

Moleküler Hücre Biyolojisi I

Hafta 3: Proteinler

Dr Arzu ATALAY

Hafta 3: PROTEİNLER

- Bir hücreye mikroskopta bakıldığında ya da elektriksel /biyokimyasal etkinliği incelendiğinde gerçekte proteinler gözlenmektedir
- Yapısal proteinler, işlevsel proteinler, enzimler, zar proteinleri...
- Kimyasal bakış açısı ile proteinler bilinen en karmaşık ve işlevleri en nicelikli moleküllerdir.

- Bir proteinin biçimi amino asit yapısı ile belirlenir
- 20 amino asit kovalan peptit bağları ile bağlanır

Protein=polipeptid

Amino ve karboksil uçları, yan zincire göre farklı aa oluşur. N terminalinden karboksi terminale doğru oluşur.

Proteinlerde bulunan 20 amino asit

Kutuplu ve kutupsuz yan zincirler eşit sayıdadır

Bir polipeptit zincirinin bağ açılarındaki sterik sınırlamalar

Her amino asit zincirin omurgasına üç bağ ile katkıda bulunur. Peptid bağı düzlemseldir (ψ) ve dönme hareketine izin vermez. Ancak $C\alpha$ -C bağı arasında (ψ) ve N- $C\alpha$ bağı arasında (ϕ) dönmeler gerçekleşebilir. Aa yan grupları R ile temsil edilmektedir

Proteinler en düşük enerjili konformasyonu oluşturacak şekilde katlanır

Kutuplu aa yan zincirleri, proteinin su ile etkileşebildikleri dış bölümünde toplanma eğilimindedir; kutupsuz aa yan zincirleri sudan gizlenmiş, sıkıca paketlenmiş hidrofobik bir atom nüvesi (core) oluşturmak üzere iç bölgeye gömülmüştür. Yukarıdaki şematik çizimde protein yalnızca 30 aa içermektedir.

Denatüre edilen ajan uzaklaştırıldığında protein renatüre olur

Ürenin suda çözünürlüğü yüksektir. Her 6 su molekülü için 1 üre molekülünü bulunması gibi bir yüksek derişimde proteinleri açar

α sarmal ve β levha yapıları ortak katlanma örüntüleridir

Antiparalel ve paralel β levha yapıları proteinlerde yaygın olarak bulunur

Kısa alfa sarmal bölgeleri, taşıma proteinleri ve almaçlar gibi hücre zarında yerleşik proteinlerde çok bulunur. Hidrofilik olan polipeptid omurgası alfa sarmalda kendi içinde hidrojen bağları kurar ve çıkıntı yapan kutupsuz yan zincirleri sayesinde zarın hidrofobik yapısından korunur.

Başka proteinlerde alfa sarmallar büklümlü büklüm olarak bilinen, özellikle kararlı bir yapı oluşturmak üzere birbirlerine sarılır. Bu yapı iki ya da üç alfa sarmalın kutupsuz hidrofobik yan zincirlerinin çoğunluğu aynı tarafa bakacak şekilde yerleşik olduğunda oluşturulabilir (örnek hücre içi lifleri oluşturan alfa keratin ve kas kasılmasından sorumlu myozin)

Protein yapısı 4 düzeyde tanımlanır

Birincil yapı, proteinin amino asit dizisidir

α sarmal ve β levhaları meydana getiren uzun polipeptid zinciri **ikincil yapıdır**. Polipeptid zincirinin tam 3 boyutlu organizasyonu bazen proteinin **üçüncül yapısı** olarak bilinir ve eğer belli bir protein molekülü birden fazla polipeptid zincirinden oluşmuş bir karmaşımsa, yapının tamamı **dördüncül yapı** olarak belirtilir.

Proteinlerin konformasyonu, işlevi ve evrimine yönelik çalışmalar bu dört düzenden farklı bir düzen birimi olarak **protein alanı (*domain*)**'ni ortaya çıkarmıştır. Protein alanı, bir polipeptid zincirinin herhangi bir bölümünün bağımsız olarak sıkı, kararlı bir yapıya katlanan altyapısıdır. Alan genellikle 40-350 aaden oluşur, daha büyük proteinlerin yapımında kullanılan modüler bir birimdir. Proteinler bir ya da düzinelerce alandan oluşabilir.

Proteinler pek çok aileye ayrılır

Bir protein yararlı nitelikleri olan kararlı bir konformasyon kazanacak şekilde evrimleştikten sonra, evrim boyunca yapısı yeni işlevler yürütmesini sağlayacak şekilde değişebilir. Bu işlem zaman zaman genlerin ikilenmiş kopyalarının oluşmasını sağlayarak genetik mekanizmalarla büyük ölçüde hızlandırılmıştır. Böylelikle bir gen kopyası diğerinden farklı bir işlev görecektir.

Serim proteaz ailesinde sindirici ve kan pıhtılaştırıcı enzimler bulunur, proteaz Kısımlarının dizileri karşılaştırıldığında kısmen eşleştiği görülür. Ancak 3 boyutlu konformasyondaki değişiklik daha çarpıcıdır. Polipeptid zincirinde her biri yüzlerce amino asit uzunluğundaki sarmal, levha ve dönüş yapılarının hepsi benzerdir.

Herhangi bir genom incelendiğinde protein aileleri hemen tanınır. *C.elegans*'ta 18000den fazla gen bulunmuş, genomda protein kinaz alanı içeren 388 gen, DNA ve RNA helikaz alanı içeren 66 gen, SH2 alanı içeren 43 gen görülmüştür

Dizi benzeşim aramaları yakın akrabaları belirleyebilir

Bilinen proteinlerin dizilerini içeren veritabanında 500000den fazla veri bulunmaktadır. **Benzeşik proteinler** ortak bir ata genden evrimleşmiş proteinlerdir, amino asitlerinde istatistiksel anlamlı benzerliklerin bulunması ile saptanırlar.

Bir eşleşme olduğunu söylemek için iki protein dizisinde %30 özdeşlik olması gerekir. Uzak benzeşimleri bulmak için yaygın olarak belirgin protein işlevlerine işaret eden kısa **imza dizileri (parmak izleri)** kullanılır

Modül olarak adlandırılan protein alanları birçok proteinin belirli alanlarını oluşturur.

Evrimsel olarak korunan ve benzer işlevi gören bir proteinde benzer protein alanları vardır. Canlı evrimleştikçe ek protein alanları gözlenmektedir.

Büyük protein moleküllerinde çoğunlukla birden fazla polipeptid zinciri bulunur

Protein altbirimi (dimer, tetramer..)

Bakteriyofaj lamdanın Cro baskılayıcı proteindeki iki özdeş altbirim dimer oluşturmaktadır. Hidrofobik kuvvetler (mavi) ve bir dizi hidrojen bağının (sarı bölge) birleşimi ile **baştan başa** düzeni ile birbirine bağlanır.

Protein yapılanmaları: tek bağlanma bölgesi olanlar dimer, iki bağlanma bölgesi olanlar sarmal, iki bağlanma bölgesi birbirine göre uygun bir şekilde yerleşirse altbirimler sarmal yerine halka oluşturabilir.

Kolajen birbirine dolanmış üç uzun protein zincirinden oluşmuş bir sarmaldır. Hücre dışı boşlukta pek çok çubuksu kolajen molekülü birbirine çapraz bağlanarak çelikle aynı gerilme kuvvetinde ve uzamayan kolajen lifçikleri oluşturur. Kolajen lifçiklerdeki şeritler kolajen molekülünün lifçik içindeki düzgün tekrarlanan düzeninden kaynaklanır.

Elastin polipeptid zincirleri lastik benzeri esnek lifleri oluşturmak üzere birbirine çapraz bağlanır. Lif gerildiğinde her elastin molekülü daha uzun bir konformasyona doğru çözülür ve gerilme kuvveti kalkar kalkmaz eski haline döner.

Hücre dışı proteinler çoğu kez kovalan çapraz bağlantılarla kararlı hale gelir, protein hücre dışına yollanacağı sırada S-S bağları kurulur.

Protein molekülleri çoğu kez daha büyük yapıların yapılandırılması için altbirim görevi üstlenir.

- 1) Tekrarlanan küçük alt birimlerden oluşan büyük bir yapı az miktarda genetik bilgi gerektirir
- 2) Altbirimler nispeten daha düşük enerjili çoklu bağlarla bir araya geldiğinden hem birleşme hem çözülme rahatlıkla denetlenebilir
- 3) Bozuk altbirimleri dışlayan düzeltme mekanizmaları yapılanma sürecinde çalışır

Viruslerin pek çoğunda özdeş protein altbirimleri virus genomunu çevreleyen küresel kılıf proteinini meydana getirmek üzere düzenlenir.

TBSV (domates bushy stunt virus) 386 amino asitlik kılıf proteininin 180 eş kopyası ile 4500 nükleotidlik RNA genomundan meydana gelmiş küresel bir virüstür.

Tütün mozaik virüsünde 6000 nükleotidlik tek zincirli RNA molekülü 158 aa uzunluğunda bir kılıf proteininin 2130 kopyasından yapılmış bir sarmal kılıf içine paketlenmiştir. Saflaştırılmış RNA ve protein molekülleri test tüpünde enfeksiyon etkinliğine sahip virüs parçacıkları oluşturmak üzere kendiliğinden bir araya gelebilir.

Büyük protein topluluklarının uzunluklarını belirleyen üç mekanizma

(A)Uzun bir nüve (core) protein ya da başka bir makromolekül boyunca bir araya gelme işlemi

(B)Özdeş alt birimler eklendikçe polimer altyapısında biriken gerilme nedeni ile yapılanma işleminin sonlanması

(C)Vernier türü yapılanmada boyları farklı iki takım çubuğu molekül tam uç uca gelinceye kadar karşılıklı bir karmaşım oluşturur.

Bakteriyofaj lamdanın kuyruğunun ucu bakteri hücresinin yüzeyindeki bir proteine sıkıca tutunur, ardından baş bölgesindeki sıkıca paketlenmiş DNA kuyruğun içinden hücreye zerk edilir. Kuyruk kesin bir uzunluğa sahiptir.

Karmaşık biyolojik yapılar çoğu kez yapılanma etmenlerinin yardımıyla oluşturulur

(Mitokondri, silyum, miyolifçik özel enzimler tarafından yapılandırılır)

Örnek: proinsülin-insülin. İnsülin büyük molekül olarak sentezlenir, özgül biçimde katlandıktan sonra proteolitik enzim tarafından kırılır.

PROTEİN İŞLEVİ

- Her protein belirli bir üç boyutlu şekle veya konformasyona katlanmasını sağlayan kesin bir aa dizisine sahiptir. Fakat proteinler katı maddeler değildir, mekanik hareketleri kimyasal olaylara kenetleyebilen hareketli parçalara sahip olabilirler.
- Proteinler diğer moleküllere nasıl bağlanır?
- Başka proteinlere bağlanma yeteneği proteinlere katalizör, sinyal almaçları, anahtar, motor ya da küçük pompalar olarak işlev görmelerini sağlar

Bütün proteinler başka proteinlere bağlanır

Antikor-virüs/bakteri; heksokinaz ATP-glukoz tepkimesini katalizler; aktin molekülleri aktin ipliklerini oluşturur.

Protein **ligand**'ına (ulağı) yüksek özgüllükle bağlanır

Bir proteinin bağlanma bölgesi

(Protein ve ulağı (cAMP) arasında kurulan hidrojen bağları ve iyonik etkileşimler)

Bir enzimin etkin yerindeki son derece tepkin (reaktif) bir amino asit:

Bu örnek serin proteazlardaki katalitik üçlüye aittir (Asp, His, Ser). Aspartik asit yan zinciri histidini serin 195ten protonu koparması için uyarır. Bu serini etkinleştirerek enzimin substratı ile kovalan bir bağ kurmasını sağlar ve bir peptid bağının hidrolizlenmesine neden olur.

Proteinler diğer proteinlere çeşitli arayüzlerle bağlanırlar

- (A) Bir proteinin katı bir yüzeyi diğer proteinin polipeptid zincirinin uzun ilmiğine (sicime) bağlanabilir
- (B) İki alfa sramal büklümlü büklüm oluşturmak üzere birbirine bağlanabilir
- (C) Tamamlayıcı iki katı yüzey çoğu kez iki proteini birbirine bağlar

Antikorların bağlanma bölgeleri özellikle esnektir

Bağlanma kuvveti denge sabitesi (K) ile ölçülür

Bağlanma gücü ne kadar fazla ise, denge sabitesi (K) o kadar büyüktür.

Denge sabitesi doğrudan bağlı ve serbest durumların serbest enerjileri arasındaki farkın ölçüsüdür. Bir kaç kovalan olmayan bağdaki değişiklik Bile bağlanma etkileşiminde çarpıcı değişiklik yapabilir

Enzimler güçlü ve çok özgül katalizörlerdir

Substratın bağlanması enzim kinetiğinde ilk adımdır

Substrat derişimi arttıkça bir enzim tepkime hızı (V) maksimum değere (V_{max}) ulaşıncaya kadar artar. Birçok enzim için tepkime hızının maksimum hızın yarısı olduğu derişim (K_m) substratın ne kadar sıkı bağlandığının ölçüsüdür. Yüksek K_m değeri zayıf bağlanma anlamına gelir.

Enzimler kimyasal tepkimelerin etkinleşme enerjilerini düşürerek hızlandırır

Beş farklı tepkimenin kendiliğinden oluşma ve aynı tepkimenin enzimle katalizlenme hızları karşılaştırıldığında 10^9 - 10^{23} kez artış gözlenmektedir

Enzimler aynı anda hem asit hem de baz katalizini kullanabilirler

Lizozim, bakterilerin hücre duvarındaki polisakkarid zincirinin kesimini katalizler (hidroliz tepkimesi)

Sıkıca bağlı küçük moleküller proteinlere ek işlevler kazandırır

- (a) Retinadaki fotoalmaç hücrelerindeki rodopsin ışığı proteine gömülü küçük bir molekül olan **retinal** ile saptar, enzimatik tepkimeler şelalesi başlar ve elektrik sinyali beyine gider
- (b) Hem grubu hemoglobine kırmızı rengi verir, oksijene tersinir bağlanabilir

Karboksi peptidazın etkin yerinde çinko iyonu vardır, hidroliz tepkimesine yardımcı olur

Koenzimler enzimlerin çalışması için kritiktir ve vitaminlerle sağlanır

Pek çok enzimin birkaç aktif bölgesi bulunabilir

Çoklu enzim karmaşımları hücre metabolizmasının hızının artırılmasına yarar

(oklu) geri beslemeli engelleme ile enzimlerin katalitik etkinlikleri düzenlenir

Allosterik enzimlerin birbirleri ile etkileřen iki ya da daha fazla bağlanma bölgeleri vardır:

Artı ve eksi yönde düzenleme

Simetrik protein yapılanmaları yardımlaşmalı allosterik geçişler oluşturur

Aspartat transkarbomilaz enziminde gerçekleşen allosterik geçiş atomik ayrıntısı ile anlaşılmıştır

Ökaryotik hücre geniş bir protein kinaz ve protein fosfataz koleksiyonuna sahiptir

Bir proteinin fosforillenmesi proteinin yapısına göre etkinliğini artırır ya da azaltır
(insan genomu 500den fazla kinaz kodlar)

Cdk protein kinase düzenlenmesi bir proteinin nasıl mikroçip gibi işlev görebildiğini gösterir

Src protein kinase düzenlenmesi bir proteinin nasıl mikroçip gibi işlev görebildiğini gösterir

GTP bağlayan ve hidrolizleyen proteinler çok yaygın olan hücre düzenleyicilerdir

Ras proteininin hücre içi sinyal iletisinde önemli rolü vardır, GTP bağlı durumda etkindir, çoğunlukla GDP bağlı durumdadır

EF-Tu bir protein ailesinin çalışma biçimini özetleyen iyi bir örnektir, her amino açil tRNA molekülünü ribozoma yükleyerek protein sentezinde uzama etmenidir.

Motor proteinleri hücrelerde büyük hareketlere yol açar

(mitoz sırasında kromozomların hücrelerin zıt uçlarına taşınması, organellerin hücredeki molekül izleri boyunca hareket etmesi, enzimlerin DNA zinciri boyunca yürümesi...)

ABC protein taşıyıcılar büyük hidrofobik molekülleri membrandan pompalarlar

(E.coli de vitamin B12 alımı)

Proteinler çoklu bölgelerinden kovalan bağlanan moleküllerle düzenlenirler