

***Candida albicans* Maya Hücre Duvarında Eksprese Edilip Hif Duvarında Edilmeyen β -1,2 Mannan Yapılarının Monoklonal Antikorlar ile Gösterilmesi**

Demonstration of β -1,2 Mannan Structures Expressed on the Cell Wall of *Candida albicans* Yeast Form But Not on the Hyphal Form by Using Monoclonal Antibodies

Cevahir AYDIN^{1,2}, Haluk ATAOĞLU²

¹ Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.

¹ Ankara University Institute of Biotechnology, Ankara, Turkey.

² Matriks Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti., Gazi Teknopark, Ankara.

² Matriks Biotechnology Industry and Trade Ltd. Co., Gazi Teknopark, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 05.09.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 19.11.2014

ÖZ

Candida albicans, insanda hem kommensal hem de fırsatçı patojen olarak bulunabilen polimorfik bir maya mantarıdır. Kandida hücre duvarının ana komponentlerinden birisi olan mannan, mantar-konak ilişkisinde ve mayanın virülansında rol oynamaktadır. *C. albicans* enfeksiyonlarının gelişiminde, mikroorganizmanın maya formundan hif formuna geçiş yeteneği önem taşır. Hif formu, maya formunda olmayan çeşitli antijenik özelliklere sahiptir ve hif oluştuğunda hücre duvarında yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu dönüşüm ile ilgili birçok faktör etkili olsa da, tam olarak yeterli bilgi mevcut değildir. Bu çalışmada, *C. albicans*'in form değiştiğinde duvar yapısında yer alan mannanın konfigürasyon değişiminin monoklonal antikorlar kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada *C. albicans* (NIHA 207) serotip A suyu ile kontrol olarak benzer hücre duvar yapısına sahip *Salmonella choleraesuis* 211 ve *Salmonella infantis* suşları kullanılmıştır. *C. albicans*'ın maya formu, YEPD agar besiyerinde 28°C'de inkübasyon ile, hif formu ise YEPD buyyon besiyerinde çalkalamalı inkübator üzerinde 37°C'de 3-4 saat inkübasyon ile üretilmiştir. Mannan içeriği, hücrelerin eksponansiyel fazda toplanıp yılanmasından sonra, pelletin 20 mM sitrat tamponu ile süspansie edilip 125°C'de 90 dakika otoklavlanması elde edilmiştir. Monoklonal antikor üretimi için hibridoma yöntemi kullanılmış; Balb/C farelerinin antijen ile immunize edilmesinden sonra toplanan splenositlerin, F0 myeloma hücreleri ile füzyon oluşturması sağlanmıştır. HAT besiyeri içerisinde oluşan klonlar arasından hibrid hücrelerin ürettiği antikorlar ELISA yöntemi ile izlenmiştir. Antikorların izotip tayini, ticari bir kit (Pierce Biotechnology, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Monoklonal antikorları içeren kültür süpermatanları toplanmış ve amonyum sülfat çöktürme yöntemi ile saflaştırılmıştır. Deney reaksi-