

Biyomoleküllerin Özellikleri:

**PROTEİNLER ve BİYOLOJİK
İŞLEVLERİ**

Canlı sistemlerde iş gören yapılardır. DNA üzerinde ki bilgiler organizma için kullanılabilir Duruma getirilmediği sürece hiçbir işe yaramaz.

DNA'da ki bir bilgi, protein şeklinde iş görebilen yapılara dönüşür. Biz bu sisteme, evrensel olan **santral dogma** deriz.

Proteinler çok hassas moleküller olabildikleri kadar birçok önemli işlevleri görürler. Normal řartlar altında gerçekleřmesi çok g  ve zor olan olaylar, organizmalar içerisinde proteinler sayesinde çok çabuk geliřirler.

Bazen proteinler, ortamda ki tek bir iyondan etkilenerek yapıları bozulabilir. Bazen de etkilenmeyebilir.

Proteinlerin bazıları aktif iken bazıları pasif kalabilir. Bu durum, metabolizmanın işlevine bağlıdır.

Proteinlerin yaptıkları işleve göre çok eřitleri vardır.

Proteinler, Yunanca'da birinci sırada anlamına gelen proteois kelimesinden türemiştir.

Proteinlerin elementel analizi yapıldığında :

C (% 50-55), H (% 6-7), N (% 12-19),

S (% 0.2-3.0), O (% 20-23)

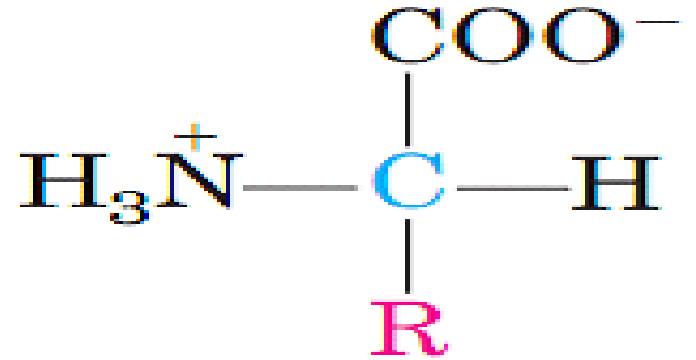
Bunların dışında P, Fe, Zn, Cu elementleri bulunur.

En önemli özelliği de N bulundurmasıdır. Bu özelliği ile de yağlardan ve karbonhidratlardan ayrılmaktadırlar.

İnsan vücudunda hemen hemen 10^{10} - 10^{12} farklı çeşitte protein vardır. Günümüzde bu proteinlerin birçok kısmı izole edilmiştir.

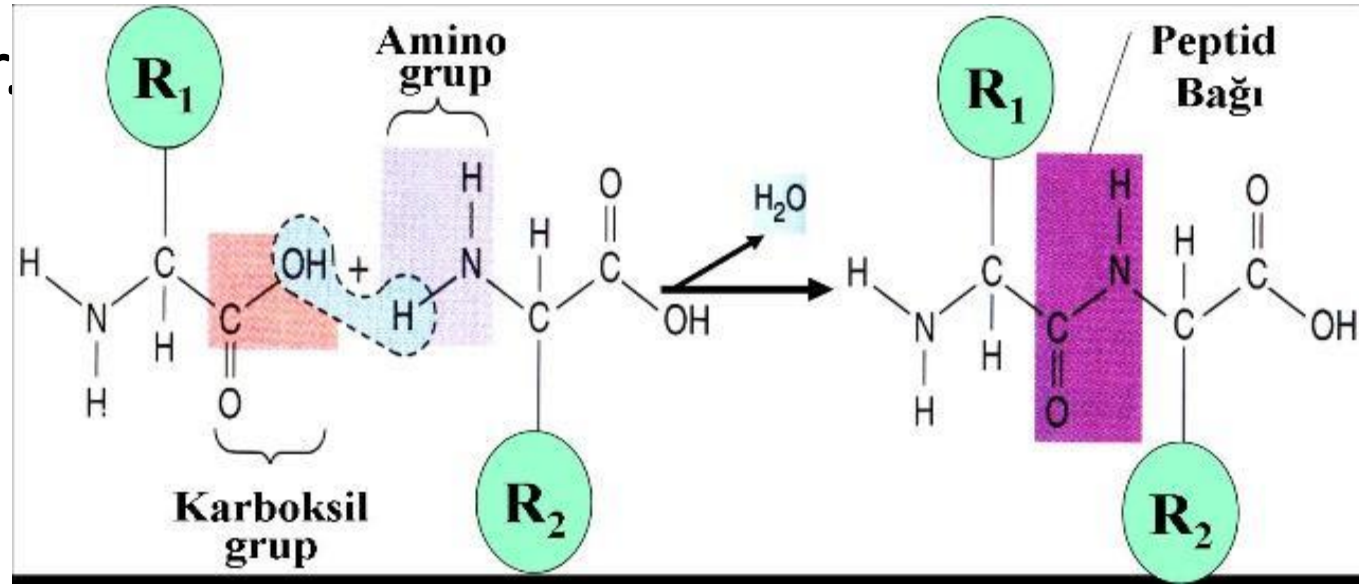
Proteinler, C, H, O, N ve S moleküllerinin değişik formlarda bir araya gelmesiyle oluşmuş yapılardır. Bu yapılara işlevine bağlı olarak P gibi metal iyonları, lipitler ve şekerler bağlanabilir.

Proteinler, yapıtaşları olan aminoasitlerin peptit bağlarıyla bir araya gelmesiyle oluşmuş yapılardır. Proteinlerin yapı taşlarına **α -aminoasitler** denir.



Bir aminoasidin $-COOH$ grubu ile diğeri bir aminoasidin $-NH_2$ grubu arasında 1 molekül H_2O çıkmasıyla **peptit bağları** oluşur.

- 2 aminoasit peptit bağıyla bağlanırsa, **dipeptit**
- 3 aminoasit peptit bağıyla bağlanırsa, **tripeptit**
- 4 aminoasit peptit bağıyla bağlanırsa, **tetrapeptit**
- Çok sayıda aminoasit peptit bağıyla bağlanırsa, **polipeptitler** oluşur.



Aminoasitler peptit bağıyla bağlandıktan sonra açıkta kalan uçlarından birisi $-NH_2$ ucu (=N ucu) diğeri ise $-COOH$ ucu (=C ucu) adını alır.

Ribozomların alt birimlerinde özđün proteinleri vardır. Bunlardan birisi **peptidil transferaz enzimi**'dir. Bu enzimin kendi özđül substratını tanıyabilmesi için özđül grupları vardır.

Bu özđül grupları aminoasit yapısında ki $-NH_2$ grubunu solda olacak şekilde tutar. Böylece polarize ışığın yönünü bu aminoasitler sola çevirirler. İşte bu enzim, aminoasitleri "L" formundayken tanır. Canlılarda ki aminoasitler "L" formundadır. Çünkü "L" formunda ki aminoasitleri parçalayan enzimleri vardır.

Proteinlerin sınıflandırılmasında çeşitli kriterler ele alınır. Örneğin;

- Protein yüküne (+,-)
- Aminoasitlerine
- Buldukları dokusuna
- Yaptığı işleve

göre sınıflandırılırlar.

Proteinler, oluşum Őekillerine (kompozisyonlarına) göre 2'ye ayrılırlar;

1- Basit proteinler: Hidroliz edildiklerinde sadece aminoasitlerine ayrılabilen proteinlerdir.

2- Bileşik (kompleks) proteinler: Hidroliz edildiklerinde aminoasitlerin yanında aminoasit olmayan grupları da verirler. Aktif bir proteindeki protein olmayan kısım **prostatik kısım** olarak adlandırılır.

Prostatik grup:

- Karbonhidrat ise; Glikoprotein
- Lipit ise; Lipoprotein
- Nükleik asit ise; Nükleoprotein
- Metal ise; Metaloprotein

adını alır ve taşıdığı prostatik gruba göre adlandırılırlar

Proteinler, konformasyonlarına(konfigürasyonlarına) göre 2'ye ayrılır;

1- Fibröz Proteinler: Sağlam yapılı dokularda bulunan proteinlerdir. Bu proteinlerde peptit zinciri bir eksen doğrultusunda helezonlar yaparak veya tabakalar oluşturarak uzun fibriler bir yapı oluştururlar. Globüler proteinlere göre çok basit bir yapıları vardır. Oldukça dayanıklıdır proteinlerdir. Suda ve tuz çözeltilerinde çözülmezler. Yüksek organizasyonlu hayvanların bağ dokusunun temel yapısal elementidirler.

Örneğin;

- Kemik dokusu matriksi
- Tendonların kollagen proteini
- Saç, boynuz, tırnak, deri ve tüylerin yapısında ki α -keratin
- Elastik bağ dokusunda ki elastin

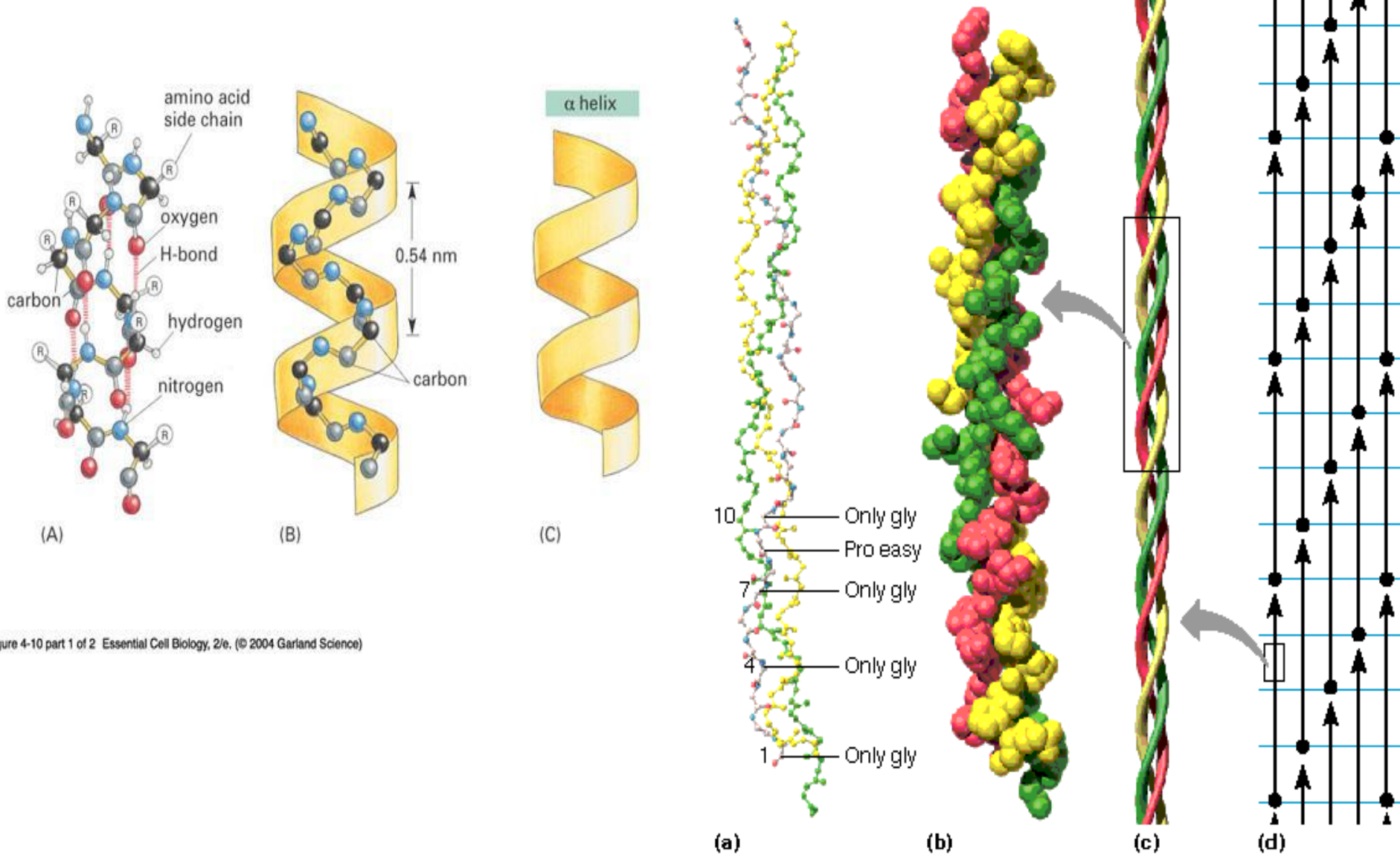
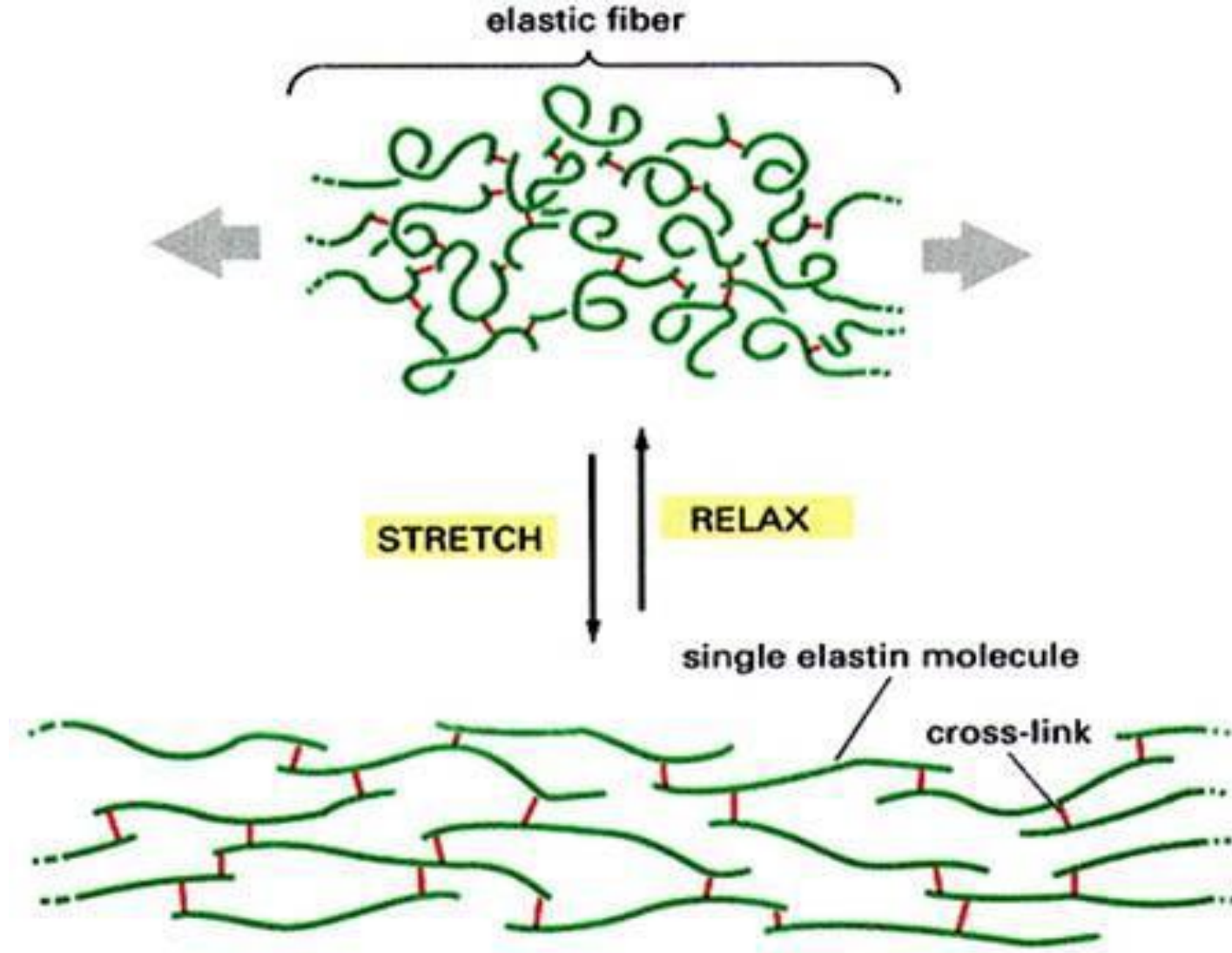


Figure 4-10 part 1 of 2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Kollajen:

insan da dahil omurgalıların büyük bir kısmında **en bol bulunan** proteindir. Kemiklerde minerallerin üzerinde çöktüğü matriks materyalini oluşturur. Tendonların ana bileşenidir. Derinin önemli bir elemanıdır.



Hücre dışı matriste bulunan bir başka protein olan elastin, kollajenin tam zıttı özelliklere sahiptir.

Çoğu proteinin aksine, bunlar kesin biçimde tanımlanmış kararlı bir yapıya sahip olmayıp, bir konformasyondan diğerine geçiş yapabilir.

2-Globüler Proteinler: Polipeptit zinciri, globüler şekilde ya da küresel şekilde sıkıca kıvrımlar oluşturur. Bu proteinler, su ve tuz çözeltilerinde kolayca çözünürler. Genellikle hücrelerin hareket eden ve dinamik fonksiyon gösteren yapıları globüler yapıdadır.

Örneğin;

- Bugün bilinen enzimlerin hemen hemen hepsi
- birçok hormon,
- serum albüminleri ve
- hemoglobin globüler proteinlerdir.



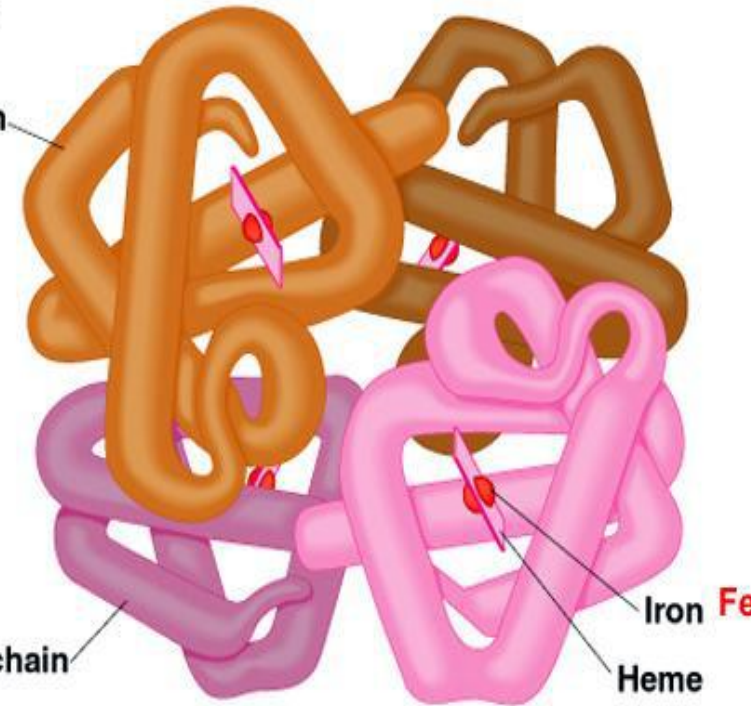
Polypeptide chain

β chain

α chain

Iron Fe

Heme

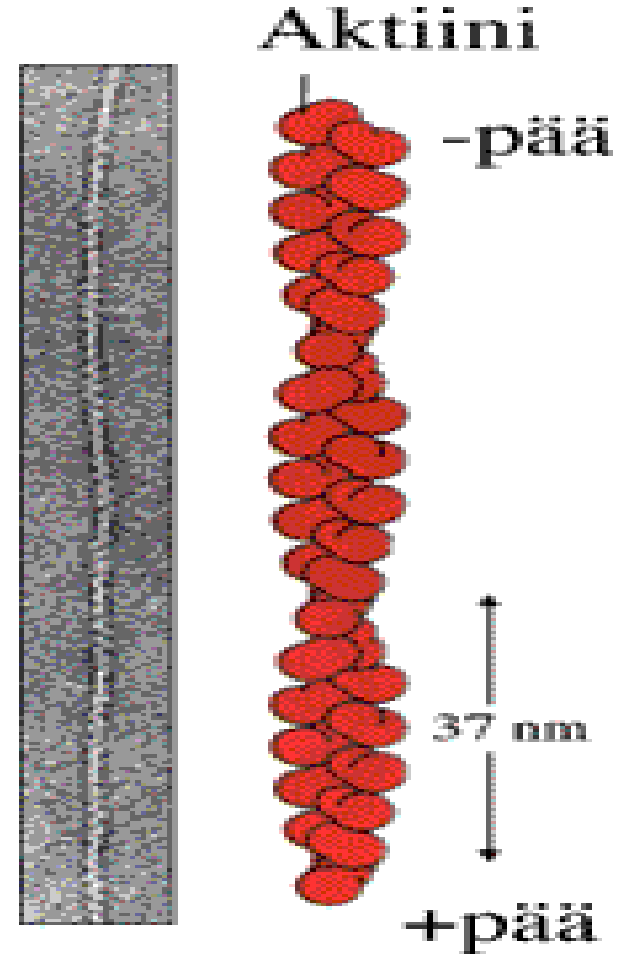


(b) Hemoglobin

Bazı proteinler her iki yapı arasında yer alır. Bunlar Çubuksu yapılarıyla **fibröz proteinlere** benzerken, çözünürlükleri açısından da **globüler proteinlere** benzerler.

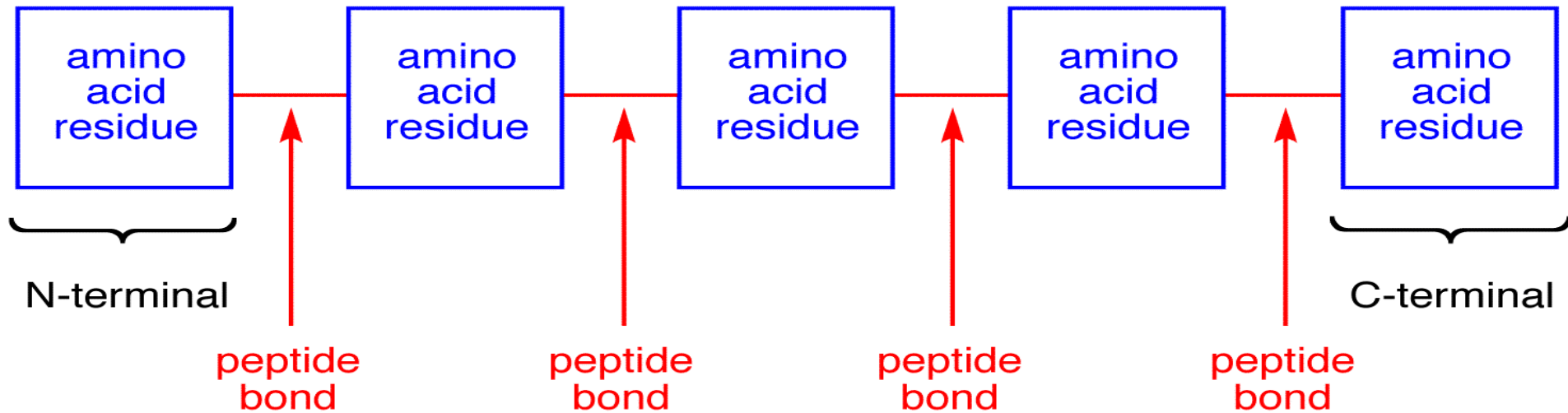
Örneğin;

- Baskılanabilir sistemin temel elemanları olan aktin ve miyozin
- Kan pıhtılaşmasının temel elemanı olan fibrin

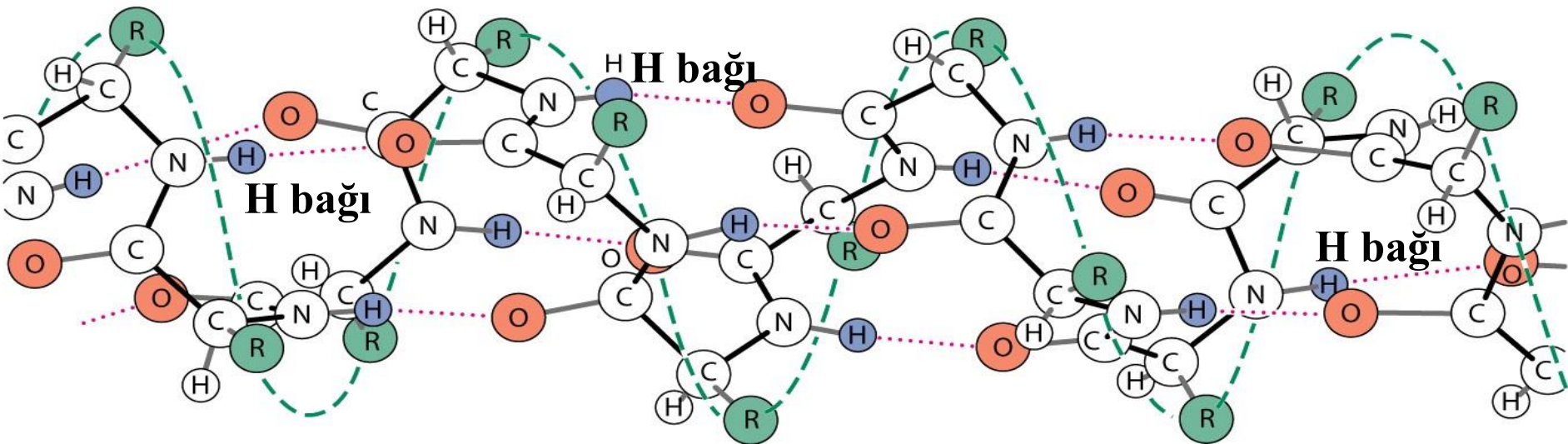


Protein yapısının farklı düzeyleri primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner yapıya gelirler. Yani proteinler sentezlendikten sonra aktivite gösterdikleri konumlarına göre farklı yapı ve şekilleri alırlar.

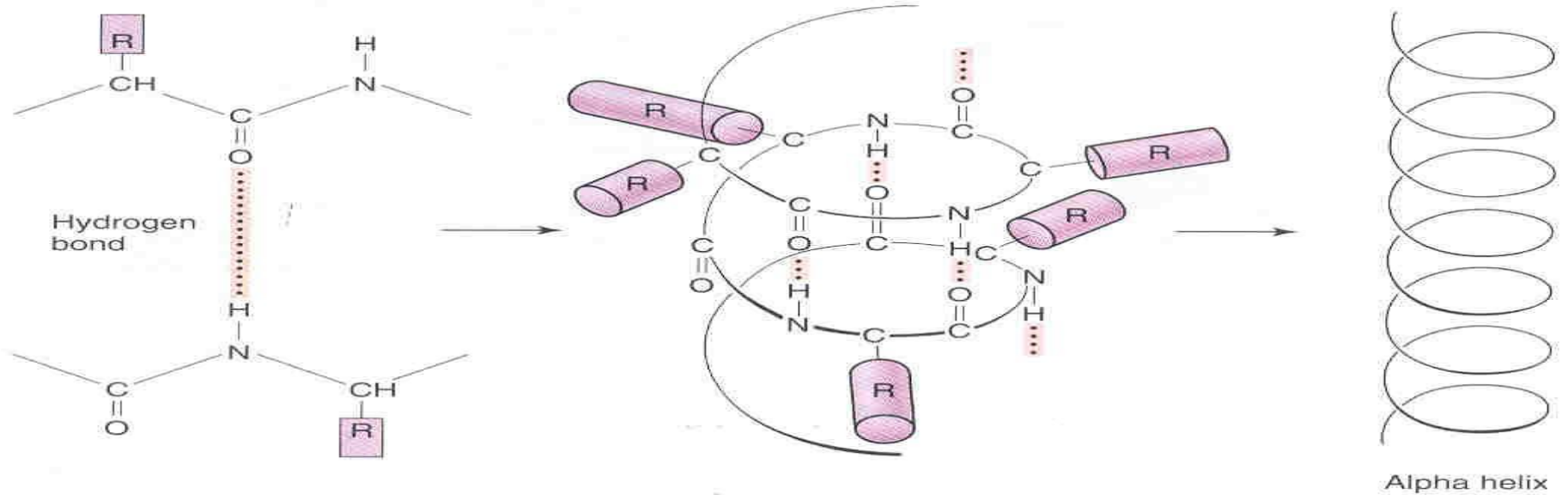
Primer Yapı: Proteinlerin aminoasit yapılarını belirleyen yapılardır. Burada aminoasitler, DNA üzerinde ki şifreye göre dizilmişlerdir. Böyle yapıda ki protein aktif değildir.



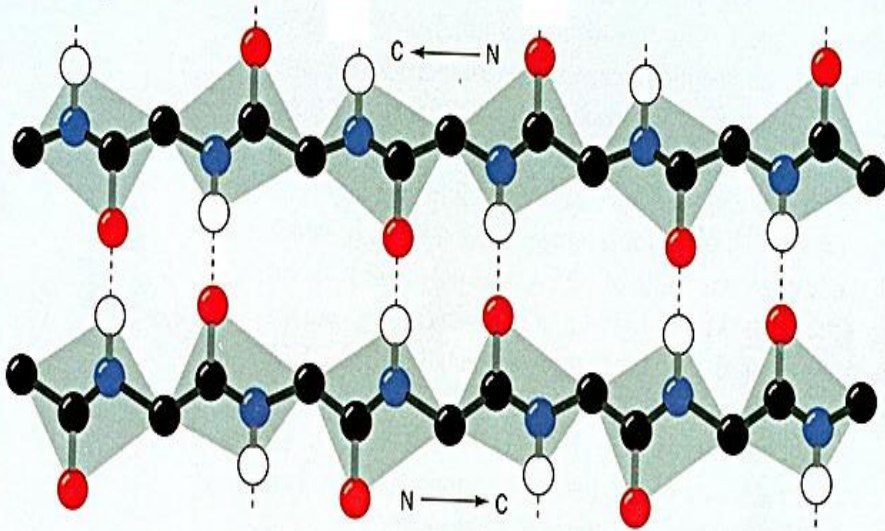
Sekonder Yapı: Protein yapısını oluşturan aminoasitlerin yan yana gelerek peptit bağlarıyla oluşan primer yapısının bir kat daha kıvrılmasıyla oluşan yapıdır. Fibröz proteinlerin şekli sekonder yapıdadır. Özellikle primer yapıda ki bir aminoasit, kendinden sonraki üçüncü aminoasitle bağlanarak sekonder yapıyı oluşturur. Bazı proteinler bu yapıda aktif olabilir.



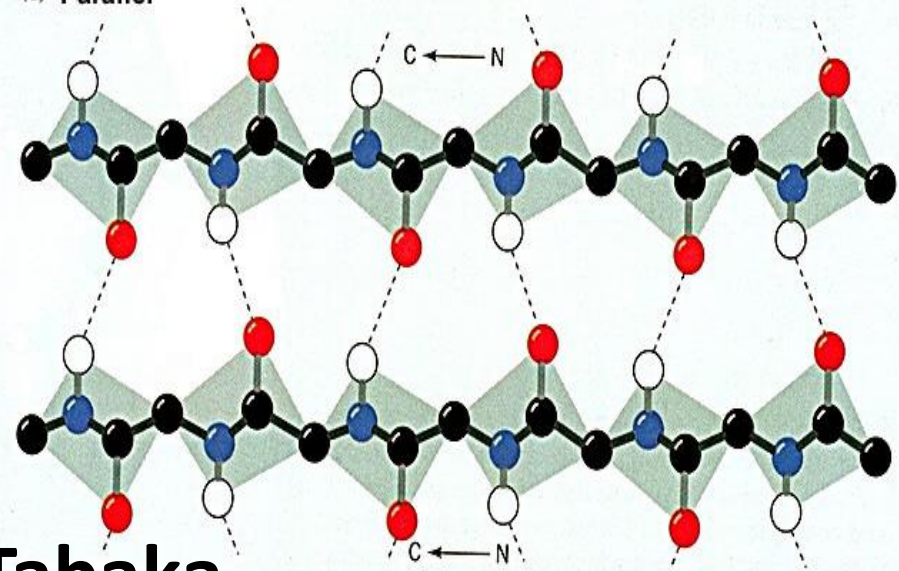
α -Heliks Yapısında Hidrojen Bağları



(a) Antiparallel



(b) Parallel



Beta-Kırmalı Tabaka

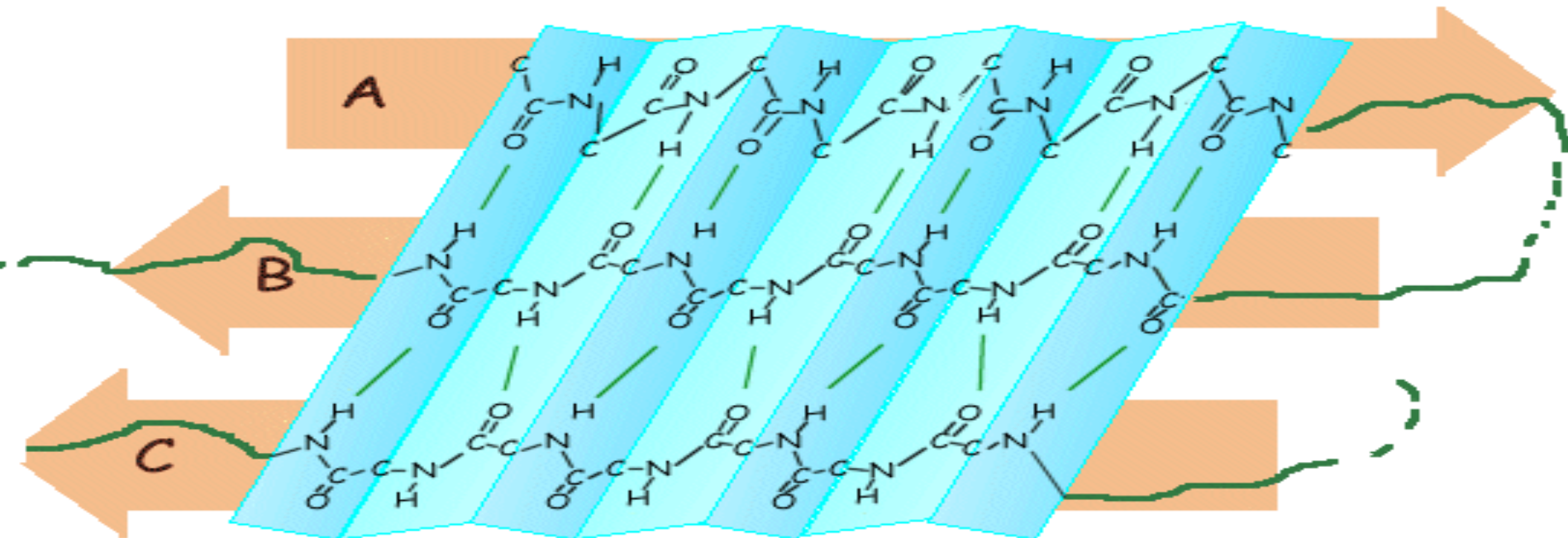


Diagram 1: Beta pleated sheet. The lateral groups (R) are not shown.

Tersiyer Yapı: Polipeptit zincirlerinin üç boyutlu yapıyı oluştur-

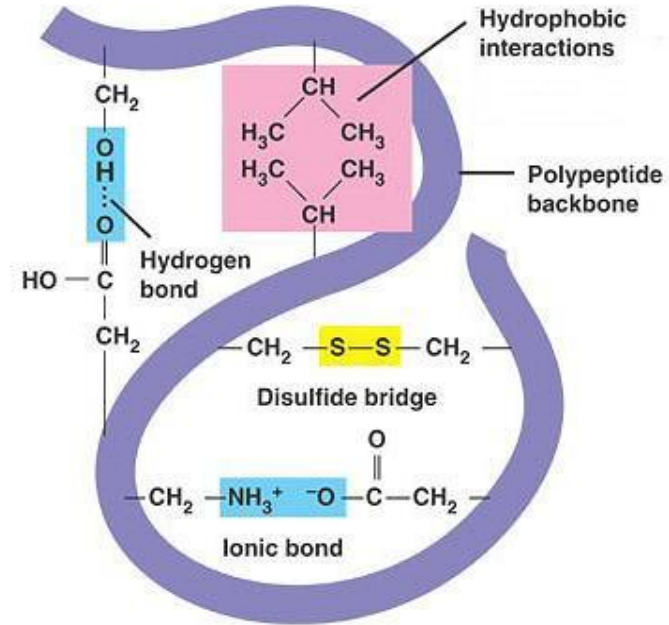
mak üzere birbirlerinin üzerine katlanmasıyla belirlenen yapıdır.

Bazı proteinlerde ancak tersiyer yapıda aktif olabilirler. Protein-

lerin tersiyer yapılarında bu yapıyı dayanıklı tutmaya yarayan

bağlar bulunmaktadır. Bu bağlar;

- Disülfid bağları
- Hidrojen bağları
- Van der Waals bağları
- İyonik bağlar
- Polar olmayan yan zincir etkileşimleri



Primary structure
amino acid sequence



Secondary structure
regular sub-structures



Quaternary structure
complex of protein molecules



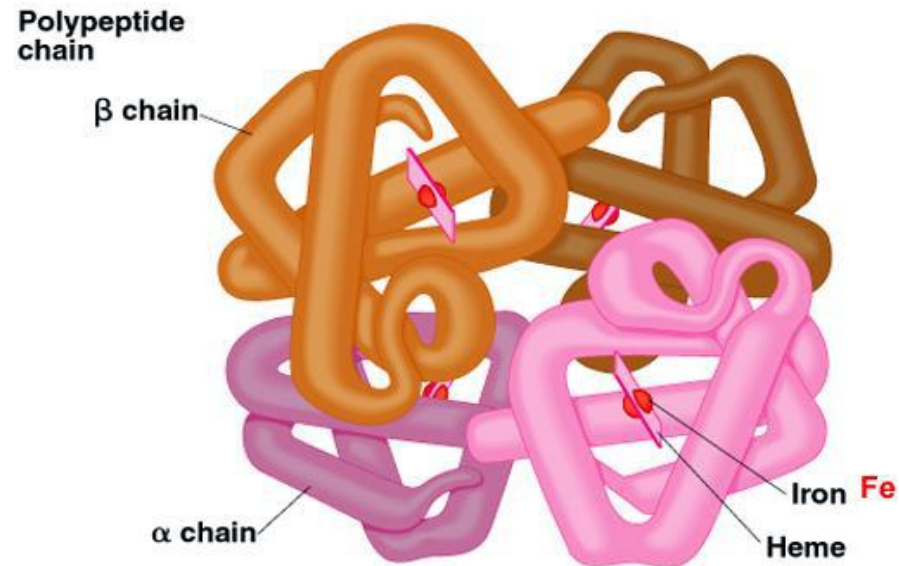
Tertiary structure
three-dimensional structure

Kuaterner Yapı: Bazı proteinler tersiyer yapı kazan-

dıktan sonra iki veya daha fazla polipeptit zinciri bir araya gelerek daha ileri yapısal bir organizasyon gösterirler. Bu ortak yapıda bulunan her polipeptit birimine alt ünite denir. Birçok protein bu ortak yapıyı kazandıktan sonra fonksiyonel hale gelir.

Örneğin;

Hemoglobin, 4 alt üniteden meydana gelir.



(b) Hemoglobin

Proteinin Denatürasyonu ve Renatürasyonu:

Proteinlerin aktif olduğu ve olmadığı durumlar vardır. Bütün proteinler biyolojik aktivitesini belirli pH ve ısı aralığında sürdürürler. Bu çalıştığı aralıkların dışına çıktıkları zaman aktiviteleri azalır veya inaktif hale dönüşürler. İşte proteinlerin aktivite gösterdikleri bu aralık dışında üç boyutlu yapılarının bozulup primer yapıya dönüşmelerine **denatürasyon** denir.

Aktif oldukları pH ve ısı aralığı tekrar sağlanırsa üç boyutlu yapısını geri kazanır. Buna da **renatürasyon** denir.

Daha ekstrem koşullar da denaturasyon uygulanacak olursa denaturasyon ya geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz olur.

Örneğin;

Yumurta akı proteinin koagülasyonu geri dönüşümsüz denaturasyondur. Fakat hücrelerde geri dönüşümsüz denaturasyon olmaz.

Et suyu ise geri dönüşümlü bir denaturasyona örnektir. Et suyu buzdolabında iken katı halde, ısıtılınca ise sıvı haldedir.

Proteinlerin İşlevleri

- **Biyolojik Katalizörler**: Enzimler protein yapısında dırlar ve biyolojik katalizörlerdir. Ancak enzimler aktive gösterebilmek için protein olmayan yan gruplara da (prostetik grup) ihtiyaç duyarlar.

Örneğin;

- ATP'yi parçalayan ATP_{aze}
- DNA polimeraz; DNA sentezi ve tamiri yapar
- Sitokrom C; e⁻ 'ları transfer eder

- **Taşıma ve Depolama:** Hücresel sistemlerde birçok küçük molekül ve iyonlar, özgül proteinler tarafından taşınırlar Örneğin;
- Hemoglobin kan hücrelerinde , miyoglobin ise kas hücrelerinde O₂ taşır.
- Fe, kan metabolizmasında transferin denilen proteinler ile taşınır ve karaciğerde ki başka bir protein olan ferridin ile kompleks yaparak depo edilir.
- **Kasılmada ki Görevi:** Kasılmalarda, kaslar kasılıp gevşemeden sorumludur. Bu hareketler, yapılarında bulunan aktin ve miyozin proteinleri ile sağlanır. Mikroskobik düzeyde ise mitozda ki kromozomların hareketleri veya sperm hücrelerinin flagellatlarının kasılıp gevşemesi ve uterusun kasılıp gevşemesinden sorumludur.

- **Koruyuculuk Görevi:** Organizmanın yaşamını tehdit eden mikroorganizmalara karşı ürettikleri özgül proteinler ile koruyuculuk görevi görür.

Örneğin;

- Antikor
- Kanın pıhtılaşması da protein yapısında olan fibrinojen ve trombin tarafından yürütülür.
- **Hormon Olarak Görevi:** Hücresel kontrol sistemlerinde hormonlar önemli görevler üstlenmiştir. Kan şekerini düzenleyen insülin hormonudur. Eksikliğinde diyabet(şeker hastalığı) görülür.

- **Toksin Yapısında ki Proteinler:** Birçok organizmanın salgıladığı toksin, protein yapıdadır.
Örneğin;
 - Besin zehirlenmesine sebep olan *Clostridium botulinum*
 - Yılan zehri fosfodiesteraz
- **Yapısal Proteinler:** Virüslerin kılıf proteinleri, hücre zarında ki ve hücre duvarında ki proteinler ile deride ki α -keratin protein yapıdadır.
- **Başkalaşım ve Büyümenin Denetimi Görevi:** Histon tipi proteinler, prokaryot hücrelerde ki poliaminler ve santral dogma olayında görev alan tüm proteinler.

Proteinlerin aminoasit dizilerinin saptanması dört yönden önemlidir;

- Biyolojik aktivitelerinin açıklanması
- Proteinlerin üç boyutlu yapılarının açıklanması
- Metabolik bozukluklarının açıklanması
- Evrimsel açıdan akrabalık derecesinin açıklanması

açılarından önemlidir.

Proteinlerin Çözünürlükleri

Proteinler yapılarını oluşturan aminoasitlerin çeşidine göre çözünürlükleri değişebilir. Aynı zamanda çözücü sistemlerin özelliklerine göre de değişebilir.

Proteinlerin çözünürlüklerine etki eden etmenler;

İyonik güç, Ph, sıcaklık, kompleks anyonlar, ağır metaller, katyonlar, çözücünün dielektrik katsayısıdır.

Proteinlerin sistemlerden izole edilmesi;

pH Deęiřimi ile (İzoelektrik) çöktürme;

Çözeltinin pH değerini proteinin izoelektrik noktasına yakın ya da eşit duruma getirmektir. Bu işleme izoelektrik çöktürme denir.

Proteinlerin izoelektrik noktası, protein üzerindeki net elektrik yükünün “0” olduğu noktadır. Bu alanda hareket etmezler ve en az çözünürler. Bu nedenle proteinlerin saflaştırılmasında en çok kullanılan yöntem “izoelektrik nokta çöktürmesi” dir.

İzoelektrik noktada,

- Protein yüzeyindeki - ve + yükler birbirlerine eşit olur
- Moleküller arasında elektrostatik çekim oluşur
- Benzer moleküller arasında artık elektrostatik itmeler oluşmayacaktır.

Bu da proteinlerin çökmesine neden olur.

İzoelektrik çöktürme genellikle istenen proteinden çok istenmeyen proteinleri çöktürmek için kullanılır, çünkü çöktürme sırasında denatürasyon ve aktivite kaybı meydana gelebilir. Bunun nedeni ise elektrostatik çekimler nedeni ile proteinin üç boyutlu yapısının bozulmasıdır.

Tuz ile Çöktürme

Proteinlerin su içerisindeki çözünürlükleri çok azdır. Ortama **bir miktar nötral tuz** ilave edildiğinde proteinleri yüzeyinde veya iç kısımlarında bulunan hidrofobik grupların su ile etkileşim derecesi artar, bu durumda proteinlerin çözünürlükleri de artar. Bu olaya **salting in** denir.

Protein çözeltisine **çok miktarda nötral tuz** ilave edildiğinde, proteinlerin genellikle iç kısımlarında yer alan hidrofobik gruplar etrafındaki su molekülleri tuz iyonları tarafından uzaklaştırılır, bu durumda hidrofobik grupların birbirleri ile olan etkileşimleri artar ve proteinler çökerler. Bu olaya ise **salting out** denir.

Çöktürme işleminde birçok avantajı nedeniyle en fazla kullanılan tuz **amonyum sülfattır**. Amonyum sülfat proteinleri denatürasyon, proteolizis ve bakteriyel kontaminasyona karşı kararlılığını korur. Ayrıca, amonyum sülfatın çözünürlüğü çok az değişir (0-30°C) ve büyük miktarlarda ucuz bir şekilde saf olarak elde edilebilir.

Organik Çözücüler ile çöktürme

Bir çok protein, aseton veya etanol gibi su ile karışabilen organik çözücülerin eklenmesi yoluyla çöktürülebilir. Bu yöntem bir saflaştırma prosesinde izoelektrik çöktürmeye alternatif olarak kullanılabilir.

Organik çözücünün ilavesi çözeltinin dielektrik sabitini ve dolayısıyla çözme kuvvetini düşürmektedir. Böylece Proteinin çözünürlüğü azaltılmış olur ve elektrostatik çekimler etkisi ile agregasyon meydana gelebilir.

Proteinin boyutu da çökme davranışını geliştirmektedir. Buna göre daha büyük proteinler diğer özellikleri aynı olan daha küçük proteinlere göre daha düşük organik çözücü konsantrasyonlarında çökeceklerdir.

Burada amaç protein-su etkileşimini ortadan kaldırarak protein-protein etkileşimini arttırmaktır.

Organik Polimerler ile Çöktürme

PEG(polietilen glikol) en çok kullanılan organik polimerdir. Çöktürme mekanizması organik çözücülerle çöktürme mekanizması ile benzerdir. Bununla birlikte daha düşük konsantrasyonlar gerektirmektedir, genellikle %20'den daha düşük. Daha yüksek konsantrasyonlar viskoz çözelti oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Bu da çökeltinin geri kazanılmasını zorlaştırmaktadır. Polimerin molekül ağırlığı 4000'den daha büyük olmalıdır.

Proteinleri sülfosalisilik asit ile çöktürme yöntemi

Proteinlerdeki serbest bazik grupların, sülfosalisilik asit ile suda çözünmeyen bileşik oluşturmaları prensibine dayanır.

Serumda bulunan proteinlerdeki serbest amino grupları gibi bazik gruplar, sülfosalisilik asit ile birleşirler ve protein-sülfosalisilik asit bileşiği oluşur. Oluşan deney tüpünde gözlenen bulanıklık, çöken protein-sülfosalisilik asit bileşiğinden ileri gelmektedir.

Proteinleri Triklorasetik Asit (TCA) ile Çöktürme Yöntemi

Proteinlerin, triklorasetik asit (TCA) anyonları ile bağlanarak suda çözünmeyen tuzlar oluşturmaları prensibine dayanır. Serumda bulunan proteinler, TCA'nın anyonları ile bağlanarak suda çözünmeyen tuzlar oluştururlar. Gözlenen bulanıklık, bu tuzların çökmesinden ileri gelmektedir.

Bu teknikler ve kimyasal bilgiler kullanılarak ayrıca protein çözeltilisinin ısısı, moleküler büyüklüğü gibi fiziksel ve kimyasal özellikler de kullanılarak sistemlerden izole edilebilirler.