

Hücrelerin Ölüm Odaları

Hücrelerdeki proteazom adı verilen yapılar sürekli olarak proteinleri parçalarlar. Bu işi abarttıkları ya da hiç yapmadıkları zaman bir takım hastalıklar ortaya çıkar.

Prof. Dr. Adil Denizli
ve Handan Yavuz
Hacettepe Üni. Kimya Böl. Biyokimya A.B.D.

Her günün her dakikasında, hücrelerimizde Indiana Jones filminden sahneler çevrilmekte. Bir saniyede, talihsiz bir protein sadece görevini yerine getirmek için çalışıyor. Sonraki anda, bu protein yok edilmek üzere etiketleniyor ve kendini hızla parçalara ayılabileceği karanlık bir tünelde buluyor. Indiana Jones'un aksine bu proteinin kaçacak hiçbir yeri yok. Ölüm odasının içinde, proteinler bir ortaçağ tutuklusunun gördüğü işkenceler gibi enzim cematının binlerce ölüm vuruşuna maruz kalırlar. Birkaç saniye sonra, kalıntılar daha basit enzimlerce saldınlıp çöğnenmek üzere tünelden çıkarlar.

Bu hücre içi dramın önemsiz olduğu düşünülebilir (muhtemelen talihsiz proteine göre öyle değil). Fakat birçok laboratuvarında çalışan bilimadamların, hücrelerde gerçekleşen tüm faaliyetlerin düzenlenmesinde, proteazom adı verilen bu moleküller mezbahaların çok önemli olduğunu belirlediler. Vücuttaki sıradan bir hücrede kabaca 30 bin proteazom vardır. Bunlar işlevlerini yitirdiklerinde çok yaşlanıp işlerini hızlı yapamadıkları ya da yok etmeyi gerçekleştiremeyecek kusurlar olduğu zaman hastalıklar ortaya çıkabilir. HIV gibi kendi amaçları için proteazomlarca protein yıkımını hızlandıracak virüsler bile gelişmiştir. Gerçekten de, kanser ve diğer ağır hastalıkların tedavisi için geliştirilen yeni jenerasyon ilaçların birkaç tanesinin proteazomlar ve proteinlerin proteazomlara gidiş yolları üzerinde etki göstermesi beklenmektedir. Bazı biyofarmasötik şirketleri şu an proteazom yolunun

inhibisyonu üzerinde çalışıyorlar; bu tür iki potansiyel ilaç insanları üzerinde denenmeye başlandı bile.

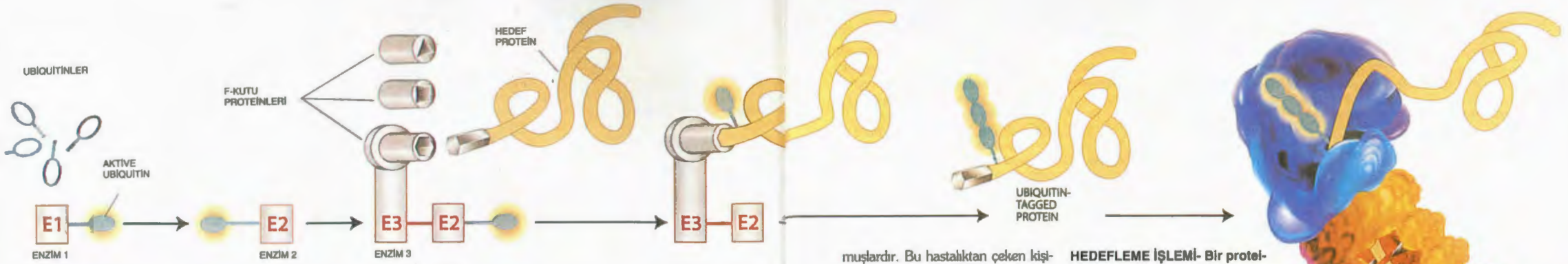
Dönüşüm Dürüst Oyundur

Proteinler hücrelerin yapıldığı hammaddelerdendir. Bazı proteinler, yaşamın kimyasal reaksiyonunu hızlandıran enzimler olarak görev alırlar. Hücrenin ürettiği proteinlerin türleri belirli bir anda aktif olan genlerine bağlıdır. Genler 20 temel protein alt biriminin (amino asitler) hangi kombinasyonlarla zincirler oluşturacağı belirler. Zincirler sıkı yumaklar, halkalar oluşturarak her biri yapısı ve kimyasınca belirlenen spesifik bir görevi yerine getirmek üzere proteinleri oluştururlar.

Proteinler artık gerekmediğinde ya da doğru katlanmadığında ne olur? Yıllar boyu bilimadamların protein yıkımının hücrede sindirici enzimlerle dolu lizozom torbacıklarında gerçekleştiğini düşündüler. Ancak 1970'lerin başlarında, bakteri ya da eritrositler gibi lizozom olmayan hücrelerin de anormal proteinleri hızla parçalayabildikleri gösterildi. Dahası, bu işlem diğer yıkıcı işlemlerin aksine enerji gerektirmekteydi.

Araştırmacılar, enerji gerektiren yıkım işlemlerinin **PROTEAZOM** proteini sindirilmek üzere karnına altı spesifik enzimle gönderir. Ortalama bir vücut hücresi istenmeyen proteinleri çeşitli boylarda parçacıklara ayıracak binlerce proteazoma sahiptir. Parçacıklar daha sonra diğer enzimlerce yıkılarak proteinlerin en basit yapı taşına, daha sonra diğer proteinlerin sentezinde kullanılacak olan, amino asitlere parçalar.





deney tüplerinde gerçekleştirilebileceğini gösterdiler. 1980'lerde bu olaydan enzimlerin sorumlu olduğu ve nihayet 1988'de proteinlerin, kendilerinin proteazom adını verdikleri büyük çoklu enzim komplekslerince yıkıma uğratıldığı bulundu.

Proteazomlar, çok sayıda proteaz (proteinleri parçalara ayıran enzimler) içerdikleri için bu şekilde isimlendirilmişlerdir. Ancak proteazomlar diğer proteazlardan 100 kat daha büyük ve karmaşıktır. Bu protein bir proteazomun paspasına başlığında, hemen parçacığın içine alınıp ve parçalanarak daha sonra diğer proteinlere dönüştürülecek olan amino asitlerine ayrılır. Çoğu protein, karaciğer ve sinir sistemindekiler gibi kendileri nadiren bölünen hücrelerde bile birkaç günde bir değişikliğe uğratılır. Farklı proteinler farklı hızlarda parçalanırlar; bazılarının 20 dakika kadar kısa iken bazılarının parçalanması günler ya da haftalar alabilir. Bu hızlar vücudumuz içersindeki koşullara bağlı olarak çok önemli değişiklikler gösterebilir.

İlk bakışta, hücrenin bu sürekli protein yıkımı israf gibi görülebilir, ancak çok sayıda önemli fonksiyonları vardır. Örneğin, önemli bir enzimin ya da düzenleyici bir proteinin yıkımı, hücrenin biyokimyasal bir reaksiyonu durdurmak ya da yavaşlatmak için kullandığı genel bir yoldur. Diğer taraftan, birçok hücresel işlem de kritik öneme sahip bir inhibitör proteinin parçalanması ile başlatılır. Düzenleyici proteinlerin bu hızlı eli-

minasyonu, hücre bölünmesini yürüten çevrimlerin basamakları arasında dönüştürmelerin zamanlamasında çok büyük öneme sahiptir.

Protein yıkımı tüm vücut metabolizmasının düzenlenmesinde de rol alır. Beslenme yetersizliği ya da hastalık gibi hallerde kaslarımızdaki proteazom yolu daha aktif çalışarak, yakılarak enerji vermek üzere glukozu dönüştürülecek amino asitler sağlarlar. Bu aşırı protein yıkımı, açlık çekenlerde ve ilerlemiş kanserlerde, AIDS ve tedavi edilmemiş şeker hastalarında görülen kaslarda güçsüzlük ve zayıflamaya yol açar.

Bağışıklık sistemimiz, sürekli, bir virüs ile enfekte olmuş ya da kanserli hücre arayışı içerisinde olmasının yanısıra ayrıca proteazomların bu gibi tehlikeli hücreleri belirleyip onları işaretlemesine de bağlıdır. Bu işlemde, bağışıklık sistemi tıpkı kiracının çöplerini izleyerek istenmeyen bir şeyler yapıp yapmadıklarını kontrol eden bir ev sahibi gibi davranır. Hücre proteinleri genellikle amino asitlere parçalanmasına rağmen, proteazomlardan sekiz-on aminoasitlik kısımlar halinde salınan çok az bir kısmı yakalanarak hücrenin yüzeyinde gösterilir. Bağışıklık sistemi bunların normal olup olmadığını tespit eder. Gerçekten de, hastalık durumları ve dalak ve lenf düğümlü gibi bazı dokularda, immünoproteazom denilen bazı özelleşmiş proteazom türleri bu gözetim mekanizmasının etkinliğini artırmak üzere üretilmişlerdir.

Proteazomlarca protein yıkımı aynı zamanda hatalı potansiyel olarak toksik proteinlerin birikimini önleyen bir çeşit hücre kalite kontrol sistemi olarak da görev alır. Bakteri ve memeli hücreleri mutasyonlar, sentez hataları ya da hasarlar sonucu ortaya çıkabilen anormal konformasyonlara sahip proteinleri seçimli olarak parçalarlar.

Anormal proteinlerin yıkımı çok sayıda genetik insan hastalığında oldukça önemlidir. Bazı kalıtsal anemilerde, mutant gen anormal hemoglobinin moleküllerinin üretimine neden olur. Bu moleküller doğru bir şekilde katlanamazlar ve sentezlerinin hemen ardından proteazomlarca parçalanırlar. Benzer şekilde, cistis fibrosis hastalığı, hücrenin membranı boyunca klorun taşınmasını sağlayan gözenekli proteini kodlayan gene bir mutasyon sonucu ortaya çıkar. Bu mutant klor taşıyıcısı halifçe biçimsiz olduğundan, proteazomlar bunları hücre membranına ulaşmadan parçalarlar. Cystic fibrosis hastalığının akciğerlerinde ve diğer organlarında ortaya çıkan yapışkan mukozanın nedeni normal klor taşıyıcısının eksikliğidir. Yine anormal proteinlerin proteazomlarda yıkımının gerçekleşmemesi diğer bazı hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilir. Örneğin, bilimadamlar, Parkinson, Huntington ve Alzheimer hastalığı gibi bazı nörodegeneratif hastalıklarda bazı sinir hücrelerindeki proteazomlarda yanlış katlanmış protein kümelerinin birliğini bul-

muşlardır. Bu hastalıktan çeken kişilerin nöronlarının anormal proteinleri neden yıkamadıkları, süregelen araştırmaların da konusunu oluşturmaktadır.

Devin Göbeğinde

Proteinlerle karşılaştırıldığında, proteazomlar devasa yapıdadırlar. Ortalama bir proteinin molekül ağırlığı 40 bin - 80 bin dalton arasında değişirken gelişmiş organizmaların proteazomları iki milyon dalton ağırlığındadır. Proteazomların molekül yapısının belirlenmesi için gerçekleştirilen X-ışınları kırınımı ve elektron spektroskopisi çalışmalarından, her birinin tünelsi oyuk bir kısım ve bunun bir ya da her iki tarafında şapka gibi kapanmış daha küçük düzenleyici bir parçacıkta bulunduğu belirlenmiştir. Oyuk kısım, proteazomun sindirici yolunu oluşturan merkezindeki kanalı çevreleyen, her biri yedi alt birimden oluşan dört halka yığılından oluşmuştur. Dıştaki iki halka yolunu kaybetmiş proteinlerin yanlışlıkla yıkım odasına düşmesini engelleyen bir kapı rolü oynar.

Benzer şekilde, düzenleyici şapka kısımların oyuk kısma giden kapının çok seçici bekçileri olduğu düşünülmektedir. Bu düzenleyici kısımlar yıkılmak üzere işaretlenmiş proteinleri tanıyıp bağlar. Daha sonra bunların katlanmış yapısını açarak bunları değişik boyutlarda parçalanacakları oyuk kısma gönderir.

Bazı araştırma grupları diğer hücre enzimleri etkilemeksizin, proteazomları seçimli olarak inhibe eden, istenmeyen etkilere neden olması muhtemel bileşiklerini sentezle-

HEDEFLEME İŞLEMİ- Bir proteinin etiketlenerek proteazoma gönderilmesi için üç enzimin birlikte çalışarak proteinin ubiquitin molekül zinciriyle işaretlenmesi gereklidir. İlk enzim (E1) ubiquitin molekülüne bağlanıp onu aktive eder ve onu üçüncü enzime (E2) transfer edecek olan ikinci enzimin (E2) ellerine bırakır. E3 enzimleri F-kutu proteinleri denilen hedef proteinlere tam uygun prizlere sahiptir. Bir E3 bir proteine bağlandığında, E2 molekülüne taşınan ubiquitin molekülü koparak proteine taşınır. Bu döngü protein ubiquitin zincirleriyle işaretlenene dek sürer. Bu zincir proteazoma bağlanır, proteazomun girişindeki enzimler proteini açarak diğer enzimlerin onu parçalayacağı proteazom odalarına gönderir.

mevi ya da izole etmeyi başarmışlardır. Bu inhibitörler, proteazom yolundaki karmaşıklığı çözmek için bilimadamlarına önemli ipuçları sağlamaktadır. Yüksek dozlarda, bu inhibitörlerin hücreyi öldürmesi oldukça muhtemeldir. Proteazomların oynadığı kritik yol göz önüne alındığında bu durum sürpriz de değildir. Fakat ilginç bir şekilde, deney tüpündeki ve hayvanlardaki kanser hücreleri bu etkiye normal hücrelerden daha fazla duyarlıdır. Bu inhibitörlerin multiple myeloma dahil bazı kanser türlerinin tedavisi için insanlarda kullanımının güvenliği üzerine yapılan çalışmalar halen devam etmektedir.

Ölüm Öpücüğü

Proteazom sadece düzenli olarak

yıkılacak proteinleri seçmez. Onun yerine, öldürülecek proteinleri gösteren hücredir. Bilimadamlar yıkılacak proteinlerin çok büyük bir kısmının ilk önce ubiquitin denilen başka bir proteince etiketlendiğini bulmuşlardır. Ubiquitin, daha uzun zincirli büyük proteinlere tutunabilen, sadece 76 amino asitlik çok küçük bir proteindir. Bu poli-ubiquitin kuyrukları tıpkı bir posta kodu gibi davranarak yıkılacak proteinin proteazomlara gönderilmesini hızlandırır.

Proteinli ölüm zamanını kontrol eden aslında proteazomlarda yıkımı değil, enerji gerektiren, ubiquitinasyon denilen, proteine ubiquitin takılma basamağıdır. Ubiquitinasyon işlemi çeşitli basamaklardan oluşur

ve E1 E2 ve E3 olarak isimlendirilen üç enzim rol alır. E1 enzimi ubiquitini aktive ederek onu E2'ye bağlar. Üçüncü enzim, E3, aktive olmuş ubiquitininin E2'den proteine transferini gerçekleştirir. Bu işlem uzun bir ubiquitinler zinciri proteini

sarana dek devam eder. Bu zincir daha sonra proteazomlarca tanınarak protein içeriye alınır. Bir proteinin ubiquitinasyon için nasıl seçildiğinin sınırlı E3 proteinlerinin yatmaktadır. Son zamanlarda araştırmacılar, diğer proteinlerin amino

asit zincirlerini tanıyarak onları ubiquitinasyon için işaretleyen yüzlerce farklı E3 proteini olduğunu belirlemiştir. Değişen fizyolojik koşullara cevap olarak, enfeksiyon ya da besin eksikliği gibi, hücreler fosfat grupları ekleyerek proteinleri modi-

Hücre Bölünmesi Neden Protein Ölümüne Bağlıdır

Protein parçalanmasının hücrenin yaşaması ve gelişmesi için neden bu kadar önemli olduğuna gösterilecek en iyi örneklerden birisi *Saccharomyces cerevisiae*, ekmeke mayası ile yapılan bir çalışmadır. Maya hücreleri insan hücresi gibi bölünmeden önce, ilk önce DNA'sını kopyalamak zorundadır. DNA sentezinin başlayabilmesi için hücrenin, bir cyclin ve bir de Cdk altbiriminden oluşan S-faz Cdk'leri denilen özel bir protein sınıfını aktive etmesi gereklidir.

S-faz Cdk'leri normalde bir önceki hücre bölünmesi sırasında yapılan inhibitör proteinlere (CKI) bağlı oldukları için aktif değildirler. S-faz Cdk'leri aktive edilebilmek için hücrenin inhibitör proteinini proteazomlara göndererek ortadan kaldırması gereklidir.

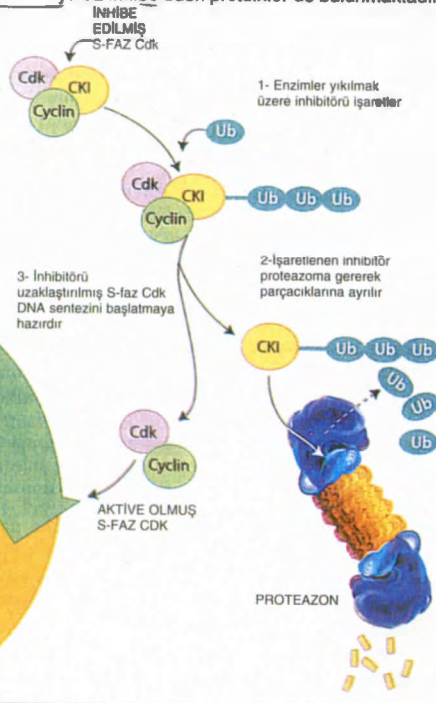
Inhibitör proteinlerin proteazomca yıkımı için hedeflenmesi ubiquitin (Ub) adı verilen ölüm etiketi ile işaretlenmesi gereklidir. Bu işaretleme işlemi çok sıkı bir şekilde düzenlenmiştir, aksi halde hücre bölünmesi kontrol edilemez ve bazı kanser türleri ortaya çıkar.

Hücre ubiquitinasyon işlemini, dolayısıyla hücre bölünmesini düzenleyen proteinlerin yıkımını SCF adı verilen moleküller kompleksini kullanarak yönetir. Bu kompleks, E3'ler adı verilen bir molekül grubuna aittir ve değişebilen uçları sadece belirli

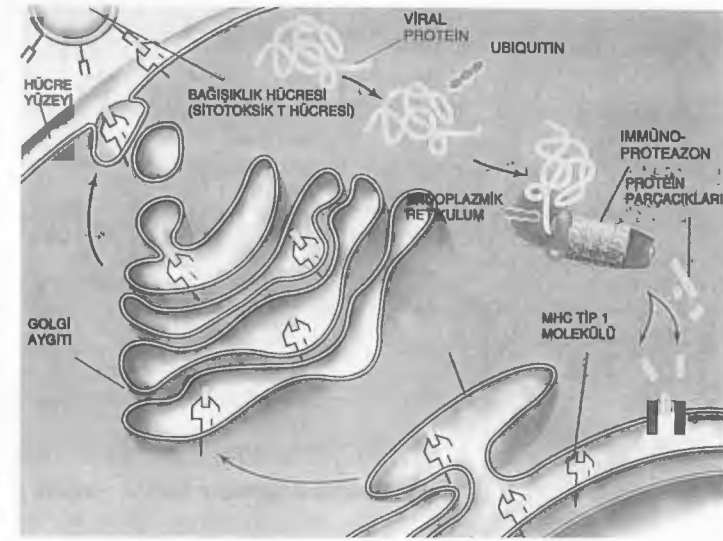
şekillerdeki proteinlerin takılıp bağlanabileceği bir çeşit priz gibi davranır. Bilimadamları toprak solucanı *Caenorhabditis elegans*'da 217'den daha fazla, farklı iş başlığı tanımlamışlardır (F-kutu proteinleri). İnsanlarda şimdiye kadar birkaç düzine tanımlanmıştır ve bu sayı giderek artmaktadır.

SCF kompleksi özel iş başlığı setlerini proteazomlarca parçalanması gereken proteinleri tanımlama kullanır. Gerçekten de, hücreler yıkılacak olan proteinlerince fosfat grupları takarak onları SCF'nin F-kutu proteinlerine bağlanmasını sağlar. SCF ayrıca bu bozuk proteinlerin enzimlerle birlikte öldürülmek üzere ubiquitin ile işaretlenmesini sağlar.

SCF komplekslerinin çeşitliliği hücrenin herhangi bir anda hangi tür proteinlerin ve her birinden ne kadarının kendisinde mevcut olduğunu kesin olarak kontrol etmesini sağlar. SCF komplekslerince düzenlenen proteinler arasında hücre bölünme döngüsünü başlatan ya da inhibe eden proteinler de bulunmaktadır.



İMMÜN SİSTEM Immünoproteazomlar denilen sağlıklı hücreleri kanserli olanlardan ya da virüs ile enfekte olmuş hücreleri ayırt eden özelleşmiş proteazomlara bağlıdır. Şekilde gösterilen örnekte, viral bir protein immünoproteazomca parçalanmak üzere ubiquitin ile etiketlenmiştir. Viral proteinin sekiz-on amino asit uzunluğu arasında bazı kısımları daha sonra endoplazmik retikulumu geçer, burada yeni yapılan major histokompatibilite kompleksi (MHC) Tip 1 adı verilen çatalı proteinlere yüklenirler. MHC Tip 1 proteinleri Golgi kompleksinden hücre yüzeyine doğru taşınırken, viral proteinin parçasını da beraberinde taşır. Sitotoksik T hücreleri denilen immün hücreler, hücre yüzeyindeki MHC Tip 1 proteinlerinde takılı olan yabancı viral protein parçasını tanırlar ve enfekte olmuş hücreyi öldürürler.



fiye edebilir. Bu tür bir fosforilasyon proteinin aktivitesini ya da E3'lere bağlanabileceğini değiştirebilir. Katlanamayan ya da hasara uğramış olan proteinler de E3'lere tanınır. Birçok anahtar hücresel işlem, proteinin kararlılığına bağlıdır ve bu kararlılığın nasıl kontrol edildiğinin bulunması da biyolojinin birçok sırrının anahtarıdır.

E3 proteinleri, çok önemli proteinlerin kararlılığını kontrol ederek organ gelişmesi, immün tepki, hücre bölünmesi ve hücre-hücre iletişimi gibi birçok hücresel işlemi düzenler. Yirmidört saatlik ritim ve bitkilerde çiçeklenme bile E3 enzimlerince yönlendirilir. Daha da fazlası, bazı E3'ler onkogen ya da tümör baskılayıcı olarak tanımlanmıştır.

Bunu gösteren bir durum, böbrek tümörlerinde mutasyona uğramış bir E3 olan Von Hippel Lindau (VHL) tümör baskılayıcıdır. VHL'lerin görevi dokularda kan daman gelişimini kısıtlayarak hücre büyümesini geciktirmektir; bu protein mutasyona uğradığında, yeni oluşan tümörler zengin bir kan kaynağı sağlayarak hızla büyürler. Bilimadamları ayrıca Parkinson hastalığının kalıtsal bir türünün, E3 enziminin genindeki mutasyon sonucu, proteinlerin bazı

beyin hücrelerinde birikerek onları öldürmesi nedeniyle olduğunu bulmuşlardır.

Hücresel işlemleri saptırmakla meşhur olan virüsler, ubiquitinasyon işlemini ve protein yıkımını kendileri için kullanarak gelişirler. Genital yaralara ya da rahim ya da anal kanserlerine neden olan insan papilloma virüsleri (HPV'ler) bu duruma örnektir. Kanser gelişmesine dönüşüm genellikle, vücudun tümör baskılayıcı proteinlerinden biri olan, savunma proteini p53 tarafından bloke edilir. HPV'ler bu hücresel savunma sistemini engeller, aynı anda hem p53'e hem de E3 enzimine bağlanan bir protein yaparlar. Bu bağlanma p53'ün ubiquitinasyonuna neden olarak onu proteazomların enzimatik bıçaklarına yollar. Savunmasız kalan hücreler şimdi kanserli olmaya daha yakındır.

HIV benzer bir yolla, virüslerin hücreyi enfekte etmesi için gerekli olan fakat daha sonradan daha fazla virüsün üremesini engelleyen hücre yüzeyi proteini CD4'ü yıkar. CD4, HIV için immün sistemin T hücrelerine giriş noktasıdır; virüs yüzeyindeki dışarı çıkıntı oluşturan gp160 proteinine bağlanır. Ancak, yeni enfekte olmuş hücrelerde HIV üre-

meye başladığında, CD4 problemi ortaya çıkarabilir: yeni yapılmış gp160 proteinlerine yapışır, diğer viral proteinlerin yeni virüsler için bir araya gelmesini engeller. Bu engelden kaçmak için HIV Vpu adı verilen CD4'ü hızla maziye gönderen bir protein geliştirmiştir. Vpu hem CD4'e, hem de E3 enziminin içeren komplekse bağlanarak CD4'ün ubiquitinasyonuna neden olur ve yıkılmak üzere proteazomlara gönderir.

E3'lerin hastalıklardaki rolü üzerine yeni keşifler hızla ortaya çıkıyor ve bu enzimlerin gelecekte ilaç geliştirilmesi için hedef olacağı açık. Her bir E3 az sayıda proteinin yıkımından sorumlu olduğu için, E3'ler için spesifik inhibitörler, en az yan etkiye sahip çok seçici ilaçlar olmak zorunda. Geniş E3 enzim ailesinin tanımlanması, ilaç gelişimi için yeni yollar açmış durumda. Bunlar, çeşitli düzenleyici basamakların ve insan biyolojisinin anlaşılması için heyecan verici gelişmeler. Proteazomlar ve ubiquitinasyon seçme makinesi hakkında ne kadar çok şey öğrenilirse hayatın ne kadının protein ölümleriyle bağlantılı olduğu o kadar iyi anlaşılacaktır. ●