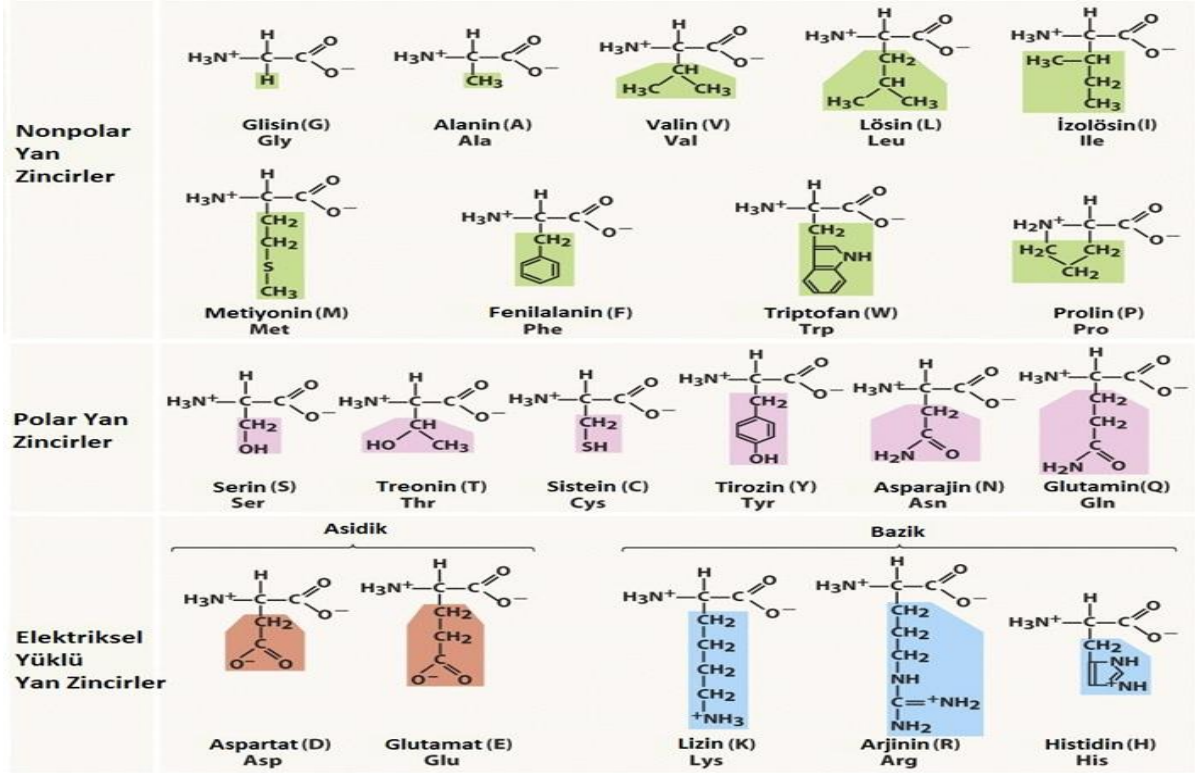


1. PROTEİNLERİN GENEL YAPI VE ÖZELLİKLERİ

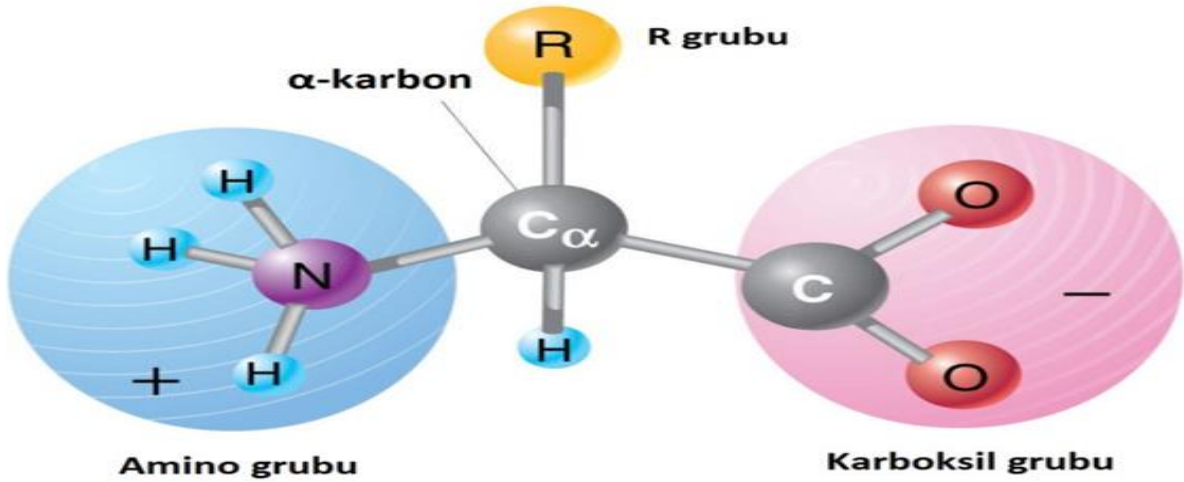
Proteinler, amino asit monomerlerinden oluşmuş polimerlerdir ve bilinen en karmaşık yapılı moleküllerdendir. Birçok hücrede kuru ağırlığın %50'den fazlasını oluşturan proteinler, bilinen en temel katalitik özelliklerinin yanı sıra yapısal destek, depolama, taşınma, sinyal iletimi, savunma gibi, organizmalarda gerçekleşen hemen her metabolik işte görev alırlar. Çok farklı görevler üstlenmelerine paralel olarak, yapıları da farklılık gösterir. Her protein kendine özgü bir üç boyutlu yapıya (konformasyona) sahiptir. Proteinlerin büyük bir kısmı 20 temel amino asitten oluşmuştur (Şekil 1. 1). Doğal 20 temel amino asidin dışında, modifiye amino asit olarak değerlendirilen selenosistein ve pirolizin amino asitlerinin de dur kodonu olarak bilinen sırasıyla UGA ve UAG kodonlarının yeniden programlanması ile bazı proteinlerin yapısına doğal amino asitler olarak katıldıkları tespit edilmiştir. Her amino asidin 3 harfli ve tek harfli kısaltmaları bulunmaktadır (Şekil 1. 1).

Amino asitler, hem amino hem karboksil grubu içeren organik moleküllerdir. 20 amino asidin hepsi α -amino asittir¹; merkezinde α -karbon olarak adlandırılan bir asimetric karbon atomu vardır. İstisnai olarak, glisin amino asidinde α -karbonuna biri R grubu olmak üzere iki adet H atomu bağlanmıştır ve asimetric karbon içermeyen tek amino asittir. Tüm amino asitlerde α -karbon atomuna bağlı olan bir amino grubu (imino asit olarak adlandırılan prolinde imino grubu bulunmaktadır), bir hidrojen atomu, bir karboksil grubu ve R ile gösterilen bir değişken (R=Radikal) grup olmak üzere 4 farklı grup vardır (R grubu H atomu olan glisin istisnadır) (Şekil 1. 2). Bu nedenle α -karbonu bir kiral merkezdir. Amino asitlerin D- ve L- olmak üzere iki stereoisomeri bulunur. Bu iki form birbirlerinin ayna görüntüsü olduğundan enantiyomer stereoisomerler sınıfına girer.

R grubu yan zincir olarak da adlandırılır ve amino asidin özelliklerine göre değişkenlik gösterir. Değişken yan zincirin (R), amino asidin fonksiyonunu belirlemede çok önemli bir rolü vardır. R grubunun yapısı, boyutu, yükü ve suda çözünürlüğü gibi farklılık gösteren fiziksel ve kimyasal özellikleri, ait olduğu amino asidin kendine özgü fonksiyonunu belirler. Bu nedenle amino asitler genelde R grubunun fizikokimyasal özelliklerine göre gruplandırılırlar (ör: hidrofilik, hidrofobik, asidik, bazik, aromatik).



Şekil 1.1. Proteinleri oluşturan 20 temel amino asidin sitozol pH'ındaki (pH: 7) iyonize formlarının kimyasal formülleri, 3 harfli ve tek harfli kısaltmaları. Yan gruplarının (R) yapısına göre hidrofobik (nonpolar) ve hidrofilik (polar) olmak üzere iki genelle sınıfa ayrılabilir (www.uic.edu).



Şekil 1.2. Bir amino asidin genel kimyasal yapısı. Bu yapı, halkalı bir yapıda olan prolin ve yan grup olarak H atomu bulunduran glisin hariç bütün α -amino asitlerde aynıdır (Russell 2010'dan değiştirilerek).

Amino asitlerde de olduğu gibi, kiral merkezi bulunan hemen hemen bütün biyolojik bileşikler doğada D- veya L- olmak üzere tek bir stereoizomerik formda bulunur. D-stereoizomer amino asit bulunduran bazı istisnai küçük peptitler (bazı antibiyotikler ve bakteriyel hücre duvarındaki bazı peptitler) dışında, proteinlerdeki amino asitlerin tamamı L- stereoizomer formundadır.

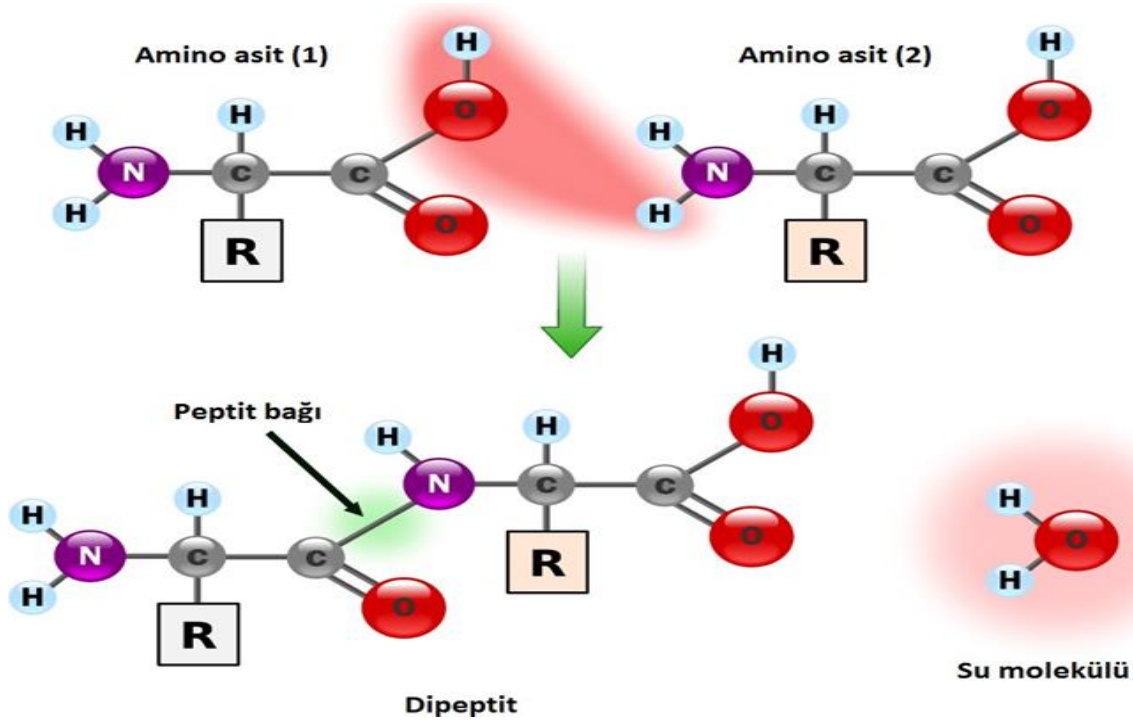
Nötral pH değerine yakın olan biyolojik sistemlerde amino asitler suda çözüldüklerinde genellikle "zwitter-iyon" (Almanca "hibrit iyon" anlamında) formundadır, yani hem negatif hem de pozitif yüke sahiptir. Karboksil grubu asidiktir, bu nedenle iyonize olarak proton kaybeder ve negatif yüklenir. Amino grubu ise baziktir ve proton alıcısı gibi davranarak pozitif yüklenir. Bu durum sonucunda hem pozitif (+) hem negatif (-) yüklü dipolar iyon formu olan "zwitter-iyon" oluşur (Şekil 1. 3). Yapısında hem asit hem baz özelliği barındıran bu tip moleküllere amfolit denir.



Şekil 1. 3. Bir amino asidin iyonik olmayan ve dipolar zwitter-iyon formu (Lodish et al. 2000'den değiştirilerek).

Bir proteinin net yükü ortamın pH değerine göre değişir. Bir amino asit veya proteinin net yükünün sıfır olduğu pH değerine izoelektrik nokta (pI, pHI) adı verilir. Proteinler izoelektrik noktalarının altında pozitif, üstünde ise proton kaybettiği için negatif olarak yüklenir.

Peptitler/proteinler, amino asit polimerleridir. İki amino asit molekülü, değişken bir amit bağı olan peptit bağı ile kovalent olarak bağlanarak dipeptit oluşturur. Kondensasyon tepkimelerine bir örnek teşkil eden bu bağ oluşurken, bir amino asidin karboksil grubundaki OH grubu ile diğerinin amino grubundaki bir H atomu su oluşturarak uzaklaştırılır (dehidrasyon) (Şekil 1. 4). Birkaç amino asidin birleşmesiyle oluşan polimere oligopeptit (dipeptit, tripeptit, tetrapeptit vs.), birçok amino asidin birleşmesiyle oluşan yapıya ise polipeptit adı verilir. Bir peptidin en uçta bulunan serbest α - amino kısmı amino ucu (N-terminal ucu), diğer uçta bulunan karboksil grubu ise karboksil ucu (C-terminal ucu) olarak adlandırılır.



Şekil 1. 4. İki amino asidin, kondensasyon tepkimesiyle oluşan peptit bağı ile bir dipeptit oluşturması (http://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid).

Proteinlerin dört yapısal düzeyi tanımlanmıştır:

- Birincil yapı,
- İkincil yapı,
- Üçüncül yapı(Tersiyer),
- Dördüncül yapı(Kuarterner).

Amino asitlerin peptit bağlarıyla birbirlerine bağlanıp oluşturdukları düz polimer (polipeptit) zinciri, proteinin birincil yapısını ifade eder. Polipeptit zincirinin biyolojik olarak aktif proteinlere dönüşebilmesi için özgül 3 boyutlu yapısını kazanması gerekmektedir. Bir proteinin birincil yapısı, onun 3 boyutlu yapısını belirler. Birincil yapıdaki amino asit değişiklikleri proteinin üç boyutlu konformasyonunu ve fonksiyonunu etkileyebilir.

Proteinin ikincil yapısı, genel konformasyonunu etkileyen ve tekrarlanan kıvrım veya katlanmalarla tanımlanır. Bu katlanmalar, polipeptit omurgası boyunca düzenli aralıklarla kurulan hidrojen bağlarıyla oluşur. En yaygın olarak gözlenen ikincil yapılar α -heliks ve β -tabakadır (Şekil 1. 5). α -Heliks, her 4 amino asitte bir kurulan kovalent olmayan H bağları ile şeklini koruyan kıvrımlı bir yapıdır ve kıvrımlı yapısından dolayı dayanıklı bir formdur. β -

tabaka yapısındaki polipeptit zincirleri paralel veya anti- paralel olabilir. Omurganın paralel bölgeleri arasında H bağları oluşmuştur. İkincil yapı katlanmalarında ayrıca kovalent olmayan iyonik bağlar da rol alır.

a) α - Heliks:

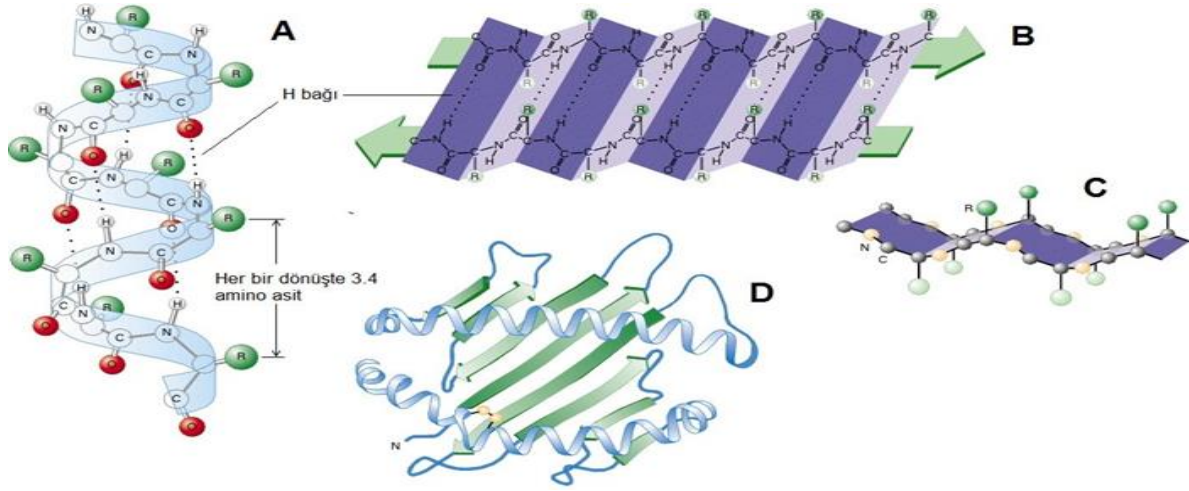
Saç ve deri gibi dokuların ana bileşenidir, sertlikleri yapılarındaki polipeptid zincir arasındaki disülfid bağlarının sayısına bağlıdır. Bu yapıda polipeptidin omurgası saat yönünde kıvrılarak bir spiral oluşturur. Heliksin bir dönüşünde $\sim 3,6$ aminoasit vardır ve bir dönüş uzunluğu 5.4\AA 'dur. R grupları sarmaldan dışa doğru yönlenmiştir. Bu yapı peptid bağının N' una bağlı H atomu ile 4. aminoasitin karbonil O atomu arasında bulunan H bağıyla sabitlenmektedir. α -heliks yapısı globüler proteinlerde görülür.

b) β -Düzlemsel Yapı:

Bu yapıda H bağları polipeptid zincirinin farklı bölgeleri arasında ya da iki ayrı polipeptid zinciri arasında kurulmuştur. Bu yapı genelde ipek iplikçığı gibi fibröz proteinlerde görülür. β -tabakalı yapı paralel ya da anti-paralel olabilir.

İkincil yapı elemanlarının daha üst düzeyde katlanmalarıyla oluşan üçüncül yapı, özellikle R grupları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanır. Üçüncül yapı ile üç boyutlu oluşuma katılan başlıca etkileşimler; hidrofobik ve Van der Waals etkileşimleridir. Bunların yanında iyonik bağlar, tuz köprüleri ve hidrojen bağları da bu yapı düzeyinin oluşmasında rol alır. Proteinin üç boyutlu konformasyonu sistein amino asitleri arasında oluşan disülfid kovalent bağlarıyla da desteklenir.

Bazı proteinlerde işlevsel form iki ya da daha fazla polipeptit zincirinin alt birimlerinin bir araya gelmesiyle kazanılır. Bu noktada proteinin dördüncül yapı düzeyinden bahsedilir.



Şekil 1. 5. Proteinlerin ikincil yapı elemanları olan α-heliks (A) ve β-tabaka (B,C, D) yapıları (Lodish et al. 2000'den değiştirilerek).

Üç boyutlu bir yapıya sahip olan ve biyolojik bakımdan aktif olan proteinlere yapısı bozunmamış anlamına gelen doğal proteinler adı verilmektedir. Peptit bağları koparılmadan bir proteinin üç boyutlu yapısının bozulmasına ve aktivitenin kaybolması olayına ise denaturasyon adı verilmektedir. Bir proteinde biyolojik aktivitenin bozulması ve çözünürlüğün değişmesi, denaturasyon için bir kriter olarak kabul edilmektedir.

Proteinler genellikle aşağıdaki koşullar altında denature olmaktadır.

- 1- Proteinler 50-60 °C'ın üstündeki sıcaklıklarda denature olmaktadır.
- 2- Proteinler pH 4'ün altında ve pH 10'un üzerinde denature olmaktadır.
- 3- Proteinler alkol, aseton ve eter gibi organik çözücülerle veya üre, β-merkaptoetanol ve guanidin HCl gibi bileşiklerle muamele edildiklerinde denature olmaktadır.

Eğer protein kuaterner bir yapıya sahipse denaturasyon koşulları altında iki türlü değişme ortaya çıkmaktadır.

- 1- Proteinin subüniteleri birbirinden ayrılmaktadır.
- 2- Her bir subünitenin ve tersiyer yapıya sahip tek polipeptit zincirlerinin konformasyonu, yani üç boyutlu yapısı bozularak tesadüfi kıvrılmalar ve bükülmeler meydana gelmektedir.

Denaturasyon eğer ılımlı koşullarda geręekleřtirilmiř ise bazen kuarterner yapıya sahip proteinlerin sadece subuniteleri biribirinden ayrılmakta; fakat tersiyer yapıları bozulmamaktadır. Böyle durumlarda denature edici faktör ortadan kalktığında protein eski konformasyonunu, dolayısıyla aktivitesini geri kazanabilir. Proteinler, bozulmuş durumda iken tekrar  boyutlu yapılarını kazanmaları ve yeniden biyolojik aktivite göstermeleri olayına renaturasyon adı verilmektedir. Daha ekstrem koşullarda denaturasyon uygulanacak olursa denaturasyon tersinir veya tersinmez olarak ortaya çıkmaktadır.

Oligomer proteinlerin analizinde bir deterjan olan ve genellikle denature edici bir ayıraç olarak sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanılmaktadır. SDS'ın proteinler ile yaptığı kompleks negatif yüklü ve çubuk şekilli partiküllerden ibarettir. SDS, her bir farklı proteine ancak belirli oranlarda bağlanabilmektedir. Bu negatif yüklü SDS-protein kompleksleri genellikle biribirini itmekte ve proteinlerin bir araya gelmeleri yani agregasyonları önlenmektedir. Bu ayıraç daha çok proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezinde molekül ağırlıklarını tayin etmek için kullanılmaktadır. SDS-protein kompleksinin elektroforetik alanda hareket etmesi tamamen molekül ağırlığına bağlı bir olaydır.

Kaynak:

Özel Duygu Demiralp, İğci Nařit, Peker Selen, Ayhan Beycan, 2014, Temel Proteomik Stratejiler, Ankara Üniversitesi Yayınevi, ISBN: 978-605-136-148-2, 2014

Özel Duygu Demiralp, İğci Nařit, Peker Selen, Ayhan Beycan, 2013, Temel Proteomik Stratejiler, Ankara Üniversitesi Yayınevi, ISBN: 978-605-136-117-8, 2013.