. An Aid to Formation of Bacterial Names - Chemical Terminology and Microbiological Nomenclature. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44 (3), 588-590.
- Canakci, S., Kacagan, M., Inan, K., Belduz, A.O. and Saha, B.C., 2008. Cloning, purification, and characterization of a thermostable alpha-L-arabinofuranosidase

- from *Anoxybacillus kestanbolensis* AC26Sari. Applied microbiology and biotechnology, 81 (1), 61-68.
- Cannio, R., Di Prizito, N., Rossi, M. and Morana, A., 2004. A xylan-degrading strain of *Sulfolobus solfataricus*: isolation and characterization of the xylanase activity. Extremophiles, 8 (2), 117-124.
- Cano-Ramirez, C., Santiago-Hernandez, A., Rivera-Orduna, F.N., Pineda-Mendoza, R.M., Zunga, G. and Hidalgo-Lara, M.E., 2017. One-step zymogram method for the simultaneous detection of cellulase/xylanase activity and molecular weight estimation of the enzyme. Electrophoresis, 38 (3-4), 447-451.
- Çetinkaya, E., Ayhan, K., Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler. Karaelmas Science and Engineering Journal, 2(1): 53-62. 2012.
- Chao, A., Jiang, N., Yang, Y., Li, H.Y. and Sun, H.Z., 2017. A Ni-NTA-based red fluorescence probe for protein labelling in live cells. Journal of Materials Chemistry B, 5 (6), 1166-1173.
- Chaudhary, H., Chaudhary, V., Kasana, H., Production and partial purification of xylanase from *Bacillus pumilus*. International Journal of Multidisciplinary Research and Development, 2(10): 396-400. 2015
- Chong, L., 2001. Molecular cloning - A laboratory manual, 3rd edition. Science, 292 (5516), 446-446.
- Choudhury, B., Chauhan, S., Singh, S.N. and Ghosh, P., 2006. Production of xylanase of *Bacillus coagulans* and its bleaching potential. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 22 (3), 283-288.
- Chutani, P. and Sharma, K.K., 2016. Concomitant production of xylanases and cellulases from *Trichoderma longibrachiatum* MDU-6 selected for the deinking of paper waste. Bioprocess and Biosystems Engineering, 39 (5), 747-758.
- Çolak U., İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin Kitosan Üzerine İmmobilizasyonu ve Karakterizasyonu Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011
- Collins, T., Gerday, C. and Feller, G., 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. FEMS microbiology reviews, 29 (1), 3-23.
- Con, A. H. ve Gökalg, H. Y. 1997. Gıda Mikrobiyolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Notları Yayın no: 007, 23 s. Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi. Denizli.
- Cordeiro, C.A.M., Martins, M.L.L., Luciano, A.B. and da Silva, R.F., 2002. Production and properties of xylanase from thermophilic *Bacillus* sp. Brazilian Archives of Biology and Technology, 45 (4), 413-418.
- Damiano, V.B., Bocchini, D.A., Gomes, E. and Da Silva, R., 2003. Application of crude xylanase from *Bacillus licheniformis* 77-2 to the bleaching of eucalyptus Kraft pulp. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 19 (2), 139-144.
- Davoodi, J., Wakarchuk, W.W., Surewicz, W.K. and Carey, P.R., 1998. Scan-rate dependence in protein calorimetry: The reversible transitions of *Bacillus circulans* xylanase and a disulfide-bridge mutant. Protein Science, 7 (7), 1538-1544.
- Dhillon, A. and Khanna, S., 2000. Production of a thermostable alkali-tolerant xylanase from *Bacillus circulans* AB 16 grown on wheat straw. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 16 (4), 325-327.
- Dhillon, A., Gupta, J.K. and Khanna, S., 2000. Enhanced production, purification and characterisation of a novel cellulase-poor thermostable, alkalitolerant xylanase from *Bacillus circulans* AB 16. Process Biochemistry, 35 (8), 849-856.
- Dusterhoft, E.M., Linssen, V.A.J.M., Voragen, A.G.J. and Beldman, G., 1997. Purification, characterization, and properties of two xylanases from *Humicola insolens*. Enzyme and Microbial Technology, 20 (6), 437-445.

- Ekinci, A.P., Dincer, B., Baltas, N. and Adiguzel, A., 2016. Partial purification and characterization of lipase from *Geobacillus stearothermophilus* AH22. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31 (2), 325-331.
- Eren-Kıran Ö., Çömlekçioğlu, U., Dostbil N. 2006. Bazı Mikrobiyal Enzimler ve Endüstrideki Kullanım Alanları. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9 (1).
- Faulet, B.M., Niamke, S., Gonnety, J.T. and Kouame, L.P., 2006. Purification and biochemical properties of a new thermostable xylanase from symbiotic fungus, *Termitomyces* sp. *African Journal of Biotechnology*, 5 (3), 273-282.
- Fukusaki, E., Panbangred, W., Shinmyo, A. and Okada, H., 1984. The Complete Nucleotide-Sequence of the Xylanase Gene (Xyna) of *Bacillus pumilus*. *Febs Letters*, 171 (2), 197-201.
- Gallardo, O., Diaz, P. and Pastor, F.I.J., 2004. Cloning and characterization of xylanase A from the strain *Bacillus* sp BP-7: Comparison with alkaline pI-low molecular weight xylanases of family 11. *Current Microbiology*, 48 (4), 276-279.
- Gamerith, G., Groicher, R., Zeilinger, S., Herzog, P., Kubicek, C.P., 1992. Cellulase-Poor Xylanases Produced by *Trichoderma reesei* RUTC-30 on Hemicellulase Substrates. *Appl Microbiol Biotechnol.* 38: 315-322
- Gangadhar C vd. 2013. "Isolation and Characterization of B-Galactosidase Producing *B. subtilis* From Milk" *World Journal of Pharmaceutical research* Volume 3, Issue 1, 597-618. ISSN 2277 – 7105
- Garg, G., Mahajan, R., Kaur, A. and Sharma, J., 2011. Xylanase production using agro-residue in solid-state fermentation from *Bacillus pumilus* ASH for biodelignification of wheat straw pulp. *Biodegradation*, 22 (6), 1143-1154.
- Gaur, R., Tiwari, S., Rai, P. and Srivastava, V., 2015. Isolation, Production, and Characterization of Thermotolerant Xylanase from Solvent Tolerant *Bacillus vallismortis* RSPP-15. *International Journal of Polymer Science*.
- Gessesse, A., 1998. Purification and properties of two thermostable alkaline xylanases from an alkaliphilic *Bacillus* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (9), 3533-3535.
- Gilbert, H.J. and Hazlewood, G.P., 1993. Bacterial Cellulases and Xylanases. *Journal of General Microbiology*, 139, 187-194.
- Gomes, K.D., Maitan-Alfenas, G.P., de Andrade, L.G.A., Falkoski, D.L., Guimares, V.M., Alfenas, A.C. and de Rezende, S.T., 2017. Purification and Characterization of Xylanases from the Fungus *Chrysosporthe cubensis* for Production of Xylooligosaccharides and Fermentable Sugars. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 182 (2), 818-830.
- Gong, W.L., Zhang, H.Q., Tian, L., Liu, S.J., Wu, X.Y., Li, F.L. and Wang, L.S., 2016. Determination of the modes of action and synergies of xylanases by analysis of xylooligosaccharide profiles over time using fluorescence-assisted carbohydrate electrophoresis. *Electrophoresis*, 37 (12), 1640-1650.
- Güneri, K.G., Dağlıoğlu, O. 2008. Ksilanaz Enziminin Ekmek Yapımında Kullanımı. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Guo, G., Liu, Z.C., Xu, J.F., Liu, J.P., Dai, X.Y., Xie, D.P., Peng, K.Q., Feng, X.Y., Duan, S.W., Zheng, K., Cheng, L.F. and Fu, Y.G., 2012. Purification and characterization of a xylanase from *B. subtilis* isolated from the degumming line. *Journal of Basic Microbiology*, 52 (4), 419-428.
- Hakovirta, J.R., Prezioso, S., Hodge, D., Pillai, S.P. and Weigel, L.M., 2016. Identification and Analysis of Informative Single Nucleotide Polymorphisms in 16S rRNA Gene Sequences of the *Bacillus cereus* Group. *Journal of Clinical Microbiology*, 54 (11), 2749-2756.

- Harmsen, D. and Karch, H., 2004. 16S rDNA for diagnosing pathogens: a living tree. *Asm News*, 70 (1), 19-24.
- Heck, J.X., Hertz, P.F., and Ayub, M.A.Z. Cellulase And Xylanase Production By Isolated Amazon *Bacillus* Strains Using Soybean Industrial Residue Based Solid-State Cultivation. *Brazilian Journal of Microbiology* 33:213-218. 2002.
- Hiremath, K.S., Patil, C.S., Isolation, production and characterization of alkalo thermostable xylanase from newly Isolated *Bacillus* sp. *International Journal of Biotechnology Application*, 3(1): 48-51. 2011.
- Hols, P., Ferain, T., Garmyn, D., Bernard, N. and Delcour, J., 1994. Use of Homologous Expression-Secretion Signals and Vector-Free Stable Chromosomal Integration in Engineering of *Lactobacillus plantarum* for Alpha-Amylase and Levanase Expression. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (5), 1401-1413.
- Honda, H., Kudo, T. and Horikoshi, K., 1985. Molecular-Cloning and Expression of the Xylanase Gene of Alkalophilic *Bacillus* sp Strain C-125 in *Escherichia-Coli*. *Journal of Bacteriology*, 161 (2), 784-785.
- Horikoshi, K. and Atsukawa, Y., 1973. Production of Enzymes by Alkalophilic Microorganisms .7. Xylanase Produced by Alkalophilic *Bacillus* No-C-59-2. *Agricultural and Biological Chemistry*, 37 (9), 2097-2103.
- Irfan, M., Asghar, U., Nadeem, M., Nelofer, R. and Syed, Q., 2016. Optimization of process parameters for xylanase production by *Bacillus* sp. in submerged fermentation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9 (2), 139-147.
- Jampaphaeng, K., Cocolin, L. and Maneerat, S., 2017. Selection and evaluation of functional characteristics of autochthonous lactic acid bacteria isolated from traditional fermented stinky bean (Sataw-Dong). *Annals of Microbiology*, 67 (1), 25-36.
- Jung, K.H. and Pack, M.Y., 1993. Expression of a *Clostridium thermocellum* Xylanase Gene in *B. subtilis*. *Biotechnology Letters*, 15 (2), 115-120.
- Kamble, R.D., Jadhav, A.R., Isolation, purification, and characterization of xylanase produced by a new species of *Bacillus* solid state fermentation. *International Journal of Microbiology*, Article ID 683193, 8 pages. 2012.
- Kapilan, R., 2016. Characterisation of purified protease from *B. subtilis* BS166. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 44 (3), 243-248.
- Kaynar, P. and Beyatli, Y., 2008. Protein Profiles and Biochemical Characterizations of *Bacillus* sp. Strains Isolated from Fishes. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17 (9a), 1316-1321.
- Kennedy, J.F. and Rehm, H.-J., 1987. *Enzyme technology*, 7. John Wiley & Sons.
- Khandeparkar, R.D.S. and Bhosle, N.B., 2006. Isolation, purification and characterization of the xylanase produced by *Arthrobacter* sp MTCC 5214 when grown in solid-state fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 39 (4), 732-742.
- Khasin, A., Alchanati, I. and Shoham, Y., 1993. Purification and Characterization of a Thermostable Xylanase from *Bacillus stearothermophilus* T-6. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (6), 1725-1730.
- Kim, S.K., Chung, D., Himmel, M.E., Bomble, Y.J. and Westpheling, J., 2016. Heterologous expression of family 10 xylanases from *Acidothermus cellulolyticus* enhances the exoproteome of *Caldicellulosiruptor bescii* and growth on xylan substrates. *Biotechnology for Biofuels*, 9.
- Konsula, Z. and Liakopoulou-Kyriakides, A., 2004. Hydrolysis of starches by the action of an alpha-amylase from *B. subtilis*. *Process Biochemistry*, 39 (11), 1745-1749.
- Kulkarni, N., Shendye, A. and Rao, M., 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS microbiology reviews*, 23 (4), 411-456.

- Kumar, B.K., Balakrishnan, H. and Rele, M.V., 2004. Compatibility of alkaline xylanases from an alkaliphilic *Bacillus* NCL(87-6-10) with commercial detergents and proteases. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 31 (2), 83-87.
- Lama, L., Calandrelli, V., Gambacorta, A. and Nicolaus, B., 2004. Purification and characterization of thermostable xylanase and beta-xylosidase by the thermophilic bacterium *Bacillus thermantarcticus*. *Research in Microbiology*, 155 (4), 283-289.
- Lee, K.C., Arai, T., Ibrahim, D., Prawitwong, P., Lan, D., Murata, Y., Mori, Y. and Kosugi, A., 2015. Purification and Characterization of a Xylanase from the Newly Isolated *Penicillium rolsii* c3-2(1) IBRL. *BioResources*, 10 (1), 1627-1643.
- Lin, S., Schraft, H., Odumeru, J.A. and Griffiths, M.W., 1998. Identification of contamination sources of *Bacillus cereus* in pasteurized milk. *International Journal of Food Microbiology*, 43 (3), 159-171.
- Menon, G., Mody, K., Keshri, J. and Jha, B., 2010. Isolation, Purification, and Characterization of Haloalkaline Xylanase from a Marine *Bacillus pumilus* Strain, GESF-1. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15 (6), 998-1005.
- Negri, A., Daniele, L., Aravena, D., Muñoz, M., Delgado, A. and Morata, D., 2018. Decoding fjord water contribution and geochemical processes in the Aysen thermal springs (Southern Patagonia, Chile). *Journal of Geochemical Exploration*, 185, 1-13.
- Niehaus, F., Bertoldo, C., Kahler, M. and Antranikian, G., 1999. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied microbiology and biotechnology*, 51 (6), 711-729.
- Outtrup, H. and Jorgensen, S.T., 2002. The importance of *Bacillus* species in the production of industrial enzymes. *Applications and systematics of Bacillus and relatives*, 206-218.
- Ozcelik, S., 1995. Genel Mikrobiyoloji, Isparta, 1-33s.
- Ozic, C., 2012 Bazı Orthrias (Çöpçü Balığı) Türlerinin Biyoinformatik ve Deneysel Karakterizasyonu. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir
- Paul, J. and Varma, A.K., 1992. Glycoprotein Components of Cellulase and Xylanase Enzymes of a *Bacillus* sp. *Biotechnology Letters*, 14 (3), 207-212.
- Petti CA, Carroll KC. 2011 Procedures for the storage of microorganisms. In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed., ASM Press, Washington D.C. , p. 124-131
- Pham, P.L., Strehaiano, P. and Taillandier, P., 1998a. Effect of aeration on xylanase production by *Bacillus* sp. I-1018. *Bioprocess Engineering*, 18 (1), 41-43.
- Pham, P.L., Taillandier, P., Delmas, M. and Strehaiano, P., 1998. Optimization of a culture medium for xylanase production by *Bacillus* sp. using statistical experimental designs. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 14 (2), 185-190.
- Pirinccioglu H. 2010. Dargeçit ve Güçlükonak sıcak su kaynaklarından termofilik bakteri izolasyonu ve tanımlanması. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi
- Poorna, C.A. and Prema, P., 2006. Production and partial characterization of endoxylanase by *Bacillus pumilus* using agro industrial residues. *Biochemical Engineering Journal*, 32 (2), 106-112.
- Ratanakhanokchai, K., Kyu, K.L. and Tanticharoen, M., 1999. Purification and properties of a xylan-binding endoxylanase from alkaliphilic *Bacillus* sp. strain K-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (2), 694-697.

- Roy, N., Rowshanul, H.M., Isolation and characterization of xylanase producing strain of *Bacillus cereus* from soil. Iranian Journal of Microbiology, 1(2): 4953. 2009.
- Ryan, S.E., Nolan, K., Thompson, R., Gubitz, G.M., Savage, A.V. and Tuohy, M.G., 2003. Purification and characterization of a new low molecular weight endoxylanase from *Penicillium capsulatum*. Enzyme and Microbial Technology, 33 (6), 775-785.
- Saha, B.C., 2002. Production, purification and properties of xylanase from a newly isolated *Fusarium proliferatum*. Process Biochemistry, 37 (11), 1279-1284.
- Salles, B.C., Cunha, R.B., Fontes, W., Sousa, M.V. and Filho, E.X.F., 2000. Purification and characterization of a new xylanase from *Acrophialophora nainiana*. Journal of Biotechnology, 81 (2-3), 199-204.
- Sanghvi, G., Jivrajani, M., Patel, N., Jivrajani, H., Bhaskara, G.B., Patel, S., Purification and characterization of haloalkaline, organic solvent stable xylanase from newly isolated halophilic bacterium-OKH. International Scholarly Research Notices, Article ID: 198251, 10 pages. 2014.
- Sapre, M.P., Jha, H. and Patil, M.B., 2005. Purification and characterization of a thermoalkalophilic xylanase from *Bacillus* sp. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 21 (5), 649-654.
- Sargin, S., Öngen G.(2003). Kanatlı Yemi Katkısı Olarak Kullanılan Ksilanaz Enziminin Katı Kültür Fermantasyon Yöntemi ile Üretiminde Ölçek Büyütme Çalışmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi. 40 :3, 145-152.
- Sarıkaya, E., 1995. α -amilase üreten bazı *Bacillus* suşlarının gelişme parametreleri, enzim özellik ve üretim koşullarının optimizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- Say, R., Unluer, O.B., Ersoz, A., Ozic, C. and Kilic, V., 2015. Reusable Nanocopy Machine Particles for the Replication of DNA. Biotechnology Progress, 31 (1), 119-123.
- Sharma, M., Mehta, S., Kumar, A., Purification and characterization of alkaline xylanase secreted from *Paenibacillus macquariensis*. Advances In Microbiology, 3: 32-41. 2013.
- Silo-Suh, L.A., Stabb, E.V., Raffel, S.J. and Handelsman, J., 1998. Target range of Zwittermicin A, an aminopolyol antibiotic from *Bacillus cereus*. Current Microbiology, 37 (1), 6-11.
- St John, Franz J., et al. "Crystallization and crystallographic analysis of *Bacillus subtilis* xylanase C." Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications 65.5 (2009): 499-503.
- Steinert, R., Bettermann, H. and Kleinermanns, K., 1997. Identification of xylene isomers in high-pressure liquid chromatography eluates by Raman spectroscopy. Applied Spectroscopy, 51 (11), 1644-1647.
- Temîzkan, G., ve Arda. N.. 1999. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. İstanbul Üniversitesi, Biyoicknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGE) No; 1,236s.
- Tolan, J.S. and Collins, J., 2004. Use of xylanase in the production of bleached, unrefined pulp at Marathon Pulp Inc. Pulp & Paper-Canada, 105 (7), 44-46.
- Tortoli, E., 2003. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. Clinical Microbiology Reviews, 16 (2), 319-+.
- Turker C. 2014 α -amilaz enzimlerini üreten termofilik *Bacillus* suşlarının izolasyonu ve enzimlerin kısmi karakterizasyonu Fen Bilimleri Enstitüsü Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi 2014 Osmaniye

- Turnbell, P. C. B. and Kramer, J. M., 1991, *Bacillus*: Manual of clinical Microbiology, Fifth Edition, Balows, A., Hauster, J. R., Herman, K. L., Isenberg, H. D. and Shadomy, H. J., American Society of Microbiology, Washington D. C., 296-303.
- Uchino, F. and Nakane, T., 1981. A Thermostable Xylanase from a Thermophilic Acidophilic *Bacillus* sp. Agricultural and Biological Chemistry, 45 (5), 1121-1127.
- Uchino, F. and Nakane, T., 1981. A Thermostable Xylanase from a Thermophilic Acidophilic *Bacillus* sp. Agricultural and Biological Chemistry, 45 (5), 1121-1127.
- Voget, S., Steele, H.L. and Streit, W.R., 2006. Characterization of a metagenome-derived halotolerant cellulase. Journal of Biotechnology, 126 (1), 26-36.
- Waino, M. and Ingvorsen, K., 2003. Production of beta-xylanase and beta-xylosidase by the extremely halophilic archaeon Halorhabdus utahensis. Extremophiles, 7 (2), 87-93.
- Walia, A., Guleria, S., Mehta, P., Chauhan, A. and Parkash, J., 2017. Microbial xylanases and their industrial application in pulp and paper biobleaching: a review. 3 Biotech, 7.
- Wejse, P.L., Ingvorsen, K. and Mortensen, K.K., 2003. Xylanase production by a novel halophilic bacterium increased 20-fold by response surface methodology. Enzyme and Microbial Technology, 32 (6), 721-727.
- Wiseman, A. and Dalton, H., 1987. Enzymes Versus Enzyme-Mimetic Systems for Biotechnological Applications. Trends in Biotechnology, 5 (9), 241-244.
- Wiseman, A., 1983. Industrial Enzymology - the Application of Enzymes in Industry - Godfrey, T, Reichelt, J. Chemistry in Britain, 19 (5), 423-424.
- Woese, C.R., 1987. Bacterial Evolution. Microbiological Reviews, 51 (2), 221-271.
- Wolf, M., Geczi, A., Simon, O. and Borriess, R., 1995. Genes Encoding Xylan and Beta-Glucan Hydrolyzing Enzymes in *B. subtilis* - Characterization, Mapping and Construction of Strains Deficient in Lichenase, Cellulase and Xylanase. Microbiology-Uk, 141, 281-290.
- Wong, K.K.Y., Tan, L.U.L. and Saddler, J.N., 1988. Multiplicity of Beta-1,4-Xylanase in Microorganisms - Functions and Applications. Microbiological Reviews, 52 (3), 305-317.
- Wulf C., 1989, Anneliese Crueger. A Textbook of Industrial Microbiology., second edition. Biotechnology, Sinauer press.
- Yang, R.C.A., Mackenzie, C.R., Bilous, D., Seligy, V.L. and Narang, S.A., 1988. Molecular-Cloning and Expression of a Xylanase Gene from *Bacillus polymyxa* in *Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology, 54 (4), 1023-1029.
- Yang, V.W., Zhuang, Z., Elegir, G. and Jeffries, T.W., 1995. Alkaline-active xylanase produced by an alkaliphilic *Bacillus* sp. isolated from kraft pulp. Journal of Industrial Microbiology, 15 (5), 434-441.
- Yasinok, A.E., Biran, S., Kocabas, A. and Bakir, U., 2010. Xylanase from a soil isolate, *Bacillus pumilus*: gene isolation, enzyme production, purification, characterization and one-step separation by aqueous-two-phase system. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 26 (9), 1641-1652.
- Zafar, A., Aftab, M.N., Din, Z.U., Aftab, S., Iqbal, I., Shahid, A., Tahir, A. and ul Haq, I., 2016. Cloning, Expression, and Purification of Xylanase Gene from *Bacillus licheniformis* for Use in Saccharification of Plant Biomass. Applied Biochemistry and Biotechnology, 178 (2), 294-311.
- Zeikus, J.G., 1979. Thermophilic Bacteria - Ecology, Physiology and Technology. Enzyme and Microbial Technology, 1 (4), 243-252.

- Zhan, Y.H., Sun, R.J., Sun, X.Y., Xu, Y., Hou, C.X., Huang, Y.Y., Jiang, D. and Weng, X.Y., 2017. Expression regulation of a xylanase inhibitor gene riceXIP in rice (*Oryza sativa* L.). Brazilian Journal of Botany, 40 (4), 983-991.
- Zheng, W., 2017. Enhancement of Heterogeneous Alkaline Xylanase Production in *Pichia pastoris* GS115. Green Energy and Sustainable Development I, 1864.
<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=4XV0> (Erişim Tarihi 03.01.2018 Saat: 17:05)



EKLER

EK 1. BLAST analiz sonucunda elde edilen türün *B. subtilis* türlerine yakınlıklarının gösterilmesi

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#) [YouTube](#) [How to read this page](#) [Blast report des](#)

Job title: Nucleotide Sequence (1384 letters)

RID [8MXP1RBC015](#) (Expires on 02-20 14:03 pm)

Query ID [Id|Query_215901](#)

Description None

Molecule type nucleic acid

Query Length 1384

Database Name [nr](#)

Description Nucleotide collection (nt)

Program BLASTN 2.8.0+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

[+ Graphic Summary](#)

[- Descriptions](#)

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐ Bacillus subtilis strain GOM7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2427	2427	100%	0.0	99%	MG725751.1
☐ Bacillus siamensis strain LCX6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2174	2174	100%	0.0	95%	KY646078.1
☐ Bacillus sp. KXJ22 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2174	2174	100%	0.0	95%	KT201618.1
☐ Uncultured Bacillus sp. clone Jerish04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2174	2174	100%	0.0	95%	KC597267.1
☐ Bacillus sp. M1(2010) strain M1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2174	2174	100%	0.0	95%	GQ340518.1
☐ Bacillus sp. CIFE_HT35 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2172	2172	99%	0.0	95%	KM016989.1
☐ Bacillus sp. KID2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2170	2170	100%	0.0	95%	KIM497526.1
☐ Bacillus subtilis QB928, complete genome	2170	21609	100%	0.0	95%	CP003783.1
☐ Bacillus tequilensis strain St10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2170	2170	100%	0.0	95%	JN700071.1

EK 2. BLAST analizi sonucu *B. subtilis* 16S rRNA geninin benzerlik gösterdiği *B. subtilis* dizisi

Bacillus subtilis strain GOM7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MG725751.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS	MG725751	1492 bp	DNA	linear	BCT 31-DEC-2017
DEFINITION	Bacillus subtilis strain GOM7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.				
ACCESSION	MG725751				
VERSION	MG725751.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Bacillus subtilis				
ORGANISM	Bacillus subtilis Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 1492)				
AUTHORS	Kongarasi,K., Karthik Sundaram,S., Sankar,R. and Muneeswaran,T.				
TITLE	Bacillus subtilis strain GOM7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence				
JOURNAL	Unpublished				
REFERENCE	2 (bases 1 to 1492)				
AUTHORS	Kongarasi,K., Karthik Sundaram,S., Sankar,R. and Muneeswaran,T.				
TITLE	Direct Submission				
JOURNAL	Submitted (26-DEC-2017) MICROBIOLOGY, PSG CAS, CIVIL AERODROME POST, COIMBATORE, International 641014, India				
COMMENT	##Assembly-Data-START## Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing ##Assembly-Data-END##				
FEATURES	Location/Qualifiers				
source	1..1492 /organism="Bacillus subtilis" /mol_type="genomic DNA" /strain="GOM7" /isolation_source="marine sediment" /db_xref="taxon:1423" /country="India: Gulf of Mannar" /collection_date="12-Feb-2016" /collected_by="Kongarasi K" /identified_by="Kongarasi K" /PCR_primers="fwd_name: 8F, fwd_seq: agagtttgatcctggctcag, rev_name: 1541R, rev_seq: aaggaggtgatccagccgca" rRNA <1..>1492 /product="16S ribosomal RNA"				
ORIGIN	1 tggagtgagg ggctgtata catgcagtcg agcggacaga tgggagcttg ctccctgatg 61 ttagcggcgg acgggtgagt aacacgtggg taacctgcct gtaagactgg gataactccg 121 ggaaaccggg gctaataccg gatggttgtt tgaaccgcat ggttcaaaac taaaagggtg 181 cttcgggtac cacttacaga tggacccgcg gcgcattagc tagttgttga ggtaacggct 241 caccaaggca acgatgcgta gccgacctga gaggggtgac ggccacactg ggactgagac 301 acggcccaga ctctacggg aggcagcagt aggggaatctt ccgcaatgga cgaaagtctg 361 acggagcaac gccgcgtgag tgatgaaggt ttctggatcg taaagctctg ttgttaggga 421 agaacaagta ccgttcgaat agggcgggtac cttgacggta cctaaccaga aagccacggc 481 taactacgtg ccagcagccg cggttaatac taggtggcaa gcgttgccg gaattattgg 541 gcgtaaaagg ctcgcaggcg gtttcttaag tctgatgtga aagccccggg ctcaaccggg 601 gagggtcatt ggaaactggg gaacttgagt gcagaagagg agagtggaaat tccacgtgta				

Ek 3. BLAST analizi sonucu *B. subtilis* olduğunu düşündüğümüz türün dizisi ile benzerlik gösterdiği *B. subtilis* dizinin hizalanması

Bacillus subtilis strain GOM7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence					
Sequence ID: MG725751.1 Length: 1492 Number of Matches: 1					
Range 1: 22 to 1385 GenBank Graphics Next Match Previous Match					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
2519 bits(1364)	0.0	1364/1364(100%)	0/1364(0%)	Plus/Plus	
Query 1	ATGCACTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTA			68	
Sbjct 22	ATGCACTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTA			81	
Query 61	ACACGTGGGTAACTGCTGTAAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGG			128	
Sbjct 82	ACACGTGGGTAACTGCTGTAAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGG			141	
Query 121	ATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGAT			188	
Sbjct 142	ATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGAT			201	
Query 181	GGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAG			248	
Sbjct 202	GGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAG			261	
Query 241	CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTTACGGGA			308	
Sbjct 262	CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTTACGGGA			321	
Query 301	GGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGT			368	
Sbjct 322	GGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGT			381	
Query 361	GATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTGTTAGGGGAAGAACAAAGTACCGTTCGAATA			428	
Sbjct 382	GATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTGTTAGGGGAAGAACAAAGTACCGTTCGAATA			441	
Query 421	GGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC			488	
Sbjct 442	GGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC			501	
Query 481	GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGAAATTATGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGG			548	
Sbjct 502	GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGAAATTATGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGG			561	
Query 541	TTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGG			608	
Sbjct 562	TTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGG			621	
Query 601	AACCTTGAAGTGCAGAAAGAGGAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATG			668	
Sbjct 622	AACCTTGAAGTGCAGAAAGAGGAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATG			681	
Query 661	TGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAA			728	
Sbjct 682	TGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAA			741	
Query 721	GCCTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTA			788	
Sbjct 742	GCCTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTA			801	
Query 781	AGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCAATTAAGCACTCCGCCCTGGG			848	
Sbjct 802	AGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCAATTAAGCACTCCGCCCTGGG			861	
Query 841	GAGTACGGTGCAGAGACTGAAACTCAAAGGAAATGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAG			908	
Sbjct 862	GAGTACGGTGCAGAGACTGAAACTCAAAGGAAATGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAG			921	
Query 901	CATGTGGTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA			968	
Sbjct 922	CATGTGGTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA			981	
Query 961	TCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCA			1028	
Sbjct 982	TCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCA			1041	
Query 1021	GCTCGTGTCTTGAGATGTTGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCTTGATCTTATTG			1088	
Sbjct 1042	GCTCGTGTCTTGAGATGTTGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCTTGATCTTATTG			1101	
Query 1081	CCACCATTCAGTTGGGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGGGGGA			1148	
Sbjct 1102	CCACCATTCAGTTGGGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGGGGGA			1161	
Query 1141	GGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGA			1208	
Sbjct 1162	GGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGA			1221	
Query 1201	GAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAT			1268	
Sbjct 1222	GAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAT			1281	
Query 1261	GAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAT			1328	
Sbjct 1282	GAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAT			1341	
Query 1321	GCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCA			1364	
Sbjct 1342	GCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCA			1385	

EK 4. BLAST analiz sonucunda elde edilen türün *B. licheniformis* türlerine yakınlıklarının gösterilmesi

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#)

[YouTube](#) [How to read this page](#) [Blast report desc](#)

Job title: Nucleotide Sequence (1410 letters)

RID [8MY5ZWAR014](#) (Expires on 02-20 14:11 pm)

Query ID [lcl|Query_163841](#)

Description [None](#)

Molecule type [nucleic acid](#)

Query Length [1410](#)

Database Name [nr](#)

Description [Nucleotide collection \(nt\)](#)

Program [BLASTN 2.8.0+](#) [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Graphic Summary

Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments

Download

GenBank

Graphics

Distance tree of results

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Bacillus licheniformis strain GINM-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2410	2410	99%	0.0	98%	KY492396.1
☐	Bacillus licheniformis gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: ND4	2410	2410	99%	0.0	98%	AB862128.1
☐	Bacillus licheniformis partial 16S rRNA gene, strain ND4	2410	2410	99%	0.0	98%	HG796156.1
☐	Bacillus licheniformis strain PG5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2244	2244	96%	0.0	97%	HQ143565.1
☐	Bacillus licheniformis strain GA1-17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2244	2244	96%	0.0	97%	AY162134.1
☐	Bacillus paralicheniformis strain SBP11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2242	2242	96%	0.0	97%	KY630568.1
☐	Bacillus paralicheniformis strain SBP15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2241	2241	95%	0.0	97%	KY630572.1
☐	Bacillus sp. Bac167R 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2241	2241	96%	0.0	97%	KP795830.1
☐	Bacillus licheniformis strain BCL-8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2241	2241	96%	0.0	97%	KM378594.1
☐	Bacillus licheniformis strain SB-21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2239	2239	96%	0.0	97%	MF321846.1
☐	Bacillus licheniformis strain KJZSK 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2239	2239	96%	0.0	97%	MF470191.1
☐	Bacillus licheniformis strain BJ TC130 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2239	2239	96%	0.0	97%	KY575581.1
☐	Bacillus licheniformis strain SRV-D 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2239	2239	96%	0.0	97%	KY106410.1

EK 5. BLAST analizi sonucu *B. licheniformis* 16s rRNA geninin benzerlik gösterdiği *B. licheniformis* 16s rRNA dizisi

GenBank

Send to

Change region shown

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Taxonomy

Recent activity

Turn Off Clear

Bacillus licheniformis strain GINM-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequen Nucleotide

Bacillus subtilis strain NG 05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence Nucleotide

Cloning, purification, and characterization of β -galactosidase from Bacillus lic... PubMed

Cloning, sequencing and expression of the xylanase gene from a Bacillus subtilis PubMed

Genetics - Medical Microbiology

See more...

Bacillus licheniformis strain GINM-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: KY492396.1

FASTA Graphics

Go to

LOCUS KY492396 1466 bp DNA linear BCT 02-APR-2017

DEFINITION Bacillus licheniformis strain GINM-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION KY492396

VERSION KY492396.1

KEYWORDS

SOURCE Bacillus licheniformis

ORGANISM Bacillus licheniformis

Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1466)

AUTHORS Parihar,S. and Joshi,H.

TITLE Glucose isomerase producing bacteria

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 1466)

AUTHORS Parihar,S. and Joshi,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (20-JAN-2017) Biotechnology, Mohanlal Sukhadia University, Vigyan Bhawan B Block MLSU, Udaipur, Rajasthan 313001, India

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES

source

Location/Qualifiers

1..1466

/organism="Bacillus licheniformis"

/mol_type="genomic DNA"

/strain="GINM-3"

/isolation_source="soil sample"

/db_xref="taxon:1402"

/country="India"

/collected_by="Sanjay Parihar"

EK 6. BLAST analizi sonucu *B. licheniformis* olduğunu düşündüğümüz türün dizisi ile benzerlik gösterdiği *B. licheniformis* dizinin hizalanması

Bacillus licheniformis strain GINM-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence					
Sequence ID: KY492396.1 Length: 1466 Number of Matches: 1					
Range 1: 141 to 1004 GenBank Graphics			▼ Next Match ▲ Previous Match		
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
1596 bits(864)	0.0	864/864(100%)	0/864(0%)	Plus/Plus	
Query 1	ATGCTTGATTGAACCGCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGA	60			
Sbjct 141	ATGCTTGATTGAACCGCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGA	200			
Query 61	TGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTA	120			
Sbjct 201	TGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTA	260			
Query 121	GCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGG	180			
Sbjct 261	GCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGG	320			
Query 181	AGGACAGCAGTAGGGAATCTTCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAG	240			
Sbjct 321	AGGACAGCAGTAGGGAATCTTCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAG	380			
Query 241	TGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCAAT	300			
Sbjct 381	TGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCAAT	440			
Query 301	AGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG	360			
Sbjct 441	AGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG	500			
Query 361	CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCG	420			
Sbjct 501	CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCG	560			
Query 421	GTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGGAAACTG	480			
Sbjct 561	GTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGGAAACTG	620			
Query 481	GGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGGGAGTCGATTCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGA	540			
Sbjct 621	GGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGGGAGTCGATTCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGA	680			
Query 541	GATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGGGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCG	600			
Sbjct 681	GATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGGGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCG	740			
Query 601	CGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAG	660			
Sbjct 741	CGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAG	800			
Query 661	TGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTATGCTGTCAGCAAAACGCATTAAAGCACTCCGC	720			
Sbjct 801	TGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTATGCTGTCAGCAAAACGCATTAAAGCACTCCGC	860			
Query 721	CTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGG	780			
Sbjct 861	CTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGG	920			
Query 781	TGGAGCATGTGGTTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCT	840			
Sbjct 921	TGGAGCATGTGGTTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCT	980			

EK 7. BLAST analiz sonucunda elde edilen türün *B. thuringiensis* türlerine yakınlıklarının gösterilmesi

BLAST Results

Erzurum Teknik Üniversitesi
www.ertu.edu.tr/Menu/32/fen-bilimleri/je

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#)

Job title: Nucleotide Sequence (1341 letters)

RID: 475BRZCR014 (Expires on 01-06 22:10 pm)

Query ID: Id|Query_147843
Description: None
Molecule type: nucleic acid
Query Length: 1341

Database Name: nr
Description: Nucleotide collection (nt)
Program: BLASTN 2.7.1+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

[Graphic Summary](#)
[Descriptions](#)

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Bacillus thuringiensis strain KNU-07, complete genome	2477	36901	100%	0.0	100%	CP016588.1
Bacillus wiedmannii strain FSL W8-0169 16S ribosomal RNA, partial sequence	2471	2471	100%	0.0	99%	NR_152692.1
Bacillus cereus strain MLY1 chromosome MLY1.0, complete sequence	2471	39120	100%	0.0	99%	CP024655.1
Bacillus sp. strain C11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2471	2471	100%	0.0	99%	MG461675.1
Bacillus cereus strain HBL-AI chromosome, complete genome	2471	34511	100%	0.0	99%	CP023245.1
Bacillus thuringiensis strain ATCC 10792, complete genome	2471	34501	100%	0.0	99%	CP020754.1
Bacillus thuringiensis strain UFGS2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2471	2471	100%	0.0	99%	MF526967.1
Bacillus thuringiensis strain c25, complete genome	2471	34557	100%	0.0	99%	CP022345.1
Bacillus cereus strain FORC_047, complete genome	2471	34584	100%	0.0	99%	CP017060.1
Bacillus cereus strain M13, complete genome	2471	32101	100%	0.0	99%	CP016380.1
Bacillus cereus strain K3, complete sequence	2471	34551	100%	0.0	99%	CP016595.1
Bacillus cereus strain FORC_048, complete genome	2471	34562	100%	0.0	99%	CP017234.1
Bacillus cereus strain D12_2, complete genome	2471	34562	100%	0.0	99%	CP016315.1
Bacillus thuringiensis strain BM-BT15426, complete genome	2471	34472	100%	0.0	99%	CP020723.1
Bacillus thuringiensis strain SCG04-02, complete genome	2471	34492	100%	0.0	99%	CP017577.1

EK 8. BLAST analizi sonucu *B. thuringiensis* 16s rRNA geninin benzerlik gösterdiği *B. thuringiensis* 16s rRNA dizisi

GenBank	Send to
Bacillus thuringiensis strain KNU-07 chromosome, complete genome	
GenBank: CP016588.1	
FASTA Graphics	
Go to: ☐	
LOCUS	CP016588 5344151 bp DNA circular BCT 22-JUL-2016
DEFINITION	Bacillus thuringiensis strain KNU-07, complete genome.
ACCESSION	CP016588
VERSION	CP016588.1
DBLINK	BioProject: PRJNA330597 BioSample: SAMN05417762
KEYWORDS	.
SOURCE	Bacillus thuringiensis
ORGANISM	Bacillus thuringiensis Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus; Bacillus cereus group.
REFERENCE	1 (bases 1 to 5344151)
AUTHORS	Park,G.-S., Hong,S.-J., Jung,B.K. and Shin,J.-H.
TITLE	Complete genome sequence of Bacillusthuringiensis KNU-07
JOURNAL	Unpublished
REFERENCE	2 (bases 1 to 5344151)
AUTHORS	Park,G.-S., Hong,S.-J., Jung,B.K. and Shin,J.-H.
TITLE	Direct Submission
JOURNAL	Submitted (20-JUL-2016) School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, 80 Daehakro, Bukgu, Deagu, 41566, South of Korea
COMMENT	Annotation was added by the NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (released 2013). Information about the Pipeline can be found here: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/ Source bacteria available from Shin's Lab, Kyungpook National University. Collection number: KNU-07, Agriculture and Life Sciences building #1, room 203, Kyungpook National University.
##Genome-Assembly-Data-START##	
Assembly Method :: PacBio SMRT analysis 2.3 v. HGAP 2	
Genome Coverage :: 106x	
Sequencing Technology :: PacBio	
##Genome-Assembly-Data-END##	
##Genome-Annotation-Data-START##	
Annotation Provider :: NCBI	
Annotation Date :: 07/20/2016 13:57:47	
Annotation Pipeline :: NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline	
Annotation Method :: Best-placed reference protein set; GeneMarks+	
Annotation Software revision :: 3.3	

EK 9. BLAST analizi sonucu *B. thuringiensis* olduğunu düşündüğümüz türün dizisi ile benzerlik gösterdiği *B. thuringiensis* dizinin hizalanması

Download GenBank Graphics Sort by: E value				
Bacillus thuringiensis strain KNU-07, complete genome				
Sequence ID: CP016588.1 Length: 5344151 Number of Matches: 15				
Range 1: 48173 to 49513 GenBank Graphics				
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2477 bits(1341)	0.0	1341/1341(100%)	0/1341(0%)	Plus/Plus
Features: rRNA-16S ribosomal RNA				
Query 1	TTCCGATACGGCTACCTTGTACGACTTCACCCCAATCATCTGTCCCACCTTAGCGGGCT	68		
Sbjct 48173	TTCCGATACGGCTACCTTGTACGACTTCACCCCAATCATCTGTCCCACCTTAGCGGGCT	48232		
Query 61	GGCTCCATAAAGGTACCCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGC	128		
Sbjct 48233	GGCTCCATAAAGGTACCCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGC	48292		
Query 121	GGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTAATCACCAGCGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGA	188		
Sbjct 48293	GGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTAATCACCAGCGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGA	48352		
Query 181	TTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCTTACAATCCGAACGAGAACGGTTTATGAGA	248		
Sbjct 48353	TTCCAGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCTTACAATCCGAACGAGAACGGTTTATGAGA	48412		
Query 241	TTAGCTCCACCTCGCGGCTCTTGACGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCAGGTGTAGCC	308		
Sbjct 48413	TTAGCTCCACCTCGCGGCTCTTGACGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCAGGTGTAGCC	48472		
Query 301	CAGGTCATAGGGGCGATGATGATTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGG	368		
Sbjct 48473	CAGGTCATAGGGGCGATGATGATTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGG	48532		
Query 361	CAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTG	428		
Sbjct 48533	CAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTG	48592		
Query 421	CGGGACTTAACCCAAACATCTCAGGACACGAGCTGACGACAAACCATGCACCACCTGTCACT	488		
Sbjct 48593	CGGGACTTAACCCAAACATCTCAGGACACGAGCTGACGACAAACCATGCACCACCTGTCACT	48652		
Query 481	CTGCTCCCGAAGGAGAGCCCTATCTCTAGGGTTTTAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAG	548		
Sbjct 48653	CTGCTCCCGAAGGAGAGCCCTATCTCTAGGGTTTTAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAG	48712		
Query 541	GTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAA	608		
Sbjct 48713	GTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAA	48772		
Query 601	TTCTTTTGAAGTTTTCAGCTTTCGCGGCGTACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACT	668		
Sbjct 48773	TTCTTTTGAAGTTTTCAGCTTTCGCGGCGTACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACT	48832		
Query 661	TCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCCTTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTA	728		
Sbjct 48833	TCAGCACTAAAGGGCGGAAACCCCTTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTA	48892		
Query 721	CCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTCAGTTACAGACC	788		
Sbjct 48893	CCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTCAGTTACAGACC	48952		
Query 781	AGAAAGTCGCTTCGCCACTGGTGTCTCTCCATATCTCTACGCATTTCACCGCTACACAT	848		
Sbjct 48953	AGAAAGTCGCTTCGCCACTGGTGTCTCTCCATATCTCTACGCATTTCACCGCTACACAT	49012		
Query 841	GGAAATCCACTTTCTCTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCCTCCACGGTT	908		
Sbjct 49013	GGAAATCCACTTTCTCTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCCTCCACGGTT	49072		
Query 901	GAGCCGTGGGCTTTTACATCAGACTTAAGAAACCACTGCGCGCGCTTACGCCCAATAA	968		
Sbjct 49073	GAGCCGTGGGCTTTTACATCAGACTTAAGAAACCACTGCGCGCGCTTACGCCCAATAA	49132		
Query 961	TTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTAATACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTAGCCGTGG	1028		
Sbjct 49133	TTCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTAATACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTAGCCGTGG	49192		
Query 1021	CTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTGTTCTTCCCTAA	1088		
Sbjct 49193	CTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCAGCTTATTCAACTAGCACTGTTCTTCCCTAA	49252		
Query 1081	CAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCACTACGCGGGCTTGTCCGTGAGACTT	1148		
Sbjct 49253	CAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCATCACTACGCGGGCTTGTCCGTGAGACTT	49312		
Query 1141	TCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCCTCCGTAAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAG	1208		
Sbjct 49313	TCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCCTCCGTAAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAG	49372		
Query 1201	TCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGGGTACGCATCGTTGCCCTTGGTGGGCCGTT	1268		
Sbjct 49373	TCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTGGGTACGCATCGTTGCCCTTGGTGGGCCGTT	49432		
Query 1261	ACCTCACCACCTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCATAAGTGACAGCCGAAGCCGCTT	1328		
Sbjct 49433	ACCTCACCACCTAGCTAATGCGACGCGGGTCCATCCATAAGTGACAGCCGAAGCCGCTT	49492		
Query 1321	TCAATTCGAACCATGCGGT	1341		
Sbjct 49493	TCAATTCGAACCATGCGGT	49513		

EK 10. BLAST analiz sonucunda elde edilen türün *Geobacillus kaustophilus* türlerine yakınlıklarının gösterilmesi

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#) [YouTube](#) [How to read this page](#) [Blast report des](#)

Job title: Nucleotide Sequence (1406 letters)

RID: 8MYKESMA014 (Expires on 02-20 14:19 pm)

Query ID: lcl|Query_124963
Description: None
Molecule type: nucleic acid
Query Length: 1406

Database Name: nr
Description: Nucleotide collection (nt)
Program: BLASTN 2.8.0+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

[+ Graphic Summary](#)
[- Descriptions](#)

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Geobacillus kaustophilus strain YE5-1016-404 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2370	2370	99%	0.0	98%	MG456829.1
[Bacillus] caldolyticus strain NEB414 chromosome, complete genome	2348	21087	99%	0.0	97%	CP025074.1
Geobacillus subterraneus subsp. aromaticivorans strain Manikaran-099 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	MF965134.1
Geobacillus kaustophilus strain Manikaran-098C 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	MF965133.1
Geobacillus kaustophilus strain Manikaran-097C 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	MF965131.1
Geobacillus kaustophilus strain Manikaran-086A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	MF965109.1
Geobacillus thermoleovorans strain FJAT-2381, complete genome	2348	23387	99%	0.0	97%	CP017071.1
Geobacillus thermoleovorans strain KCTC 3570, complete genome	2348	23399	99%	0.0	97%	CP014335.1
Geobacillus sp. SP24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	JN692241.2
Geobacillus sp. EPT3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	KF438702.1
Geobacillus kaustophilus strain A7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	KC252972.1
Geobacillus kaustophilus strain G2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2348	2348	99%	0.0	97%	JX522539.1

EK 11. BLAST analizi sonucu *Geobacillus kaustophilus* 16s rRNA geninin benzerlik gösterdiği *G. kaustophilus* 16s rRNA dizisi.

Geobacillus kaustophilus strain YE5-1016-404 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MG456829.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS	MG456829	1469 bp	DNA	linear	BCT 25-NOV-2017
DEFINITION	Geobacillus kaustophilus strain YE5-1016-404 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.				
ACCESSION	MG456829				
VERSION	MG456829.1				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Geobacillus kaustophilus				
ORGANISM	Geobacillus kaustophilus Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Geobacillus; Geobacillus thermoleovorans group.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 1469)				
AUTHORS	Rawat, S. and Ranawat, P.				
TITLE	Direct Submission				
JOURNAL	Submitted (07-NOV-2017) Microbiology, HNB Garhwal University, Srinagar (Garhwal), Uttarakhand 246174, India				
COMMENT	##Assembly-Data-START## Sequencing Technology : Sanger dideoxy sequencing ##Assembly-Data-END##				
FEATURES	Location/Qualifiers				
source	1..1469 /organism="Geobacillus kaustophilus" /mol_type="genomic DNA" /strain="YE5-1016-404" /isolation_source="hot water spring" /db_xref="taxon:1462" /country="India: Uttarakhand, Uttarkashi district, Yamunotri" /collection_date="17-Jun-2015" /collected_by="P. Ranawat" /identified_by="S. Rawat & P. Ranawat"				
rRNA	<1..1469 /product="16S ribosomal RNA"				
ORIGIN	<pre> 1 acatgcaagt cgagcggacc aaatcggagc ttgctctggt ttggtcagcg gcggacgggt 61 gagtaacacg tgggcaacct gcccgcaaga ccgggataac tccgggaaac cggagctaatt 121 accggataac accgaagacc gcatggtctt tgggtgaaag gcggcctttg gctgtcactt 181 gcggatgggc ccgcgccgca ttagctagtt ggtgaggtaa cggtcaccac aggcgacgat 241 gcgtagccgg cctgagaggg tgaccggcca cactgggact gagacacggc ccagactcct 301 acgggaggga gcagtaggga atcttccgca atgggagaaa gcctgacgga gcgacgccgc 361 gtgagcgaag aaggccttcg ggtcgtaaag ctctgttgtg agggacgaag gagcgccgtt 421 cgaagaggga ggcgcggtga cggtaacctc cgaggaaacc ccggctaact acgtgccagc 481 agccgcggta atacgtaggg ggcgagcggt gtccggaatt attggcgta aagcgcgcgc 541 aggcggttcc ttaagtctga tgtgaaagcc cacggctcaa ccgtggaggg tcattggaaa 601 ctgggggact tgaagtgcag agaggagagc ggaattccac gtgtagcggg gaaatgcgta 661 gagatgtgga ggaacaccag tggcgaaggc ggctctctgg cctgcaactg acgctgaggc 721 gcgaaagcgt ggggagcaaa caggattaga taccctggta gtccacgccg taaacgatga 781 gtgctaagtg ttagaggggt cacaccctt agtgctgcag ctaacgcgat aagcactccg 841 cctggggagt acggccgcaa ggctgaaact caaagggaatt gacgggggcc cgcacaagcg 901 gtggaacatg tggtttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggctc tgacatcccc 961 tgacaacca agagattggg cgttccccct tcggggggac agggtagacag gtggtgcatg 1021 gttgtcgtca gctcgtgtcg agatatgtt gggttaagtcc cgcaacgagc gcaaccctcg 1081 cctctagttg ccagcacgaa ggtgggcact ctaaggagac tgccggcgac aagtcggagg 1141 aaggtgggga tgacgtcaaa tcatcatgcc cttatgacc tgggctacac acgtgctaca </pre>				

EK 12. BLAST analizi sonucu *Geobacillus kaustophilus* olduğunu düşündüğümüz türün dizisi ile benzerlik gösterdiği *G.kaustophilus* dizinin hizalanması

Geobacillus kaustophilus strain YE5-1016-404 16S ribosomal RNA gene, partial sequence					
Sequence ID: MG456829.1 Length: 1469 Number of Matches: 1					
Range 1: 23 to 1390 GenBank Graphics Next Match Previous Match					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
2527 bits(1368)	0.0	1368/1368(100%)	0/1368(0%)	Plus/Plus	
Query 1	ATCGGAGCTTGGCTCTGGTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGC	68			
Sbjct 23	ATCGGAGCTTGGCTCTGGTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCAACCTGC	82			
Query 61	CCGCAAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCCGC	128			
Sbjct 83	CCGCAAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCCGC	142			
Query 121	ATGGTCTTGGTTGAAAGGCGGCCCTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGCAT	188			
Sbjct 143	ATGGTCTTGGTTGAAAGGCGGCCCTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGCAT	202			
Query 181	AGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCTTGAGAGGGTG	248			
Sbjct 203	AGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGGCTTGAGAGGGTG	262			
Query 241	ACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT	308			
Sbjct 263	ACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT	322			
Query 301	CTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAAGAGCCCTTCGGG	368			
Sbjct 323	CTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGTGAGCGAAAGAGCCCTTCGGG	382			
Query 361	TCGTAAGCTCTGTTGTGAGGGGACGAAGGAGCGCCGTTGAAAGAGGGCGGCGCGGTGACG	428			
Sbjct 383	TCGTAAGCTCTGTTGTGAGGGGACGAAGGAGCGCCGTTGAAAGAGGGCGGCGCGGTGACG	442			
Query 421	GTACCTCACGAGGAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGG	488			
Sbjct 443	GTACCTCACGAGGAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGG	502			
Query 481	CGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTAAGTCTGATG	548			
Sbjct 503	CGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTAAGTCTGATG	562			
Query 541	TGAAAGCCACACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCAGGAG	608			
Sbjct 563	TGAAAGCCACACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCAGGAG	622			
Query 601	AGGAGAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTG	668			
Sbjct 623	AGGAGAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTG	682			
Query 661	GCGAAGGCGGCTCTCTGGGCTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACA	728			
Sbjct 683	GCGAAGGCGGCTCTCTGGGCTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACA	742			
Query 721	GGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGTCA	788			
Sbjct 743	GGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGTCA	802			
Query 781	CACCCCTTAGTGCTGAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCCGCGGAGTACGGCCGCAAGG	848			
Sbjct 803	CACCCCTTAGTGCTGAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCCGCGGAGTACGGCCGCAAGG	862			
Query 841	CTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAACATGTGGTTAATTCG	908			
Sbjct 863	CTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAACATGTGGTTAATTCG	922			
Query 901	AAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCCCGACAAACCAAGAGATTGGGCG	968			
Sbjct 923	AAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCCCGACAAACCAAGAGATTGGGCG	982			
Query 961	TTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTACGCTCGTGTGAG	1028			
Sbjct 983	TTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTACGCTCGTGTGAG	1042			
Query 1021	ATATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGG	1088			
Sbjct 1043	ATATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGG	1102			
Query 1081	TGGGCACTCTAAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATC	1148			
Sbjct 1103	TGGGCACTCTAAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATC	1162			
Query 1141	ATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCG	1208			
Sbjct 1163	ATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCG	1222			
Query 1201	AACCCGCGAGGGGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGCTCTCAGTTCCGATTGCAAGGCTGCAAC	1268			
Sbjct 1223	AACCCGCGAGGGGGAGCGAATCCCAAAAAGCCGCTCTCAGTTCCGATTGCAAGGCTGCAAC	1282			
Query 1261	TCGCTTGATGAAGCCGGAAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGT	1328			
Sbjct 1283	TCGCTTGATGAAGCCGGAAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGT	1342			
Query 1321	TCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGAGAGCTTGCAACA	1368			
Sbjct 1343	TCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACACGAGAGCTTGCAACA	1398			

EK 13. BLAST analiz sonucunda elde edilen türün *B. coagulans* türlerine yakınlıklarının gösterilmesi

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#)

[YouTube](#) [How to read this page](#) [Blast report details](#)

Job title: Nucleotide Sequence (1343 letters)

RID

8MYXG1JX015 (Expires on 02-20 14:24 pm)

Query ID

Idl|Query_243945

Description

None

Molecule type

nucleic acid

Query Length

1343

Database Name

nr

Description

Nucleotide collection (nt)

Program

BLASTN 2.8.0+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

+

Graphic Summary

-

Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments

[Download](#)

[GenBank](#)

[Graphics](#)

[Distance tree of results](#)

<

EK 14. BLAST analizi sonucu *B. coagulans* 16s rRNA geninin benzerlik gösterdiği *B. coagulans* 16s rRNA dizisi

Bacillus coagulans partial 16S rRNA gene, strain MTCC5260

GenBank: FN675759.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#) ☐

LOCUS FN675759 1412 bp DNA linear BCT 05-MAR-2010

DEFINITION Bacillus coagulans partial 16S rRNA gene, strain MTCC5260.

ACCESSION FN675759

VERSION FN675759.1

KEYWORDS .

SOURCE Bacillus coagulans

ORGANISM [Bacillus coagulans](#)

Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.

REFERENCE 1

AUTHORS Ratna Sudha,M.

TITLE Bacillus coagulans strain

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 1412)

AUTHORS Sudha,R.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (01-MAR-2010) R&D, Unique biotech ltd, Plot-2, phase-2, S.P.Biotech Park, A.P, 500078, INDIA

FEATURES

source

1..1412

/organism="Bacillus coagulans"

/mol_type="genomic DNA"

/strain="MTCC5260"

/isolate="Unique IS-2"

/db_xref="taxon:1398"

<1..1412

/gene="16S rRNA"

<1..1412

/gene="16S rRNA"

/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Pick Primers

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Related information

Taxonomy

LinkOut to external resources

Ribosomal Database Project II

[Ribosomal Database Project II]

SILVA SSU Database

[SILVA]

Recent activity

Turn Off Clear

Bacillus coagulans partial 16S rRNA gene, strain MTCC5260

Nucleotide

Geobacillus kaustophilus strain PS9 16S ribosomal RNA gene, complete seq

Nucleotide

EK 15. BLAST analizi sonucu *B. coagulans* olduğunu düşündüğümüz türün dizisi ile benzerlik gösterdiği *B. coagulans* dizinin hizalanması

Bacillus coagulans partial 16S rRNA gene, strain MTCC5260 Sequence ID: FN675759.1 Length: 1412 Number of Matches: 1					
Range 1: 351 to 1309 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
1772 bits(959)	0.0	959/959(100%)	0/959(0%)	Plus/Plus	
Query 1	ATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAA			68	
Sbjct 351	ATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAA			418	
Query 61	CTCTGTTGCCGGGGAAGAACAAGTGCCGTTTGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGG			128	
Sbjct 411	CTCTGTTGCCGGGGAAGAACAAGTGCCGTTTGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGG			478	
Query 121	CCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT			188	
Sbjct 471	CCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT			538	
Query 181	GTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTCTTAAGTCTGATGTGAAATCT			248	
Sbjct 531	GTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTCTTAAGTCTGATGTGAAATCT			598	
Query 241	TGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCAATTGGAAACTGGGAGGCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGT			308	
Sbjct 591	TGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCAATTGGAAACTGGGAGGCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGT			658	
Query 301	GGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGC			368	
Sbjct 651	GGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGC			718	
Query 361	GGCTCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACCGGATTAGA			428	
Sbjct 711	GGCTCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACCGGATTAGA			778	
Query 421	TTAACGTGGTAGTCCAAACGGGAAACAAATAAGGGTAAAGAAATAAAGGGTTTACGCCCTT			488	
Sbjct 771	TTAACGTGGTAGTCCAAACGGGAAACAAATAAGGGTAAAGAAATAAAGGGTTTACGCCCTT			838	
Query 481	TATGCTACAACCTAACGCTTTAACCACTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACT			548	
Sbjct 831	TATGCTACAACCTAACGCTTTAACCACTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACT			898	
Query 541	AAAGGAATTGACGGGGGCCCCACAAGCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGA			608	
Sbjct 891	AAAGGAATTGACGGGGGCCCCACAAGCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGA			958	
Query 601	AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCGTCTGAAATCCCTGGGGACAGGGCCTTCCCCTTCGG			668	
Sbjct 951	AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCGTCTGAAATCCCTGGGGACAGGGCCTTCCCCTTCGG			1018	
Query 661	GGACAGAGTGACAGATGGTGCATAGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAA			728	
Sbjct 1011	GGACAGAGTGACAGATGGTGCATAGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAA			1078	
Query 721	GTCCCGCAACGAGCGCAACCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTTGGGCACTCTAAGGT			788	
Sbjct 1071	GTCCCGCAACGAGCGCAACCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTTGGGCACTCTAAGGT			1138	
Query 781	GACTGCCGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCCTTATGA			848	
Sbjct 1131	GACTGCCGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCCTTATGA			1198	
Query 841	CCTGGGGTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAG			908	
Sbjct 1191	CCTGGGGTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAG			1258	
Query 901	CCAATCCCAGAAGGCATTCCAGTTTCGGATTGCAGGCTGCAACCCGCTGCATGAAGCC			968	
Sbjct 1251	CCAATCCCAGAAGGCATTCCAGTTTCGGATTGCAGGCTGCAACCCGCTGCATGAAGCC			1309	

EK 16. Farklı saat dilimlerinde örneklerin total ksılanaz aktivitesi

	6 Saat	12 Saat	14 Saat	16 Saat	20 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	168 Saat	Max
BTX 53	0,031	0,038	0,011	0,074	0,014	0,068	0,068	0,032	0,15	0,15
BTX 71	0,045	0,023	0,018	0,052	0,015	0,049	0,108	0,015	0,155	0,155
BTX 84	0,037	0,035	0,023	0,096	0,02	0,047	0,122	0,021	0,156	0,156
BTX 82	0,152	0,077	0,014	0,078	0,015	0,141	0,131	0,023	0,16	0,16
BTX 43	0,02	0,01	0,02	0,073	0,02	0,039	0,109	0,01	0,164	0,164
BTX 55	0,029	0,029	0,007	0,079	0,006	0,056	0,145	0,015	0,166	0,166
BTX 54	0,071	0,034	0,013	0,077	0,017	0,044	0,121	0,007	0,167	0,167
BTX 51	0,145	0,05	0,1	0,06	0,17	0,02	0,01	0,1	0,045	0,17
BTX 75	0,047	0,07	0,029	0,072	0,032	0,072	0,112	0,01	0,175	0,175
BTX 37	0,024	0,007	0,012	0,107	0,058	0,043	0,134	0,008	0,176	0,176
BTX 39	0,021	0,039	0,006	0,009	0,049	0,044	0,044	0,017	0,178	0,178
BTX 73	0,042	0,03	0,016	0,075	0,021	0,056	0,113	0,017	0,179	0,179
BTX 52	0,064	0,034	0,01	0,079	0,013	0,046	0,117	0,013	0,184	0,184
BTX 70	0,056	0,024	0,028	0,078	0,021	0,039	0,112	0,016	0,185	0,185
BTX 62	0,031	0,03	0,017	0,075	0,026	0,07	0,109	0,012	0,186	0,186
BTX 68	0,034	0,026	0,016	0,08	0,02	0,044	0,145	0,009	0,188	0,188
BTX 56	0,037	0,046	0,022	0,075	0,014	0,047	0,112	0,014	0,189	0,189
BTX 42	0,02	0,029	0,007	0,083	0,055	0,049	0,136	0,012	0,193	0,193
BTX 65	0,044	0,022	0,02	0,079	0,023	0,081	0,124	0,022	0,193	0,193
BTX 61	0,037	0,009	0,009	0,094	0,043	0,053	0,112	0,034	0,197	0,197
BTX 64	0,028	0,032	0,016	0,081	0,041	0,052	0,135	0,028	0,198	0,198
BTX 38	0,024	0,074	0,004	0,038	0,05	0,171	0,107	0,006	0,199	0,199
BTX 40	0,028	0,016	0,014	0,051	0,016	0,081	0,138	0,016	0,199	0,199
BTX 57	0,043	0,092	0,015	0,074	0,057	0,081	0,12	0,016	0,2	0,2
BTX 67	0,025	0,021	0,007	0,088	0,019	0,04	0,206	0,017	0,191	0,206
BTX 72	0,029	0,03	0,035	0,079	0,023	0,047	0,117	0,016	0,213	0,213
BTX 83	0,084	0,033	0,027	0,074	0,022	0,052	0,121	0,023	0,215	0,215
BTX 44	0,065	0,028	0,005	0,078	0,013	0,043	0,109	0,01	0,216	0,216
BTX 80	0,043	0,051	0,036	0,106	0,022	0,109	0,127	0,023	0,22	0,22
BTX 81	0,06	0,049	0,01	0,101	0,137	0,04	0,22	0,027	0,171	0,22
BTX 77	0,042	0,033	0,029	0,091	0,029	0,045	0,122	0,029	0,227	0,227
BTX 79	0,036	0,03	0,026	0,089	0,027	0,061	0,129	0,022	0,228	0,228
BTX 76	0,045	0,027	0,015	0,085	0,023	0,041	0,124	0,016	0,232	0,232
BTX 58	0,029	0,005	0,022	0,053	0,021	0,051	0,109	0,017	0,233	0,233
BTX 63	0,033	0,023	0,035	0,077	0,029	0,236	0,112	0,017	0,189	0,236
BTX 74	0,057	0,038	0,024	0,085	0,028	0,196	0,115	0,014	0,248	0,248
BTX 78	0,036	0,066	0,016	0,093	0,023	0,038	0,12	0,022	0,248	0,248
BTX 15	0,029	0,011	0,098	0,035	0,185	0,022	0,017	0,003	0,258	0,258

EK 16. (Devam) Farklı saat dilimlerinde örneklerin total ksılanaz aktivitesi

	6 Saat	12 Saat	14 Saat	16 Saat	20 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	168 Saat	Max
BTX 69	0,034	0,053	0,015	0,074	0,017	0,26	0,107	0,128	0,175	0,26
BTX 45	0,049	0,032	0,033	0,098	0,014	0,269	0,107	0,009	0,194	0,269
BTX 7	0,019	0,138	0,121	0,049	0,138	0,099	0,006	0,002	0,273	0,273
BTX 10	0,109	0,061	0,077	0,04	0,13	0,031	0,001	0,063	0,277	0,277
BTX 28	0,023	0,014	0,079	0,092	0,131	0,021	0,08	0,237	0,282	0,282
BTX 8	0,021	0,014	0,083	0,083	0,165	0,028	0,006	0,089	0,298	0,298
BTX 47	0,09	0,028	0,099	0,091	0,147	0,031	0,012	0,117	0,304	0,304
BTX 9	0,029	0,02	0,089	0,091	0,155	0,025	0,01	0,002	0,306	0,306
BTX 13	0,037	0,025	0,081	0,294	0,148	0,026	0,061	0,009	0,308	0,308
BTX 29	0,115	0,082	0,171	0,108	0,211	0,086	0,108	0,061	0,308	0,308
BTX 5	0,024	0,064	0,071	0,025	0,315	0,02	0,062	0,003	0,24	0,315
BTX 49	0,044	0,1	0,09	0,036	0,133	0,004	0,017	0,004	0,319	0,319
BTX 12	0,043	0,074	0,084	0,045	0,14	0,04	0,235	0,027	0,321	0,321
BTX 11	0,044	0,038	0,083	0,059	0,271	0,04	0,012	0,009	0,325	0,325
BTX 66	0,041	0,079	0,343	0,115	0,047	0,1	0,141	0,233	0,173	0,343
BTX 41	0,038	0,019	0,107	0,062	0,014	0,052	0,304	0,344	0,197	0,344
BTX 48	0,145	0,054	0,1	0,062	0,172	0,024	0,011	0,1	0,349	0,349
BTX 60	0,061	0,159	0,095	0,093	0,136	0,039	0,022	0,111	0,353	0,353
BTX 46	0,063	0,035	0,107	0,052	0,143	0,039	0,022	0,011	0,354	0,354
BTX 1	0,021	0,022	0,148	0,07	0,377	0,115	0,205	0,181	0,258	0,377
BTX 2	0,009	0,127	0,082	0,068	0,436	0,03	0,084	0,005	0,268	0,436
BTX 19	0,049	0,095	0,106	0,05	0,443	0,036	0,009	0,025	0,407	0,443
BTX 50	0,077	0,18	0,119	0,1	0,173	0,052	0,046	0,027	0,491	0,491
BTX 36	0,097	0,117	0,128	0,071	0,177	0,058	0,028	0,121	0,531	0,531
BTX 21	0,129	0,044	0,124	0,072	0,248	0,064	0,063	0,033	0,565	0,565
BTX 17	0,067	0,066	0,112	0,073	0,25	0,085	0,039	0,038	0,576	0,576
BTX 4	0,059	0,129	0,172	0,07	0,266	0,055	0,069	0,022	0,612	0,612
BTX 18	0,079	0,076	0,125	0,08	0,204	0,09	0,073	0,044	0,697	0,697
BTX 14	0,048	0,101	0,702	0,049	0,225	0,047	0,014	0,137	0,325	0,702
BTX 31	0,09	0,073	0,151	0,088	0,195	0,077	0,042	0,186	0,707	0,707
BTX 20	0,095	0,067	0,208	0,161	0,187	0,106	0,063	0,048	0,716	0,716
BTX 24	0,088	0,054	0,127	0,111	0,173	0,076	0,046	0,049	0,716	0,716
BTX 3	0,104	0,219	0,137	0,074	0,317	0,098	0,098	0,041	0,766	0,766
BTX 23	0,082	0,068	0,143	0,082	0,209	0,085	0,058	0,063	0,79	0,79
BTX 25	0,09	0,078	0,143	0,095	0,269	0,085	0,049	0,092	0,799	0,799
BTX 59	0,05	0,159	0,103	0,044	0,805	0,032	0,028	0,004	0,248	0,805
BTX 16	0,077	0,079	0,138	0,106	0,276	0,083	0,063	0,057	0,808	0,808
BTX 35	0,103	0,089	0,148	0,109	0,217	0,161	0,06	0,054	0,809	0,809
BTX 33	0,112	0,081	0,157	0,101	0,193	0,126	0,063	0,052	0,811	0,811

EK 16. (Devam) Farklı saat dilimlerinde örneklerin total ksılanaz aktivitesi

	6 Saat	12 Saat	14 Saat	16 Saat	20 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	168 Saat	Max
BTX 26	0,091	0,073	0,17	0,105	0,286	0,09	0,051	0,056	0,815	0,815
BTX 34	0,179	0,078	0,183	0,102	0,196	0,498	0,052	0,195	0,825	0,825
BTX 22	0,103	0,065	0,236	0,107	0,191	0,103	0,067	0,081	0,848	0,848
BTX 32	0,105	0,096	0,257	0,108	0,2	0,089	0,06	0,068	0,879	0,879
BTX 30	0,097	0,084	0,145	0,099	0,224	0,087	0,05	0,147	0,909	0,909
BTX 6	0,109	0,083	0,158	0,167	0,299	0,099	0,093	0,069	1,007	1,007
BTX 27	0,097	0,084	0,139	1,22	0,2	0,088	0,039	0,046	0,814	1,22

EK 17. BLAST analiz sonucunda elde edilen gen bölgesinin ksilanaz genine olan yakınlığının gösterilmesi

BLAST Results

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#) [YouTube](#) [How to read this page](#) [Blast report de](#)

Job title: Nucleotide Sequence (1283 letters)

RTD: 8MZ6W65F014 (Expires on 02-20 14:29 pm)

Query ID: lcl|Query_49231

Description: None

Molecule type: nucleic acid

Query Length: 1283

Database Name: nr

Description: Nucleotide collection (nt)

Program: BLASTN 2.8.0+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

[+ Graphic Summary](#)

[- Descriptions](#)

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Bacillus subtilis strain AK1 xyJanase gene, complete cds	2156	2156	100%	0.0	97%	DQ217402.1
Bacillus subtilis strain VV2, complete genome	1936	1936	98%	0.0	95%	CP017676.1
Bacillus subtilis strain qe28, complete genome	1914	1914	98%	0.0	95%	CP021903.1
Bacillus sp. YP1, complete genome	1914	1914	98%	0.0	95%	CP010014.1
Bacillus subtilis strain TLO3 chromosome, complete genome	1912	1912	98%	0.0	94%	CP023257.1
Bacillus subtilis strain DKU_NT_03, complete genome	1906	1906	98%	0.0	94%	CP022891.1
Bacillus subtilis subsp. subtilis strain SRM100333, complete genome	1906	1906	98%	0.0	94%	CP021892.1
Bacillus licheniformis strain SRM101441, complete genome	1906	1906	98%	0.0	94%	CP021507.1
Bacillus subtilis strain HRBS-10TD13, complete genome	1906	1906	98%	0.0	94%	CP015222.1
Bacillus subtilis strain GS 188 genome	1895	1895	98%	0.0	94%	CP022391.1
Bacillus subtilis subsp. subtilis RC-NH-1, complete genome	1895	1895	98%	0.0	94%	CP002906.1
Bacillus subtilis strain BE-91 hypothetical protein (yycV), endo-1,4-beta-xylanase (yynA), and pyruvate water dikinase/PEP synthase-like protein (yos), genes, complete cds	1895	1895	98%	0.0	94%	GQ845010.2

EK 18. BLAST analizi sonucu Ksilanaz gen dizisi

Bacillus subtilis strain AK1 xylanase gene, complete cds

GenBank: DQ217402.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#) ☐

LOCUS DQ217402 1250 bp DNA linear BCT 11-OCT-2005
 DEFINITION Bacillus subtilis strain AK1 xylanase gene, complete cds.
 ACCESSION DQ217402
 VERSION DQ217402.1
 KEYWORDS
 SOURCE Bacillus subtilis
 ORGANISM Bacillus subtilis
 Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; Bacillus.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 1250)
 AUTHORS Arumugam,P., Govindasamy,V., Revathy,G., Kalaichelvan,T. and Arulmani,M.
 TITLE Sequence of xylanase gene from Bacillus subtilis AK1
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 1250)
 AUTHORS Arumugam,P., Govindasamy,V., Revathy,G., Kalaichelvan,T. and Arulmani,M.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (21-SEP-2005) CAS in Botany, University of Madras, Guindy Campus, Chennai, Tamilnadu 600 025, India
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..1250
 /organism="Bacillus subtilis"
 /mol_type="genomic DNA"
 /strain="AK1"
 /db_xref="taxon:1423"
 CDS
 578..1219
 /codon_start=1
 /transl_table=11
 /product="xylanase"
 /protein_id="AB064459.1"
 /translation="MFKFKKNFLVGLSAAALMSISLFSATASAASTDYWNWTDGGGIV
 NAVNGSGGNYSVMWSNTGNFVVGKGHTTGSPFRTINYNAGVWAPNGDGYLTLYGNTRS
 PLHRILCVDSWGTYPRTGTGKGVKGDGGTYDIYTTTRYNAPSIDGDRITFTQYWSVR
 QTKRPTGSNATITFSNHVNAWKSHGMNLGSNWAYQVMATEGVQSSGSSNVTW"

ORIGIN

```

1  gggccgtcga cgaattggag gctcggttac atcccacagt taacctgatt gtcaattctt
61  ttttttcttt ttccagagccc ttccaataaa aaatcttgca acttctttgt aaaactgac
121 taagctatca tctctaaatt ttgggtcaat aattctaatt gagcagttct tcttagtat
181 aaccttaatt gttttcttct tcagttcttc atattcttca taaatttgct tcccttcatt
241 agacaagcgg cagcaacaat gacttcacaa tctctaatat atatctcctt tatacgaaaa
301 gatccaatgg gaattcatta cagatattac tccatctgaa ttagaacaac gaattgtgat
361 cctgcgaaaa aaggatcagg atatgggtgga acaaggccac ttataatgca ttcttaggta
421 ttgttaattg aattacaatt acttttaata ttgtctcatg aattcgtgta ttatactgaa
481 ggggacgacg aaaagctttg gcgttagtaa ttaaaaatgt tttaaatgta tacgagtgct
541 gcctcaaaag cggaaaaaat attataggag gtaacatatg tttaagttaa aaaagaattt
601 cttagtggga ttatcggcag ctttaatgag tattagcttg ttttcggcaa ccgcctctgc
661 agctagcaca gactactggc aaaattggac tgatgggggc ggtatagtaa acgctgtcaa
721 tgggtctggc gggaactaca gtgttaattg gtcataatcc ggaaatttcg ttgttggtta
781 aggttggact acaggttcgc catttaggac gataaactat aatgccggag ttgggcgcc
841 gaatggcgat gggatattga ctttgatagg ctggacgaga tcgccccttc atagaatatt
901 atgtgtggat tcatggggtg cttataggcc caccggaacg tataaaggta ctgtaaaggg
961 tgatggagggt acatatgaca tatatacaac tacacgttat aacgcacctt ccattgatgg
1021 cgatcgccact acttttacgc agtactggag tgttcgtcag acgaagagac caactggaag
1081 taacgctaca atcactttca gcaatcatgt gaacgcattg aagagccatg gaatgaattc
1141 gggcagtaat tgggcttacc aagtcattgc gacagaagga tatcaaagta gtggaagttc
1201 taacgtaaac gtgtggtaac agatcatcct taatcagggg atccggggcc
```

EK 19. BLAST Analizi Sonucu Ksilanaz Gen Dizisinin hizalanması

Bacillus subtilis strain AK1 xylanase gene, complete cds					
Sequence ID: DQ217402.1 Length: 1250 Number of Matches: 1					
Range 1: 1 to 1250 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Pre					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
2309 bits(1250)	0.0	1250/1250(100%)	0/1250(0%)	Plus/Plus	
Query 1	GGGCCGTCGACGAATTGGAGGCTCGGTTACATCCCACAGTTACCCTGATTGTCAATTCTT	60			
Sbjct 1	GGGCCGTCGACGAATTGGAGGCTCGGTTACATCCCACAGTTACCCTGATTGTCAATTCTT	60			
Query 61	ttttttctttttCAGAGCCCTTTCAAATAAAAAATCTTGCAACTTCTTTGTAAAACTGATC	120			
Sbjct 61	TTTTTCTTTTTCAGAGCCCTTTCAAATAAAAAATCTTGCAACTTCTTTGTAAAACTGATC	120			
Query 121	TAAGCTATCATCCTCAAATTTTTGGTCAATAAATTCTAATTGAGCAGTCTTTCTTAGTAT	180			
Sbjct 121	TAAGCTATCATCCTCAAATTTTTGGTCAATAAATTCTAATTGAGCAGTCTTTCTTAGTAT	180			
Query 181	AACCTTAATTGTTTTCTTCTTCAGTCTTTCATATTCCTCATAAAATTTGCTTCCCTTCATT	240			
Sbjct 181	AACCTTAATTGTTTTCTTCTTCAGTCTTTCATATTCCTCATAAAATTTGCTTCCCTTCATT	240			
Query 241	AGACAAGCGGCAGCAACAATGACTTCACAATCTCTAATATATATCTCCTTTATACGAAAA	300			
Sbjct 241	AGACAAGCGGCAGCAACAATGACTTCACAATCTCTAATATATATCTCCTTTATACGAAAA	300			
Query 301	GATCCAATGGGAATTCATTACAGATATTACTCCATCTGAATTAGAAAACAAGAAATTGTGAT	360			
Sbjct 301	GATCCAATGGGAATTCATTACAGATATTACTCCATCTGAATTAGAAAACAAGAAATTGTGAT	360			
Query 361	CCTGCGAAAAAAGGATCAGGATATGGTGGAAACAAGGCCACTTATAATGCATTTCTAGGTA	420			
Sbjct 361	CCTGCGAAAAAAGGATCAGGATATGGTGGAAACAAGGCCACTTATAATGCATTTCTAGGTA	420			
Query 421	TTTGTAATTGAATTACAAATACTTTTAAATTTTGCTCATGAATTCGTGTATTATACTGAA	480			
Sbjct 421	TTTGTAATTGAATTACAAATACTTTTAAATTTTGCTCATGAATTCGTGTATTATACTGAA	480			
Query 481	GGGGACGATCAAAAGCTTTGGCGTTAGTAATTAATAATGTTTTAAATGTATACGAGTGCT	540			
Sbjct 481	GGGGACGATCAAAAGCTTTGGCGTTAGTAATTAATAATGTTTTAAATGTATACGAGTGCT	540			
Query 541	GCCTCAAAGTCGGAAAAAATATTATAGGAGGTAACATATGTTTAAAGTTTAAAAAGAAATT	600			
Sbjct 541	GCCTCAAAGTCGGAAAAAATATTATAGGAGGTAACATATGTTTAAAGTTTAAAAAGAAATT	600			
Query 601	CTTAGTTGGATTATCGGCAGCTTTAATGAGTATTAGCTTGTTTTCGGCAACCGCCTCTGC	660			
Sbjct 601	CTTAGTTGGATTATCGGCAGCTTTAATGAGTATTAGCTTGTTTTCGGCAACCGCCTCTGC	660			
Query 661	AGCTAGCACAGACTACTGGCAAAATTTGACTGATGGGGCGGTATAGTAAACGCTGTCAA	720			
Sbjct 661	AGCTAGCACAGACTACTGGCAAAATTTGACTGATGGGGCGGTATAGTAAACGCTGTCAA	720			
Query 721	TGGGTCTGGCGGGAACACAGTGTTAATTGGTCTAATACCGGAAATTTCTGTTGTTGGTAA	780			
Sbjct 721	TGGGTCTGGCGGGAACACAGTGTTAATTGGTCTAATACCGGAAATTTCTGTTGTTGGTAA	780			
Query 781	AGGTTGGACTACAGGTTTCGCCATTTAGGACGATAAACTATAATGCCGGAGTTTGGGCGCC	840			
Sbjct 781	AGGTTGGACTACAGGTTTCGCCATTTAGGACGATAAACTATAATGCCGGAGTTTGGGCGCC	840			
Query 841	GAATGGCGATGGGTATTTGACTTTGTATGGCTGGACGAGATCGCCCCCTTCATAGAATATT	900			
Sbjct 841	GAATGGCGATGGGTATTTGACTTTGTATGGCTGGACGAGATCGCCCCCTTCATAGAATATT	900			
Query 901	ATGTGTGGATTATGGGGTACTTATAGGCCACCGGAACGTATAAAGGTACTGTAAAGGG	960			
Sbjct 901	ATGTGTGGATTATGGGGTACTTATAGGCCACCGGAACGTATAAAGGTACTGTAAAGGG	960			
Query 961	TGATGGAGGTACATATGACATATATACAACACACGTTATAACGCACCTTCCATTGATGG	1020			
Sbjct 961	TGATGGAGGTACATATGACATATATACAACACACGTTATAACGCACCTTCCATTGATGG	1020			
Query 1021	CGATCGCACTACTTTTACGCACTACTGGAGTGTTCTGTCAGACGAAGAGACCAACTGGAAG	1080			
Sbjct 1021	CGATCGCACTACTTTTACGCACTACTGGAGTGTTCTGTCAGACGAAGAGACCAACTGGAAG	1080			
Query 1081	TAACGCTACAATCACTTTTACGCAATCATGTGAACGCATGGAAGAGCCATGGAATGAATCT	1140			
Sbjct 1081	TAACGCTACAATCACTTTTACGCAATCATGTGAACGCATGGAAGAGCCATGGAATGAATCT	1140			
Query 1141	GGGCAGTAATTGGGCTTACCAAGTCATGGCGACAGAAGGATATCAAAGTAGTGGAAAGTTC	1200			
Sbjct 1141	GGGCAGTAATTGGGCTTACCAAGTCATGGCGACAGAAGGATATCAAAGTAGTGGAAAGTTC	1200			
Query 1201	TAACGTAACAGTGTGGTAACAGATCATCCTTAATCAGGGGATCCGGGCCC	1250			
Sbjct 1201	TAACGTAACAGTGTGGTAACAGATCATCCTTAATCAGGGGATCCGGGCCC	1250			

EK 20. İzolatların Total DNA yoğunluklarının Nanodrop Cihazı ile ölçüm sonuçları

Örnek Adı	Abs260	Abs280	Abs230	260/280	260/230	Yoğ. (ng/ul)	Örnek Türü
D.S.1	8.486	4.522	3.708	1,88	2,29	424,2	dsDNA
D.S.2	0,813	0,48	0,552	1,69	1,47	40,6	dsDNA
D.S. A1	10.024	5.246	5.863	1,91	1,71	501,2	dsDNA
D.S. A2	4.756	2.516	2.484	1,89	1,91	237,7	dsDNA
D.C.1.1	8.959	4.722	4.757	1,9	1,88	447,9	dsDNA
D.C.1.2	17,09	9.911	10.328	1,72	1,65	854,5	dsDNA
D.C.2.1	2.799	1.954	4.068	1,43	0,69	139,9	dsDNA
D.C.2.2	10.809	5.989	4.981	1,8	2,17	540,4	dsDNA
D.C.3	11.294	6.726	6.553	1,68	1,72	564,7	dsDNA
D.C.5	10.583	6.158	5.667	1,72	1,87	529,2	dsDNA
D.C.A1	1.186	0,796	1.831	1,49	0,65	59,3	dsDNA
D.C.A2	13.648	7.921	7,93	1,72	1,72	682,4	dsDNA
D.C.A3	5.231	2.885	3.279	1,81	1,6	261,5	dsDNA
D.C.A4	3.323	1.953	2.114	1,7	1,57	166,1	dsDNA
D.C.A5	10.571	6.126	7.865	1,73	1,34	528,5	dsDNA
D.C.Nb.3.1	0,829	0,612	1.091	1,35	0,76	41,4	dsDNA
D.C.Nb.3.2	0,539	0,439	0,729	1,23	0,74	26,9	dsDNA
D.C.Nb.5.1	1.468	1.074	1.124	1,37	1,31	73,4	dsDNA
D.C.Nb.5.2	0,457	0,379	0,907	1,21	0,5	22,8	dsDNA
D.C.Lb.8	1.386	1.211	4.313	1,14	0,32	69,3	dsDNA
D.C.Nb.8	0,894	0,577	0,645	1,55	1,39	44,7	dsDNA
D.C.Lb.9	1.537	1.089	1.504	1,41	1,02	76,8	dsDNA
D.C.Lb.9.2	0,732	0,564	1.183	1,3	0,62	36,6	dsDNA
D.Nb.Alt.1	0,41	0,33	0,688	1,24	0,6	20,4	dsDNA
D.Nb.Alt.2	4.243	2.712	6.666	1,56	0,64	212,1	dsDNA
D.Nb.Alt.2.2	5.633	4.461	16.208	1,26	0,35	281,6	dsDNA
D.Nb.Alt.4	0,663	0,565	0,731	1,17	0,91	33,1	dsDNA
D.Lb.Alt.6	0,461	0,378	0,82	1,22	0,56	23	dsDNA
D.Lb.Alt.7.1	0,677	0,515	0,889	1,31	0,76	33,8	dsDNA
D.Lb.Alt.7.2	1.239	1.072	4.072	1,16	0,3	61,9	dsDNA
D.Lb.Ust.10.1	0,169	0,171	0,133	0,99	1,27	8,4	dsDNA
D.Lb.Ust.10.2	0,032	0,092	0,085	0,35	0,38	1,5	dsDNA
D.Lb.Ust.11.1	0,55	0,461	0,436	1,19	1,26	27,5	dsDNA
D.Lb.Ust.11.2	0,217	0,235	0,566	0,92	0,38	10,8	dsDNA
Dc.Nb.4	0,232	0,261	0,515	0,89	0,45	11,6	dsDNA
D.Lb.Alt 6	0,199	0,214	1.545	0,93	0,13	9,9	dsDNA
Pc.1	7.798	4.257	4.414	1,83	1,77	389,9	dsDNA

EK 20. (Devam) İzolatların Total DNA yoğunluklarının Nanodrop Cihazı ile ölçüm sonuçları

Örnek Adı	Abs260	Abs280	Abs230	260/280	260/230	Yoğ. (ng/ul)	Örnek Türü
Pc.6	2.361	1.386	1.389	1,7	1,7	118	dsDNA
Pc.Lb 4	0,813	0,607	1.918	1,34	0,42	40,6	dsDNA
Pc.Lb 5	0,697	0,575	1.783	1,21	0,39	34,8	dsDNA
Pc.Lb 6	2.348	1.781	5,51	1,32	0,43	117,3	dsDNA
Pc.Nb 7	0,749	0,651	1.596	1,15	0,47	37,4	dsDNA
P.Lb.Alt 1	0,402	0,389	0,923	1,03	0,44	20	dsDNA
P.Nb.Alt 3	0,223	0,23	0,691	0,97	0,32	11,1	dsDNA
P.C.A1	11,07	6.397	6.711	1,73	1,65	553,5	dsDNA
P.C.A2	10.994	5.727	6.069	1,92	1,81	549,7	dsDNA
P.C.A3	18.027	9.643	10.571	1,87	1,71	901,4	dsDNA
P.C.A4	7.649	4.077	3.878	1,88	1,97	382,4	dsDNA
P.K.A. Ust	0,163	0,172	0,146	0,95	1,12	8,1	dsDNA
P.C İlk	8.882	5.041	4.652	1,76	1,91	444,1	dsDNA
H.C.1	6.216	3,35	3.307	1,86	1,88	310,8	dsDNA
Hista 2	3.461	1.864	1.903	1,86	1,82	173	dsDNA
H.C.2.2	2.467	1.328	1.685	1,86	1,46	123,3	dsDNA
H.C.3	0,297	0,316	0,312	0,94	0,95	14,8	dsDNA
H.C.4	3.786	2.139	2.458	1,77	1,54	189,3	dsDNA
Guclu 1	1.067	0,742	1.416	1,44	0,75	53,3	dsDNA
Guclu 2	1.442	0,906	1.305	1,59	1,1	72,1	dsDNA
Dargecit 1	3.576	2.308	4.422	1,55	0,81	178,8	dsDNA
Dargecit 2	1.583	1.112	2.034	1,42	0,78	79,1	dsDNA
Hista 1	2.521	1.726	3.099	1,46	0,81	126	dsDNA
Hista 3	0,323	0,294	0,485	1,1	0,67	16,1	dsDNA
D.Nb.Alt 1	1.588	1.264	4.375	1,26	0,36	79,4	dsDNA
K.C. Nb 1	0,2	0,275	0,621	0,73	0,32	10	dsDNA
K.C. Nb 2	0,104	0,172	0,231	0,6	0,45	5,1	dsDNA
K.C. Nb 3	0,321	0,286	0,577	1,12	0,56	16	dsDNA
K.C. Nb 4	-0,042	0,076	-0,025	-0,55	1,68	-2,1	dsDNA
K.C. Nb 5	0,432	0,357	0,93	1,21	0,46	21,6	dsDNA
Pasin Su 1	0,539	0,33	0,531	1,63	1,02	26,9	dsDNA
Pasin Su 2	0,519	0,335	0,432	1,55	1,2	25,9	dsDNA
Pasin Su 3	0,446	0,247	0,188	1,81	2,37	22,3	dsDNA
Pasin Camur 4	1.098	0,631	0,75	1,74	1,46	54,9	dsDNA

EK 20. (Devam) İzolatların Total DNA yoğunluklarının Nanodrop Cihazı ile ölçüm sonuçları

Örnek Adı	Abs260	Abs280	Abs230	260/280	260/230	Yoğ. (ng/ul)	Örnek Türü
Pasin Camur 4.2	6.676	3.639	3.221	1,83	2,07	333,7	dsDNA
Pasin Camur 5	0,699	0,383	0,379	1,83	1,84	34,9	dsDNA
Pasin Camur 6	0,495	0,285	0,272	1,74	1,82	24,7	dsDNA
Pasin Camur 7	0,576	0,338	0,226	1,7	2,55	28,8	dsDNA
Pasin Camur 2	2.056	1.123	0,953	1,83	2,16	102,8	dsDNA
Pasin Camur 3	10.539	5.889	6,36	1,79	1,66	526,9	dsDNA
Pasin Kanlı Ag. Su	0,833	0,515	0,666	1,62	1,25	41,6	dsDNA
Kopru Su 1	0,55	0,302	0,333	1,82	1,65	27,5	dsDNA
Kopru Camur 2	1.131	0,713	0,94	1,59	1,2	56,5	dsDNA
Kopru Camur 3	0,626	0,347	0,512	1,8	1,22	31,3	dsDNA
Kopru Camur 4	0,614	0,365	0,693	1,68	0,89	30,6	dsDNA
Kopru Camur 5	0,7	0,379	0,866	1,85	0,81	34,9	dsDNA
Pasin Camur 4.2	6.676	3.639	3.221	1,83	2,07	333,7	dsDNA
Pasin Camur 5	0,699	0,383	0,379	1,83	1,84	34,9	dsDNA
Pasin Camur 6	0,495	0,285	0,272	1,74	1,82	24,7	dsDNA
Pasin Camur 7	0,576	0,338	0,226	1,7	2,55	28,8	dsDNA
Pasin Camur 2	2.056	1.123	0,953	1,83	2,16	102,8	dsDNA
Pasin Camur 3	10.539	5.889	6,36	1,79	1,66	526,9	dsDNA

EK 21. *B. subtilis* 16s rRNA baz dizisi

BTX1

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
CCTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGTCTGTCGTCCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTTCAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGATACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX2,

ACGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTT
GAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTG
ACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
ACCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAA
GAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
ACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAG
TATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACA
ATCCTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGTCTGTCGTC
CTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTTCAGTTGG
GCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCC
CTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTAGCC
AACCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGATACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX3,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTA

TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAGC

BTX4,

TACGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAA
CACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTT
TGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGC
TAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG
GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCT
GACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAG
TACCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTA
AGTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGA
AGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGC
GACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTA
GTATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
AATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGT
CCTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTG
GGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGC
CCTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGC
CAACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG
CA

BTX5,

AAGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAA
ACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTT
GAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTG
ACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
ACCGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAA
GTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAA
GAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCG
ACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAG
TATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACA
ATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTG
CTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGG
GCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCC
CTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCC
AACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX6,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCTCGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTCTT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX7,

ACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGAAC
CGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTT
GGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACT
GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGACGG
AGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCG
TTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCT
GATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGG
AGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTATG
CCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCTCGACAATCC
TAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTCTGA
GATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGCAC
TCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTAT
GAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAACC
CACCAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAATC
GCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX8,

CATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTG
GGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGAACC
GCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTG
GTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTG
AGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGACGGA
GCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGT
TCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTG
ATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGGA
GAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCT
CTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTATGC
CACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCATTA
AGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCT
AGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCTGAG
ATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGCACT
CTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTATG
AACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAAACC
ACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCG
CGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTACACCACGAG

BTX9,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
CCTAGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTACACCACGAGAA

BTX10,

TGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTG
AACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTA
GTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGA
CGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTA
CCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAG
TCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAG
AGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGA
CTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
ATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
TCCTAGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTC
TGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGG
CACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCC
TATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCA
ACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCACGAGT

BTX11,

ACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGT
GGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGAAC
CGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAGTT
GGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACT
GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGACGG
AGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCG
TTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCT
GATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGG
AGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGACTC
TCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTATG
CCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAATCC
TAGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCTGA
GATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGCAC
TCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTAT
GAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAACC
CACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATC
GCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCACG

BTX12,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCCGCTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTATAGGGAAGAACAAGTA
CCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAG
TCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAG
AGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGA
CTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAG
TATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACA
ATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTC
CTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGG
GCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCC
CTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCC
AACCACCAAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX13,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCCGCTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTATAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAG
TCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAG
AGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGA
CTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGT
ATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
TCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTC
TGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGG
CACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCC
TATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCA
AACCACCAAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX14,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAG
CGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATC
CTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCTG
AGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTACAGTTGGGCA
CTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTA
TGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAAC
CCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX15,

ACGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTT
GAACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTG
ACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
ACCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAA
GAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGAAGGCG
ACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
TATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACA
ATCCTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTC
CTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTACAGTTGG
GCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCC
CTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCC
AACCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX22,

CGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTG
AACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTA
GTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGA
CGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTA
CCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAG
TCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAG
AGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGA
CTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
ATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
TCCTAGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTC
TGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGG
CACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCC
TATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCA
ACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTACACCACGAGCA
C

BTX23,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
CCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCGAGTGACAGGTGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTACACCACGAG

BTX24,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCTCGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX25,

TACGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAA
CACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTT
TGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGC
TAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG
GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCT
GACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAG
TACCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTA
AGTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGA
AGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGGAAGGC
GACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTA
GTATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
AATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGT
CCTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTG
GGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGC
CCTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGC
CAACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX26,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTCAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX27,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATC
CTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTT
AGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTCAGTTGGGCA
CTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCTA
TGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
CGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX28,

AAGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTT
GAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTG
ACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
ACCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAA
GAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGAAGGCG
ACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
TATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCTGACA
ATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTC
CTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGG
GCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCC
CTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCC
AACCACCAAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX30,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX31,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX32,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX33,

GGGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTT
GAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTG
ACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
ACCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAA
GAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
ACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
TATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCTGACAC
ATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTC
CTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTTCAGTTGG
GCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCC
CTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAAACCCGCGGGGTTAGCC
AACCACCAAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAGT
ACAA

BTX34,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCCTGACAAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTTCAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCA

BTX35,

ACCGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAA
CACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTT
TGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGCGCATTAGC
TAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTG
GGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAAGTCT
GACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAG
TACCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTA
AGTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGA
AGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGC
GACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCCTCTGAC
AATCCTAGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGT
CCTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTCAAGTTG
GGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGC
CCTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGC
CAACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCCGCCCGTCACACCACGAG

BTX48,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
CCTAGAGATAGGACGTCCCTTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCCCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTCAAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCCGCCCGTCACACCACGAG

BTX60,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX61,

GTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACAC
GTGGGTAAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTGA
ACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGAC
GGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTAC
CGTTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGT
CTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGAC
TCTCTGGTCTGTAACGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTA
TGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAT
CCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGACAGGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTCT
GAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTGAGTTGGGC
ACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCCT
ATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCAA
CCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTACACACCGCCCGTCACACCACGAG

BTX78,

TAAATGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGT
AACACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAG
TTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATT
GCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACAC
TGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGT
CTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACA
AGTACCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA
GCCGCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCT
TAAGTCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCA
GAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAG
GCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACCGCAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTG
ACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGT
GTCCTGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTTCAGT
TGGGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGC
GCCCTATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTA
GCCAACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCCGCCCGTACACCACG
AGAAAA

BTX81

AGTACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGTTCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTAAGTTTG
AACCAGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTA
GTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGACGAAAGTCTGA
CGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTA
CCGTTTGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAG
TCTGATGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAAG
AGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGA
CTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
ATGCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCCGCCCCCTAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAA
TCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCGAGGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCC
TGAGATGTTTCGGGGGTAAGTCCCCCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTATTTTGCCACCATTTCAGTTGGG
CACTCTAAGGGGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGGGGGGGAGGAAAAGCCAAAAAATCCAGGCGCCC
TATGAACAGGGGGGACACACTGGTTTTAAATGGAGAGAAAAAAGGGGGCGGAAACCCGCGGGGTTAGCCA
ACCCACCAAAAATGTTCTCATTTTTCGAGCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAAGCTGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCCGCCCGTACACCACGAGCC

EK 22. *B. licheniformis* 16s rRNA baz dizisi

BTX16,

TATATAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTG
GGTAAAGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAAC
CGCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGT
TGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACG
GAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAAGTACCG
TTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGT
CTGATGTGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAG
AGGGGAGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGG
CGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAA
CGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
AACCCTTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTCGTCAGCT
CGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTT
GGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAGGTGGGGATGACGTCAAAATCATCATGCCC
CTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGC
CAATCCCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAAACGCACCCGTAGAGCCTGATCC
CCGGATCAAAAATTTTT

BTX17,

GTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAAGTACCGTTCGAA
TAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGGGGA
GTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
ACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAACCC
TAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTCGTCAGCTCGTGTC
GTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTTGGGCAC
TCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAGGTGGGGATGACGTCAAAATCATCATGCCCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCC
CACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGAT
CAAAAATTT

BTX18,

AGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAA
AGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCAT
GGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTG
AGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAG
ACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCA
ACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGA
ATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGAT
GTGAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAAGTTGAGTGCAGAAGAGGGG
AGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGGCGACT
CTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCAT
TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCC
CTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGTCATGGTTTTGTCTGCTCAGCTCGTGT
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCA
CTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTAT
GACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATC
CCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGA
TCAAAAATTTT

BTX19,

GTGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAA
TAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAAGTTGAGTGCAGAAGAGGGGA
GTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCC
ACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCC
TAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGTCATGGTTTTGTCTGCTCAGCTCGTGT
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCAC
TCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCC
CACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
CGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGAT
CAAAAATTTTTTTT

BTX20,

GTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAA
TAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGGGA
GTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCC
ACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCC
TAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTGCTCAGCTCGTGTG
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCAC
TCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCATCC
CACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGAT
CAAAAAAATTTT

BTX21,

TTTAAAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTG
GGTAAAGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAAC
CGCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGT
TGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACG
GAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCG
TTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGT
CTGATGTGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGAAG
AGGGGAGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGG
CGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAA
CGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
AACCCTTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTGCTCAGCT
CGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTT
GGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC
CTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGC
CAATCCCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCC
CCGATCAAAAATTT

BTX29,

GTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAA
TAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGGGA
GTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCC
ACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCC
TAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTGCTCAGCTCGTGTC
GTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCAC
TCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAGGTGGGGATGACGTCAAAATCATCATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCC
CACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGAT
CAAAAATTT

BTX36,

GTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAA
TAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGGGA
GTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCC
ACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCC
TAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTGCTCAGCTCGTGTC
GTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCAC
TCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAGGTGGGGATGACGTCAAAATCATCATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCC
CACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGAT
CAAAAATTT

BTX37,

CCGGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGT
AAAGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGC
ATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGG
TGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTG
AGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAG
CAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTC
GAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGTCTG
ATGTGAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGG
GGAGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGGCGA
CTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAG
TCCACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGC
ATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAAC
CCCTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTCTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGG
CACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT
ATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAA
TCCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGT
AATCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCG
GATCAAAAATTT

BTX38,

AGCATCGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTG
GGTAAAGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAAC
CGCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGT
TGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGA
CTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACG
GAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCG
TTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTTCTTAAGT
CTGATGTGAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAG
AGGGGAGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGG
CGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAA
CGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
AACCCTTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTCTCAGCT
CGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTT
GGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC
CTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGC
CAATCCCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCC
CCGATCAAAAATTTTTTT

BTX39,

ACACCGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGG
GTAAAGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACC
GCATGGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTT
GGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGAC
TGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGG
AGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGT
TCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTC
TGATGTGAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGAAGA
GGGGAGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGGC
GACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAAC
GCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACA
ACCCCTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTCTCAGTCTC
GTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTG
GGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCC
TTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCC
AATCCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTA
GTAATCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCC
CGGATCAAAAATTT

BTX40,

GTGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCGAA
TAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGGGA
GTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGGCGACTC
TCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCC
ACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATT
AAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCC
TAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTTTGTCTCAGCTCGTGTC
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCAC
TCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAAATCC
CACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGTAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGAT
CAAAAATTTAAAAAAA

BTX41,

AGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAA
AGTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCAT
GGTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTG
AGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAG
ACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCA
ACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGA
ATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGAT
GTGAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGGG
AGTCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGGCGACT
CTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCAT
TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCC
CTAGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGTCATGGTTTTGTCTGCTCAGCTCGTGT
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCA
CTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTAT
GACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATC
CCACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGA
TCAAAAATTT

BTX82

GTGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCCCTGATGTCCCGCGGCGCACGGTTGAGTTACACGTGGGTAAA
GTCCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGCTTGATTGAACCGCATG
GTTCAATTATAAAAGGTGGCTTTTAGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGA
CACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAAC
GCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAAT
AGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG
TAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGT
GAAAGCCCGCGGGCTCAACCGGGGGGAGGGTCATTGGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGGGAG
TCGCATTCCCCACGTGTACCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGGCGACTCT
CTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCA
CGCCGTAAACGATCATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATTA
AGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGG
TGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCCT
AGAGATAGGGCTTCCCCCTTCGGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGTCATGGTTTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTG
TGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACT
CTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGA
CCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCAGAAACAAAGGGGGCAGCGAAGCCGCGAGGCTAAGCCAATCCC
ACAAAATTCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATC
GCGGATCAGCAGGCCGCGGTGAGTAAGTGAAGGGCTAACAACGCACCCGTAGAGCCTGATCCCCGGATC
AAAAATTT

EK 23. *B. thuringiensis* 16s rRNA baz dizisi

BTX53,

GGTATTGGAGAGTTTGCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGTTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTC
AACCCTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACTGACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAATT

BTX54,

AATATTGGAGAGTTTGCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGTTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTC
AACCCTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACTGACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCT

BTX55,

TATTGGAGAGTTTGCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAAT
GGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATAAG
ACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGAAA
GGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACC
AGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATG
AAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGA
CGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGTTGGCAAGCGTT
ATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAA
CCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACTGACACTGAGGC
GCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTG
TTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCT

BTX56,

GGTATTGGAGAGTTTGTATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTC
AACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAATT

BTX57,

GGTATTGGAGAGTTTGTATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTC
AACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAATT

BTX58,

GGTATTGGAGAGTTTGTATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTC
AACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAATTTTAAATTTAAA

BTX59,

GGTATTGGAGAGTTTGGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTC
AACCCTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAA

BTX72,

GGTATTGGAGAGTTTGGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTC
AACCCTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAATTGGG

BTX73

GGTATTGGAGAGTTTGGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTC
AACCCTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTG

BTX79

GGTATTGGAGAGTTTGTATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGA
ATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATA
AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCAC
CAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTC
CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTC
AACCCTGGAGGGTCATTGGAACCTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCG
GTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAG
GCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAG
TGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTAAATTA

EK 24. *Geobacillus kaustophilus* 16s rRNA baz dizisi

BTX42,

AAATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCA
AGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTG
AAAGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGG
CTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCC
CAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGC
GTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGC
GCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG
GGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAA
GCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACCTGGGGGACTTGAGTGCAGGAGAGAGGAGAGCGGGGA
ATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGC
CTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACCGGATAAGCACTCCG
CCTGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACAT
GTGGTTTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCAAGAGATT
GGGCGTTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCATGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGAT
ATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCT
AAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGAGCGAATCCCCA
AAAAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCG
GATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAGAGAGCTTGC
AACAAATTTTT

BTX43,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCGAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGTCATGATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTGCGAGATAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATTT

BTX44,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCGAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGTCATGATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTGCGAGATAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATT

BTX45,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGACAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTACACCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCAAGAGATTGG
CGTTCCTCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGCATGATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAAA
GGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCCGCGAGGGGGGAGCGAATCCCCAAAA
AGCCGCTCTCAGTTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGAT
CAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAAC
AAATT

BTX46,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGACAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTACACCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCAAGAGATTGG
GCGTTCCTCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCATGATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCCGCGAGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATTTTTTAAAA

BTX47,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCGAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGTCATGATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTTCGAGATAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATT

BTX49,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCGAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGTCATGATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTTCGAGATAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATT

BTX50,

AATTATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCG
CAAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGT
TGAAAGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAC
GGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGG
CCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCC
GCGTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGG
GCGCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGGGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAA
AAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCCAGGAGAGAGGAGAGCGGG
GAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTG
GCCTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC
GTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACCGGATAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAAC
ATTGTGGTTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGA
TTGGGCGTTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGATGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTGCGG
ATATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACT
CTAAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGA
CCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGAGCGAATCCC
CAAAAAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCG
CGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTT
GCAACAAATT

BTX51,

CGATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCA
AGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTG
AAAGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGG
CTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCC
CAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGC
GTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTCTGAAGAGGGC
GCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG
GGGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAA
GCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCCAGGAGAGAGGAGAGCGGGGA
ATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGC
CTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACCGGATAAGCACTCCG
CCTGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACAT
GTGGTTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATT
GGGCGTTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGATGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTGCGAGAT
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCT
AAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGAGCGAATCCCCA
AAAAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCG
GATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGC
AACAAATT

BTX52,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGACAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGCGTGCATGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTGAGATAT
GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACCTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATT

BTX69,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGACAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACATGGTGCATGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTGAGATATGT
TGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAAAG
GGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGGAGCGAATCCCCAAAAA
GCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATC
AGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAACA
AATT

BTX70,

AACATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGC
AAGACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTGGTT
GAAAGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACG
GCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGC
CCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCG
CGTGAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTTCAAGAGGG
CGCGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA
GGGGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTAAGTCTGATGTGAAA
AGCCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCCAGGAGAGAGAGAGCGGGG
AATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGG
CCTGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCG
TAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGGCCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAACA
TGTGGTTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCAAGAGAT
TGGGCGTTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCATGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTGAGTA
TATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTC
TAAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCTTATGAC
CTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCCGCGAGGGGGGAGCGAATCCCC
AAAAAGCCGCTCTCAGTTTCGATTGTCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGC
GGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTG
CAACAAATT

BTX71,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCCGGCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGATTTGCCGTTTGAAGAGGGCG
CGGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGG
GGGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTAAGTCTGATGTGAAAAG
CCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCCAGGAGAGAGGAGAGCGGGGAA
TTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCC
TGCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTCACACCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGC
CTGGGGAGTACGGCCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTTGACATCCCCCCCCCTGACAACCCAAGAGA
TTGGGCGTTCCCCCTTCGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCATGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTGAG
ATATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACT
CTAAAGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCTTATGA
CCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCCGCGAGGGGGGAGCGAATCCC
CAAAAAGCCGCTCTCAGTTTCGATTGTCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCG
CGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTT
GCAACAAATT

BTX77,

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCAAGGAGAGAGAGAGCGGGGAAT
TCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCT
GCAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
ACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTACACCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCC
TGGGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACATGT
GGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATTGG
GCGTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGCGATGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGAGATAT
GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACCTCTAA
AGGGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGGAGCGAATCCCCAAA
AAGCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA
TCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAA
CAAATT

BTX80

ATCGGAGCTTGCTCTGGTTTTGGTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGGCAACCTGCCCCGCAAG
ACCGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAACACCGAAGACCGCATGGTCTTTTTGGTTGAA
AGGCGGCCTTTGGCTGTCACTTGCGGATGGGCCCCGGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCGACGATGCGTAGCCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGGCGAAAGCCTGACGGAGCGACGCCGCGT
GAGCGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTTGTGAGGGACGAAGGAGCGCCGTTTGAAGAGGGCGC
GGCGCGGTGACGGTACCTCACGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGG
GGCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAAGC
CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAGTGCAAGGAGAGAGAGCGGGGAATTC
CACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCTGC
AACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAAC
GATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGGGTACACCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCGATAAGCACTCCGCCCTG
GGGAGTACGGCCCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAACATGTGG
TTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACAGGTCTTTGACATCCCCTGACAACCCAAGAGATTGGGC
GTTCCCCCTTCGGGGGGACAGGGTGACAGGTGGTGCATGATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGAGATATGT
TGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTCTAGTTGCCAGCACGAAGGTGGGGGCACTCTAAAG
GGACTGCCGGCGACAAGTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCCGCAGGGGGGGAGCGAATCCCCAAAAA
GCCGCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATC
AGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGCTTGCAACA
AATT

EK 25. *B. coagulans* 16s rRNA baz dizisi

BTX62,

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTAAAAAGCTTGCTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTG
GGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTCCCTC
CGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCATTAGCTAGT
TGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGG
ACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAAGTCT
GACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTGCTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAGAACAAGT
GCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTTCTTA
AGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCAATTGGAACTGGGAGGCTTGAGTGCAGAA
GAGGAGAGTGGAAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCG
GCTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACCGGATTAGATTAACGTGGT
AGTCCAAACGGAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACCTAACGCTTT
AACCCTTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCACAAGCGA
TGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAATCCC
TGGGGACAGGGGCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTCAGCTCGTGT
GTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGG
CACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCCTTA
TGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGCCAAT
CCCAGAAGGCATTCCAGTTTCGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCA

BTX63,

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTC
CCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCATTAGC
TAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTGCTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAGAAC
AAGTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTT
CTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCAATTGGAACTGGGAGGCTTGAGTGC
AGAAGAGGAGAGTGGAAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAA
GGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACCGGATTAGATTAACG
TGGTAGTCCAAACGGAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACCTAACG
CTTTAACCCTTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCACAA
GCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAA
TCCCTGGGGACAGGGGCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCAGTT
GGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCCC
CTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGC
CAATCCCAGAAGGCATTCCAGTTTCGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAAAAAAAAAA

BTX64,

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTC
CCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCATTAGC
TAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAGAAC
AAGTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTT
CTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGAAACTGGGAGGCTTGAGTGC
AGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAA
GGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGATTAAACG
TGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACCTAACG
CTTTAACCACCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCACAA
GCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAA
TCCCTGGGGACAGGGGCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTTCAGTT
GGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCATGCC
CTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGC
CAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCA

BTX65,

ATGATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTA
ACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTT
TTCCCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCATT
AGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCA
CATTGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACG
AAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAG
AACAAGTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGC
TTTCTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGAAATTGGGAGGCTTGAG
TGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGC
GAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGATTA
ACGTGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACCTA
ACGCTTTAACCACCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCA
CAAGCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTG
AAATCCCTGGGGACAGGGGCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTCAGC
TCGTGTCTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCCCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCA
GTTGGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCATG
CCCCTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTA
AGCCAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGC
TAGTAATCGCGGATCA

BTX66,

CGCGATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAG
TAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTT
TTTTCCCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGGCGCA
TTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGC
CACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGA
CGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGA
AGAACAAGTGCCGTTTGAACAGGGCGGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTG
CCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCG
GCTTACTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGATACTGGGAGGCTTG
AGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTG
GCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGCGAAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGAT
TAACGTGGTAGTCCAAACGGAAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAAC
TAACGCTTTAACCCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCC
CACAAGCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTC
TGAAATCCCTGGGGACAGGGGCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCGTCA
GCTCGTGTCTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATT
CAGTTGGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCA
TGCCCCCTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGT
TAAGCCAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTCGGATTGTCAGGCTGCAACCCGCTGCATGAAGCCGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAA

BTX67,

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTTTC
CCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGGCGCATTAGC
TAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGGAAGAAC
AAGTGCCGTTTGAACAGGGCGGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTT
CTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGAACTGGGAGGCTTGAGTGC
AGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGGAA
GGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACCGGATTAGATTAACG
TGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAATAACG
CTTTAACCCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAACTAAAGGAATTGACGGGGGGGGCCCCACAA
GCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAA
TCCCTGGGGACAGGGGCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCAAGTT
GGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCC
CTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGC
CAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTCGGATTGTCAGGCTGCAACCCGCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCA

BTX68,

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTC
CCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCATTAGC
TAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAGAAC
AAGTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTT
CTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGAAACTGGGAGGCTTGAGTGC
AGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAA
GGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGATTAAACG
TGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACATAACG
CTTTAACCACCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCACAA
GCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAA
TCCCTGGGGACAGGGGCCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTTCAGTT
GGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAAATCATCATGCC
CTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGC
CAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCA

BTX74,

ATATATATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGA
GTAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTT
TTTTTCCCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGC
ATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGG
CCACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGG
ACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGG
AAGAACAAGTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGT
GCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGC
GGCTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGAAACTGGGAGGCTT
GAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGAAAACACCACT
GGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACCGGATTAGA
TTAACGTGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAA
CTAACGCTTTTTACCACTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCC
CCACAAGCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGT
CTGAAATCCCTGGGGACAGGGGCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTCTGTC
AGCTCGTGTCGTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCAT
TCAGTTGGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAAATCATC
ATGCCCCCTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGG
TTAAGCCAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAAT
CGCTAGTAATCGCGGATCAAAAAA

BTX75,

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACG
TGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTCCC
TCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGGCATTAGCTA
GTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACATTG
GGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAAGT
CTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAGAACAA
GTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAG
CCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTTCT
TAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTTCATTGGAAACTGGGAGGCTTGAGTGCAG
AAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGG
CGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGATTAAACGTG
GTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACTAACGCT
TTAACCACCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCACAAGC
GATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAATC
CCTGGGGACAGGGGCCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTGCTCAGCTCGTG
TCGTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTTCAGTTGG
GGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCCTT
TATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGCCA
ATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCA

BTX76

AAAAAATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAG
TAACACGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTT
TTTTCCCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCA
TTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGC
CACATTGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGA
CGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGA
AGAACAAGTGCCGTTTCGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTG
CCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCG
GCTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTTCATTGGAAACTGGGAGGCTTG
AGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGT
GCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGAT
TAACGTGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAAC
TAACGCTTTAACCACCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCC
CACAAGCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTC
TGAAATCCCTGGGGACAGGGGCCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGATGGGTGCATAGTTGTGCTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATT
CAGTTGGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAAATCATCA
TGCCCCCTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGT
TAAGCCAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCTGCATGAAGCCGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAAA

BTX83

ATGCAAGTCGTGCGGACCTTTTTAAAAAGCTTGCTTTTTAAAAAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGCAACCTGCCTGTAAGATCGGGATAACGCCGGGAAACCGGGGGCTAATACCGGATAGTTTTTTTC
CCTCCGCATGGAGGAAAAAGGAAAGACGGCTTCTGCTGTCACTCCTCTGATGGGCCCCGCGCGCATTAGC
TAGTTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGGAACGATGCGTATCCGACCTGAGAGAGGGTGATCGGCCACAT
TGGGACTGAGACACGGCCCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCCAAAATGTGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGCCGGGGAAGAAC
AAGTGCCGTTTGAACAGGGCGGCGCCTTGACGGTACCCGGCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTTT
CTTAAGTCTGATGTGAAAATTCTTGCGGCTCAACCGCAAGCGGTCATTGGAAACTGGGAGGCTTGAGTGC
AGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCACTGGCGAA
GGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACCGGATTAGATTAAACG
TGGTAGTCCAAACGGAAAACAATAAGGGTAAAGAATAAAAGGGTTTACGCCCTTTATGCTACAACATAACG
CTTTAACCACCTTCGCCTGGGGGAGTACGGCGCAAGGGTTAACTAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCACAA
GCGATGGAGACAAGTGGTTTAATTCGAAGCAACCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGATGACATCGTCTGAAA
TCCCTGGGGACAGGGGCCCTTCCCCCTTCGGGGACAGAGTGCAGATGGGTGCATAGTTGTGCTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTTGGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGACCTTAGTTGCCAGCATTCAGTT
GGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGGGGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGGATGAGTCAATCATCATGCC
CTTATGACCTGGGGTACACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTTAAGC
CAATCCCAGAAGGCATTCCCAGTTTCGGATTTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCA

EK 26. *B. subtilis* Ksilanaz genine ait baz dizisi

GGGCCGTCGACGAATTGGAGGCTCGGTTACATCCCACAGTTACCCTGATTGTCAATTCTTTTTTTTTTCT
TTTTCAGAGCCCTTTCAAATAAAAAAATCTTGCAACTTCTTTTGTA AAAAAGTATCTAAGCTATCATCCT
CAAATTTTTTGGTCAATAATTCTAATTGAGCAGTTCTTTTCTTAGTATAACCTTAATTGTTTTTCTTCTTC
AGTTCTTCATATTCTTCATAAATTTGCTTCCCTTCATTAGACAAGCGGCAGCAACAATGACTTCACAATC
TCTAATATATATCTCCTTTATACGAAAAGATCCAATGGGAATTCATTTACAGATATTACTCCATCTGAAT
TAGAAACAAGAATTGTGATCCTGCGAAAAAAGGATCAGGATATGGTGGAAACAAGGCCACTTATAATGCAT
TTCTAGGTATTTGTAATTGAATTACAAATACTTTTTAATATTTTGCTCATGAATTCGTGTATTATACTGA
AGGGGACGATCAAAAGCTTTGGCGTTAGTAATTA AAAAATGTTTTAAATGTATACGAGTGCTGCCTCAAA
GTCGGA AAAAATATTATAGGAGGTAACATATGTTTTAAGTTTAAAAAAGAATTTCTTAGTTGGATTATC
GGCAGCTTTAATGAGTATTAGCTTGTTTTTCGGCAACCGCCTCTGCAGCTAGCACAGACTACTGGCAAAA
ATTGGACTGATGGGGGCGGTATAGTAAACGCTGTCAATGGGTCTGGCGGGAACCTACAGTGTTAATTGGT
CTAATACCGGAAATTTTCGTTGTTGGTAAAGGTTGGACTACAGGTTTCGCCATTTAGGACGATAAACTATAA
TGCCGGAGTTTGGGCGCCGAATGGCGATGGGTATTTTTGACTTTGTATGGCTGGACGAGATCGCCCCCTT
CATAGAATATTATGTGTGGATTTCATGGGGTACTTATAGGCCACCGGAACGTATAAAGGTACTGTAAAGG
GTGATGGAGGTACATATGACATATATACTACACGTTATAACGCACCCCTTCCATTGATGGCGATCGC
ACTACTTTTTACGCAGTACTGGAGTGTTTCGTGACGACGAAGAGAGACCAACTGGAAGTAACGCTACAATCA
CTTTCAGCAATCATGTGAACGCATGGAAGAGCCATGGAATGATGAATCTGGGCAGTAATTGGGCTTACCC
AAGTCATGGCGACAGAAGGATATCAAAGTAGTGGAAGTTCTAACGTAATAACAGTGTGGTAACAGATCAT
CCTTAATCAGGGGATCCGGGCC

ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı : ORHAN ULUÇAY
2. Doğum Tarihi : KARS - 17.02.1986
3. Unvanı : Uzman
4. Çalıştığı Kurum : Kafkas Üniversitesi – 2013
5. Lisans : Kafkas Üniversitesi –Biyoloji - 2010
5. Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi – Moleküler Biyoloji – 2013

6. Yayınlar

6.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI, SSCI, Arts and Humanities)

-Bandyopadhyay, K.; Uluçay, O.; Şakiroğlu, M.; Udvardi, M.K.; Verdier, J. Analysis of Large Seeds from Three Different *Medicago truncatula* Ecotypes Reveals a Potential Role of Hormonal Balance in Final Size Determination of Legume Grains. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17, 1472.

6.2. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

-Sakiroglu, M., D. Ilhan, M. Mavioglu Kaya, O. Demirozogul, O. Uluçay, and B. Eren. 2011. Moleküler Veriler Işığında *Medicago Sativa* L. Tür Kompleksinin Mevcut Durumu. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 4(1):32-42

6.3. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

-6. Uluslararası Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi Doğal Ortamlardan Elde Edilen Çeşitli Termofilik Mikroorganizmaların Moleküler Tayini

7.Projeler

- Baklagillerde Tohum Büyüklüğü ve Protein İçeriğinin Genetik Kontrolü BAP2013-MMF-70 11.02.2012 - 11.02.2013

- Doğal ortamlardan elde edilen çeşitli *Bacillus* türlerinde 1,4-β-endo ksilenaz enziminin üretilmesi, saflaştırılması ve ticari kullanılabilirliği, *Bacillus*'dan endo 1,4-beta ksilenaz enziminin rekombinant ve yarı sentetik nanoenzim olarak üretimi) (2016- Devam)

8. Katıldığı Bilimsel Etkinlikler

-Mühendislik ve İlgili Disiplinlerde Araştırma Projesi Hazırlama Eğitimi. TÜBİTAK (BİDEB-2237). (Proje düzenleme Kurulu üyesi) 2014

-Disiplinler Arası Araştırma Projesi Hazırlama Eğitimi. TÜBİTAK (BİDEB-2237). (Proje düzenleme Kurulu üyesi) 2015