

Proteinlerin İşlevi

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Biyokimya

Bölüm 5



Protein Fonksiyonunun Temelinde Moleküler Etkileşimler Vardır

- Proteinlerin işlevleri büyük ölçüde diğer moleküllerle kurdukları etkileşimlere dayanır.
- Bu etkileşimler çoğu zaman geçicidir ve fizyolojik koşullardaki değişikliklerden etkilenebilir.
- Protein yapısındaki küçük değişiklikler bile moleküler etkileşimleri ve dolayısıyla protein fonksiyonunu değiştirebilir.
- Bu bölümde proteinlerin ligandlarla etkileşimi, oksijen taşınması ve moleküler hareket gibi temel işlevler ele alınacaktır.





Ligandlar Proteinlere Özgül Olarak Bağlanır

- Bir proteine geri dönüşümlü olarak bağlanan molekül ligand, ligandın bağlandığı bölge ise bağlanma bölgesi olarak adlandırılır.
- Bağlanma bölgesi ligandın büyüklüğü, şekli, yükü ve hidrofilik ya da hidrofobik özellikleriyle tamamlayıcıdır.
- Proteinler çevredeki farklı molekülleri ayırt ederek yalnızca belirli ligandlara seçici biçimde bağlanabilir.
- Aynı protein farklı ligandlar için ayrı bağlanma bölgelerine sahip olabilir ve bu etkileşimler hücresel süreçlerin düzenlenmesinde önem taşır.





Proteinler Esnek ve Dinamik Moleküllerdir

- Proteinlerin yapısı sabit değildir; moleküler titreşimler ve amino asit kalıntılarının hareketleri sürekli küçük konformasyon değişiklikleri oluşturur.
- Bazı konformasyon değişiklikleri daha büyük olabilir ve proteinin belirli bölümlerinin birkaç nanometre hareket etmesine yol açabilir.
- Protein ile ligand arasındaki bağlanma çoğu zaman proteinin konformasyonunu değiştirerek etkileşimi daha tamamlayıcı hale getirir.
- Ligand bağlanmasıyla ortaya çıkan bu yapısal uyum 'induced fit' olarak adlandırılır.





Enzimler Protein Fonksiyonunun Özel Bir Örneğidir

- Enzimler, diğer molekülleri kimyasal olarak dönüştürerek reaksiyonları katalizleyen proteinlerdir.
- Enzimlerin etkilediği moleküller substrat, substratın bağlandığı ve dönüştürüldüğü bölge ise aktif bölge olarak adlandırılır.
- Enzimlerin bağlanma, özgüllük ve konformasyon değişimi gibi özellikleri diğer protein–ligand etkileşimleriyle ortak prensiplere dayanır.
- Proteinlerin moleküler tanıma mekanizmalarını anlamak, enzimlerin işleyişini anlamak için de temel oluşturur.





Oksijenin Taşınması Özel Proteinler Gerektirir

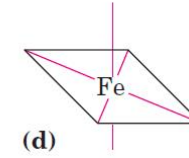
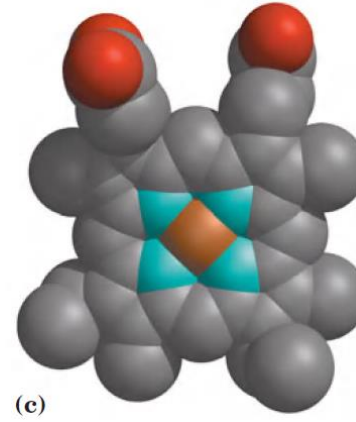
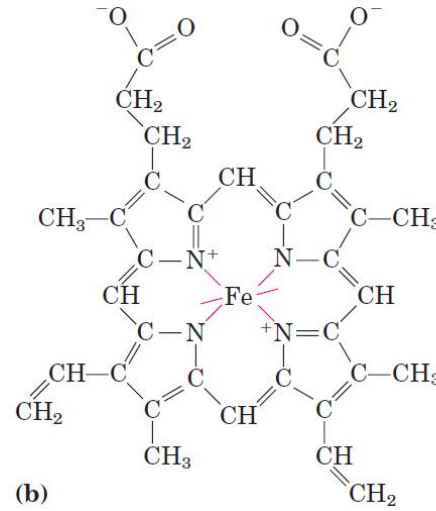
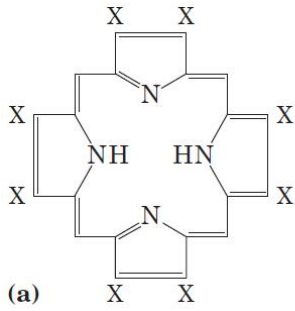
- Oksijen suda az çözündüğü için yalnızca kan serumunda çözünerek dokulara yeterli miktarda taşınamaz.
- Çok hücreli organizmalar büyüdükçe oksijenin dokulara yalnızca difüzyonla ulaşması da yetersiz kalır.
- Bu nedenle evrim sürecinde oksijeni bağlayabilen ve taşıyabilen proteinler ortaya çıkmıştır.
- Ancak proteinlerde bulunan amino asit yan zincirlerinin hiçbirisi moleküler oksijeni geri dönüşümlü olarak bağlamaya uygun değildir.





Oksijen Heme Prostetik Grubuna Bağlanır

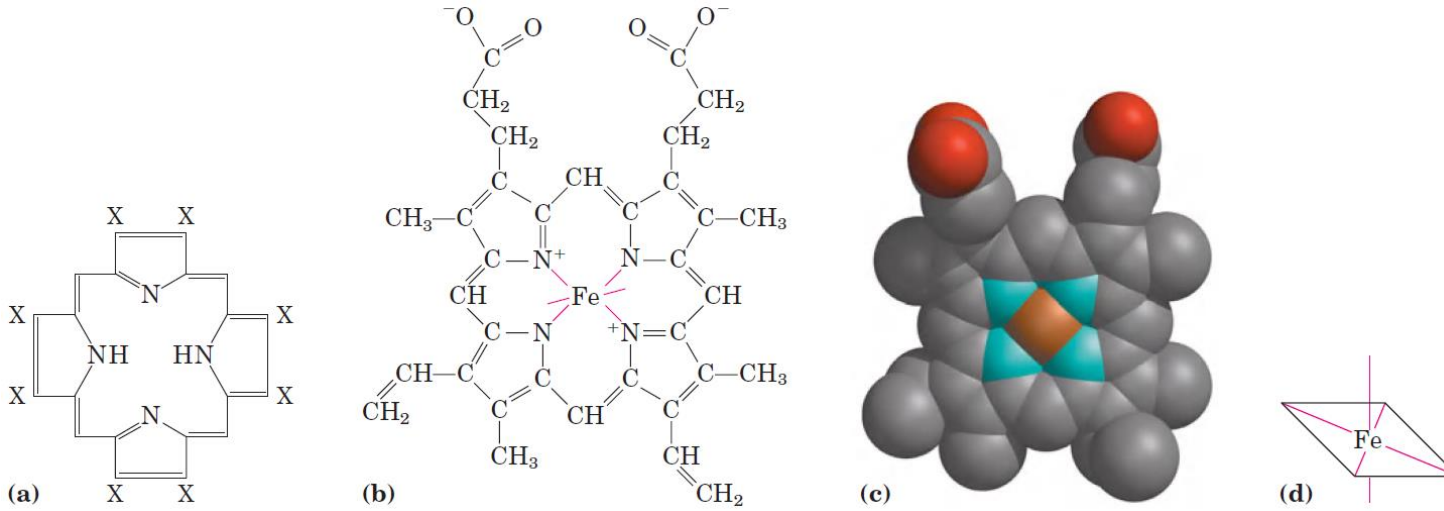
- Oksijenin geri dönüşümlü bağlanması demir ve bakır gibi geçiş metalleri tarafından gerçekleştirilebilir.
- Serbest demir oldukça reaktiftir ve hücrelerde oksidatif hasara yol açabileceğinden proteinlere bağlı biçimde tutulur.





Oksijen Heme Prostetik Grubuna Bağlanır

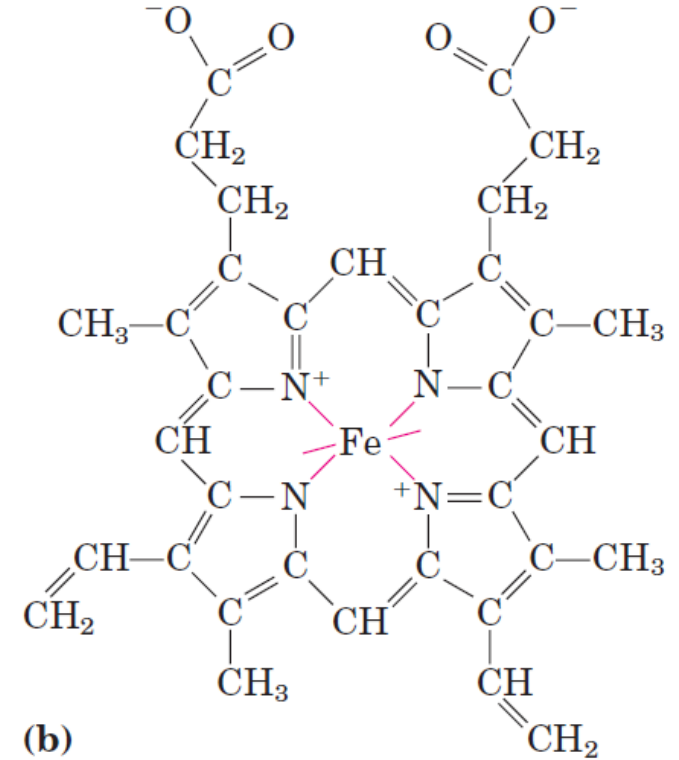
- Miyoglobin ve hemoglobinde demir, protein fonksiyonuna katkı sağlayan heme adlı prostetik grubun parçasıdır.
- Aşağıdaki figürde, heme grubunun porfirin halkası, merkezdeki Fe^{2+} iyonu ve bu yapının farklı gösterimlerini sunulmuştur.





Heme Grubunun Yapısı

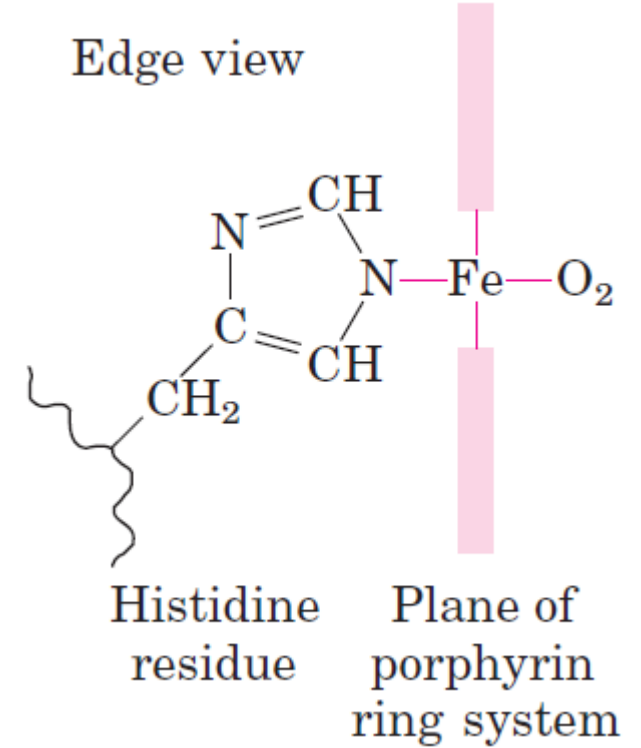
- Heme, protoporfirin adı verilen karmaşık bir organik halka ile bu yapıya bağlı tek bir demir atomundan oluşur.
- Demir atomu porfirin sistemindeki dört azot atomuyla dört koordinasyon bağı oluşturur.
- Bu azot atomlarının elektron verici özellikleri demirin Fe^{2+} durumunda kalmasına yardımcı olur.
- Fe^{2+} oksijeni geri dönüşümlü bağlarken Fe^{3+} durumundaki demir oksijen bağlayamaz.





Heme İçindeki Demirin Koordinasyon Bağları

- Heme proteine bağlandığında demirin altı koordinasyon bağından beşincisi bir histidin kalıntısının yan zincir azotuyla kurulur.
- Bu histidin proximal His olarak adlandırılır ve demirin proteine bağlanmasına katkıda bulunur.
- Altıncı koordinasyon bölgesi moleküler oksijenin bağlanabileceği konum olarak kalır.
- Yandaki figürde, porfirin halkasına dik uzanan bu iki koordinasyon bağı ve oksijenin bağlanma bölgesi görülmektedir.





Protein Ortamı Heme Reaktivitesini Kontrol Eder

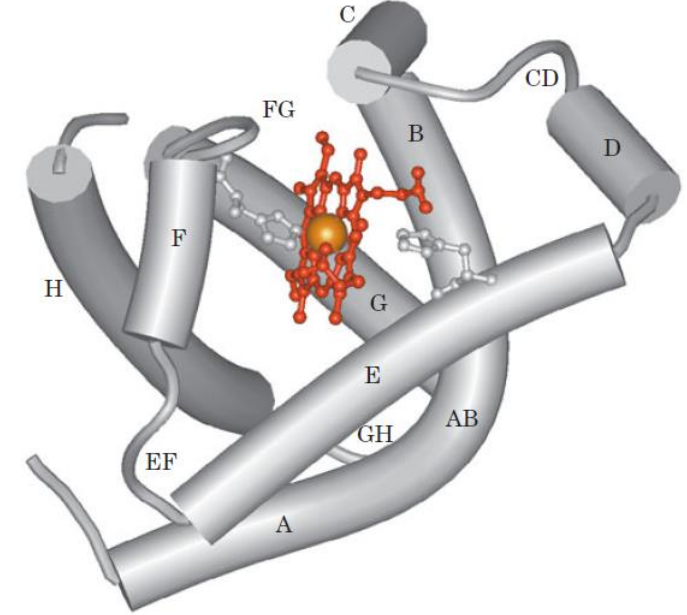
- Serbest heme molekülünde oksijen bağlanması demirin Fe^{2+} durumundan Fe^{3+} durumuna geri dönüşümsüz oksidasyonunu kolaylaştırabilir.
- Protein yapısı heme gruplarını birbirinden ayırarak bu reaksiyonun gerçekleşmesini sınırlar.
- Karbon monoksit serbest heme demirine oksijenden 20.000 kat daha güçlü bağlanırken miyoglobindeki heme için bu fark yaklaşık 200 kata düşer.
- Protein çevresi böylece heme grubunun farklı ligandlara karşı bağlanma özelliklerini önemli ölçüde değiştirir.





Miyoglobin Tek Bir Oksijen Bağlanma Bölgesine Sahiptir

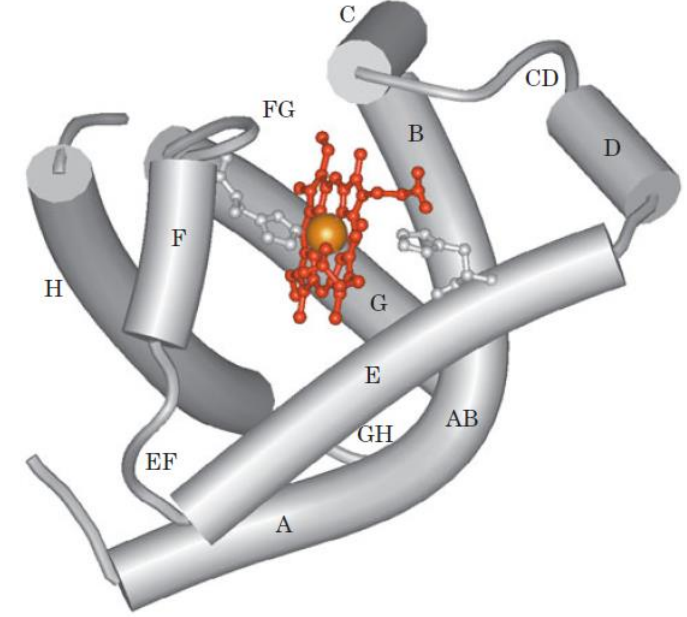
- Miyoglobin yaklaşık 16.700 molekül kütleli, özellikle kas dokusunda bulunan oksijen bağlayıcı bir proteindir.
- Fok ve balina gibi dalış yapan memelilerin kaslarında bol miktarda bulunarak oksijen deposu görevi görür.
- Miyoglobin, 153 amino asitten oluşan tek bir polipeptit zinciri ve tek bir heme grubu içerir.
- Yandaki figürde, miyoglobinin sekiz α -heliksi ve heme grubunun proteindeki konumu gösterilmiştir.





Miyoglobinin Globin Katlanması

- Miyoglobindeki sekiz α -heliks A'dan H'ye kadar adlandırılır ve heliksleri birbirine bağlayan kıvrımlar iki harfle gösterilir.
- Amino asitler dizideki konumlarına veya bulundukları heliksteki konumlarına göre tanımlanabilir.
- Heme demirine bağlanan His93, F heliksindeki sekizinci amino asit olduğu için His F8 olarak da adlandırılır.
- Yandaki figür, bu yapısal adlandırma sistemini miyoglobinin üç boyutlu yapısı üzerinde göstermektedir.





Protein–Ligand Bağlanması Nicel Olarak Tanımlanabilir

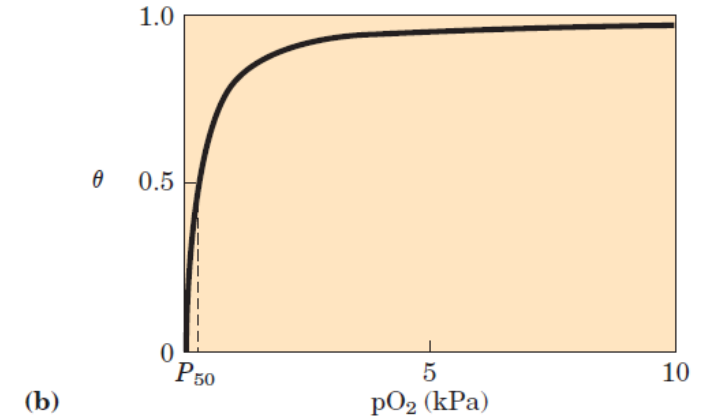
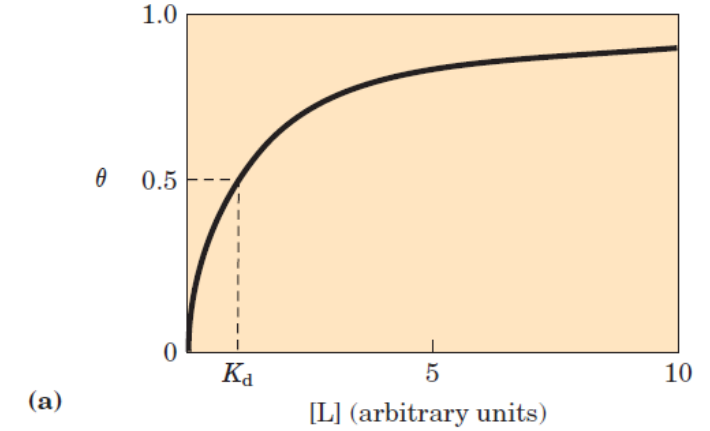
- Protein ile ligand arasındaki geri dönüşümlü bağlanma genel olarak $P + L \rightleftharpoons PL$ şeklinde ifade edilir.
- Bu denge için birleşme sabiti $K_a = [PL]/[P][L]$ olarak tanımlanır.
- K_a değeri yükseldikçe ligandın proteine olan afinitesi artar.
- Bağlanma dengesi aynı zamanda birleşme ve ayrışma hız sabitlerinin oranıyla ilişkilidir.





Ligand Konsantrasyonu Bağlanmayı Belirler

- Serbest ligand konsantrasyonu protein konsantrasyonundan çok yüksek olduğunda ligandın bağlanması toplam ligand miktarını önemli ölçüde değiştirmez.
- Bağlanma bölgelerinin ligand tarafından işgal edilen oranı θ ile ifade edilir.
- Basit bir bağlanma sisteminde bu ilişki $\theta = [L]/([L] + K_d)$ biçiminde gösterilebilir.
- Figür a, ligand konsantrasyonu arttıkça bağlanmanın hiperbolik biçimde doygunluğa yaklaştığını göstermektedir.





Ayrışma Sabiti Ligand Afinitesinin Bir Ölçüsüdür

- K_d , protein–ligand kompleksinin ayrışma denge sabitidir ve molar konsantrasyon birimleriyle ifade edilir.
- Ligand konsantrasyonu K_d değerine eşit olduğunda bağlanma bölgelerinin yarısı doludur ve $\theta = 0,5$ olur.
- K_d küçüldükçe proteinin ligandına olan afinitesi yükselir.
- Yandaki tablo, farklı protein–ligand etkileşimlerinin K_d değerlerinin çok geniş bir aralıkta değişebildiğini göstermektedir.

Bazı Proteinlerin Ayrışma Sabitleri		
Protein	Ligand	K_d (M)*
Avidin (Yumurta beyazı)	Biyotin	1×10^{-15}
İnsülin reseptörü (İnsan)	İnsülin	1×10^{-10}
Anti-HIV immüoglobülin (İnsan) [†]	gp41 (HIV-1 yüzey proteini)	4×10^{-10}
Nikel-bağlayan protein (<i>E. coli</i>)	Ni^{2+}	1×10^{-7}
Kalmodulin (Sığan) [‡]	Ca^{2+}	3×10^{-6} 2×10^{-5}

Tipik reseptör–ligand etkileşimleri		
Diziye özgü protein–DNA etkileşimleri		
Biyotin–avidin		
Antikor–antijen		
Enzim–substrat		

Renkli çubuklar, biyolojik sistemlerdeki çeşitli etkileşim sınıfları için tipik ayrışma sabiti aralıklarını göstermektedir. Avidin ile enzim kofaktörü biyotin arasındaki etkileşim gibi bazı etkileşimler bu aralıkların dışındadır. Avidin–biyotin etkileşimi son derece sıkıdır ve geri dönüşümsüz kabul edilebilir. Diziye özgü protein–DNA etkileşimleri, herhangi bir DNA bölgesine genel bağlanmaya karşılık olarak, DNA'daki belirli bir nükleotid dizisine bağlanan proteinleri yansıtır.

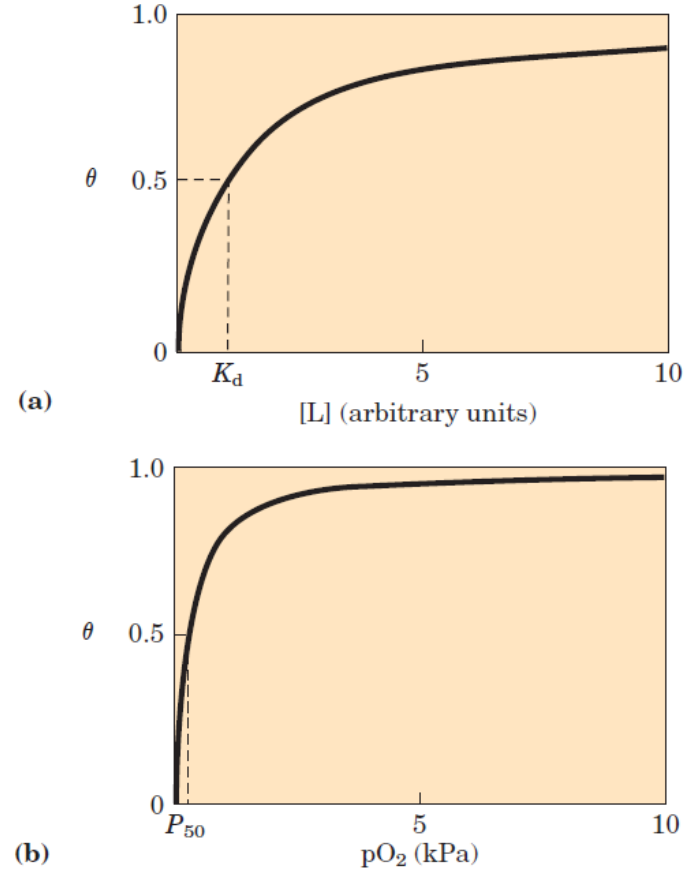
* Belirtilen ayrışma sabiti, sadece ölçüldüğü çözeltinin özel koşullarında geçerlidir. Bir protein–ligand etkileşiminin K_d değerleri, bazen birkaç büyüklük, sırasıyla çözeltideki tuz derişimi, pH ve diğer değişkenlerin değişmesiyle değişime uğratılabilir.

[†] Bu immüoglobülin, HIV'e karşı aşı geliştirme gayretlerinin bir kısmı olarak ayrıştırıldı. Bu bölümde daha sonra tanımlanan immüoglobulinler çok değişkenlidir ve burada belirtilen K_d , bütün immüoglobulinlerin özelliği şeklinde düşünülmemelidir.

[‡] İmmüoglobulin, HIV'e karşı aşı geliştirme gayretlerinin bir kısmı olarak ayrıştırıldı. Bu bölümde daha sonra tanımlanan immüoglobulinler çok değişkenlidir ve burada belirtilen K_d , bütün immüoglobulinlerin özelliği şeklinde düşünülmemelidir.

Oksijen Bağlanması Kısmi Basınçla İfade Edilebilir

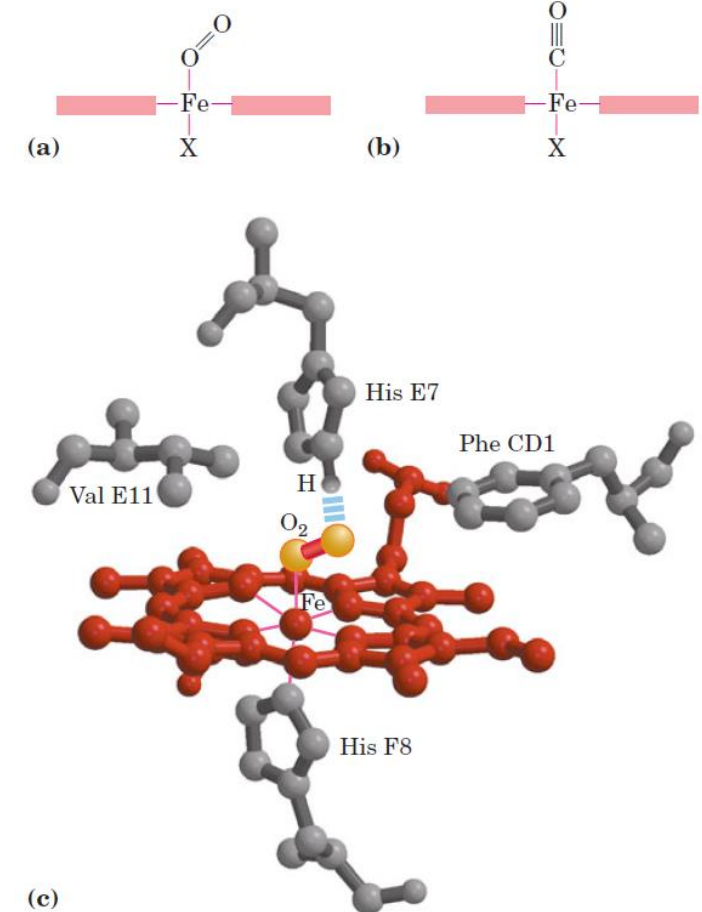
- Oksijen deneylerinde çözeltideki oksijen miktarı yerine gaz fazındaki oksijenin kısmi basıncının kullanılması daha pratiktir.
- Çözünmüş oksijen konsantrasyonu, gaz fazındaki yerel oksijen kısmi basıncıyla doğru orantılıdır.
- Bağlanma bölgelerinin yarısının dolduğu oksijen kısmi basıncı P_{50} olarak tanımlanır.
- Figür b, miyoglobinin oksijen bağlanmasını pO_2 ile ilişkilendiren hiperbolik bağlanma eğrisini göstermektedir.





Protein Yapısı Ligand Bağlanmasını Belirler

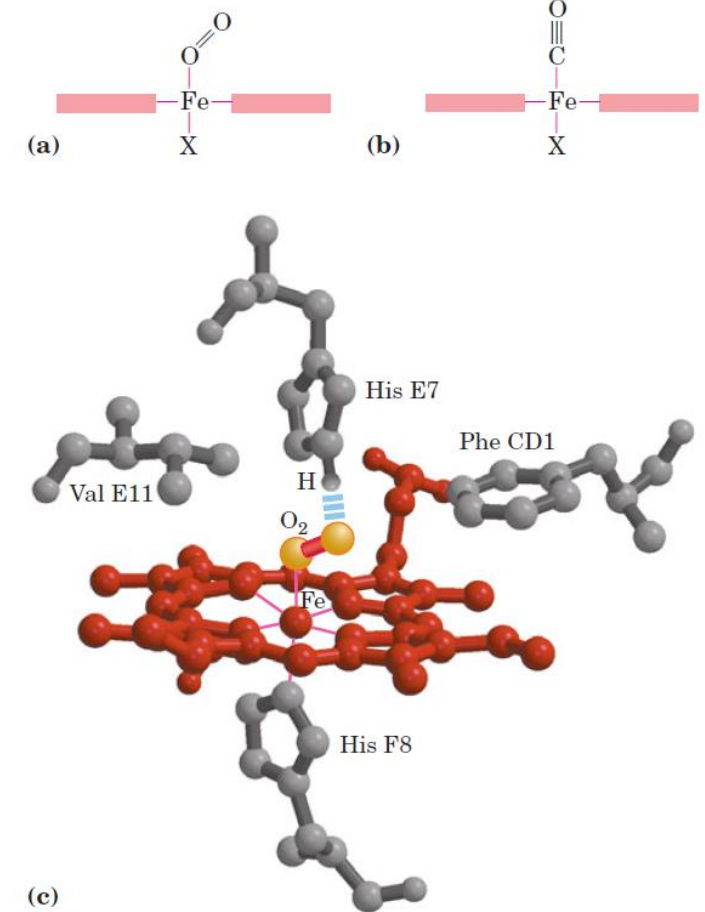
- Bir ligandın proteine bağlanması yalnızca basit bir kimyasal etkileşim değildir; protein yapısı bağlanmanın özgüllüğünü belirler.
- Serbest heme'de CO doğrusal bir geometriyle bağlanabilirken O₂ demire açılı biçimde bağlanır.
- Miyoglobindeki distal His E7, CO'nun tercih ettiği doğrusal bağlanmayı sterik olarak engelleyerek CO afinitesini azaltır.
- Yandaki figür, O₂ ve CO'nun heme bağlanma geometrilerini ve miyoglobindeki çevresel amino asitlerin etkisini göstermektedir.





Miyoglobinin Dinamik Yapısı Oksijen Geçişine İzin Verir

- Miyoglobindeki heme grubu protein yapısının derinliklerinde bulunur ve oksijen için açık bir geçiş yolu bulunmaz.
- Protein tamamen rijit olsaydı oksijen heme cebine girip çıkamazdı.
- Amino asit yan zincirlerinin hızlı ve geçici hareketleri protein içinde kısa süreli boşluklar oluşturabilir.
- Bu dinamik yapı oksijenin heme grubuna ulaşmasını ve bağlandıktan sonra ayrılmasını mümkün kılar.





Hemoglobin Oksijeni Kanda Taşır

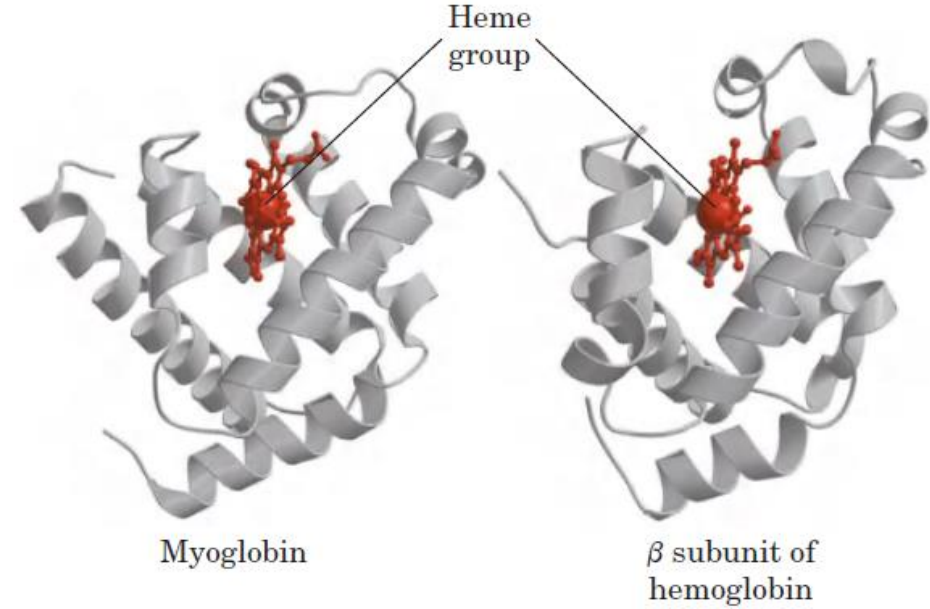
- Hayvanlarda kanla taşınan oksijenin neredeyse tamamı eritrositlerde bulunan hemoglobine bağlıdır.
- İnsan eritrositleri yaklaşık 9 μm çapında, bikonkav disk biçimli ve çekirdeksiz hücrelerdir.
- Akciğerlerden dokulara giden arteriyel kanda hemoglobin yaklaşık %96 oranında oksijenle doymuştur.
- Dokulardan dönen venöz kanda ise hemoglobinin oksijen doygunluğu yaklaşık %64'e düşer.





Hemoglobin ve Miyoglobin Benzer Yapısal Özellikler Taşır

- Hemoglobin yaklaşık 64.500 molekül kütleli, dört heme grubu taşıyan tetramerik bir proteindir.
- Erişkin hemoglobini iki α ve iki β globin zincirinden oluşur ve her alt birim bir heme grubu taşır.
- α ve β zincirlerinin amino asit dizileri önemli ölçüde farklı olsa da üç boyutlu yapıları miyoglobine oldukça benzerdir.
- Yandaki figürde, miyoglobin ile hemoglobinin β alt biriminin yapısal benzerliği karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.





Globin Proteinlerinde Yapısal Benzerlik Korunur

- Miyoglobin ile hemoglobinin α ve β zincirleri aynı globin ailesinin üyeleridir ve benzer helikal organizasyona sahiptir.
- α zincirinde D heliksi bulunmamasına rağmen heme bağlanma cebi büyük ölçüde korunmuştur.
- Miyoglobin ve globin zincirlerinin amino asit dizileri arasındaki benzerlik sınırlı olsa da temel üç boyutlu yapı korunur.
- Yandaki figürde, miyoglobin ile hemoglobinin α ve β zincirlerinin amino asit dizileri karşılaştırılmaktadır.

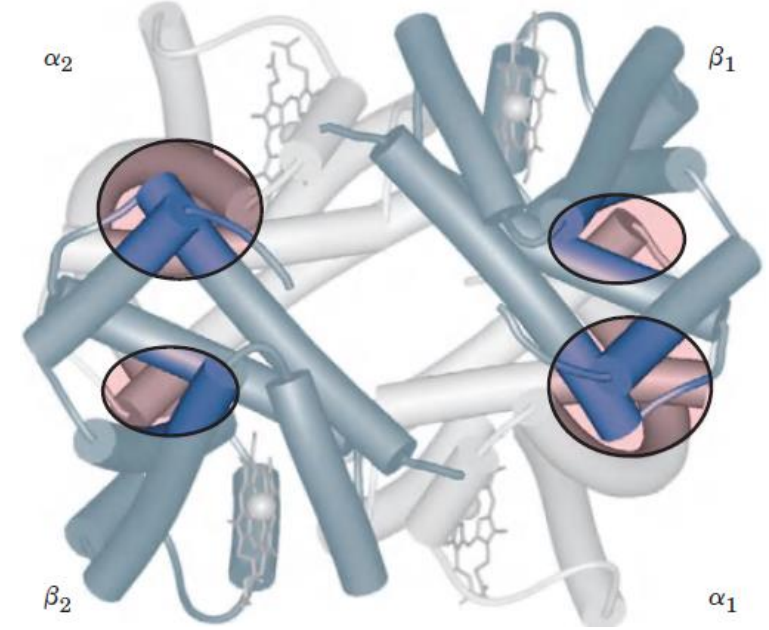
	Mb	Hb α	Hb β		Mb	Hb α	Hb β
NA1--	1 V	1 V	1 V				
	—	—	H				
	L	L	L				
A1	S	S	T				
	E	P	P				
	G	A	E				
	E	D	E				
	W	K	K				
	Q	T	S				
	L	N	A				
	V	V	V				
	L	K	T				
	H	A	A				
	V	A	L				
	W	W	W				
	A	G	G				
	K	K	K				
	V	V	V				
A16	E	G	—				
	A	A	—				
B1	—	20 H	N				
	V	A	20 V				
	A	G	D				
	G	E	E				
	H	Y	V				
	G	G	G				
	Q	A	G				
	D	E	E				
	I	A	A				
	L	L	L				
	I	E	G				
	R	R	R				
	L	M	L				
	F	F	L				
	K	L	V				
B16	S	S	V				
C1	H	F	Y				
	P	P	P				
	E	T	W				
	T	T	T				
	40 L	40 K	Q				
	E	T	40 R				
C7	K	Y	F				
	F	F	F				
	D	P	E				
	R	H	S				
	F	F	F				
	K	—	G				
	H	D	D				
	L	L	L				
	K	S	S				
D1	T	H	T				
	E	—	P				
	A	—	D				
	E	—	A				
	M	—	V				
	K	—	M				
D7	A	G	G				
E1	S	S	N				
	E	A	P				
	60 D	Q	K				
	L	V	60 V				
	K	K	K				
	K	G	A				
D7	H	H	H				
E7	G	G	G				
	V	60 K	K				
	T	K	K				
	V	V	V				
	L	A	L				
	T	D	G				
	A	A	A				
	L	L	F				
	G	T	S				
	I	A	G				
E19	L	V	L				





Hemoglobinin Alt Birimleri Güçlü Etkileşimler Kurar

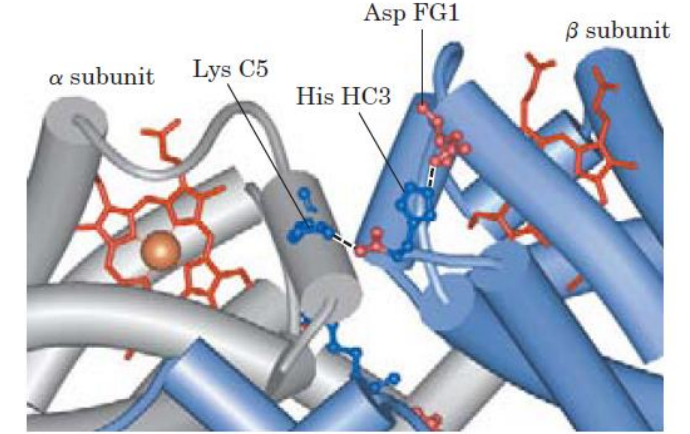
- Hemoglobinin kuaterner yapısı farklı alt birimler arasında güçlü temas bölgeleri içerir.
- $\alpha_1\beta_1$ ve $\alpha_2\beta_2$ ara yüzleri 30'dan fazla amino asit kalıntısını içeren güçlü etkileşimlerle stabilize edilir.
- $\alpha_1\beta_2$ ve $\alpha_2\beta_1$ ara yüzlerinde ise hidrojen bağları ve iyon çiftleri önemli rol oynar.
- Yandaki figürde, hemoglobin alt birimleri arasındaki baskın temas bölgelerini gösterilmiştir.



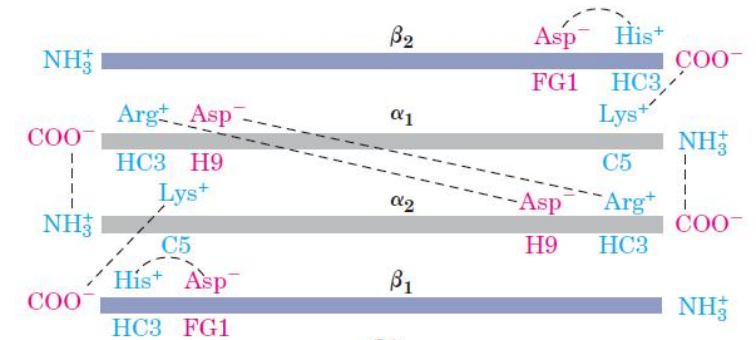


İyon Çiftleri Deoksihemoglobini Stabilize Eder

- Deoksihemoglobinin T durumunda bazı iyon çiftleri protein yapısının kararlılığına katkıda bulunur.
- Bu etkileşimlerin bir bölümü α ve β alt birimleri arasında, bir bölümü ise aynı alt birim içindeki amino asitler arasında oluşur.
- Oksijen bağlandığında bu iyon çiftlerinden bazıları kırılır ve yenileri oluşur.
- Yandaki figürde, deoksihemoglobinin T durumunu stabilize eden bazı iyon çiftleri gösterilmiştir.



(a)



(b)



Hemoglobin T ve R Durumları Arasında Geçiş Yapar

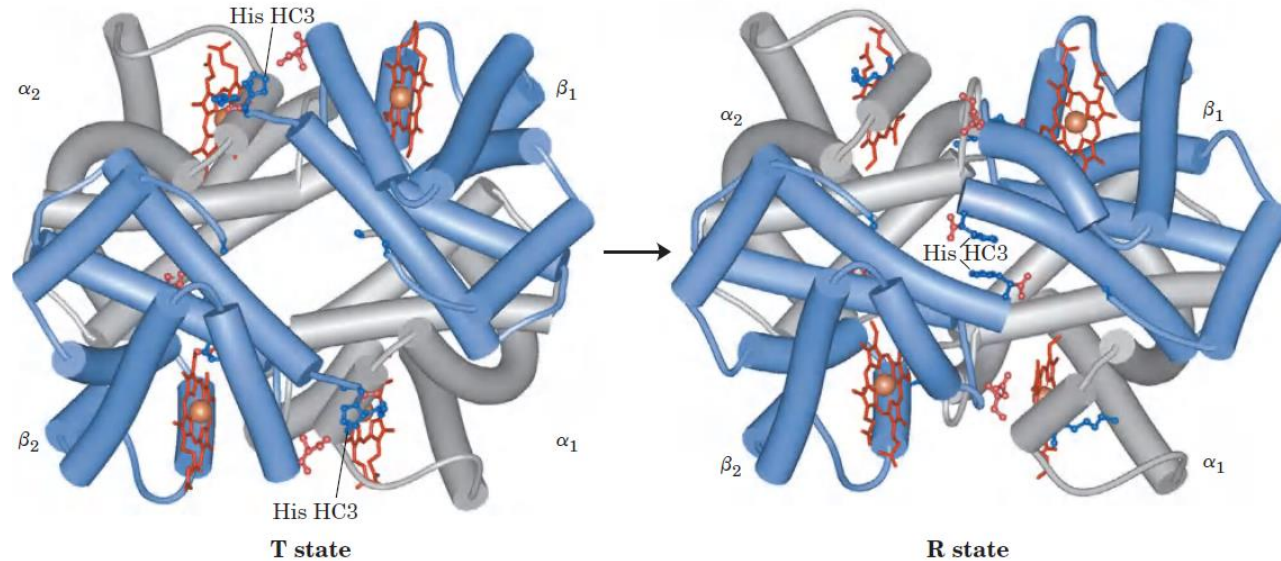
- Hemoglobin iki temel konformasyonda bulunur ve bunlar T durumu ile R durumu olarak adlandırılır.
- Oksijen bulunmadığında T durumu daha karardır ve deoksihemoglobinin baskın konformasyonunu oluşturur.
- Oksijen bağlanması R durumunu destekler ve hemoglobinin oksijene olan afinitesini artırır.
- T durumundan R durumuna geçiş sırasında özellikle $\alpha_1\beta_2$ ve $\alpha_2\beta_1$ temas bölgelerinde önemli yapısal değişiklikler meydana gelir.





T $\rightarrow$ R Geçişinde Alt Birimlerin Konumu Değişir

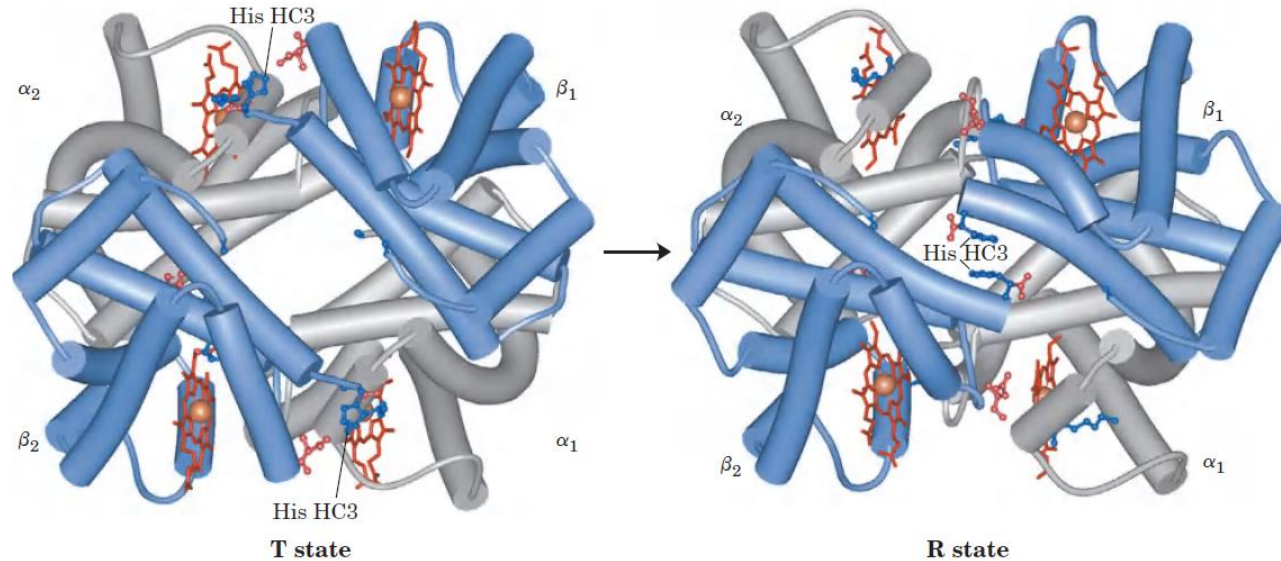
- T durumundan R durumuna geçerken $\alpha\beta$ alt birim çiftleri birbirlerine göre kayar ve döner.
- Bu hareket sırasında T durumunu stabilize eden bazı iyon çiftleri kırılır ve yeni etkileşimler oluşur.





T $\rightarrow$ R Geçişinde Alt Birimlerin Konumu Değişir

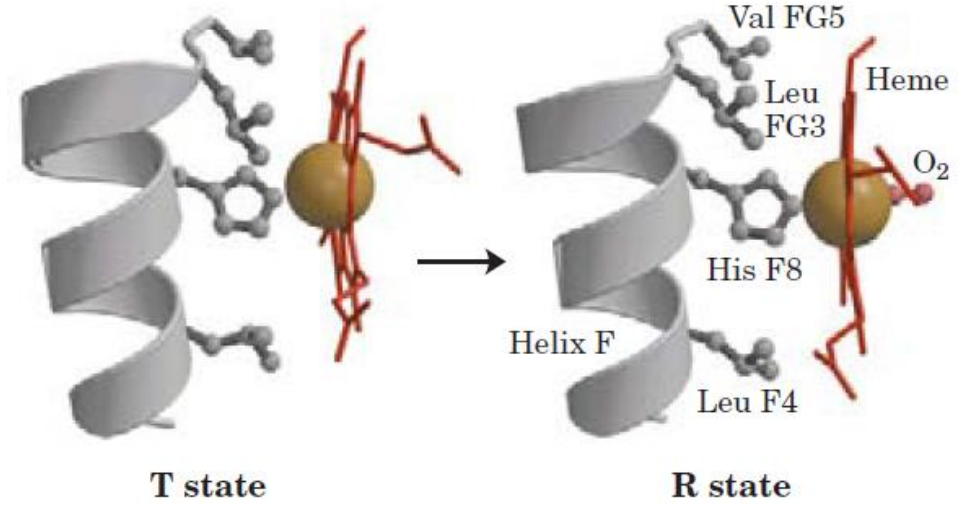
- Geçişin önemli sonuçlarından biri β alt birimleri arasındaki cebin daralmasıdır.
- Aşağıdaki figür, deoksihemoglobinin T ve R durumları arasındaki büyük ölçekli konformasyon değişikliğini göstermektedir.





Oksijen Bağlanması Heme Çevresindeki Yapıyı Değiştirir

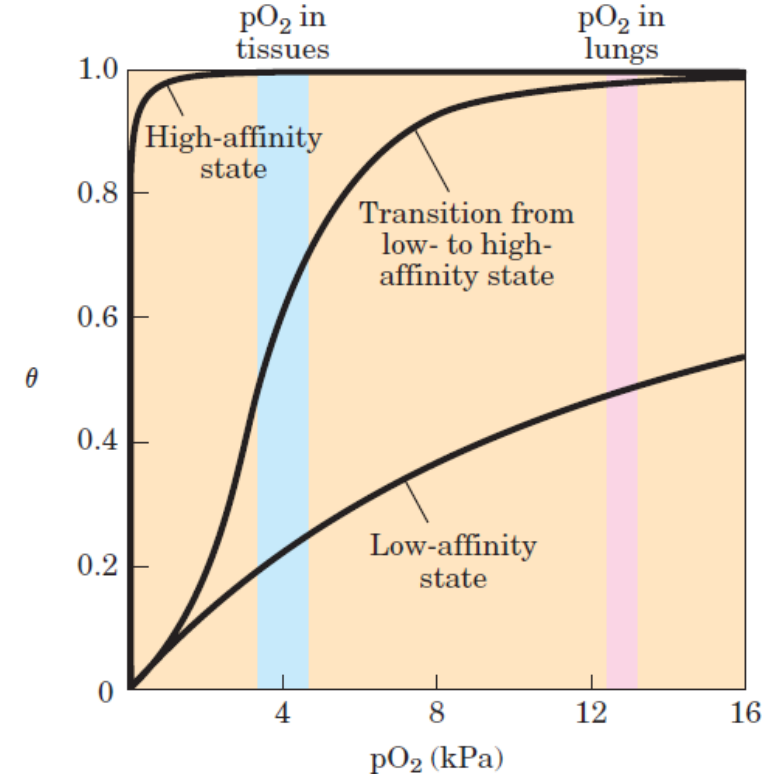
- T durumunda heme hafifçe kubbeleşmiş yapıdadır ve demir atomu porfirin düzleminin biraz dışında bulunur.
- Oksijen bağlandığında heme daha düz hale gelir ve Fe^{2+} porfirin düzlemine doğru hareket eder.
- Demirin hareketi proximal His F8'i ve buna bağlı F heliksini de yerinden oynatır.
- Yandaki figür, oksijen bağlanmasının heme ve F heliksi çevresinde oluşturduğu konformasyon değişikliğini göstermektedir.





Hemoglobin Oksijeni Kooperatif Olarak Bağlar

- Hemoglobin akciğerlerde oksijeni etkili biçimde bağlamalı, dokularda ise önemli miktarda oksijeni serbest bırakmalıdır.
- Tek bağlanma bölgesi miyoglobinin hiperbolik eğrisi bu iki gereksinimi aynı anda karşılamaya uygun değildir.
- Hemoglobinin oksijen bağlanma eğrisi sigmoidal yapıdadır ve düşük afiniteli durumdan yüksek afiniteli duruma geçişi yansıtır.
- Yandaki figürde, hemoglobinin kooperatif oksijen bağlanmasının farklı pO_2 değerlerinde sağladığı avantaj gösterilmiştir.





Bir Oksijen Molekülünün Bağlanması Diğerlerini Etkiler

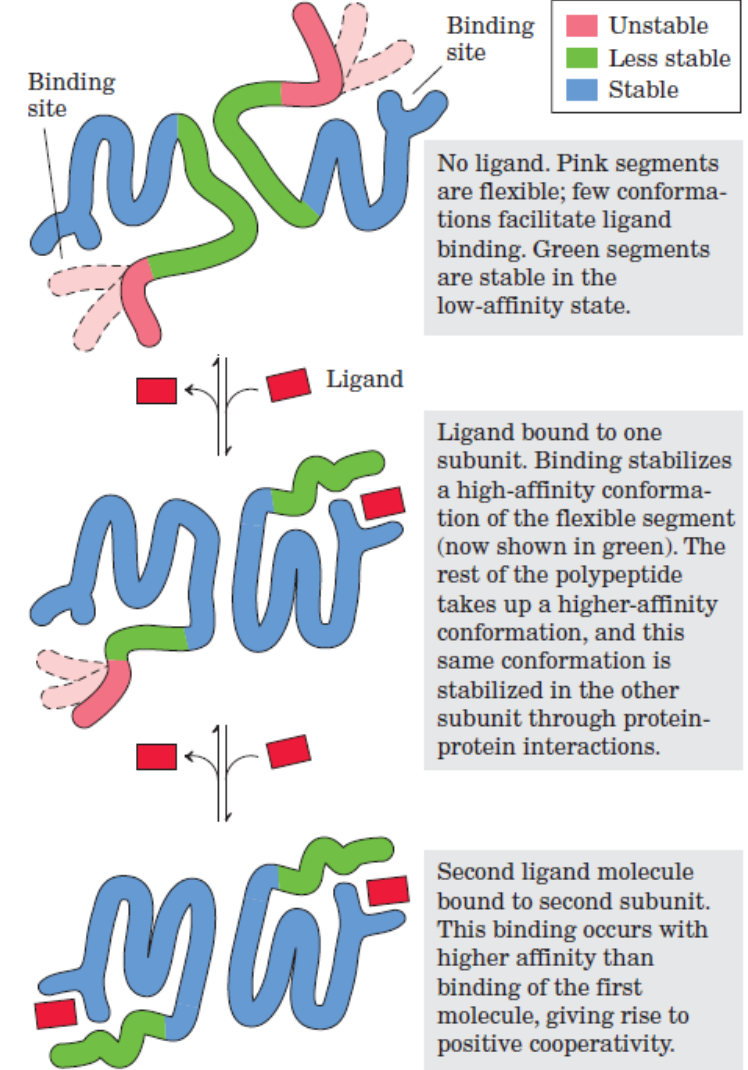
- T durumundaki ilk hemoglobin alt birimine O_2 nispeten düşük afiniteyle bağlanır.
- İlk O_2 'nin bağlanması konformasyon değişikliklerini başlatarak komşu alt birimlerin oksijene olan afinitesini artırır.
- $T \rightarrow R$ geçişi daha fazla O_2 bağlandıkça kolaylaşır ve son oksijen molekülü en yüksek afiniteyle bağlanır.
- Bu özellik hemoglobinin oksijen bağlanmasındaki kooperativitenin temelini oluşturur.





Allosterik Proteinlerde Ligandlar Birbirini Etkiler

- Bir bağlanma bölgesindeki ligandın başka bir bölgenin bağlanma özelliklerini değiştirdiği proteinler allosterik proteinler olarak adlandırılır.
- Normal ligand ile modülatör aynı molekül olduğunda etkileşim homotropik, farklı moleküller olduğunda ise heterotropik olarak tanımlanır.
- Oksijen hem hemoglobinin ligandı hem de pozitif homotropik modülatörüdür.
- Yandaki figür, çok alt birimli bir proteinde ligand bağlanmasının konformasyon değişiklikleri aracılığıyla kooperativite oluşturmasını göstermektedir.





Kooperatif Bağlanma Hill Denklemiyle Tanımlanabilir

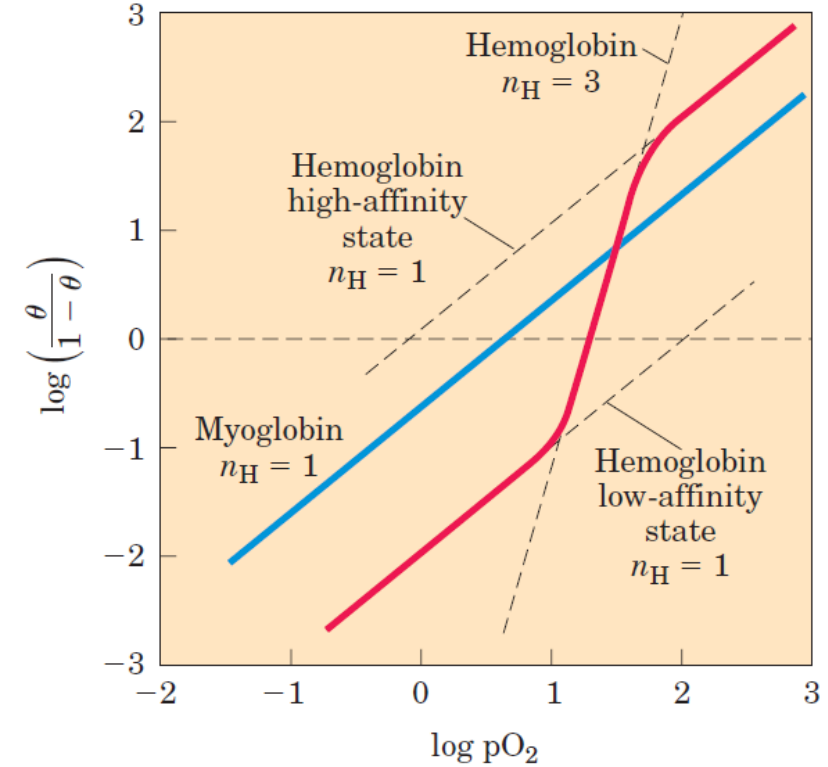
- Çok sayıda ligandın bağlandığı proteinlerde kooperatif bağlanma Hill denklemini kullanılarak nicel olarak değerlendirilebilir.
- Hill katsayısı n_H , protein alt birimleri arasındaki etkileşimin derecesini yansıtır.
- $n_H = 1$ kooperativitenin olmadığını, $n_H > 1$ ise pozitif kooperativiteyi gösterir.
- Teorik üst sınır bağlanma bölgelerinin sayısı olsa da gerçek proteinlerde n_H genellikle bu değerden daha düşüktür.





Miyoglobin ve Hemoglobinin Hill Grafikleri Farklıdır

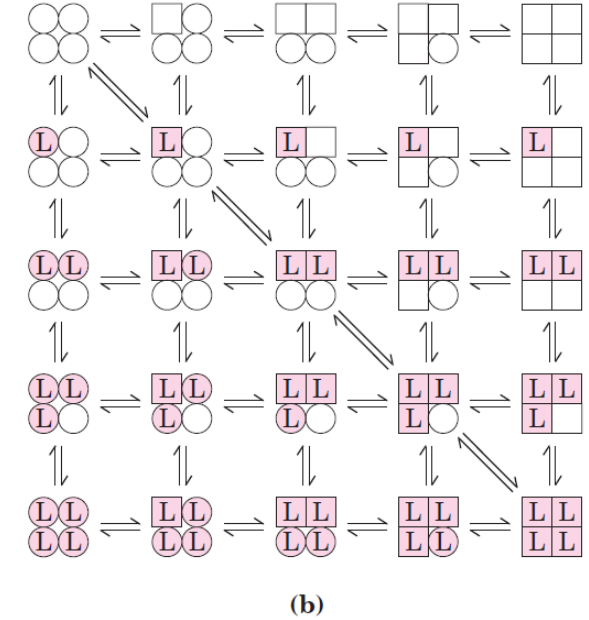
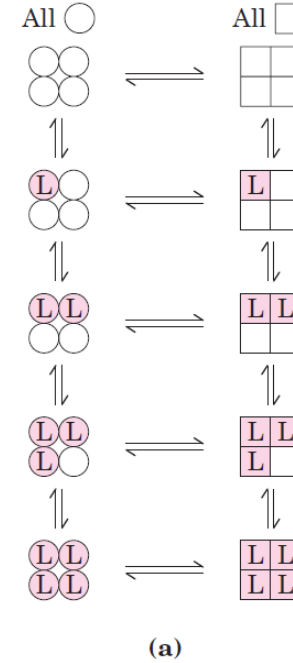
- Miyoglobinin tek oksijen bağlanma bölgesi bulunduğundan Hill katsayısı yaklaşık $n_H = 1$ değerindedir.
- Hemoglobinde pozitif kooperativite görülür ve deneysel maksimum Hill katsayısı yaklaşık $n_H = 3$ değerine ulaşır.
- Hemoglobinin düşük ve yüksek afiniteli durumlarında Hill grafiğinin eğimi yeniden 1'e yaklaşır.
- Yandaki figürde, miyoglobin ve hemoglobinin oksijen bağlanmasına ait Hill grafiklerini karşılaştırılmaktadır.





Kooperatif Bağlanmayı Açıklayan İki Model Bulunur

- Hemoglobinin kooperatif ligand bağlanmasını açıklamak için uyumlu (concerted) model ve ardışık (sequential) model geliştirilmiştir.
- Uyumlu modelde bütün alt birimler aynı anda düşük veya yüksek afiniteli konformasyonda bulunur.
- Ardışık modelde ligandın bir alt birime bağlanması o alt birimin konformasyonunu değiştirir ve komşu alt birimleri etkiler.
- Yandaki figürde, kooperatif bağlanmanın bu iki genel modelini karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir.





Uyumlu ve Ardışık Modeller Farklı Geçişler Öngörür

- Uyumlu modelde alt birimler işlevsel olarak özdeş kabul edilir ve konformasyon değişikliği bütün alt birimlerde eş zamanlı gerçekleşir.
- Ligand bağlanması dengeyi düşük afiniteli konformasyondan yüksek afiniteli konformasyona doğru kaydırır.
- Ardışık modelde ise farklı alt birimler aynı anda farklı konformasyonlarda bulunabilir.
- Hemoglobinin davranışı her iki modelin de bazı özelliklerini taşır ve bu modeller birbirini tamamen dışlayan açıklamalar değildir.





Hemoglobin Oksijenin Yanında H^+ ve CO_2 de Taşır

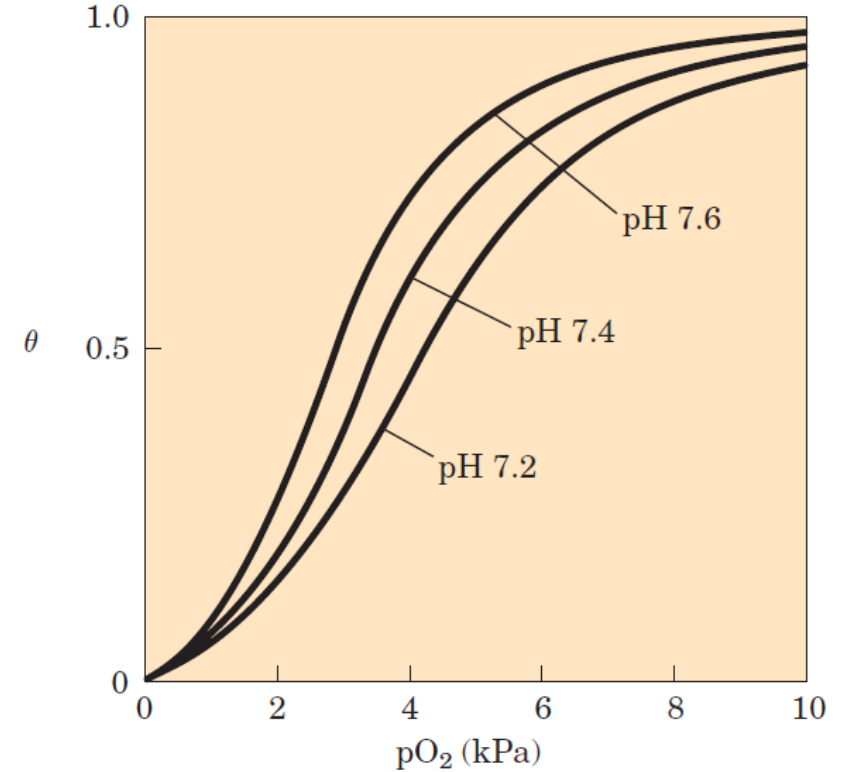
- Hemoglobin oksijen taşınmasının yanı sıra hücresel solunumun son ürünleri olan H^+ ve CO_2 'nin dokulardan akciğerlere taşınmasına katkıda bulunur.
- Dokularda oluşan CO_2 , karbonik anhidraz tarafından katalizlenen reaksiyonla bikarbonata dönüştürülür.
- $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$ reaksiyonu dokularda H^+ konsantrasyonunun artmasına ve pH'nın düşmesine katkıda bulunur.
- Hemoglobinin oksijen bağlaması hem pH hem de CO_2 konsantrasyonundan belirgin biçimde etkilenir.





Bohr Etkisi Oksijenin Dokulara Bırakılmasını Kolaylaştırır

- Dokulardaki yüksek CO_2 ve H^+ konsantrasyonu hemoglobinin oksijene olan afinitesini azaltarak O_2 'nin serbest bırakılmasını destekler.
- Akciğerlerde CO_2 uzaklaştırıldıkça pH yükselir ve hemoglobinin oksijene olan afinitesi artar.
- pH ve CO_2 'nin hemoglobinin oksijen bağlanması üzerindeki bu etkisi Bohr etkisi olarak adlandırılır.
- Yandaki figür, pH 7.2–7.6 aralığında pH değişiminin hemoglobinin oksijen bağlama eğrisini nasıl değiştirdiğini göstermektedir.





H⁺ Bağlanması Hemoglobinin T Durumunu Destekler

- Oksijen ve H⁺ hemoglobinde aynı bölgelere bağlanmaz ve birbirlerinin bağlanmasını allosterik olarak etkiler.
- β alt birimindeki His HC3, Bohr etkisine önemli katkıda bulunan amino asit kalıntılarından biridir.
- Düşük pH'da His HC3 protonlanarak T durumunu stabilize eden bir iyon çiftinin oluşmasına katkı sağlar.
- Akciğerlerde pH yükseldiğinde His HC3 protonunu kaybeder ve hemoglobinin R durumuna geçişi kolaylaşır.





Karbondiyoksit Hemoglobine Doğrudan da Bağlanabilir

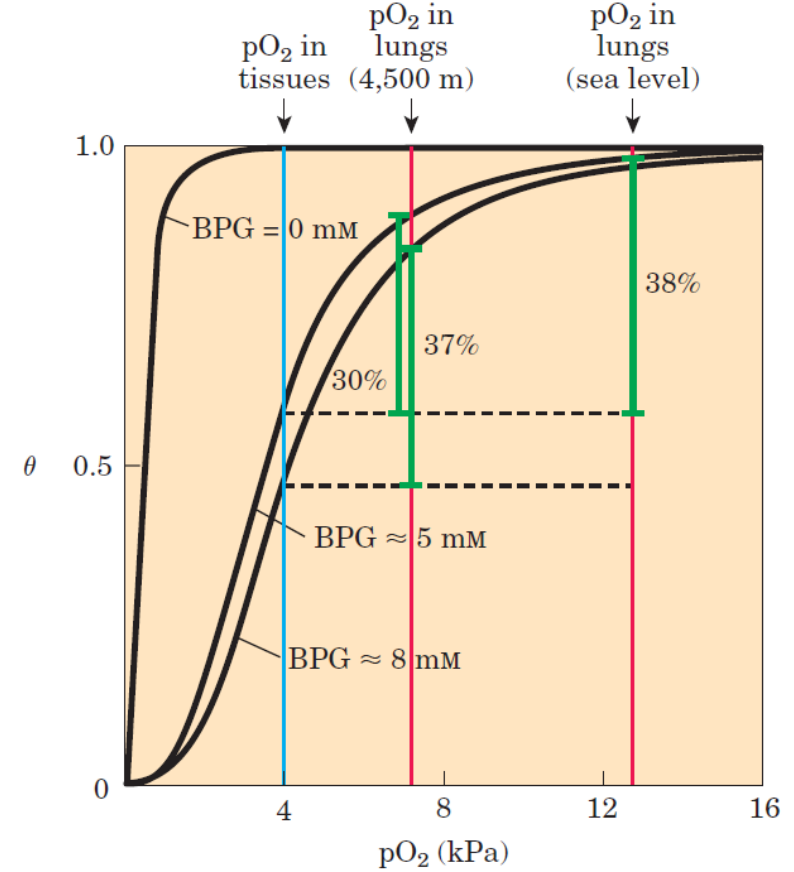
- CO₂, bikarbonata dönüşmesinin yanı sıra hemoglobinin globin zincirlerinin amino-terminal uçlarına doğrudan bağlanabilir.
- Bu reaksiyon karbaminohemoglobin oluşmasına ve H⁺ açığa çıkmasına yol açar.
- Oluşan karbamat grupları T durumunu stabilize eden ek iyon çiftleri oluşturarak oksijenin serbest bırakılmasını destekler.
- Hemoglobin böylece O₂, H⁺ ve CO₂ taşınmasını birbirine bağlı biçimde düzenleyen bir sistem oluşturur.





2,3-Bisfosfogliserat Hemoglobinin Oksijen Afinitesini Düzenler

- Eritrositlerde yüksek miktarda bulunan 2,3-bisfosfogliserat (BPG) hemoglobinin önemli bir heterotropik allosterik modülatörüdür.
- BPG, oksijenin bağlandığı bölgeden farklı bir noktaya bağlanarak hemoglobinin O_2 afinitesini azaltır.
- BPG konsantrasyonu arttıkça hemoglobinin oksijene olan afinitesi düşer ve dokulara daha fazla oksijen bırakılabilir.
- Yandaki figür, farklı BPG konsantrasyonlarının hemoglobinin oksijen bağlanma eğrisini nasıl değiştirdiğini göstermektedir.





BPG Yüksek Rakıma Uyumda Önemlidir

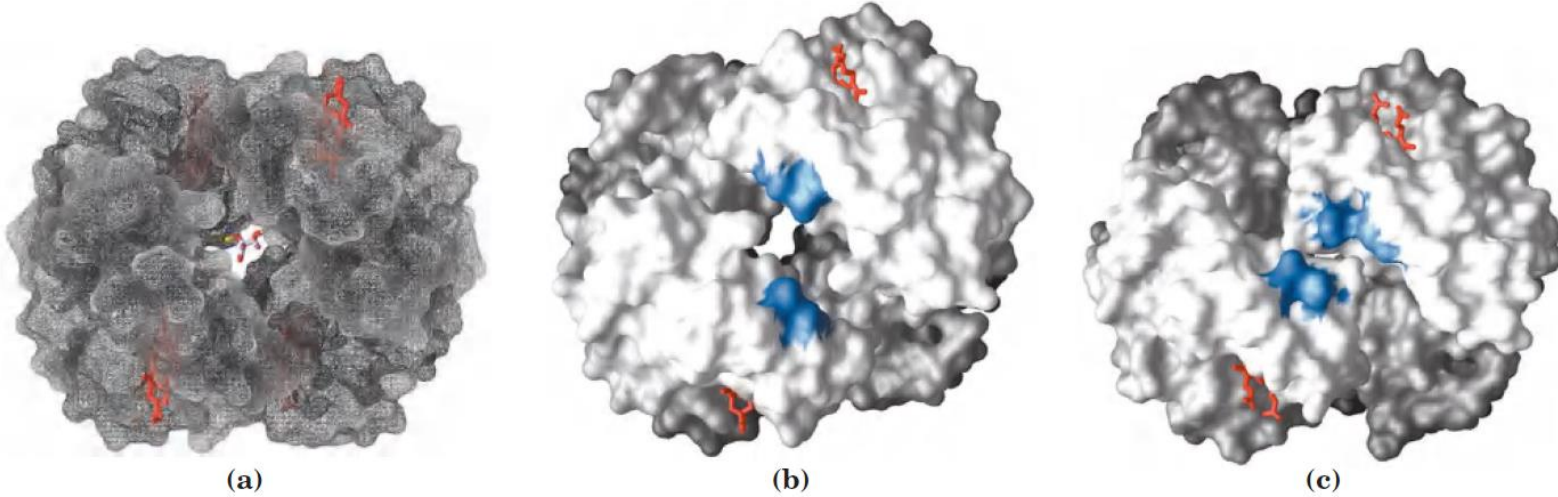
- Deniz seviyesinden yüksek rakıma çıkıldığında atmosferik oksijen basıncı azalır ve dokulara oksijen taşınması zorlaşır.
- Birkaç saat içinde kandaki BPG konsantrasyonu yükselerek hemoglobinin oksijene olan afinitesini azaltır.
- Bu değişiklik dokulara bırakılan oksijen miktarını artırarak düşük oksijen koşullarına fizyolojik uyuma katkıda bulunur.
- Deniz seviyesine dönüldüğünde BPG düzeyi ve oksijen taşıma özellikleri yeniden önceki duruma yaklaşır.





BPG Deoksihemoglobinin Merkezi Cebine Bağlanır

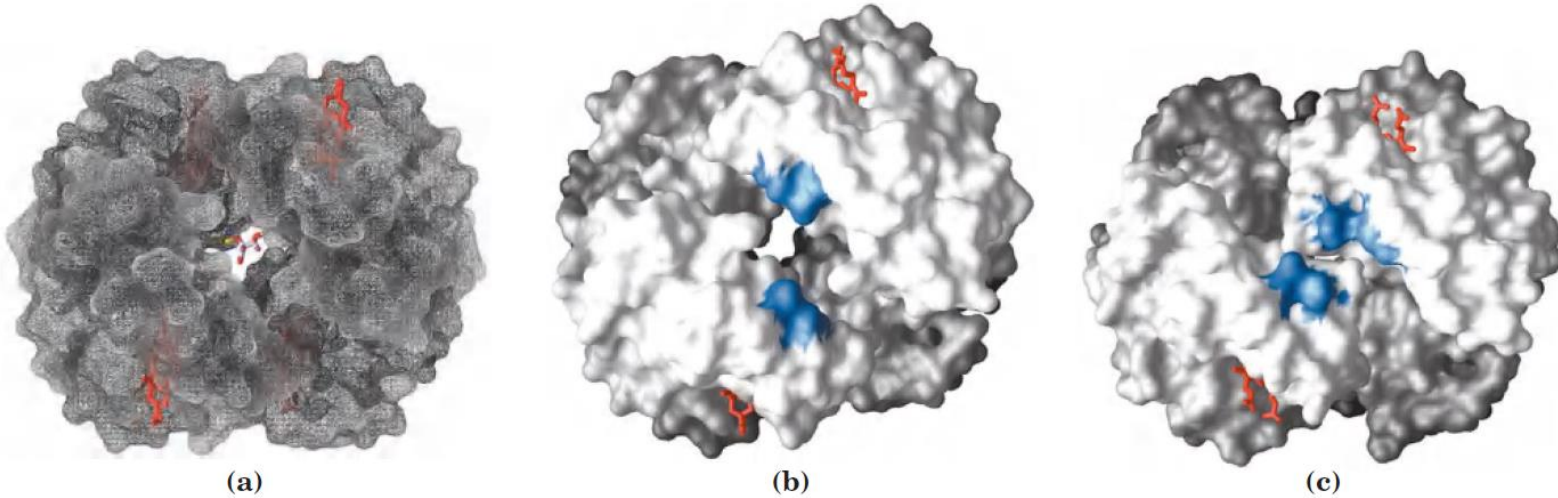
- BPG, hemoglobinin T durumunda β alt birimleri arasında bulunan boşluğa bağlanır.
- Negatif yüklü BPG grupları bu boşluktaki pozitif yüklü amino asit kalıntılarıyla etkileşir.





BPG Deoksihemoglobinin Merkezi Cebine Bağlanır

- BPG hemoglobin tetrameri başına bir molekül bağlanarak T durumunu stabilize eder ve oksijen afinitesini azaltır.
- Aşağıdaki figür, BPG'nin deoksihemoglobindeki β alt birimleri arasındaki bağlanma cebindeki konumunu göstermektedir.





Fetal Hemoglobin BPG'ye Daha Düşük Afinite Gösterir

- Fetal hemoglobin yetişkin hemoglobininin daha yüksek oksijen afinitesine sahiptir ve böylece anneden fetüse oksijen aktarımını kolaylaştırır.
- Fetüste hemoglobinin β zincirleri yerine γ zincirleri bulunur ve yapı $\alpha_2\gamma_2$ biçimindedir.
- Fetal hemoglobin BPG'ye yetişkin hemoglobininin daha düşük afiniteyle bağlanır.
- BPG'ye daha zayıf bağlanma fetal hemoglobinin oksijene olan afinitesinin daha yüksek olmasına katkıda bulunur.



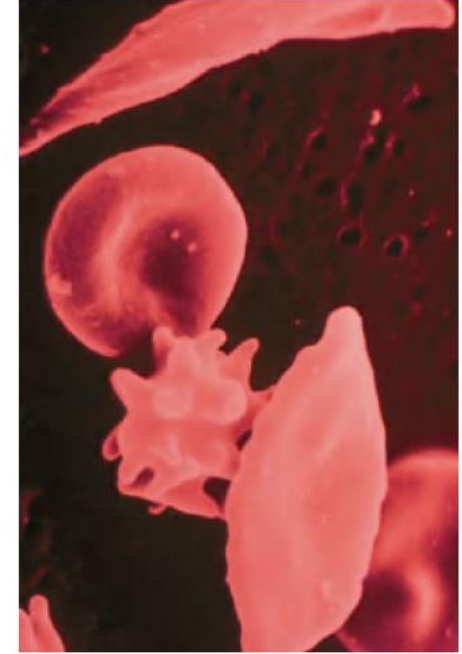


Orak Hücreli Anemi Hemoglobinin Moleküler Bir Hastalığıdır

- Orak hücreli anemi, globüler bir proteinin amino asit dizisindeki küçük bir değişikliğin yapı ve fonksiyonu nasıl etkileyebileceğini gösterir.
- Hastalık, hemoglobinin β zincirini kodlayan genin belirli bir allelini homozigot olarak taşıyan bireylerde ortaya çıkar.
- Deoksijenasyon sırasında hemoglobin S çözünmez lifler oluşturabilir ve eritrositlerin karakteristik orak biçimini almasına yol açabilir.
- Yandaki figür, normal disk biçimli eritrositlerle orak hücreli anemide görülen orak biçimli hücreleri karşılaştırmaktadır.



(a)

2 μ m

(b)



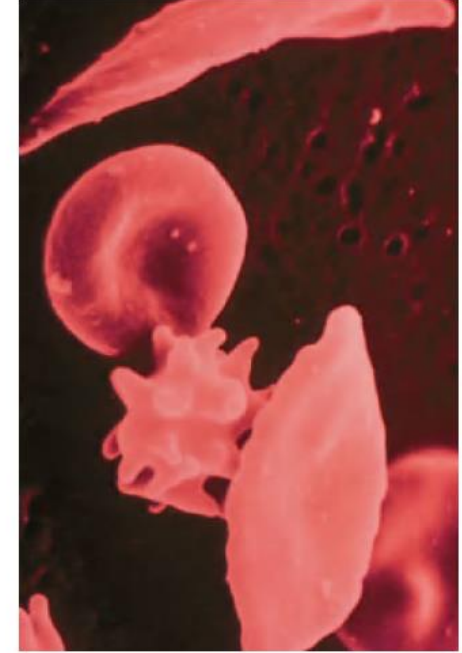


Tek Bir Amino Asit Değişimi Hemoglobin S'yi Oluşturur

- Hemoglobin S'de β zincirinin 6. pozisyonundaki Glu kalıntısının yerini Val alır.
- Glu fizyolojik pH'da negatif yüklüken Val yüksüz ve hidrofobik bir yan zincire sahiptir.
- Bu değişim hemoglobin S'nin yüzeyinde hidrofobik bir bölge oluşturarak deoksihemoglobin molekülleri arasında anormal etkileşimlere neden olur.
- Moleküllerin birbirine tutunması uzun liflerin oluşmasına ve eritrosit şeklinin bozulmasına yol açar.



(a)

2 μ m

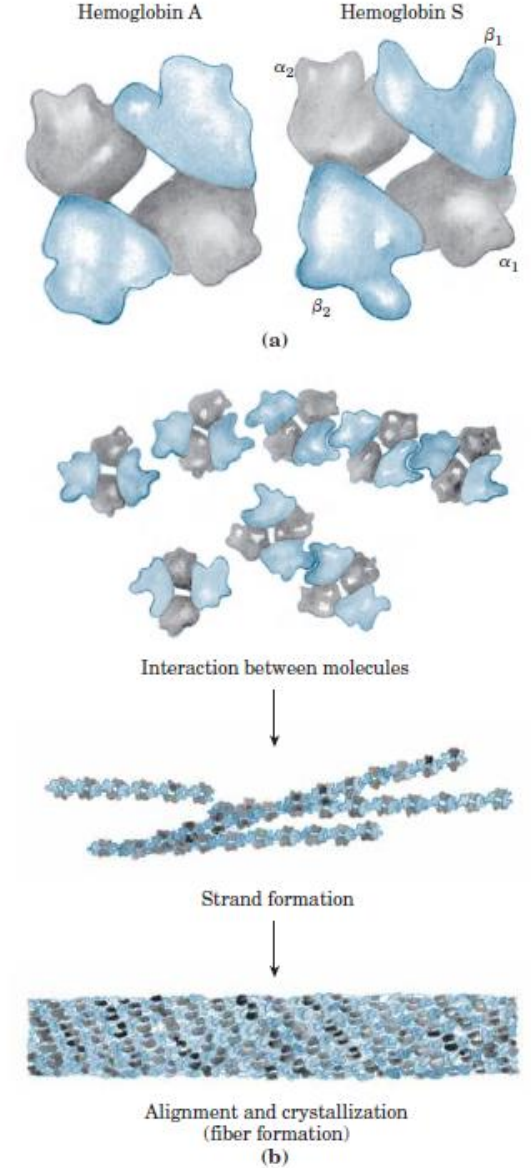
(b)





Hemoglobin S Lifler Oluşturarak Eritrositleri Deforme Eder

- Deoksihemoglobin S yüzeyindeki hidrofobik bölge başka bir hemoglobin molekülündeki tamamlayıcı bölgeyle etkileşebilir.
- Bu etkileşimler hemoglobin moleküllerinin uzun iplikler halinde birleşmesini ve çözünmeyen lifler oluşturmasını sağlar.
- Yandaki figürde, hemoglobin A ile hemoglobin S arasındaki yapısal fark ve HbS moleküllerinin lif oluşturma süreci gösterilmiştir.
- Oluşan lifler eritrositlerin normal şeklini bozarak hücrelerin orak biçimini almasına neden olur.



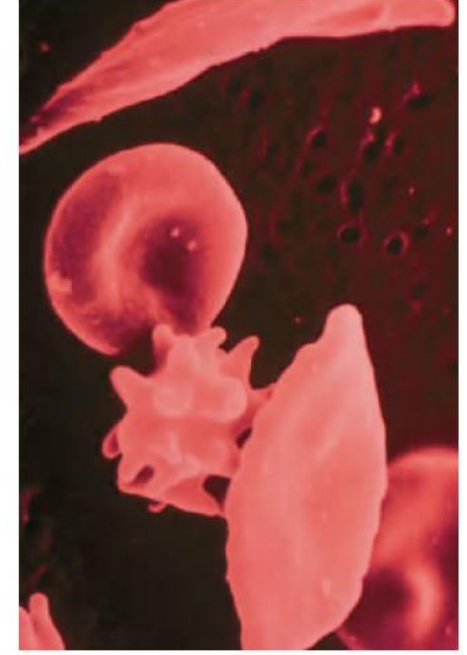


Oraklaşmış Eritrositler Dolaşımı Bozabilir

- Oraklaşmış eritrositler kırılgan olduklarından kolayca parçalanabilir ve bu durum anemiye yol açar.
- Uzun ve anormal şekilli hücreler küçük kan damarlarını tıkayarak şiddetli ağrıya ve organ işlevlerinin bozulmasına neden olabilir.
- Hastalığın tedavi edilmediği koşullarda ortaya çıkan dolaşım sorunları ciddi klinik sonuçlara yol açabilir.
- Heterozigot bireylerde eritrositlerin yalnızca küçük bir bölümü deoksijenasyon sırasında oraklaşır ve durum genellikle daha hafiftir.



(a)

2 μ m

(b)





Orak Hücre Alleli ve Sıtma Arasındaki İlişki

- Orak hücre allelinin sıklığı, sıtmanın yaygın olduğu Afrika'nın belirli bölgelerinde görece yüksektir.
- Heterozigot bireylerde bu allelin bulunması ölümcül sıtma biçimlerine karşı belirli bir direnç sağlayabilir.
- Bu avantaj, heterozigot bireylerin hayatta kalma ve üreme başarısını etkileyerek allelin popülasyondaki sıklığını artırabilir.
- Böylece sıtmanın yaygın olduğu bölgelerde heterozigot durumun sağladığı avantaj, doğal seçim açısından önem kazanır.





Bağıışıklık Sisteminde Protein–Ligand Etkileşimleri

- Protein–ligand etkileşimlerinde ligandın bağlandığı bölge, liganda özgü tamamlayıcı bir yapı oluşturur.
- Bağlanmanın seçiciliğinde ligand ile protein arasındaki moleküler temasların uyumu belirleyici olur.
- Bağıışıklık sistemi, yabancı molekülleri tanımak ve organizmanın kendi yapılarını yabancılardan ayırmak için bu seçici etkileşimlerden yararlanır.
- Bu sistemin özgüllüğü, proteinlerin ligandlara geri dönüşümlü ve seçici biçimde bağlanmasına dayanır.





Bağıışıklık Sistemi Kendinden Olanı Yabancıdan Ayırır

- Tüm omurgalılar moleküler olarak self ve non-self (kendinden olan ve olmayan) yapılarını birbirinden ayırt edebilen bir bağışıklık sistemine sahiptir.
- Bağışıklık sistemi bakteri, virüs ve organizma için tehdit oluşturan diğer yabancı yapıları ortadan kaldırmaya çalışır.
- Bir organizmada bulunan çok sayıdaki protein, molekül ve hücre tipi arasından yabancı olanın tanınması yüksek düzeyde seçicilik gerektirir.
- Bu seçicilik, ligandların proteinlere özgül ve geri dönüşümlü bağlanmasına dayanan biyokimyasal bir sistem oluşturur.





Bağıışıklık Yanıtında Özelleşmiş Hücreler Görev Yapar

- Bağıışıklık, lökositler olarak adlandırılan beyaz kan hücrelerinin farklı tiplerinin ortak çalışmasıyla sağlanır.
- Makrofajlar ve lenfositler kemik iliğindeki farklılaşmamış kök hücrelerden gelişir.
- Lökositler kan dolaşımından ayrılıp dokularda dolaşabilir ve yabancı molekülleri tanıyabilen proteinler üretir.
- Bağıışıklık yanıtı birbiriyle ilişkili humoral ve hücrel sistemlerden oluşur.





Humoral ve Hücresel Bağışıklık Birbirini Tamamlar

- Humoral bağışıklık özellikle bakteriyel enfeksiyonlara ve hücre dışında bulunan virüslere karşı etkilidir.
- Hücresel bağışıklık ise virüslerle enfekte olmuş hücreleri, bazı parazitleri ve yabancı dokuları hedef alır.
- Humoral yanıtın temel çözünür proteinleri antikorlar ya da immünoglobulinlerdir.
- İmmünoglobulinler bakteri, virüs veya diğer yabancı molekülleri bağlayarak bunların etkisizleştirilmesine katkı sağlar.





B ve T Lenfositler Farklı Görevler Üstlenir

- Humoral bağışıklıkta görev yapan B lenfositler, kemik iliğinde olgunlaşır ve antikor üretir.
- Hücresel bağışıklığın merkezindeki T lenfositler, kemik iliğinde oluşur ancak gelişimlerinin sonraki aşamalarını timusta tamamlar.
- Sitotoksik T hücreleri enfekte hücrelerin yüzeyindeki reseptörleri tanıyarak bu hücrelerle etkileşir.
- Yandaki tablo, makrofajların, B lenfositlerin, sitotoksik T hücrelerinin ve yardımcı T hücrelerinin temel işlevlerini özetlemektedir.

Bağışıklık Sistemiyle İlişkili Bazı Lökosit Türleri	
Hücre tipi	İşlevi
Makrofajlar	Büyük partikülleri ve hücreleri fagositoz yoluyla içine alır.
B lenfositleri (B hücreleri)	Antikor üretir ve salgılar.
T lenfositleri (T hücreleri)	
Sitotoksik (öldürücü) T hücreleri (T_C)	T hücresi yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla enfekte konak hücreleriyle etkileşir.
Yardımcı T hücreleri (T_H)	Makrofajlarla etkileşir ve T_C , T_H ve B hücrelerinin çoğalmasını uyaran sitokinleri (interlökinleri) salgılar.



Yardımcı T Hücreleri Bağışıklık Yanıtını Koordine Eder

- Yardımcı T hücreleri, bağışıklık sistemindeki diğer hücrelerin çoğalmasını ve etkinleşmesini destekleyen çözünür sinyal proteinleri üretir.
- Bu sinyal proteinleri interlökinler olarak adlandırılır.
- Yardımcı T hücreleri makrofajlarla etkileşir ve sitotoksik T hücreleri ile B hücrelerinin çoğalmasını uyarır.
- Belirli bir antijeni tanıyan hücrelerin çoğalması klonal seçim olarak adlandırılır.





HIV Yardımcı T Hücrelerini Hedef Alır

- Yardımcı T hücrelerinin bağışıklık sistemi için önemi, HIV enfeksiyonunun etkileriyle açık biçimde görülür.
- HIV'nin başlıca hedeflerinden biri yardımcı T hücreleridir.
- Bu hücrelerin kaybı bağışıklık sisteminin işlevini giderek bozar.
- Böylece organizmanın enfeksiyonlara karşı oluşturduğu koordineli bağışıklık yanıtı ciddi ölçüde zayıflar.





Antijenler Özgül Bağışıklık Yanıtını Başlatır

- T hücresi reseptörleri ve B hücrelerinin ürettiği antikorlar belirli kimyasal yapılara özgül olarak bağlanır.
- Bağışıklık yanıtını ortaya çıkarabilen herhangi bir molekül veya patojen antijen olarak adlandırılır.
- Antijen bir virüs, bakteri hücre duvarı veya başka bir makromolekül olabilir.
- Aynı antijen, yapısındaki farklı bölgeleri tanıyan birden fazla antikor veya T hücresi reseptörü tarafından bağlanabilir.





Epitop Antijenin Tanınan Bölgesidir

- Bir antikorun veya T hücresi reseptörünün antijen üzerinde tanıdığı belirli yapı antijenik determinant ya da epitop olarak adlandırılır.
- Antikor çeşitliliği, immünoglobulin gen parçalarının farklı biçimlerde yeniden düzenlenmesiyle oluşturulur.
- Bu çeşitlilik sayesinde insan bağışıklık sistemi çok büyük sayıda farklı antijeni tanıyabilir.
- Her antikorun özgüllüğü, antijen üzerindeki belirli bir epitopla kurduğu tamamlayıcı etkileşime dayanır.





Küçük Moleküller Tek Başına Her Zaman Antijenik Değildir

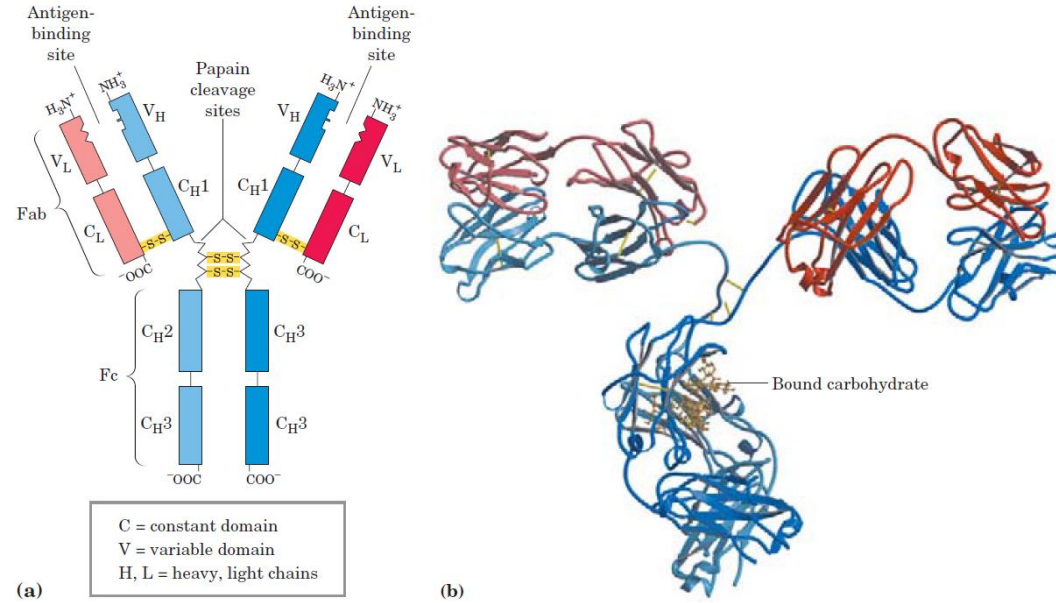
- Hücresel metabolizmanın yaygın küçük ara ürünleri genellikle bağışıklık yanıtı oluşturmaz.
- Molekül kütlesi yaklaşık 5.000'in altında olan birçok molekül kendi başına antijenik değildir.
- Ancak bazı küçük moleküller büyük proteinlere bağlandıklarında bağışıklık yanıtını uyarabilir.
- Bu küçük moleküller hapten olarak adlandırılır ve oluşan antikorlar serbest haptene de bağlanabilir.





IgG İki Özdeş Antijen Bağlanma Bölgesine Sahiptir

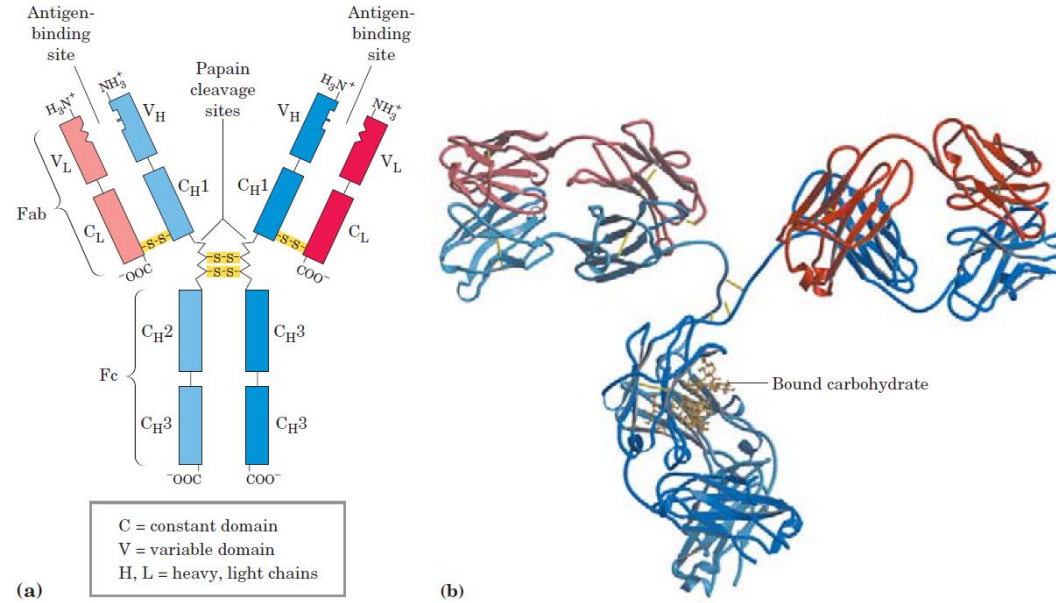
- İmmünoglobulin G (IgG) serumda en bol bulunan proteinlerden biridir ve antikorların başlıca sınıflarından birini oluşturur.
- IgG, iki özdeş ağır zincir ve iki özdeş hafif zincirden oluşur.





IgG İki Özdeş Antijen Bağlanma Bölgesine Sahiptir

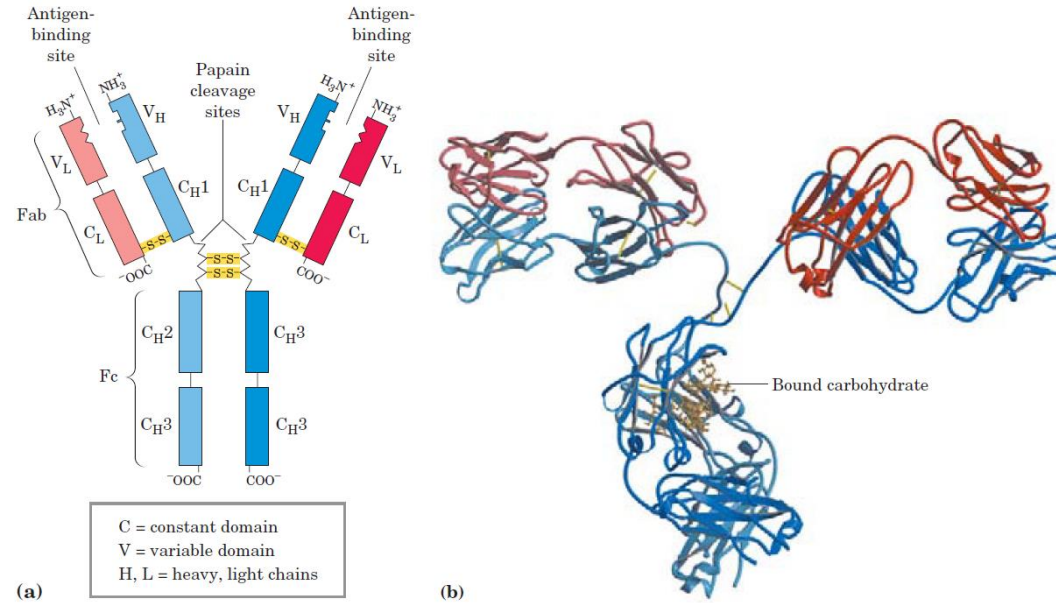
- Zincirler birbirlerine kovalent olmayan etkileşimler ve disülfid bağlarıyla bağlanır.
- Aşağıdaki figür, IgG'nin Y biçimindeki yapısını ve iki antijen bağlanma bölgesini göstermektedir.





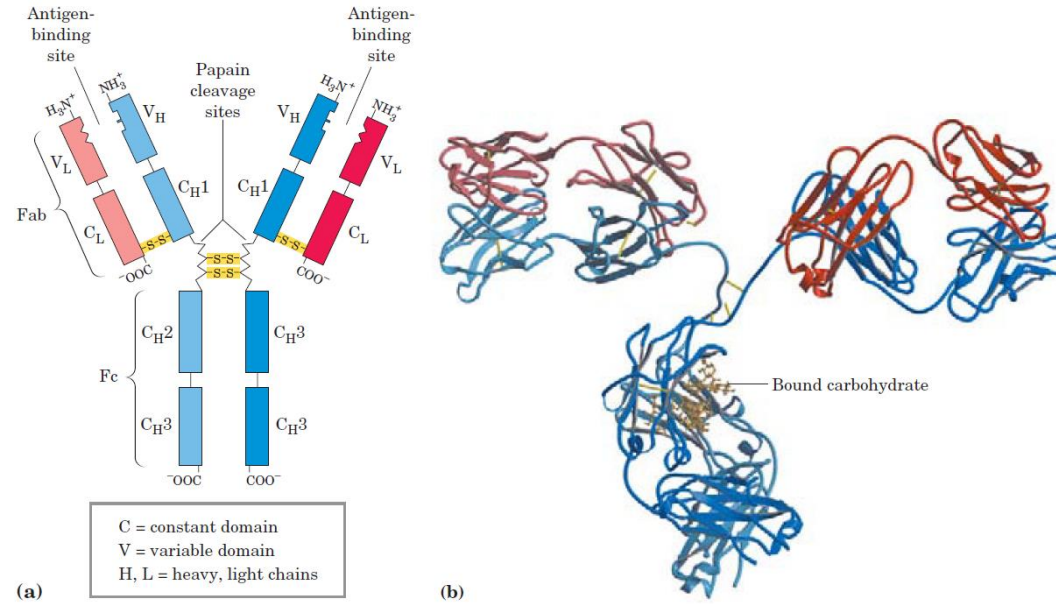
IgG Molekölü Fab ve Fc Bölgelerine Ayrılabilir

- IgG'nin ağır zincirleri molekülün tabanındaki menteşe bölgesinde birbirine bağlanır.
- Papain enzimi IgG'yi menteşe bölgesinin yakınından keserek üç parçaya ayırabilir.



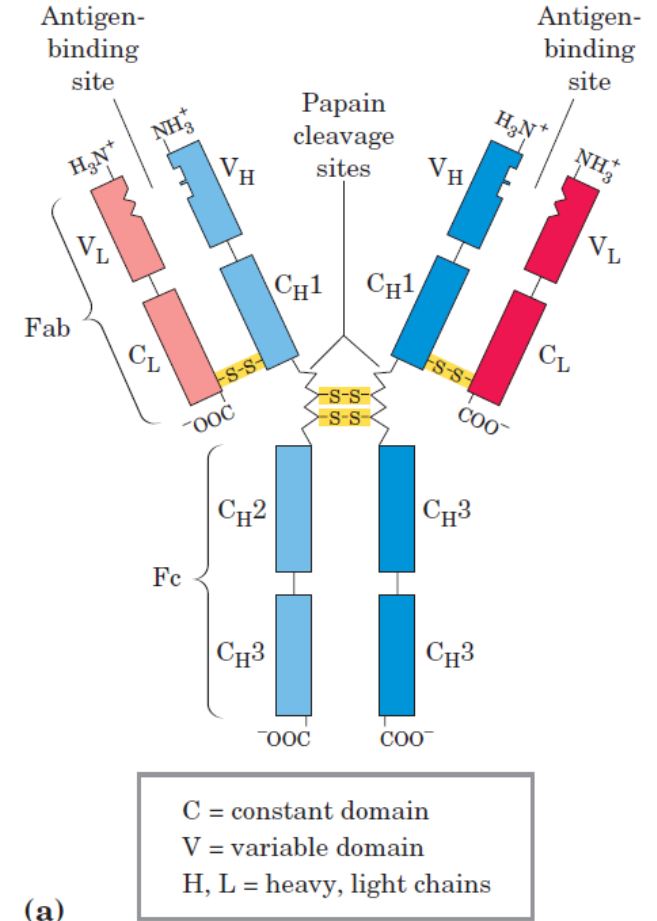
IgG Molekölü Fab ve Fc Bölgelerine Ayrılabilir

- Oluşan iki Fab parçasının her biri tek bir antijen bağlanma bölgesi taşır.
- Aşağıdaki figür, Fab bölgelerini, Fc bölgesini, ağır ve hafif zincirleri ve değişken ile sabit domainleri göstermektedir.



İmmünoglobulin Zincirleri Domainlerden Oluşur

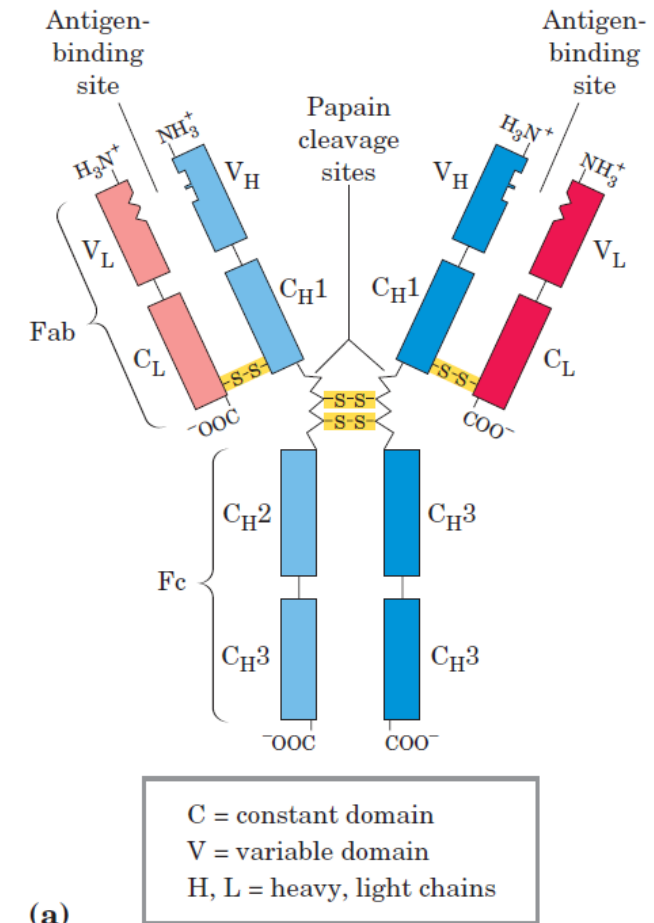
- İmmünoglobulin zincirleri yapısal olarak ayırt edilebilen bir dizi domainden oluşur.
- Her IgG zincirinde bazı domainler sabit, bazıları ise farklı antikorlar arasında değişkendir.
- Bu domainlerin temel yapısı, immünoglobulin fold olarak adlandırılan iyi korunmuş bir yapısal motiftir.
- Her hafif zincirde bir sabit ve bir değişken domain bulunurken ağır zincirde üç sabit ve bir değişken domain bulunur.





Değişken Domainler Antijen Bağlanma Bölgesini Oluşturur

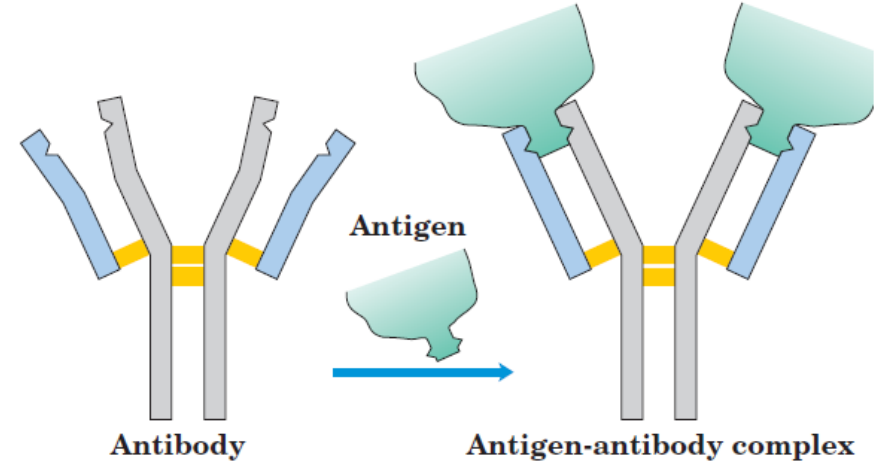
- Ağır ve hafif zincirlerin değişken domainleri antijen bağlanma bölgesini birlikte oluşturur.
- Antikorlar arasındaki amino asit dizisi farklılıklarının büyük bölümü bu değişken domainlerde bulunur.
- Bu yapısal çeşitlilik farklı antijenlerin ve epitopların seçici olarak tanınmasını sağlar.
- Yandaki figür, değişken domainlerin antijen bağlanma bölgelerinde nasıl konumlandığını göstermektedir.





IgG Antijene Bağlanırken Konformasyonunu Değiştirebilir

- Antijen bağlanma bölgesinin antijene en iyi şekilde uyması için IgG'de küçük konformasyon değişiklikleri meydana gelebilir.
- Bu yapısal uyum, protein–ligand etkileşimlerinde görülen induced fit mekanizmasına bir örnektir.
- Antijen bağlandıktan sonra bağlanma bölgesindeki bazı grupların konumu değişebilir.
- Yandaki figür, IgG'nin antijene bağlanmasını ve bağlanmaya eşlik eden konformasyon değişimini şematik olarak göstermektedir.





Antikorlar Beş Farklı Sınıfa Ayrılır

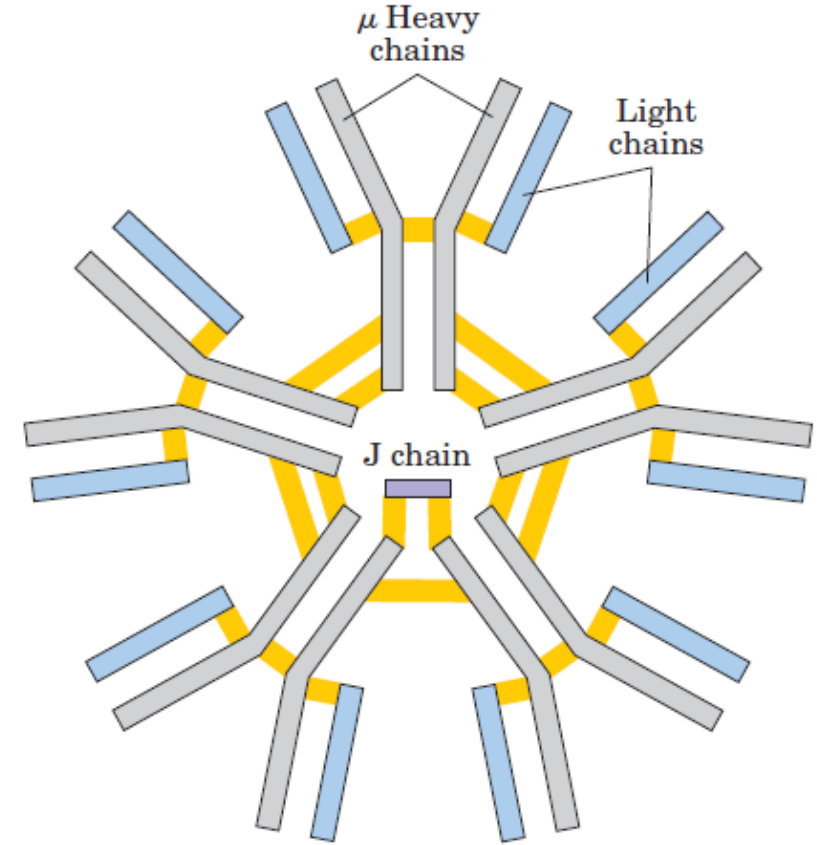
- Omurgalılarda IgG, beş temel immünoglobulin sınıfından yalnızca biridir.
- Antikor sınıfları ağır zincirlerine göre IgA, IgD, IgE, IgG ve IgM olarak adlandırılır.
- Bu sınıfların ağır zincirleri sırasıyla α , δ , ϵ , γ ve μ olarak gösterilir.
- Hafif zincirler ise tüm immünoglobulin sınıflarında κ veya λ tipinde olabilir.





IgM ve IgA Farklı Çoklu Yapılar Oluşturabilir

- IgG ve IgE'nin genel yapısı benzerdir ve çoğunlukla monomerik halde bulunur.
- IgM, monomerik halde bulunabilmekle birlikte salgılandığında çoğunlukla beş alt birimli bir yapı oluşturur.
- Yandaki figür, disülfid bağları ve J zinciriyle bir arada tutulan IgM pentamerini göstermektedir.
- IgA ise farklı koşullarda monomer, dimer veya trimer şeklinde bulunabilir.





Antikor Sınıfları Bağışıklık Yanıtında Farklı Roller Üstlenir

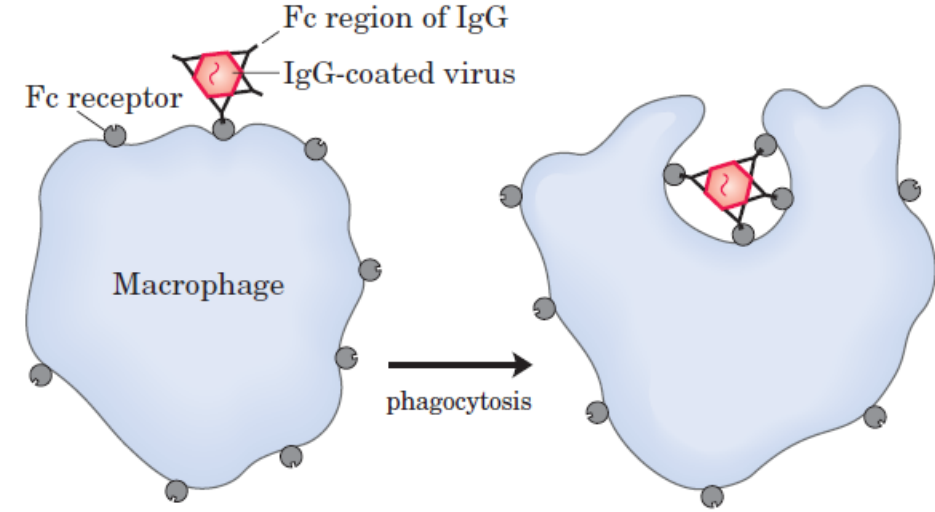
- IgM, B lenfositler tarafından birincil bağışıklık yanıtının erken dönemlerinde üretilen ilk antikordur.
- IgG, bellek B hücrelerinin rol aldığı ikincil bağışıklık yanıtında önemli bir yere sahiptir.
- Antijen bağlı IgG, yüzeyinde uygun Fc reseptörleri bulunan makrofajlara bağlanabilir.
- Bu etkileşim antijen–antikor kompleksinin makrofaj tarafından fagosite edilmesini kolaylaştırır.





IgG Makrofajlar Tarafından Fagositozu Kolaylaştırır

- Makrofajların yüzeyindeki reseptörler IgG'nin Fc bölgesini tanıyabilir.
- Bir virüs IgG ile kaplandığında antikorların Fc bölgeleri makrofaj reseptörlerine bağlanır.
- Makrofaj daha sonra antikorla kaplı virüsü fagositozla içine alır.
- Yandaki figür, IgG ile kaplanmış bir virüsün makrofaj tarafından fagosit edilmelerini göstermektedir.





IgE Alerjik Yanıtta Önemli Rol Oynar

- IgE özellikle bazofillerle etkileşerek alerjik yanıtta önemli rol oynar.
- IgE'nin Fc bölgesi bazofil veya mast hücrelerinin yüzeyindeki özel Fc reseptörlerine bağlanabilir.
- Antijen bağlanması bu hücrelerin histamin ve diğer biyolojik olarak aktif aminleri salgılamasını uyarabilir.
- Bu maddeler damar genişlemesi ve damar geçirgenliğinde artış gibi alerjik yanıtlarla ilişkili değişikliklere yol açar.





Antikorlar Antijenlerine Sıkı ve Özgül Bağlanır

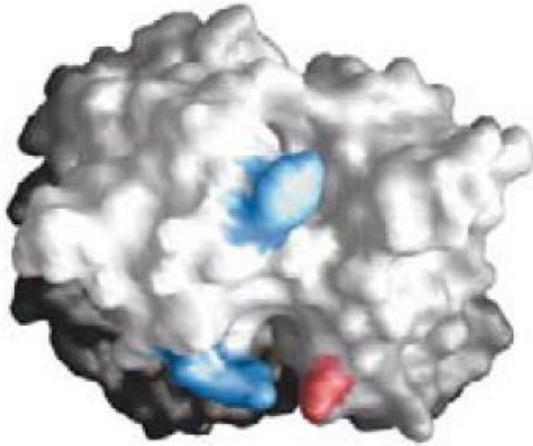
- Bir antikorun bağlanma özgüllüğü, ağır ve hafif zincirlerinin değişken domainlerindeki amino asitler tarafından belirlenir.
- Antijen bağlanma bölgesindeki bazı amino asitler özellikle yüksek düzeyde değişkenlik gösterir.
- Özgüllük, antijen ile bağlanma bölgesi arasındaki yük, polarite, hidrojen bağı oluşturma ve diğer yapısal özelliklerin tamamlayıcılığından kaynaklanır.
- Bu tamamlayıcılık antikorların benzer moleküller arasından kendi antijenlerini seçebilmesini sağlar.



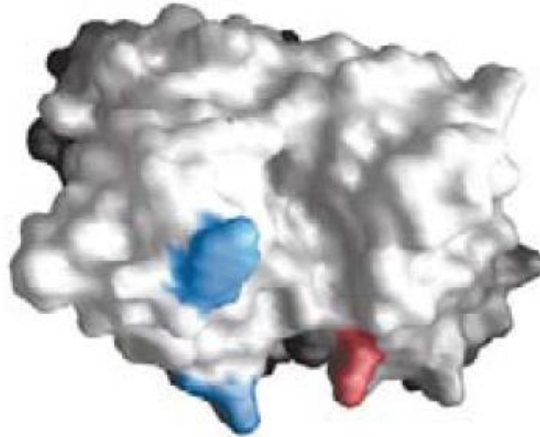


Antijen Bağlanması Induced Fit İçerebilir

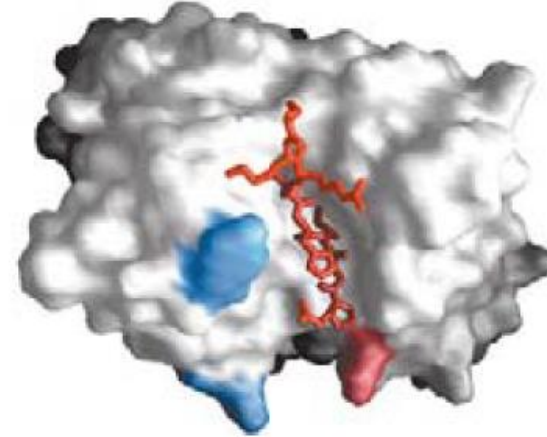
- Antijen ve antikor yapıları başlangıçta birbirine tam olarak uymasa bile bağlanma sırasında konformasyon değişiklikleri meydana gelebilir.
- Bu değişiklikler antijen ile bağlanma bölgesindeki tamamlayıcı grupların daha iyi etkileşmesini sağlar.



(a) Conformation with no antigen bound



(b) Antigen bound (but not shown)



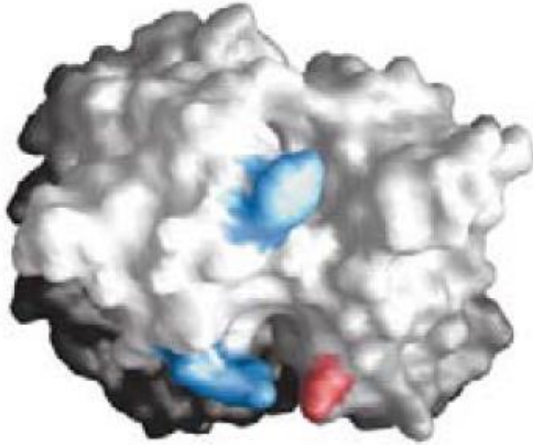
(c) Antigen bound (shown)



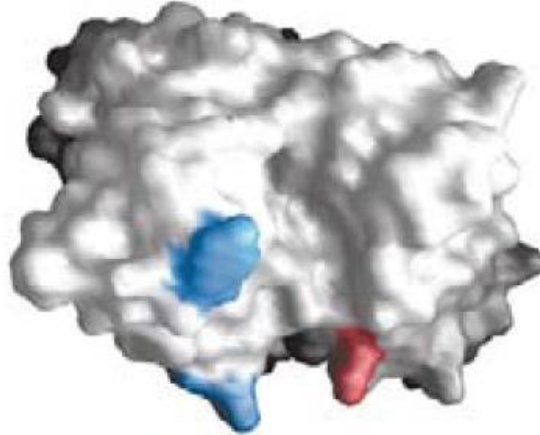


Antijen Bağlanması Induced Fit İçerebilir

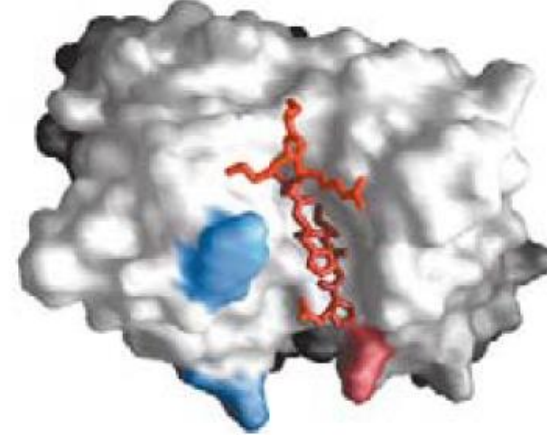
- Antijen–antikor etkileşimlerinde bu yapısal uyum bağlanmanın gücüne katkıda bulunur.
- Aşağıdaki figür, antijen bağlanmasından önce ve sonra IgG'nin Fab bölgesindeki induced fit değişikliklerini göstermektedir.



(a) Conformation with no antigen bound



(b) Antigen bound (but not shown)



(c) Antigen bound (shown)



Antijen–Antikor Etkileşimleri Çok Güçlü Olabilir

- Tipik bir antikor–antijen etkileşimi oldukça güçlüdür ve bazı durumlarda K_d değeri yaklaşık 10^{-10} M olabilir.
- Bu değer, birçok protein–ligand etkileşiminde görülen yüksek afinite düzeylerinden birini temsil eder.
- Bağlanma enerjisi iyonik etkileşimler, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve van der Waals temaslarından kaynaklanır.
- Güçlü bağlanmaya rağmen antijen–antikor etkileşimi kovalent olmayan kuvvetlere dayanır.





Poliklonal ve Monoklonal Antikorlar Farklıdır

- Poliklonal antikorlar, aynı antijene yanıt veren çok sayıda farklı B lenfosit tarafından üretilir.
- Bu antikorlar aynı antijen üzerindeki farklı epitopları tanıyabildikleri için heterojen bir antikor karışımı oluşturur.
- Monoklonal antikorlar ise tek bir B hücresi klonundan türetilir ve aynı epitopu tanıyan özdeş antikorlardan oluşur.
- Monoklonal antikor üretimine yönelik yöntemler Georges Köhler ve Cesar Milstein tarafından geliştirilmiştir.



Georges Köhler, 1946–1995



Cesar Milstein, 1927–2002



Antikorların Özgülüğü Analitik Yöntemlerde Kullanılır

- Antikorların yüksek bağlanma afinitesi ve özgülüğü onları güçlü analitik reaktifler haline getirir.
- Bir antikor katı bir yüzeye bağlanarak karmaşık protein karışımlarından hedef proteinin seçici olarak tutulmasında kullanılabilir.
- Hedef protein bağlandıktan sonra diğer proteinler yıkanarak uzaklaştırılır ve hedef protein daha sonra yüzeyden ayrılabilir.
- Antikorlar ayrıca radyoaktif veya başka şekilde kolayca saptanabilen işaretleyicilerle birleştirilebilir.





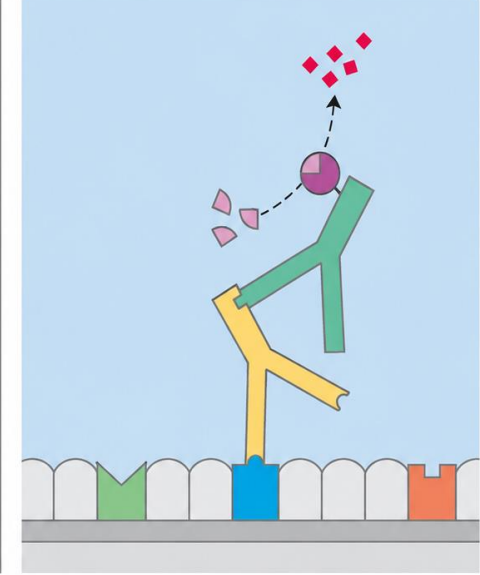
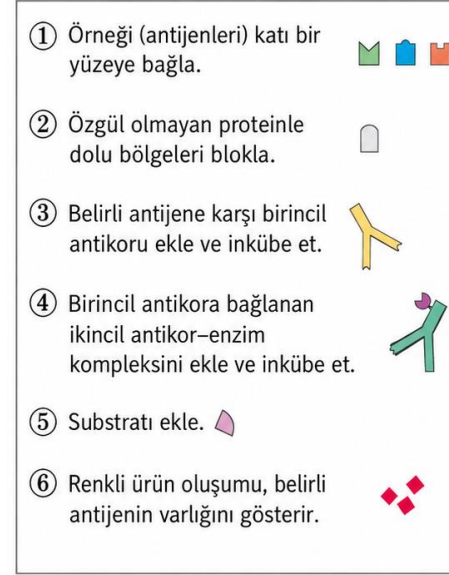
ELISA Belirli Antijenleri Saptamak İçin Kullanılır

- ELISA, bir örnekte belirli bir antijenin varlığını hızlı biçimde taramak ve bazı durumlarda miktarını belirlemek için kullanılabilir.
- Örnek katı bir yüzeye bağlanır ve özgül olmayan bağlanma bölgeleri ilgisiz bir proteinle bloke edilir.
- Hedef antijene özgü birincil antikörün ardından enzime bağlı ikincil antikör uygulanır.
- Enzim substratı eklendiğinde oluşan renk yoğunluğu örnekte bulunan antijen miktarıyla ilişkilidir.

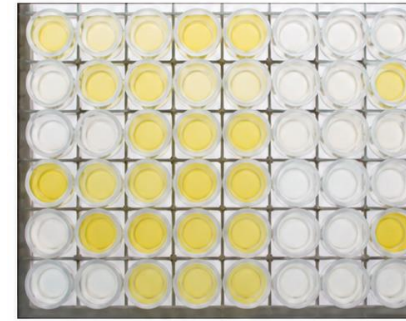


ELISA'nın Temel Basamakları

- Figür a, yüzeyin örnekle kaplanması, bloke edilmesi ve birincil antikörle inkübasyon basamaklarını göstermektedir.
- Daha sonra enzime bağlı ikincil antikör birincil antiköre bağlanır ve bağlanmamış antikörler yıkamayla uzaklaştırılır.
- Substrat eklendiğinde renkli ürün oluşması özgül antijenin varlığını ortaya koyar.
- Figür b, HIV antikörlerinin saptanmasına yönelik bir ELISA örneğini göstermektedir.



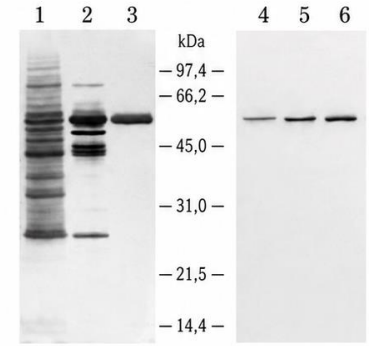
(a) ELISA prensibi



ELISA sonucu

(b)

- Pozitif (renkli ürün)
- Negatif (renk yok)



SDS-PAGE

İmmüno blot

(c)

- (a) ELISA (Enzim-bağılı immüno sorbent analiz) yöntemi basamakları.
 (b) ELISA mikroparka sonuç örneği (pozitif kuyucuklar sarı renkte görünür).
 (c) SDS-PAGE ve immüno blot sonuç örneği.



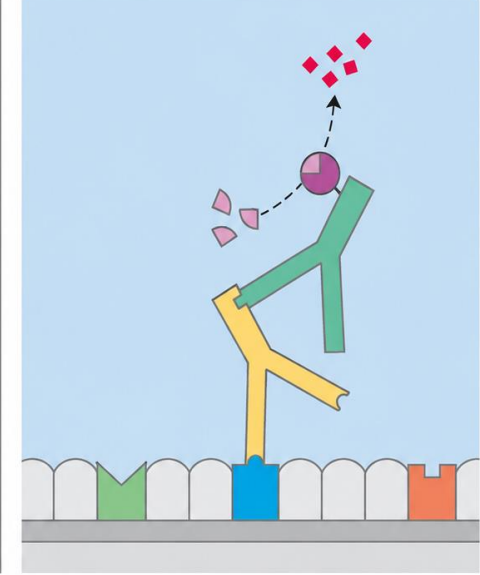
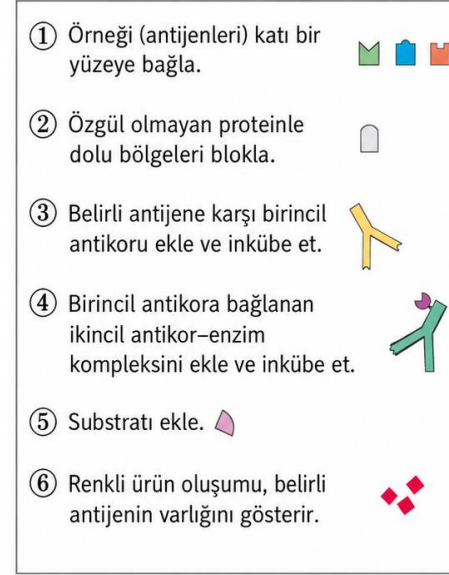
Immunoblot Proteinleri Antikorlarla Tanımlamayı Sağlar

- Immunoblot analizinde proteinler önce jel elektroforezi ile birbirlerinden ayrılır.
- Ayrılan proteinler daha sonra elektroforetik olarak nitroselüloz bir membrana aktarılır.
- Membran bloke edildikten sonra hedef proteine özgü birincil antikor ve işaretli ikincil antikorla sırasıyla inkübe edilir.
- Böylece karmaşık bir karışımdaki belirli protein hem varlığı hem de yaklaşık molekül kütlesi açısından değerlendirilebilir.

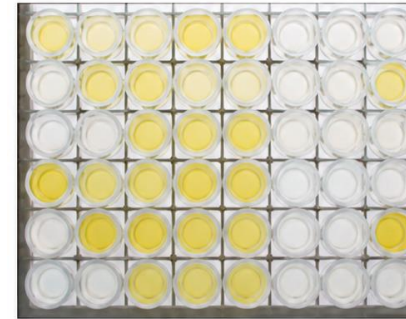


ELISA ve Immunoblot Yaklaşımlarının Karşılaştırılması

- Figür c, protein kinazların önce SDS jel elektroforeziyle ayrıldığı ve ardından immunoblot ile analiz edildiği bir örneği göstermektedir.
- SDS jelde örnekte bulunan çok sayıdaki protein bandı birlikte gözlenir.
- Immunoblotta ise yalnızca kullanılan antikorun tanıdığı proteinlere karşılık gelen bantlar ortaya çıkar.
- Bu seçicilik, antikor–antijen etkileşiminin biyokimyasal analizlerdeki temel avantajını oluşturur.



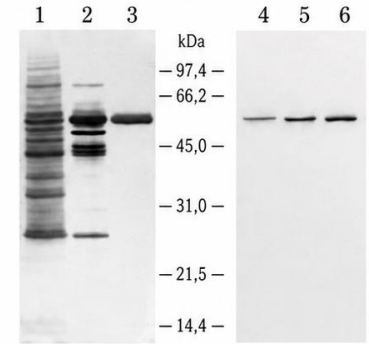
(a) ELISA prensibi



ELISA sonucu

(b)

- Pozitif (renkli ürün)
- Negatif (renk yok)



SDS-PAGE

İmmüno blot

(c)

(a) ELISA (Enzim-bağılı immünosorbent analiz) yöntemi basamakları.

(b) ELISA mikroparka sonuç örneği (pozitif kuyucuklar sarı renkte görünür).

(c) SDS-PAGE ve immüno blot sonuç örneği.



Hücresel Hareket Moleküler Motorlara Dayanır

- Organizmalar, hücreler ve hücre içindeki organeller sürekli olarak farklı türlerde hareket eder.
- Bu hareketlerin önemli bir bölümü, kimyasal enerjiyi yönlendirilmiş mekanik kuvvete dönüştüren moleküler motorlardan kaynaklanır.
- Aktin ve miyozin gibi motor proteinler, birbirleriyle kurdukları kontrollü etkileşimler sayesinde hareket oluşturur.
- Proteinlerin bu etkileşimleri kas kasılması, hücre bölünmesi ve hücre içi taşıma gibi süreçlerin temelini oluşturur.





Motor Proteinlerde Etkileşimler Oldukça Düzenlidir

- Motor proteinler arasındaki bağlanma bölgelerinde iyonik, hidrojen bağı, hidrofobik ve van der Waals etkileşimleri birlikte görev yapar.
- Bu etkileşimler son derece yüksek düzeyde uzaysal ve zamansal organizasyon gösterir.
- Motor proteinler kas kasılması, organellerin mikrotübüller boyunca taşınması ve bazı proteinlerin DNA üzerinde hareket etmesi gibi olaylarda görev alır.
- Omurgalı iskelet kasındaki kasılma proteinleri, kimyasal enerjinin harekete dönüştürülmesine örnek oluşturur.





Kas Kasılmasının Temel Proteinleri Miyozin ve Aktindir

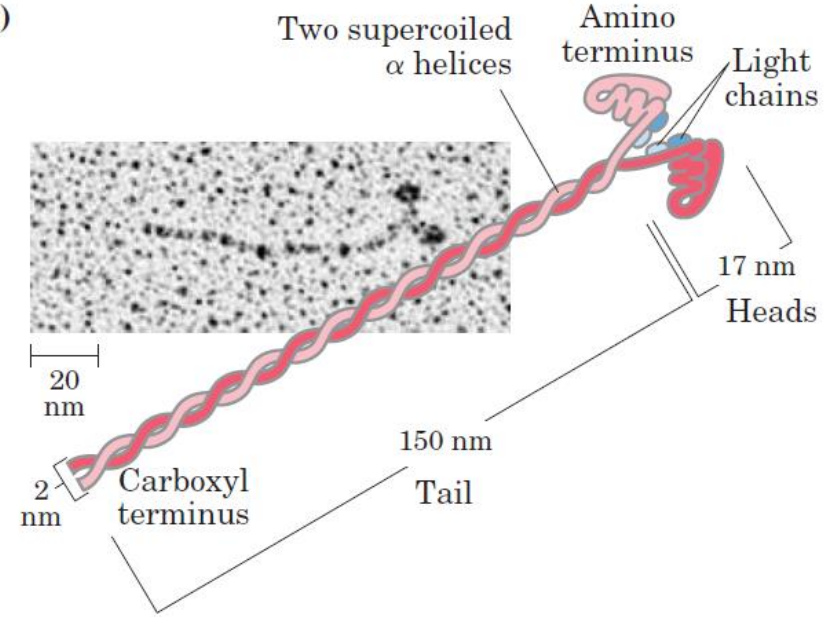
- Kasılma kuvveti, iki temel kas proteini olan miyozin ve aktinin birbirleriyle etkileşmesi sonucunda oluşur.
- Bu proteinler düzenli filamentler halinde organize olur ve kasılma sırasında birbirleri üzerinden kayar.
- Aktin ve miyozin birlikte kas proteinlerinin toplam kütlesinin %80'inden fazlasını oluşturur.
- Kas kasılması, bu iki filament sisteminin kontrollü ve tekrarlayan etkileşimlerine dayanır.





Miyozin Altı Alt Birimden Oluşur

- Miyozin yaklaşık 540.000 molekül kütleli ve altı alt birimden oluşan büyük bir proteindir.
- Molekül iki ağır zincir ve dört hafif zincir içerir.
- Ağır zincirlerin karboksil uçları uzun α -heliksler halinde birbirlerinin çevresine sarılarak fibröz bir kuyruk oluşturur.
- Yandaki figür, miyozin molekülündeki iki süper sarmal α -heliksi, baş bölgelerini ve hafif zincirleri gösterir.





Miyozin Baş Bölgesi ATP Hidrolizini Gerçekleştirir

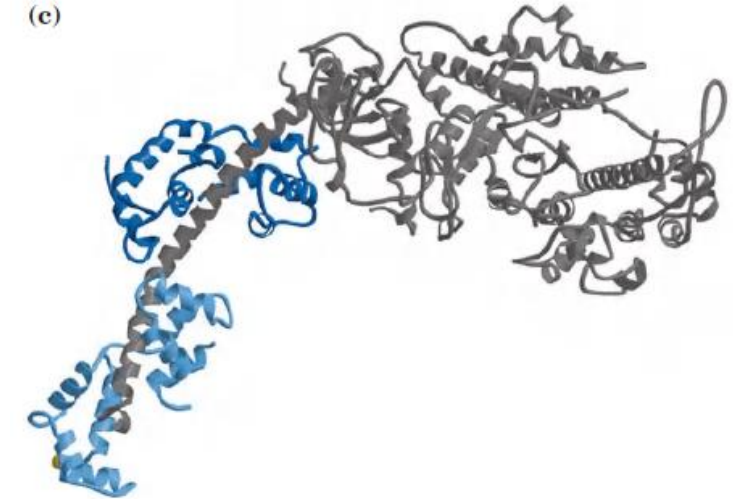
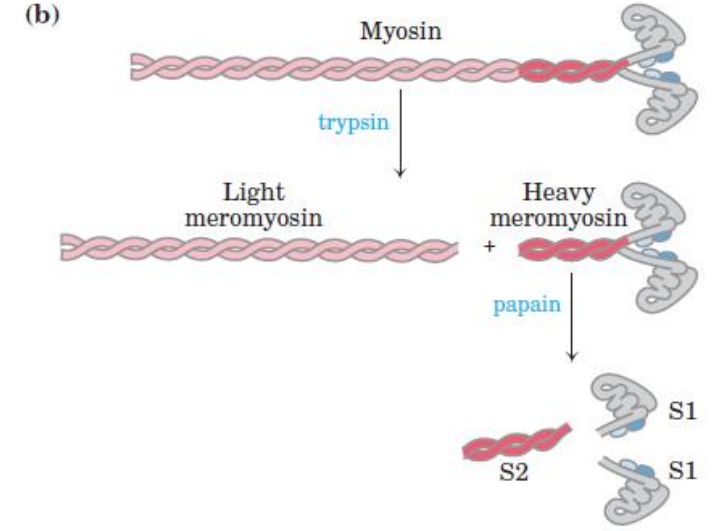
- Her ağır zincirin amino ucunda büyük, globüler bir miyozin baş bölgesi bulunur.
- Bu globüler bölgede ATP'yi hidroliz eden bir bölge yer alır.
- Hafif zincirler miyozinin globüler baş bölgeleriyle ilişkilidir.
- Böylece miyozinin baş bölgesi hem aktinle etkileşebilen hem de ATP hidrolizini gerçekleştirebilen işlevsel bir yapı oluşturur.





Miyozin Proteolitik Olarak Farklı Bölgelere Ayrılabilir

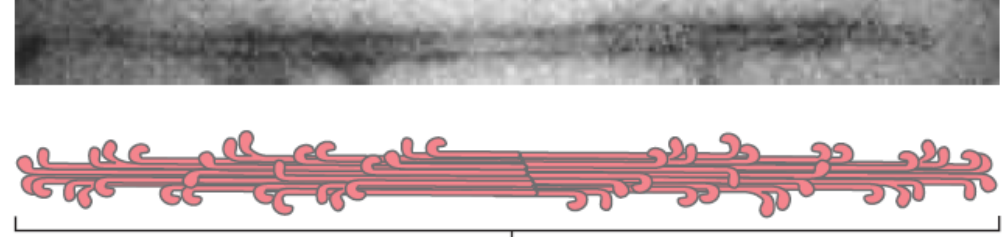
- Miyozin tripsinle kısa süreli işlendiğinde hafif meromiyozin ve ağır meromiyozin olarak adlandırılan iki parçaya ayrılır.
- Ağır meromiyozin papainle parçalandığında iki S1 bölgesi ve kalan S2 bölgesi ortaya çıkar.
- S1 bölgesi, kas kasılmasının motor işlevini gerçekleştiren miyozin baş grubunu temsil eder.
- Figür b, miyozinin proteolitik parçalanmasını; Figür c ise S1 bölgesinin üç boyutlu yapısını göstermektedir.





Miyozin Molekülleri Kalın Filamentleri Oluşturur

- Kas hücrelerinde miyozin molekülleri bir araya gelerek kalın filamentler adı verilen yapıları oluşturur.
- Miyozinlerin uzun kuyrukları filamentin merkezini oluştururken globüler baş bölgeleri dışarı doğru uzanır.
- Kalın filament boyunca miyozin molekülleri düzenli bir organizasyon gösterir.
- Yandaki figür, miyozin moleküllerinin bipolar yapılı kalın filamentler halinde nasıl organize olduğunu göstermektedir.



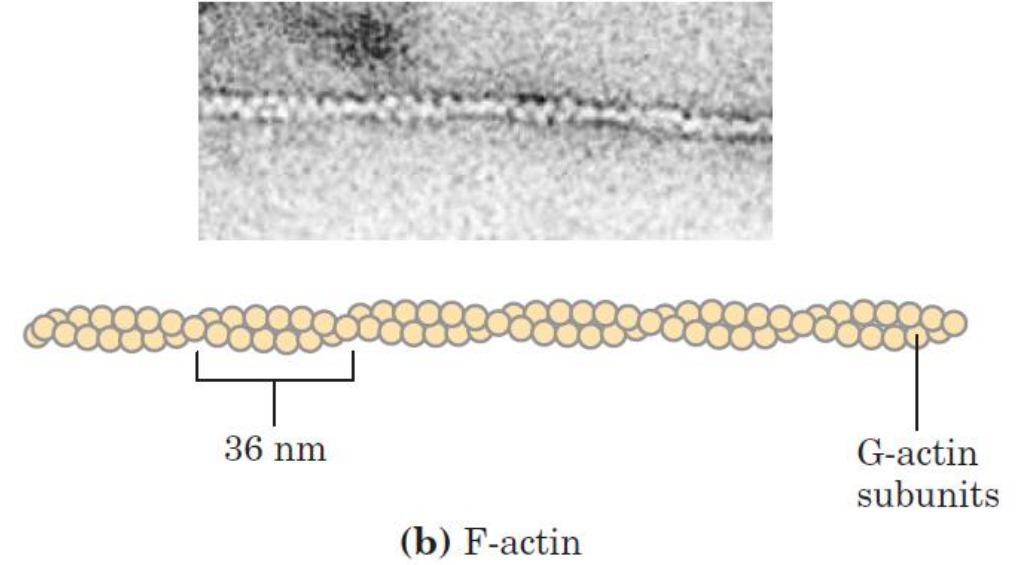
~325 nm
(a) Myosin





Aktin İnce Filamentlerin Temelini Oluşturur

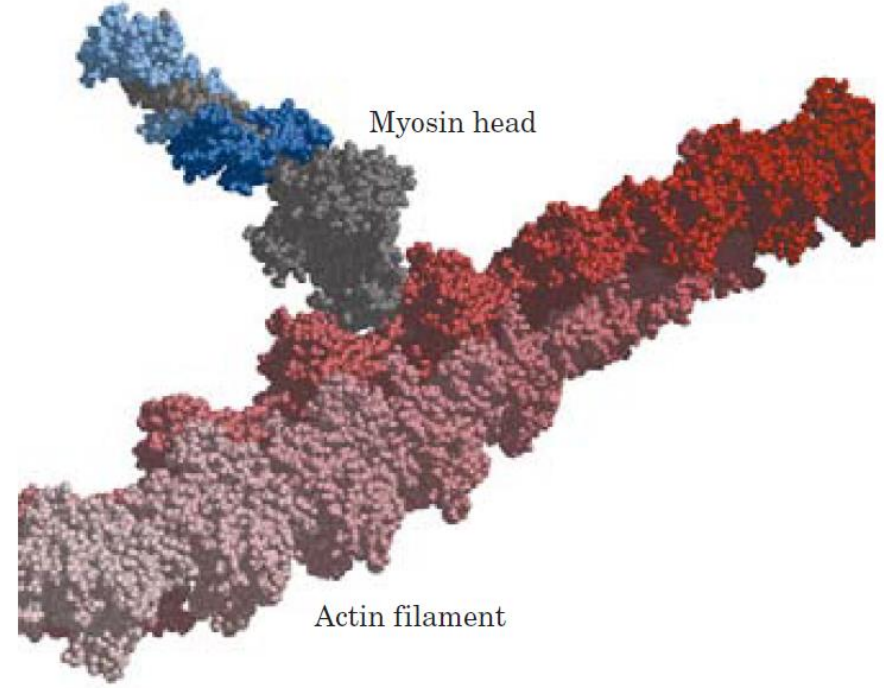
- Kasın diğer temel proteini olan aktin, ökaryotik hücrelerde çok yaygın bulunan bir proteindir.
- Monomerik aktin G-aktin olarak adlandırılır ve yaklaşık 42.000 molekül kütlesine sahiptir.
- G-aktin monomerleri bir araya gelerek F-aktin adı verilen uzun filamentleri oluşturur.
- Yandaki figür, F-aktinin iki aktin zincirinin birbirleri etrafında sarılmasıyla oluşan filamentöz yapısını göstermektedir.





Aktin Filamentleri Polar Yapılardır

- F-aktindeki aktin monomerleri düzenli bir biçimde bir araya gelir ve filament belirgin bir polarite kazanır.
- Her aktin monomeri ATP bağlar ve ATP'yi ADP'ye hidroliz edebilir.
- Filamentteki her aktin monomerinin yönelimi miyozin baş grubuyla özgül etkileşim kurmasına olanak verir.
- Yandaki figür, bir miyozin başının aktin filamentindeki bir aktin monomeriyle kurduğu etkileşimi göstermektedir.

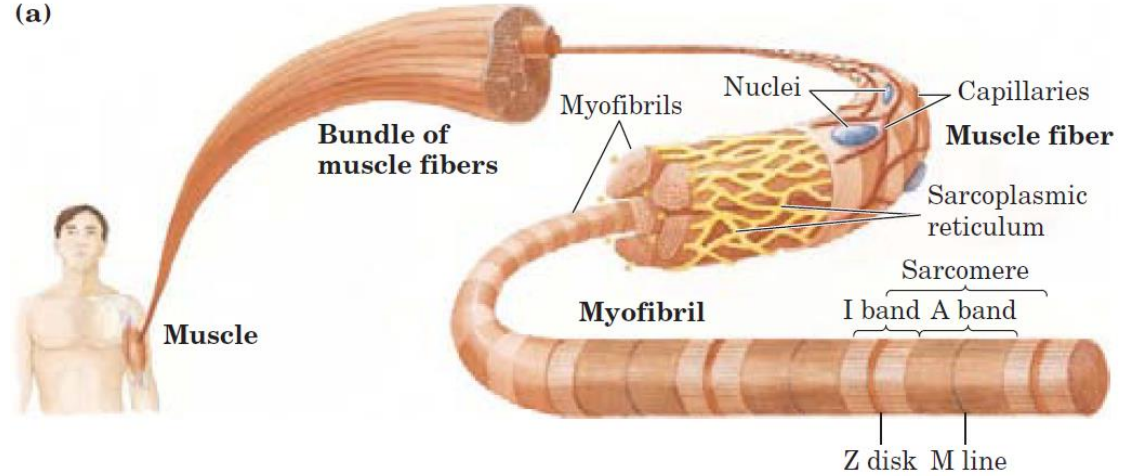


(c)



İskelet Kası Kas Liflerinden Oluşur

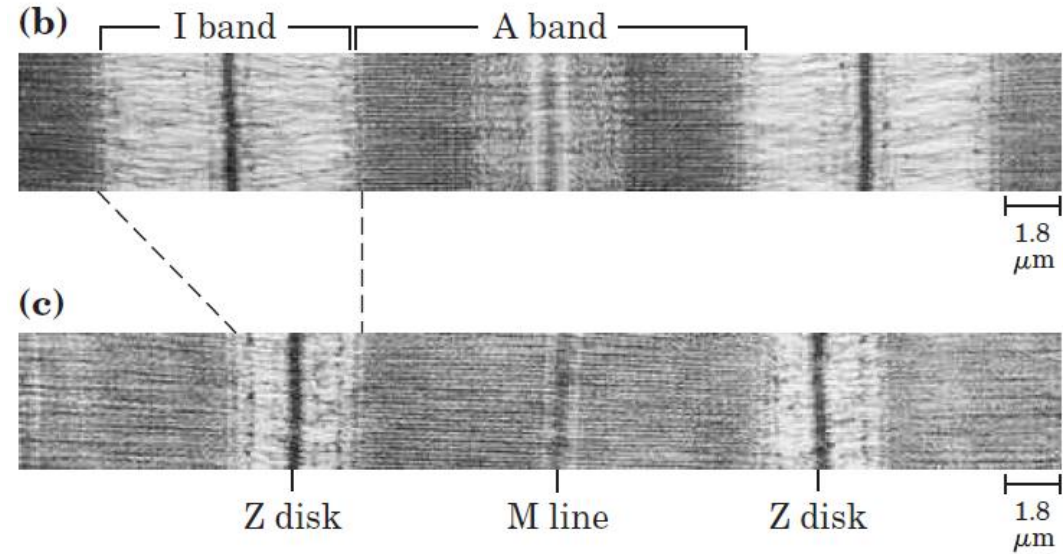
- İskelet kası, birbirine paralel uzanan çok sayıda kas lifinden meydana gelir.
- Her kas lifi tek, büyük ve çok çekirdekli bir hücredir ve çok sayıda öncü hücrenin birleşmesiyle oluşur.
- Bir kas lifinin içinde yaklaşık 1.000 kadar miyofibril bulunabilir.
- Yandaki figür, kasın kas lifi, miyofibril ve sarkomer düzeyindeki hiyerarşik organizasyonunu göstermektedir.





Miyofibriller Düzenli Bantlaşma Gösterir

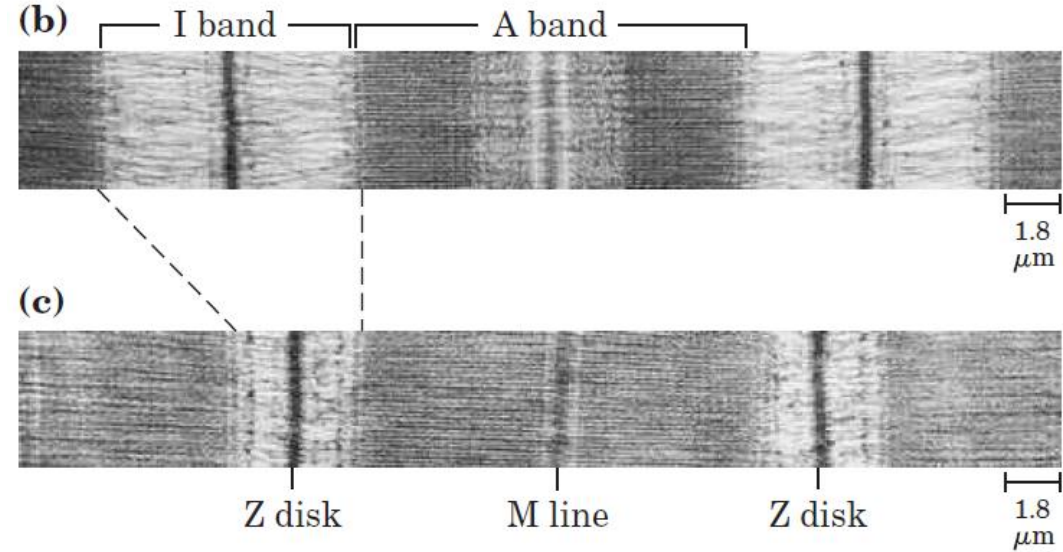
- Miyofibriller, düzenli biçimde sıralanmış kalın ve ince filamentlerden oluşur.
- Elektron mikroskopunda kas lifleri açık ve koyu bölgelerden oluşan karakteristik çizgili bir görünüm sergiler.
- Koyu bölgeler A bantları, açık bölgeler ise I bantları olarak adlandırılır.
- Figür b ve Figür c, gevşemiş ve kasılmış kastaki bu bantlaşma düzenini elektron mikroskobu görüntüleriyle göstermektedir.





Sarkomer Kasın Temel Kasılabilir Birimidir

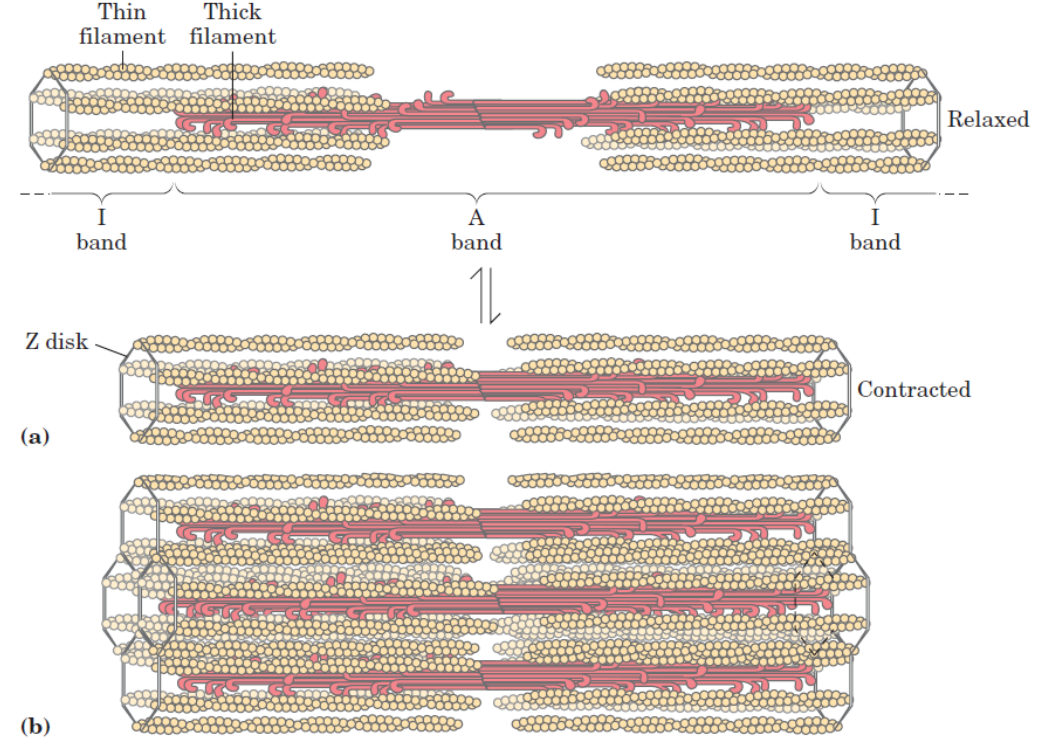
- I bandı, yalnızca ince filamentlerin bulunduğu bölgeyi içerir.
- A bandı, kalın filamentlerin tüm uzunluğunu kapsar ve kalın–ince filament örtüşmesinin bulunduğu bölgeleri de içerir.
- I bandının ortasında ince filamentlerin bağlandığı Z disk, A bandının ortasında ise M çizgisi bulunur.
- İki Z disk arasındaki bölge sarkomer olarak adlandırılır ve kasılmanın temel yapısal birimini oluşturur.





Sarkomerde Kalın ve İnce Filamentler Düzenli Yerleşir

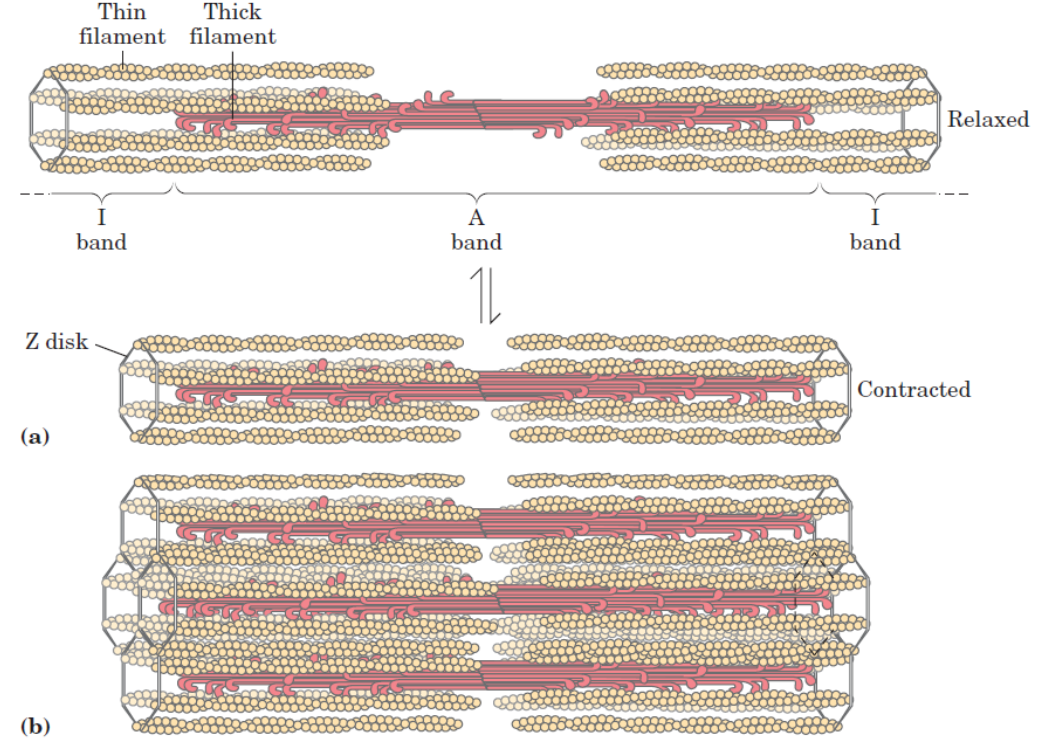
- Sarkomerin merkezinde kalın filamentler bulunurken ince filamentler Z disklerinden merkeze doğru uzanır.
- Örtüşme bölgelerinde her kalın filamentin çevresi altı ince filament tarafından sarılır.
- Bu düzen, kalın ve ince filamentlerin birbirleri üzerinden kontrollü biçimde kaymasına olanak sağlar.
- Yandaki figür, gevşemiş ve kasılmış sarkomerde filamentlerin düzenlenişini göstermektedir.





Kasılma Filamentlerin Birbirleri Üzerinden Kaymasıyla Gerçekleşir

- Kas kasılması sırasında kalın ve ince filamentlerin kendi uzunlukları belirgin biçimde değişmez.
- Bunun yerine kalın filamentler ile ince filamentler birbirleri üzerinden kayar.
- Bu kayma sonucunda komşu Z diskleri birbirine yaklaşır ve sarkomer kısalmır.
- Yandaki figür, gevşemiş ve kasılmış durumda filamentler arasındaki örtüşmenin nasıl arttığını göstermektedir.





Yardımcı Proteinler Filamentlerin Düzenini Korur

- İnce filamentler bir uçlarından Z diskinе bağlanır ve bu bağlantıda α -aktinin, desmin ve vimentin gibi proteinler görev alır.
- İnce filamentlerde bulunan nebulin, filament boyunca uzanan çok büyük bir proteindir.
- Nebulinin ince filament uzunluğunun düzenlenmesinde moleküler bir cetvel gibi işlev görebileceği düşünülür.
- M çizgisi ise kalın filamentlerin düzenlenmesine katkı sağlayan çeşitli proteinler içerir.





Titin Sarkomerin Yapısal Bütünlüğüne Katkıda Bulunur

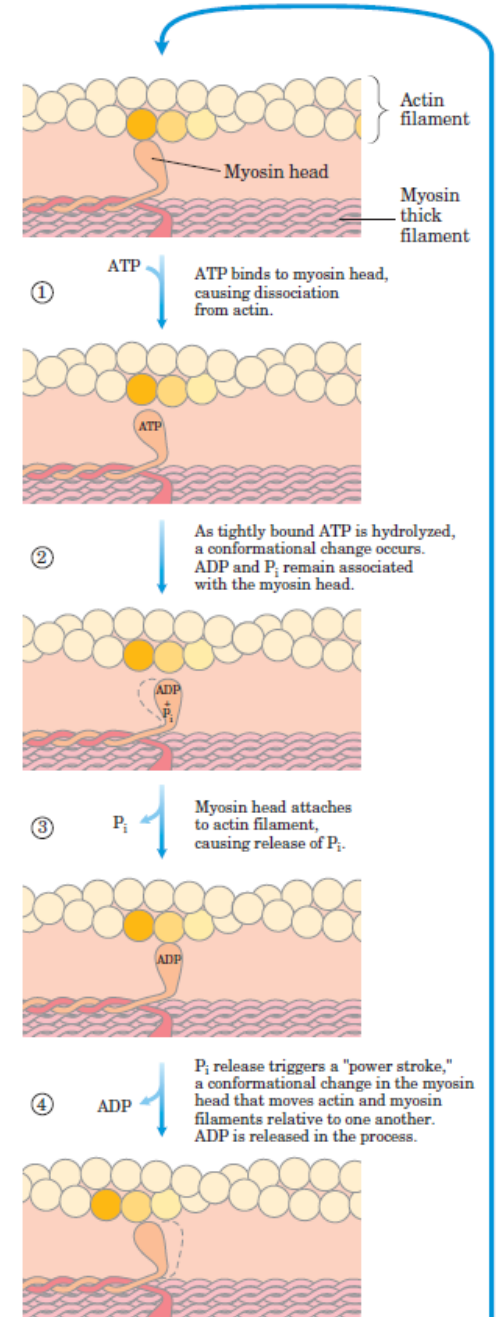
- Titin, bilinen en büyük tek polipeptit zincirlerinden biridir ve insan kalp kasındaki formu yaklaşık 26.926 amino asit içerir.
- Titin kalın filamentleri Z diskine bağlayarak sarkomerin genel organizasyonuna katkı sağlar.
- Bu protein Z diskinden M çizgisine kadar uzanır ve sarkomer uzunluğunun düzenlenmesinde rol oynar.
- Titinin farklı dokulardaki farklı varyantları, sarkomer uzunluğunda görülen farklılıklarla ilişkilidir.





Miyozin ve Aktin Arasındaki Bağlanma ATP ile Kontrol Edilir

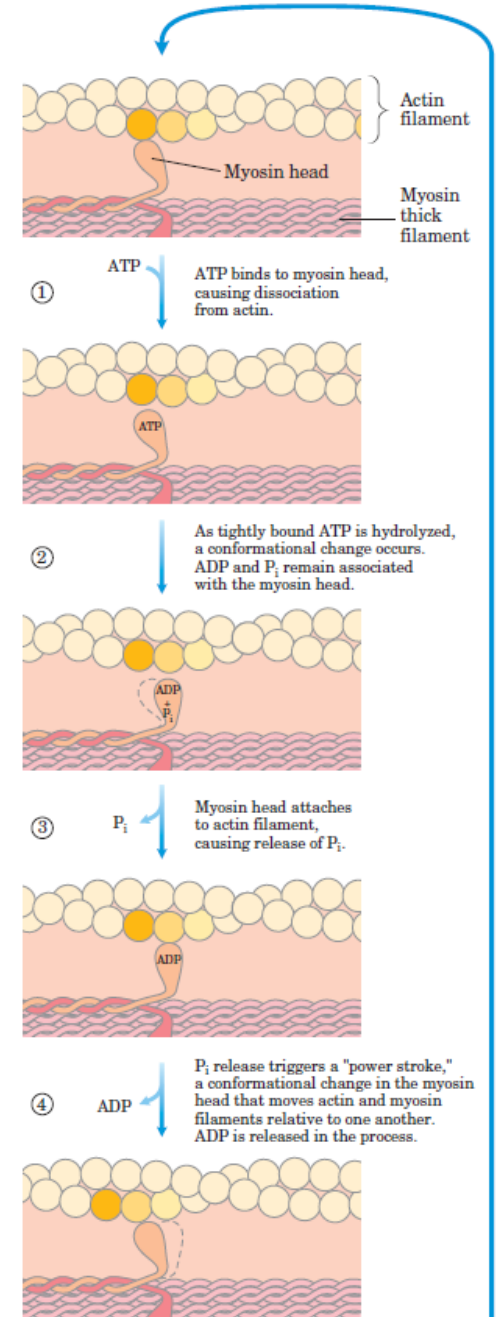
- ATP bulunmadığında miyozin baş grubu aktine sıkı biçimde bağlanır.
- ATP'nin miyozine bağlanması miyozin–aktin etkileşimini bozarak miyozin başının aktinden ayrılmasını sağlar.
- Miyozine bağlı ATP daha sonra ADP ve fosfata hidroliz edilir.
- Bu ATP döngüsü miyozin başındaki tekrarlayan konformasyon değişikliklerinin temelini oluşturur.





ATP Hidrolizi Miyozin Başını Yüksek Enerjili Duruma Getirir

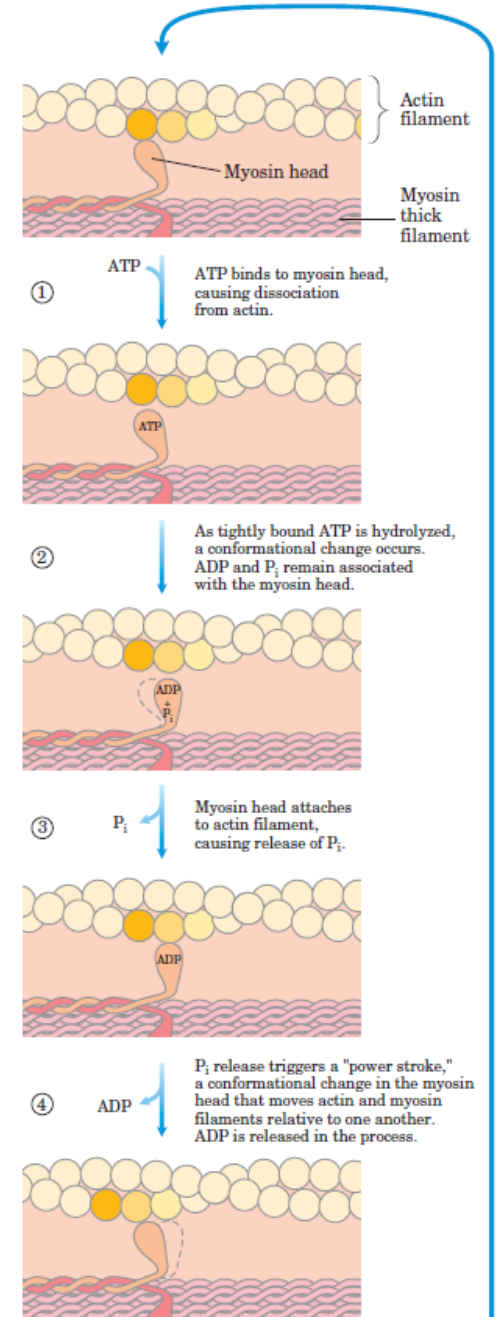
- ATP hidrolizi miyozin başında bir konformasyon değişikliği oluşturarak baş bölgesini yüksek enerjili bir duruma getirir.
- Bu değişiklik miyozin başının aktin filamentine göre yönelimini değiştirir.
- Miyozin başı daha sonra aktin üzerinde yeni bir bölgeye zayıf biçimde bağlanır.
- Böylece miyozin başı filament boyunca ilerlemenin bir sonraki adımına hazırlanır.





Fosfatın Ayrılması Güç Vuruşunu Başlatır

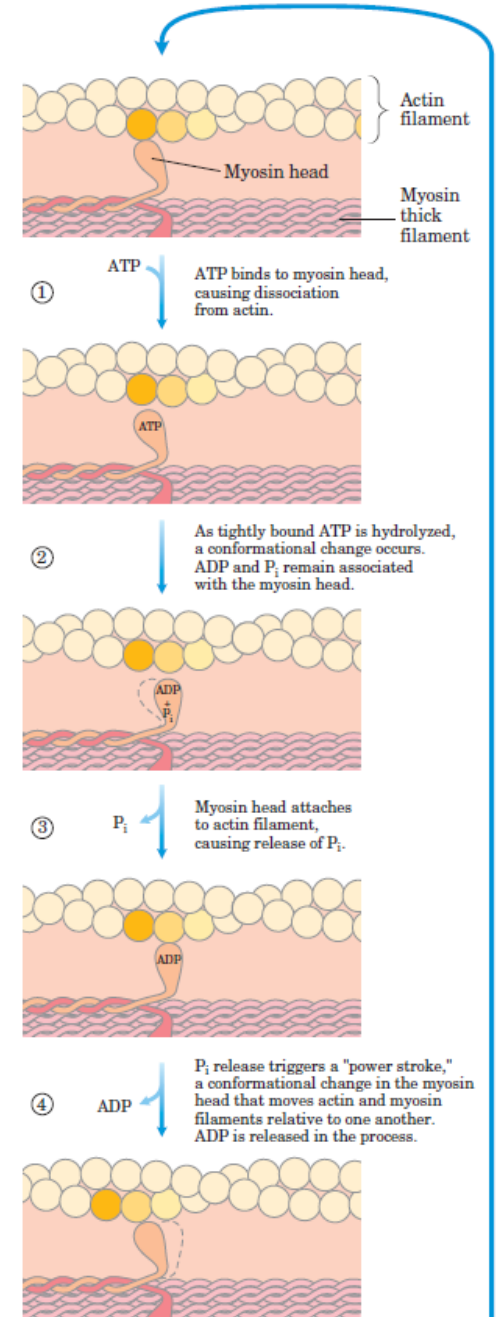
- Aktine bağlanan miyozin başından fosfatın ayrılması aktin-miyozin etkileşimini güçlendirir.
- Bu olay miyozin başında yeni bir konformasyon değişikliğini tetikler.
- Power stroke olarak adlandırılan bu hareket, kalın ve ince filamentlerin birbirlerine göre yer değiştirmesini sağlar.
- ADP'nin ayrılmasıyla miyozin başı yeniden başlangıç durumuna döner ve yeni bir ATP bağlanmasına hazır hale gelir.





Miyozin Çapraz-Köprü Döngüsü

- Yandaki figür, ATP'nin miyozine bağlanmasıyla aktinden ayrılma ve ATP hidroliziyle baş bölgesinin yeniden konumlanmasını göstermektedir.
- Miyozin başı daha ilerideki bir aktin alt birimine bağlandıktan sonra fosfatın ayrılması bağlanmayı güçlendirir.
- Ardından power stroke gerçekleşir ve filamentler birbirlerine göre hareket eder.
- Döngünün tekrarlanması, miyozin başlarının ince filament boyunca ardışık biçimde ilerlemesini sağlar.





Tek Bir Miyozin Döngüsü Küçük Bir Kuvvet Üretir

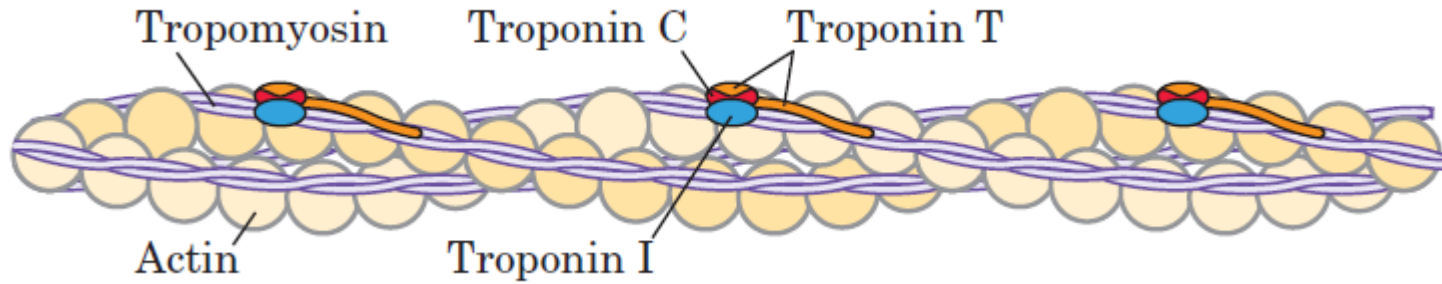
- Her miyozin döngüsü yaklaşık 3–4 pN kuvvet oluşturur.
- Tek bir döngü kalın filamentin ince filamente göre yaklaşık 5–10 nm hareket etmesini sağlar.
- Bir kalın filamentte çok sayıda miyozin başı bulunduğundan bunların yalnızca küçük bir bölümü herhangi bir anda aktine bağlıdır.
- Çok sayıdaki miyozin başının koordineli çalışması kalın filamentin aktin boyunca kesintisiz ilerlemesini mümkün kılar.





Kas Kasılması Troponin ve Tropomiyozin Tarafından Düzenlenir

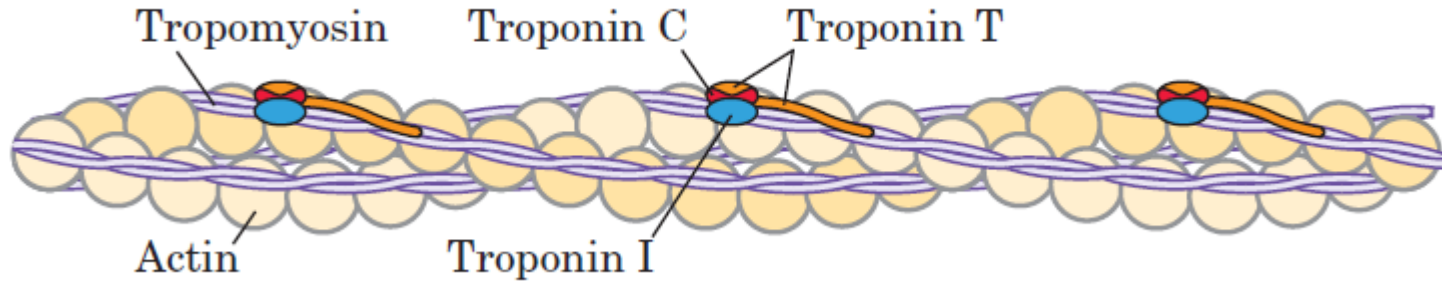
- Kas kasılması, yalnızca sinir sisteminden uygun sinyaller geldiğinde gerçekleşecek biçimde sıkı kontrol altında tutulur.
- Bu düzenlemede tropomiyozin ve troponin proteinleri temel rol oynar.
- Tropomiyozin ince filament üzerinde yer alır ve gevşemiş kasta miyozinin bağlanacağı aktin bölgelerini örter.
- Aşağıdaki figür, tropomiyozin ve troponin kompleksinin aktin filamentindeki düzenlenişini göstermektedir.





Troponin Kompleksi Üç Alt Birim İçerir

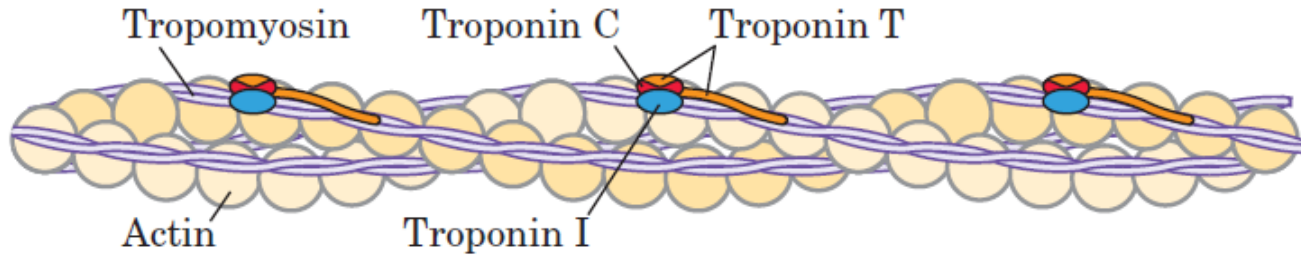
- Troponin kompleksi troponin I, troponin C ve troponin T olmak üzere üç farklı alt birimden oluşur.
- Troponin I aktinle etkileşerek aktin–miyozin etkileşiminin inhibisyonuna katkıda bulunur.
- Troponin T, troponin kompleksini tropomiyozine bağlar.
- Troponin C ise Ca^{2+} bağlayarak kasılmanın düzenlenmesindeki sinyali algılar.





Ca²⁺ Aktin–Miyozin Etkileşimini Serbest Bırakır

- Sinir uyarısı kas hücreesindeki sarkoplazmik retikulumdan Ca²⁺ salınmasına yol açar.
- Ca²⁺ troponin C'ye bağlanarak troponin kompleksinde konformasyon değişikliği oluşturur.
- Bu değişiklik troponin I ve tropomiyozinin konumunu değiştirerek miyozin bağlanma bölgelerindeki engeli kaldırır.
- Aşağıdaki figür, bu düzenleyici proteinlerin aktin üzerindeki konumlarını ve Ca²⁺ aracılı kontrol sisteminin yapısal temelini göstermektedir.





Kasılmada Kimyasal Enerji Mekanik Harekete Dönüşür

- Aktin–miyozin bağlanması geri dönüşümlüdür ve protein–ligand etkileşimlerinin temel özelliklerini taşır.
- Ancak ATP miyozine bağlandıktan sonra ADP ve Pi'ye hidroliz edildiği için ATP döngüsü kimyasal enerji sağlar.
- Miyozin yalnızca aktin bağlayan bir protein değil, aynı zamanda ATP hidrolizleyen bir enzimdir.
- Böylece protein etkileşimleri ve enzimatik ATP hidrolizi birlikte çalışarak kimyasal enerjiyi yönlendirilmiş mekanik harekete dönüştürür.



Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

