



Protein Tasnifi ve Taşınması

- Endoplazmik Retikulum
- Golgi Aygıtı
- Lizozomlar

Doç. Dr. Banu MANSUROĞLU

GİRİŞ

- Ökaryotik hücrelerde bulunan çeşitli organeller farklı hücresel işlevlerin sürdürüldüğü özel bölmelerin oluşumunu sağlar. Sitoplazmanın işlevsel olarak bölünmesi, büyük hücre boyutlarına rağmen verimli çalışmasına olanak sağlar.
- Ökaryotlardaki bu karmaşık organizasyon göz önüne alındığında proteinlerin sınıflandırılması ve taşınması oldukça önemlidir.
- Sınıflandırmanın ilk basamağı protein sentezi sırasında gerçekleşir. ER, golgi, lizozomlar ve plazma zarına hedeflenen veya salgılanacak olan pek çok protein ER zarına bağlı ribozomlarda sentezlenir.
- Sentezlenen polipeptid zincirler proteinin katlanması ve işlenmesi için ER içine transfer edilir ve buradan veziküller aracılığı ile golgiye taşınıp işlenerek endozomlara, lizozomlara, hücre zarına taşınmak veya hücreden salgılanmak üzere sınıflandırılırlar.
- Proteinin işlenmesi ve taşınmasında rol almaları nedeni ile ER, golgi, endozom ve lizozomlar diğer sitoplazmik organellerden ayrılmaktadır.

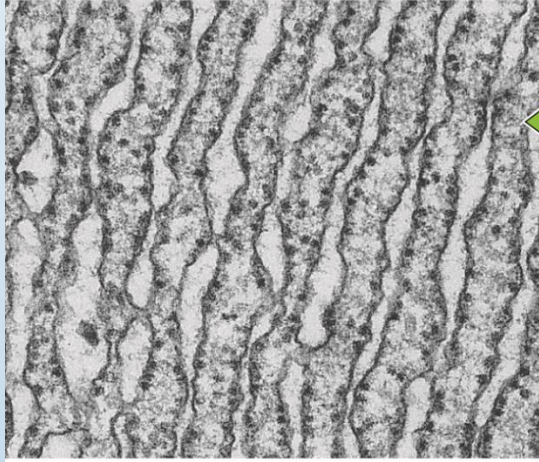
ENDOPLAZMİK RETİKULUM

ER, nükleer zardan sitoplazma içine uzanan, zar ile çevrili boru ve keselerden oluşmuş bir ağ yapısıdır. Kesintisiz bir zar yapısıyla çevrili olup çoğu ökaryotik hücrede en büyük organeldir (hücre hacminin %10'u).

ER'de farklı işlevlere sahip iki kesintisiz zar alanı vardır.

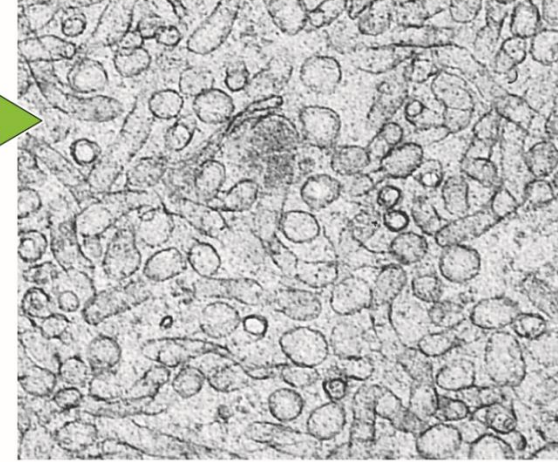
- ❖ Dış yüzeyi ribozomlarla kaplı **granüllü ER** protein işlenmesinde rol oynarken,
- ❖ **Granülsüz ER** ribozomlarla ilişkisi olmayıp lipit metabolizmasında rol oynayan bir yapıdır.

(A) Granüllü endoplazmik retikulum



Sıçan karaciğer hücresinde
granüllü ER

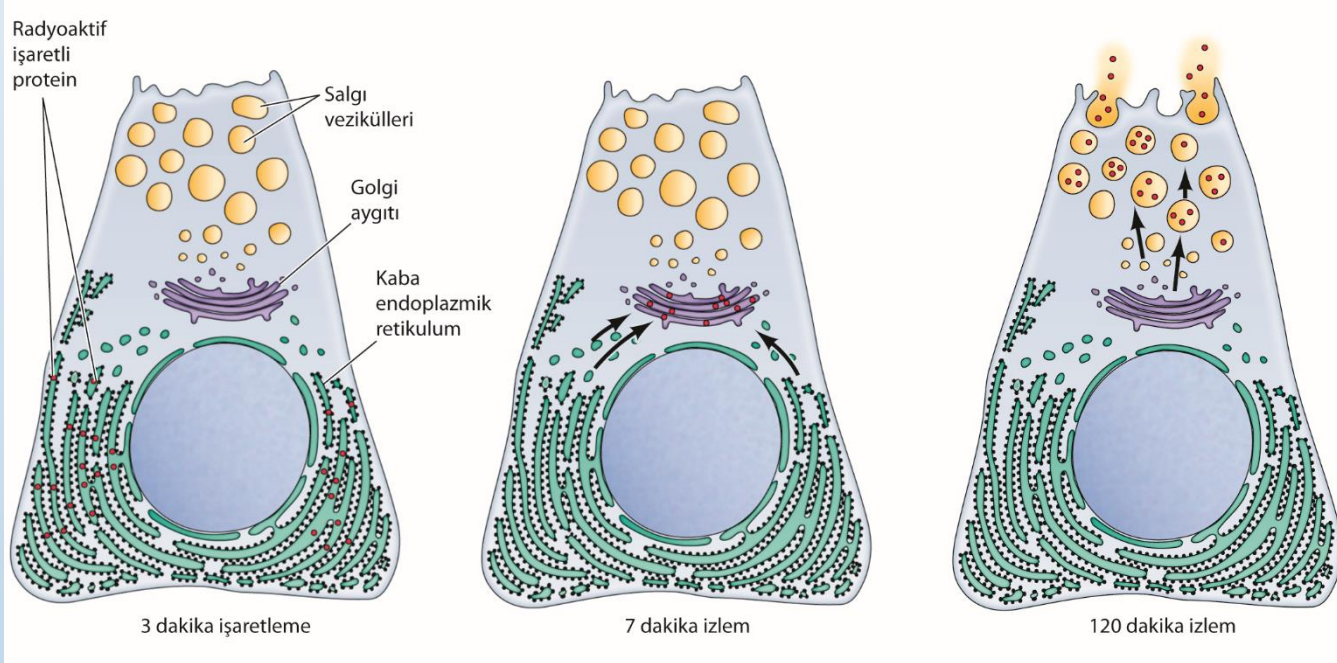
(B) Granülsüz endoplazmik retikulum



Leyding hücrelerinde
granülsüz ER

ER'nin protein işlenmesindeki rolü ilk olarak 1960'larda George Palade ve ark. tarafından gösterilmiştir.

Palade ve ark. ince bağırsağa sindirim enzimleri salgılayan pankreasın özgülleşmiş hücrelerinde yeni sentezlenen proteinleri 'iz sürme-pulse chase-' olarak bilinen bir yöntemle radyoaktif aa kullanarak işaretlemiş, salgılanan proteinlerin hücre içinde izledikleri yolu incelemişlerdir.



❖ İşaretli proteinlerin hücre içi yerleşimleri oto radyografi ve elektron mikroskobu ile gösterilerek protein salgılanmasında rol oynayan hücresel bölgeler ortaya çıkarılmış, yeni sentezlenen proteinler **granüllü ER**'de saptanmıştır.

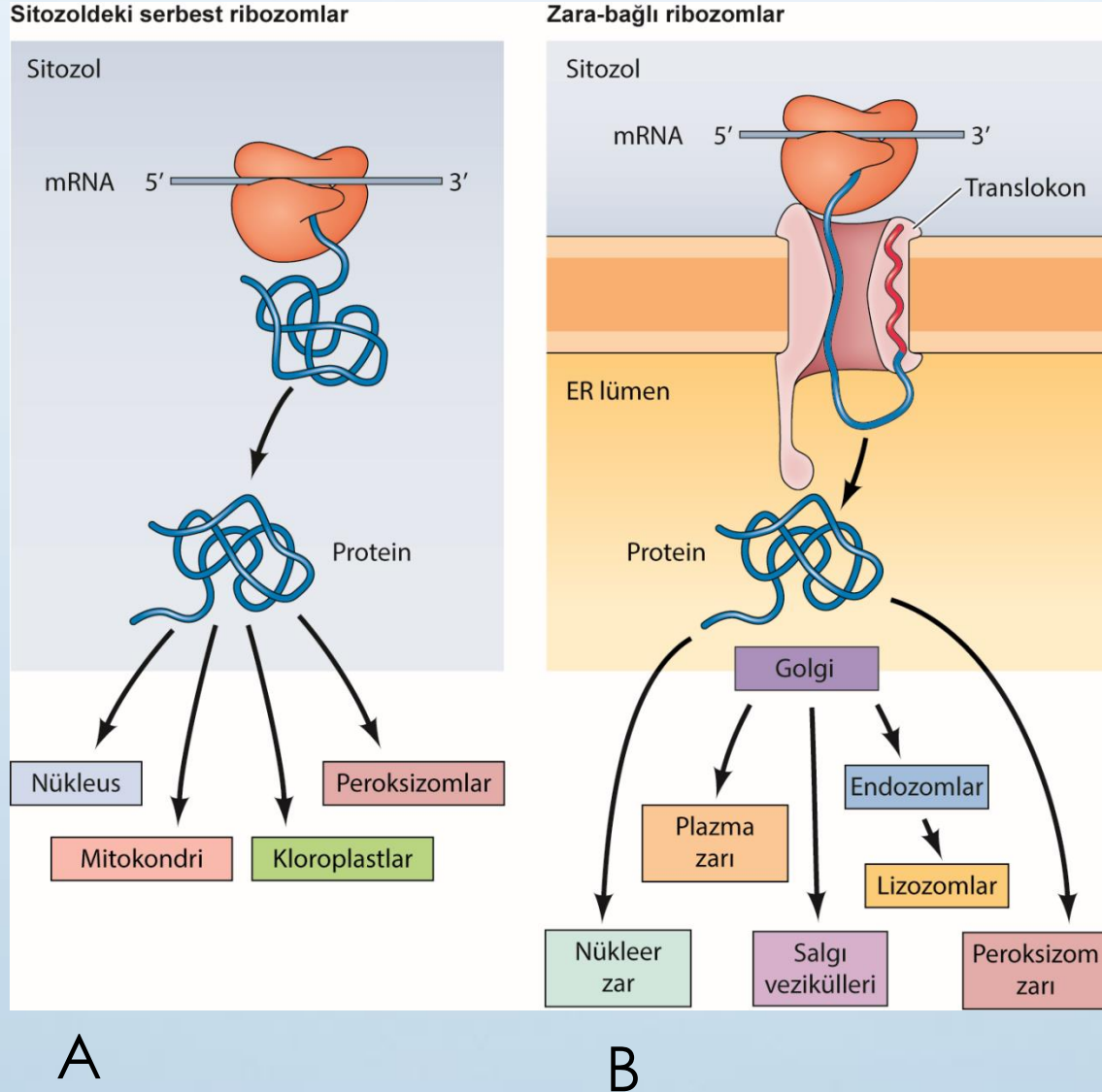
❖ Hücreler daha sonra radyoaktif olmayan aa içeren ortamda bekletildiğinde işaretli olanlar önce **golgi'ye** geçmiş ardından zar kaynaşması yolu ile içeriklerini hücre zarı dışına taşıyan **salgı vezikülleri** aracılığı ile golgiden zar yüzeyine taşınmıştır.

Deney sonucunda salgılanan proteinlerin izledikleri yol ;

ER →Golgi →Salgı vezikülleri →Hücre dışı şeklinde tanımlanmış oldu.

*Daha sonraki çalışmalar bu yolağın sadece proteinler ile sınırlı olmadığını göstermiştir. Örneğin ER hücre içi kalsiyum ana depolanma yeri olması nedeniyle sinyal iletiminde de anahtar rol oynamaktadır. Uygun uyarı sonucu ER'den serbestleşen Ca sitozolik proteinlerin aktivitelerini değiştirerek kas kasılmasında önemli rol oynar.

Proteinlerin ER'ye girmeleri ökaryotik hücrelerde protein taşınmasında önemli bir ayrışım noktasıdır.



ER'ye hedeflenme ve taşınma proteinler henüz translasyonda iken başlar. Serbest ribozomlarda sentezlenen proteinler ya sitozolde kalır ya da nükleus, mitokondri, kloroplast ve peroksizomlara taşınır (A).

Buna karşın ER membranına bağlı ribozomlarda sentezlenen proteinler daha translasyon sürerken ER içine geçer ve translokasyon sırasında bir sinyal dizisi içerirler (Şekil B kırmızı bölge). Bu aşamadan sonra proteinler ya ER'de tutunur ya da Golgi aparatına, oradan da endozom, lizozom, plazma membranı veya salgı vezikülleri aracılığıyla hücre dışına taşınırlar (B).

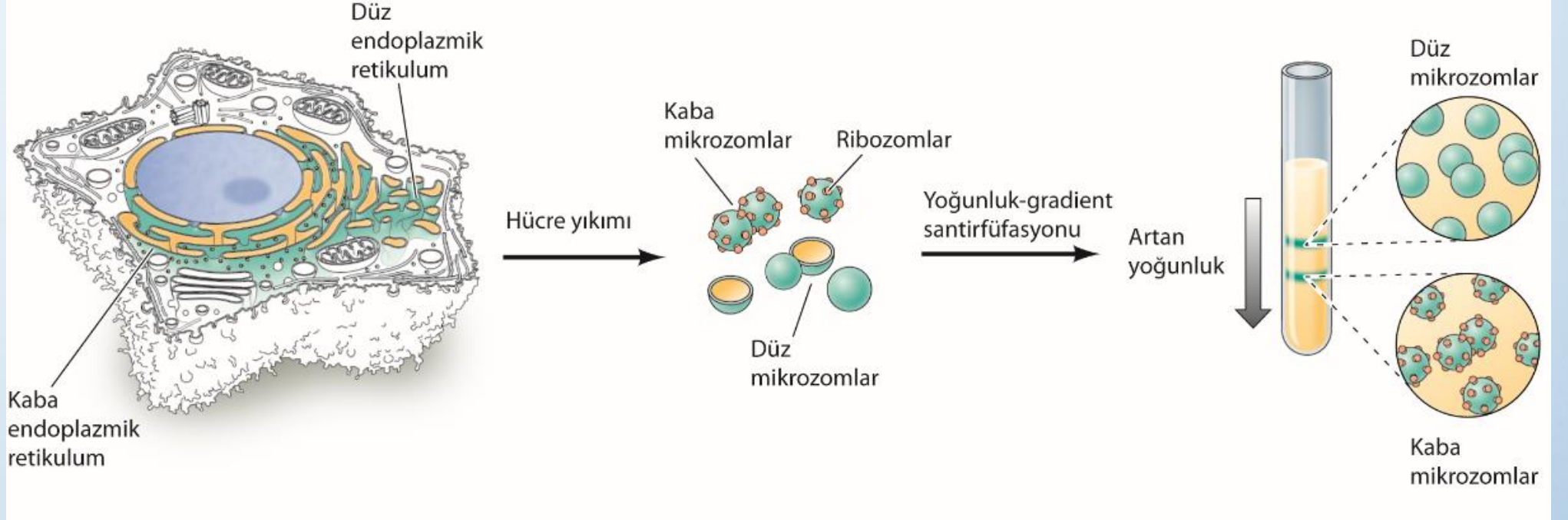
Proteinlerin ER'ye Hedeflenmesi

Proteinler, ER'ye bağılı ribozomlar üzerinde sentezi sürerken ER içine taşınabildikleri gibi (translasyon sırasında yer değıştirme), sitozoldeki serbest ribozomlar üzerinde sentez tamamlandıktan sonra da ER içine alınabilirler.

Translasyon sırasında aktarım yolunun ilk basamağı, **ribozom-mRNA** kompleksinin **ER'ye tutunması**dır. Ribozomlar kendilerinde bulunan bir özellikten dolayı değıil, sentezlenen polipeptid zincirindeki dizilerle ER'ye hedeflenirler.

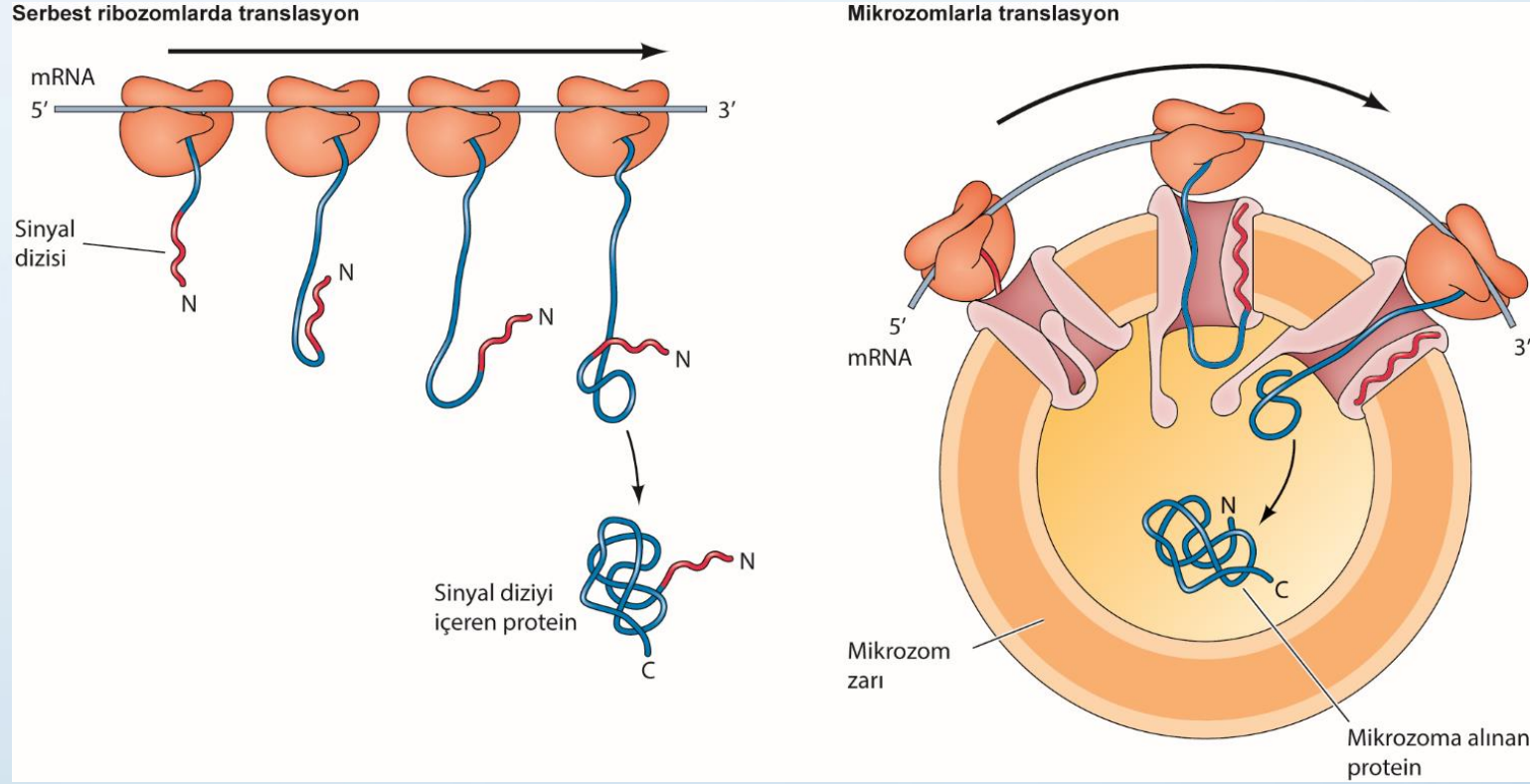
Salgılanacak proteinlerin sentezlendiğı **ribozomlar**, uzayan polipeptid zincirinin amino ucunda bulunan bir **sinyal dizisi aracılığı ile ER'ye** hedeflenirler. Bu sinyal dizileri hidrofobik aminoasitlerden oluşan kısa diziler olup, ER lümenine aktarım sırasında polipeptid zincirden kesilerek uzaklaştırılırlar.

Proteinlerin hedeflenmesinde sinyal dizilerinin oynadığı rol, salgılanan proteinlerin ER içerisine alımı üzerine yapılan deneylerle gösterilmiştir.



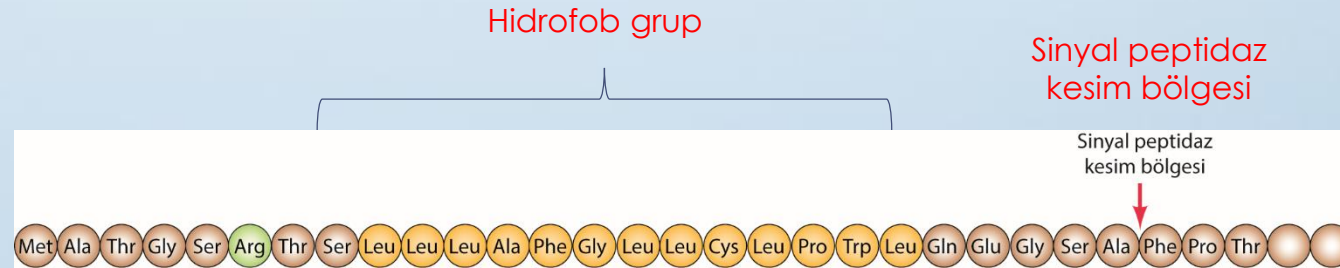
Bu deneyde, hücre özütünden yoğunluk-gradient santrifügasyonu ile ayrıştırılan granüllü ER'nin *in vitro* preparasyonları kullanılmıştır. Hücreler parçalandığında, ER **mikrozom** adı verilen küçük veziküllere ayrılır. Ribozomlarla kaplı olan bu veziküller granülsüz ER ve diğer yapılardan ayrılır. Ribozomlarda bulunan RNA'lar veziküllerin yoğunluğunu artırır ve bu yoğunluk farkı granüllü ER'nin santrifügasyonla ayrışmasını sağlar.

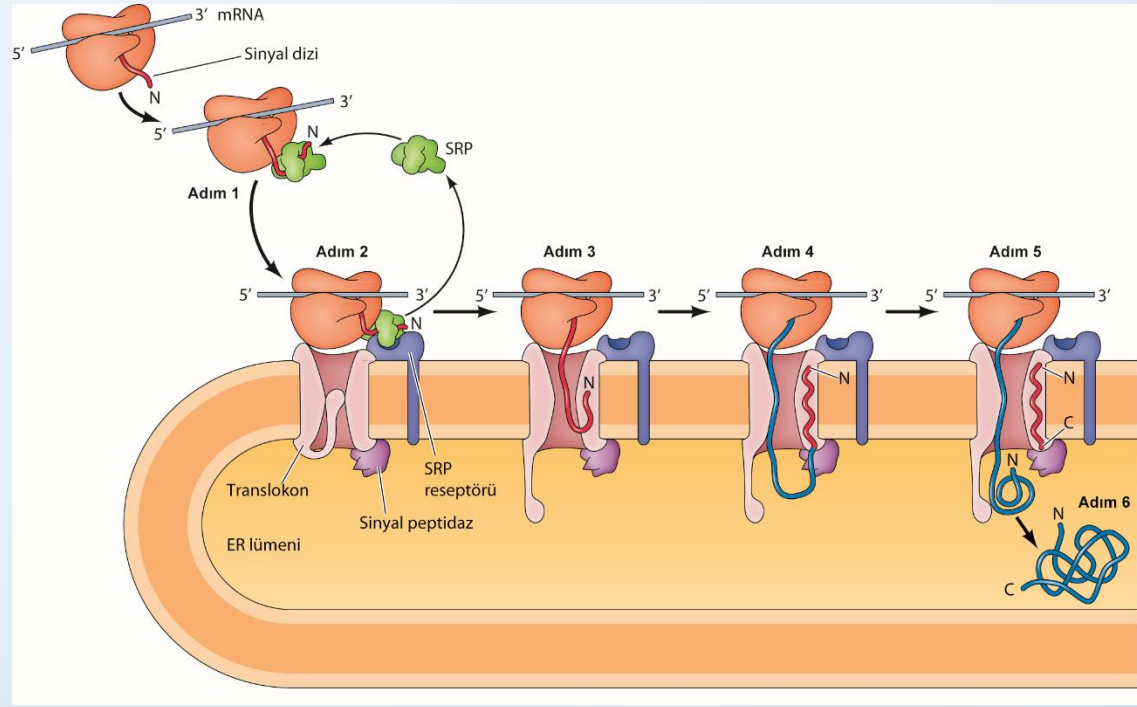
Ribozomlardaki ER'ye tutunma sinyalinin, sentezlenen polipeptid zincirinin amino ucundaki bir aminoasit dizisi olduğu ileri sür÷lmüş, bu hipotez IG gibi salgılanan proteinleri kodlayan mRNA'ların *in vitro* translasyonu ile desteklenmiştir.



Salgı proteinlerinin mikrozom yapısına katılımı: salgı proteinleri, amino(N) terminallerinde bulunan ve translasyon sürerken polipeptid zincirinin ER'ye geçişi sırasında kırpılarak uzaklaştırılan, bir sinyal dizisi vastasıyla ER'ye hedefşenir. Bu olgu, serbest ribozomlarda sentezlenen salgı proteinlerinin sinyal dizilerini hala barındıkları, dolayısıyla normalde salgılanan proteinlerden biraz daha büyüktürler.

Salgılanacak proteinleri sentezi sırasında ER'ye hedefleyen mekanizmada **sinyal dizisi** yaklaşık **15-40 aa** uzunluğunda olup, **7-12 hidrofob aa**'lık bir bölge içerir ve bu bölge genelde polipeptid zincirin N ucunda yer alır. 6 polipeptid ve bir küçük sitoplazmik RNA'dan (SRP RNA) oluşan **sinyal tanıyan partikül (SRP)**, bu sinyal dizilerini, henüz ribozomlarda sentezleri sürerken tanır ve bağlanır. **SRP**, sinyal dizisi ile birlikte ve ribozoma da bağlanarak translasyonun daha fazla ilerlemesini durdurur ve granüllü ER zarında bulunan SRP reseptörüne bağlanarak tüm kompleksin (SRP, ribozom, uzayan polipeptid zinciri) ER'a hedeflenmesini sağlar. Reseptöre bağlanma, SRP'nin ribozomdan ve uzayan zincirinin sinyal dizinden ayrılmasını sağlar. Bu aşamada, ribozom ER zarında bulunan bir protein translasyon kompleksine bağlanır ve sinyal dizisi bir zar proteinin **-translokon-** içine sokulur.

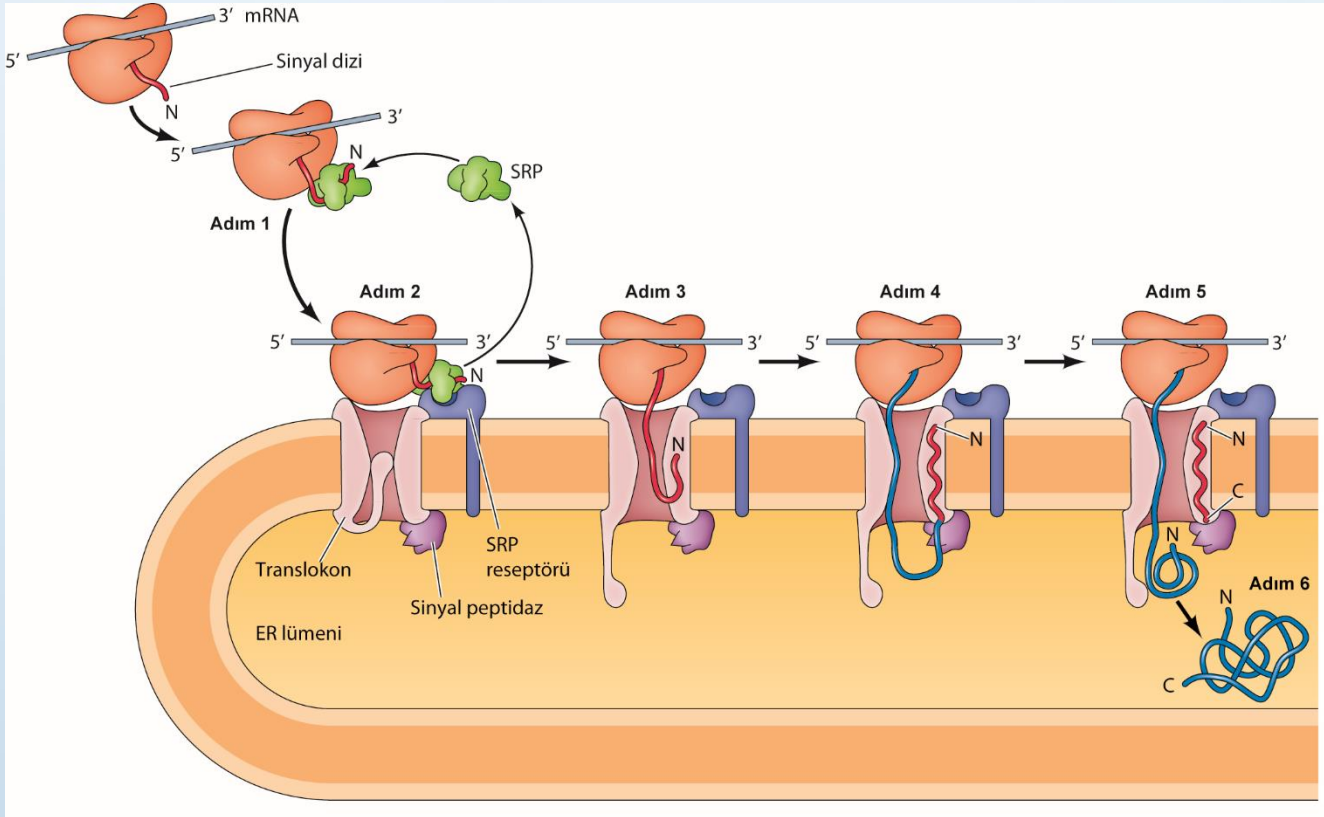




1.Adım: sinyal dizisi ribozomda sentezlenir sentezlenmez, sinyal tanıyan partikül (SRP) tarafından tanınır ve bağlanır. 2. Adım:SRP, bağlandığı polipeptid zincirini ER membranına yönlendirir ve burada SRP reseptörüne bağlanır. 3.Adım: SRP serbestleşir, ribozom translokona bağlanır ve sinyal dizisinin kanala sokulması translokunun açılmasının sağlar. 4.Adım: translasyon devam eder ve sinyal dizisi sinyal peptidaz tarafından uzaklaştırılır. 5.Adım: Devam eden translasyon sırasında uzayan polipeptid zincirimembranın öteki tarafına, ER lümenine nakledilir. 6.Adım: Sentezi tamamlanmış polipeptid zinciri ER lümeninde serbestleşir.

Salgı Proteinlerin Translasyonda ER'ye Hedeflenmesi

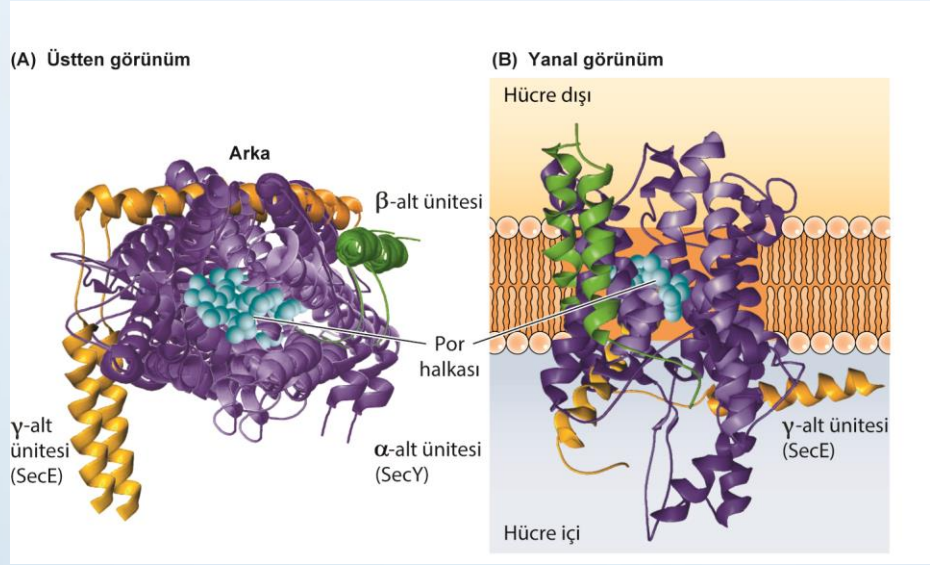
1. Sinyal dizisi ribozomda sentezlenir sentezlenmez SRP tarafından tanınır ve bağlanır.
2. SRP, bağlandığı polipeptid zincirini ER membranına yönlendirir ve burada SRP reseptörüne bağlanır.
3. SRP serbestleşir, ribozom translokona bağlanır ve sinyal dizisinin kanala sokulması translokonun açılmasını sağlar.
4. Translasyon devam eder ve sinyal dizisi sinyal peptidaz tarafından uzaklaştırılır.
5. Devam eden translasyon sırasında uzayan polipeptid zinciri membranın öteki tarafına, ER lümenine nakledilir.
6. Sentezi tamamlanmış polipeptid zinciri Er lümeninde serbestleşir.



SRP Yapısı

Translokon yapısı 2004 yılında Rapoport ve ark. tarafından tanımlanmıştır. ER'deki translokonlar hem memelilerde hem mayalarda **Sec61 proteinleri** adı verilen üç transmembran proteinden oluşmuş komplekslerdir.

Maya ve memelilerdeki translokon proteinleri bakteri plazma zarında salgılanan polipeptidlerin translokasyonundan sorumlu proteinlere büyük benzerlik gösterir.

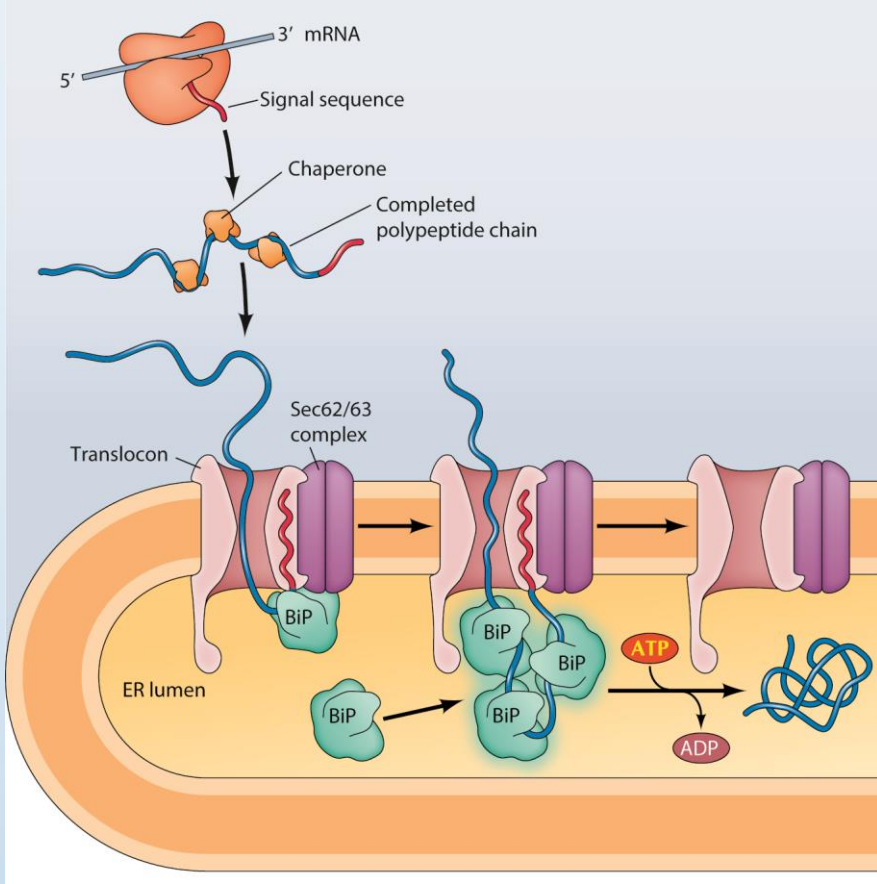


Translokon Yapısı : Translokon yeşil, mor ve sarı ile gösterilmiş 3 alt birimden oluşmaktadır.

(A) Sitozolden bakıldığında translokon kanalı içerisindeki tıkaçı gösteren bir kesit.

(B) ER membranına katılmış bir translokonun yandan görünüşü

Sinyal dizisinin translokon içerisine sokulması kanalı kapatan tıkaçın uzaklaştırılmasıyla sağlanır. Ribozomun SRP'den translokona aktarılması baskılanmış olan translasyonun kaldığı yerden devam etmesini sağlar ve uzayan polipeptid zincir translokon kanalı yoluyla ER zarından iç boşluğa geçer. **Translokasyon gerçekleştikçe sinyal dizisi sinyal peptidaz enzimi ile kesilir ve polipeptid ER lümenine aktarılır.**



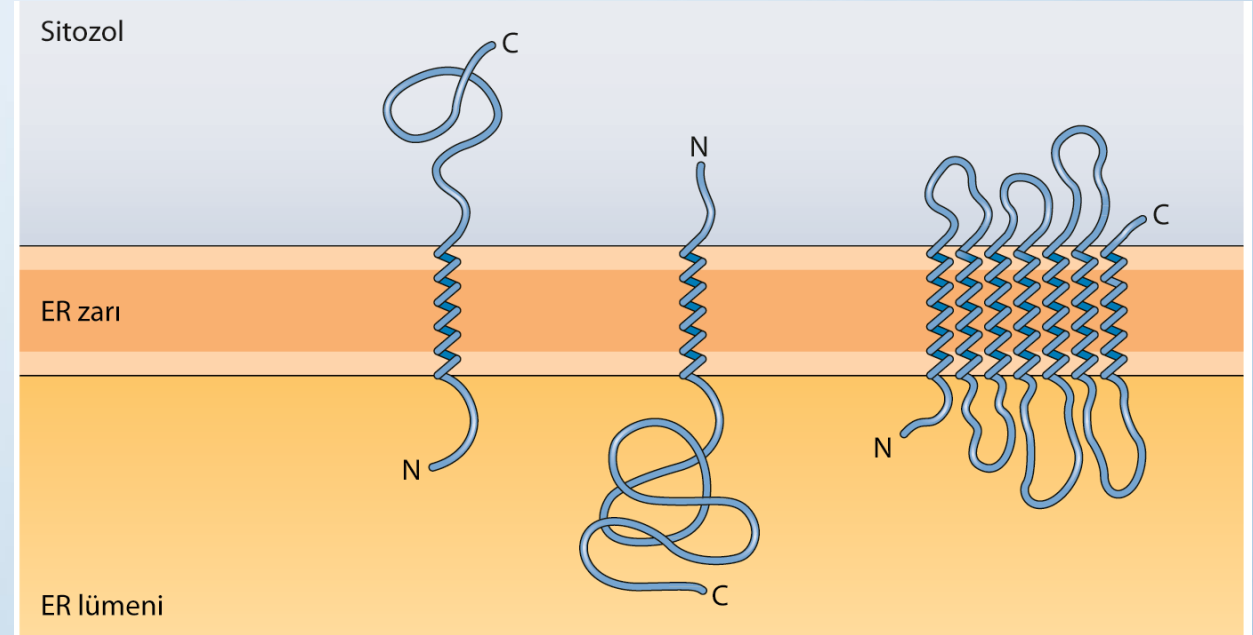
ER içersine translasyon sonrasında alınacak proteinler, serbest ribozomlar üzerinde sentezlenir ve sitozolik şaperonlar tarafından katlanmamış konformasyonda tutulur. Translasyon sonrası ER'ye hedeflenen proteinlerin aktarılması için SRP gerekli değildir. Sinyal dizileri SRP yerine translokonlarla ilişkili reseptör protein olan **Sec62/63 kompleksi** tarafından tanınırlar. Sitozolda bulunan **Hsp70 ve Hsp40 şaperonları**, polipeptid zinciri katlanmamış formda tutmak için gereklidir. Böylece bu proteinler translokona girebilir. ER'de bulunan diğer **Hsp70 (BiP)** ise polipeptid zinciri kanaldan ER içine çekmek için gereklidir.

Çok sayıda Bip proteininin bağlanması ve ATP hidrolizi ile serbestleşmesi polipeptid zincirinin ER içersine tranlokasyonu için gerekli enerjiyi sağlar.

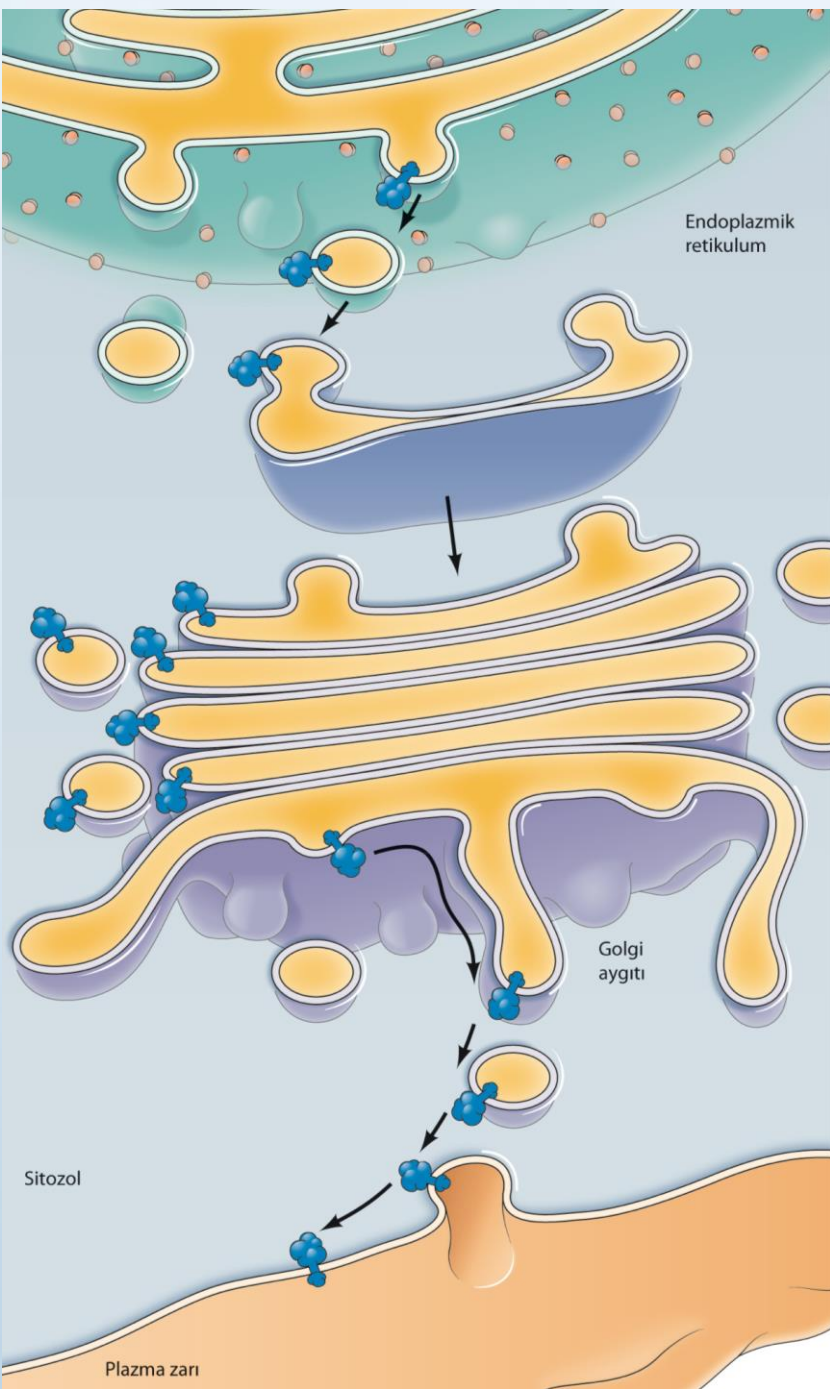
Proteinlerin ER Zarına Katılması

Plazma zarı veya diğer diğer bölmelerin zar yapısına katılacak olan proteinler ER lümenine geçmek yerine ER zar yapısına katılır. Bu aşamadan sonra hedef proteine salgı molekülleri ile aynı yolu izleyerek giderler. Ancak bu moleküller son hedeflerine çözünmüş proteinler olarak değil, zar bileşeni olarak transfer edilirler.

İntegral Zar Proteinleri, fosfolipid çift tabakayı boydan boya kat eden, hidrofobik bölgelerinde bulunan diziler ile zara gömülürler. Zarı geçen bölümler genellikle 20-25 hidrofobik aa'den oluşan alfa sarmal yapısındadır. Bu yapı sayesinde H bağı oluşumu en üst düzeye çıkar ve hidrofob aa yan zincirleri yağ asitlerinin kuyrukları ile etkileşir. Her proteinin zara gömülme şekli farklıdır.

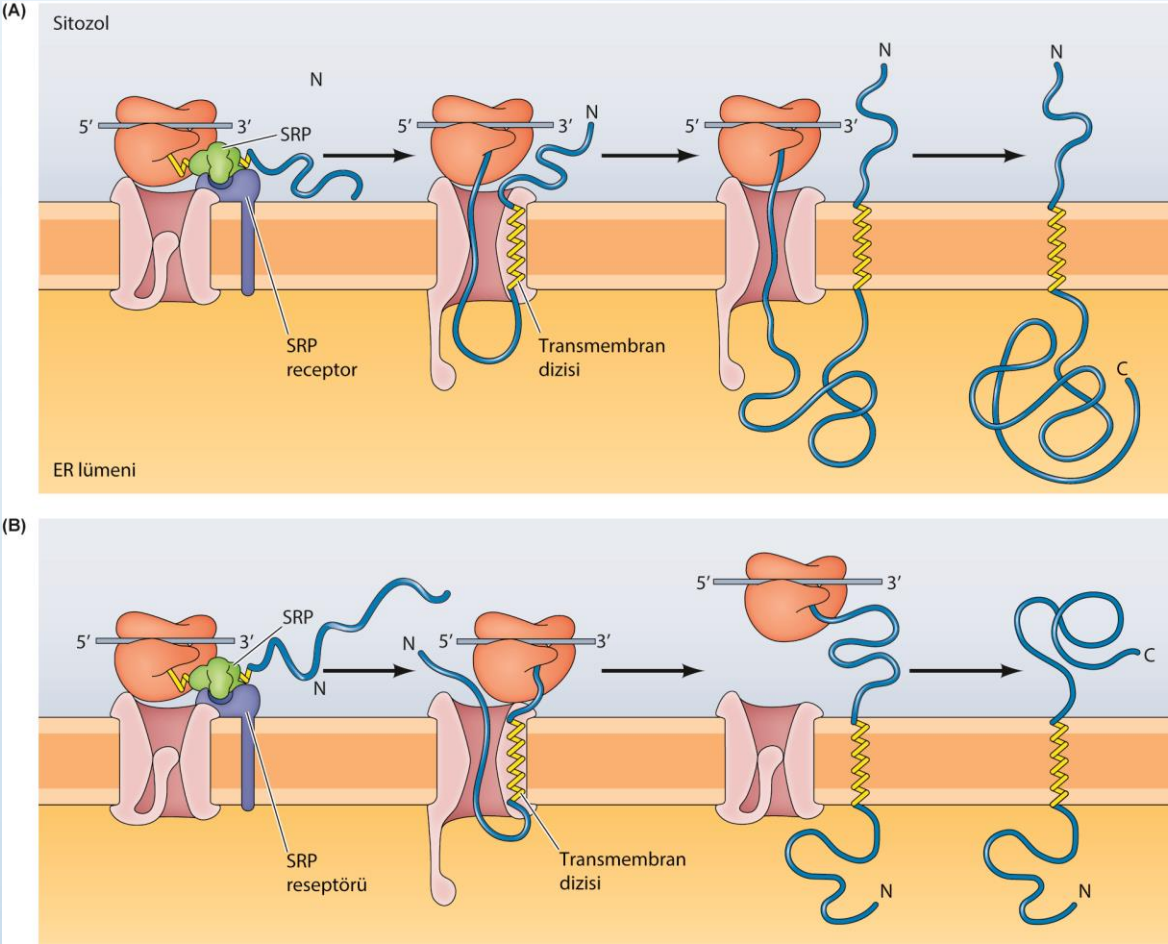


Plazma zar proteinlerinin hücre dışına bakan bölümleri polipeptid zincirin ER lümenine geçen bölümlerine karşılık gelir. Bazı Zar proteinleri zarı birkaç kez geçerken, diğerlerinin çoklu geçiş bölgeleri bulunabilir. Ayrıca, bazı proteinlerin amino uçları sitozolik tarafa bakar, diğerlerinin ise karboksilik uçları sitozole dönüktür. ER, golgi, plazma zarı ve lizozomlardaki bu prteinlerin yönlenimi uzayan polipeptid zincirinin ER içine aktarım sürecinde belirlenir.



Plazma proteinlerinin hücre dışına bakan bölümleri, polipeptid zincirinin ER lümenine geçen bölümlerine karşılık gelir.

1.Yapısında Transmembran Diziler Barındıran Proteinlerin Membrana Yerleştirilmesi

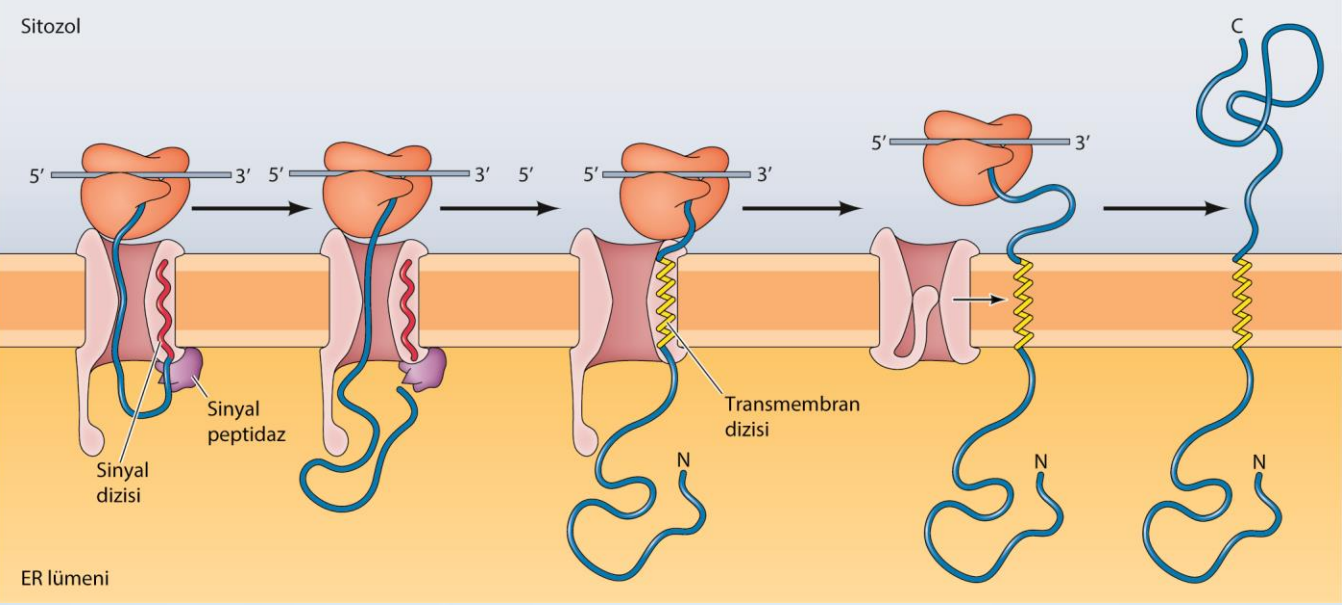


(A). Yapılarında internal transmembran dizilerin bulunması, proteinlerin her iki oryantasyonda ER membranına yerleşmesine yol açabilir (A).

Transmembran dizi, polipeptid zincirini amino uç sitozoloik yüzde olacak şekilde yönlendirir. Transmembran dizi translokondan çıkarak proteinin lipid çift tabakaya çapalanmasını sağlar. Polipeptid zincirin devamı translasyon sürerken ER içerisine geçer

(B). Başka transmembran diziler ise polipeptidin amino ucunun membrandan geçişini yönlendirebilir. Translasyonun devamı, amino ucu lümende, karboksil ucu sitozolde ve ER membranını kat eden bir protein ile sonuçlanır.

2. Kırılabilir bir sinyal dizisi ve internal transmembran dizye sahip proteinin hücre zarına yerleştirilmesi

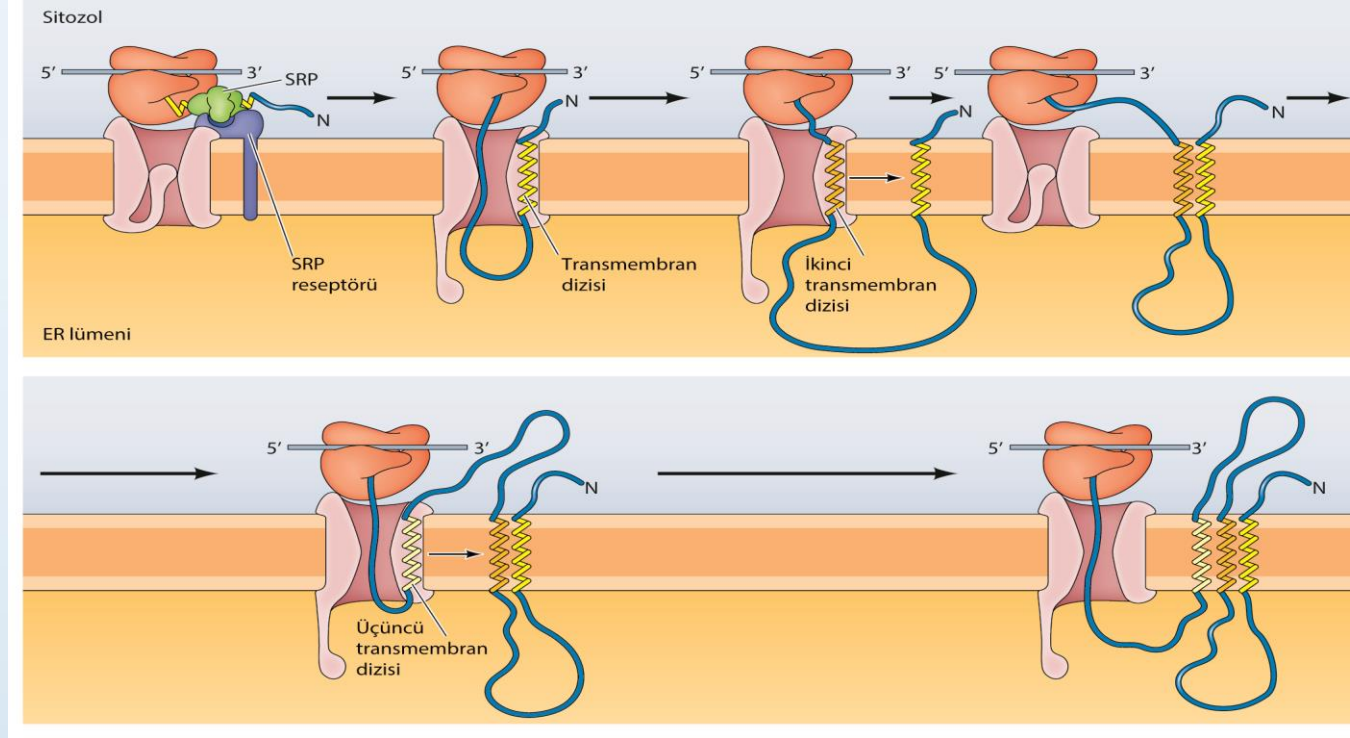


Karboksil uçları sitozole bakan bazı transmembran proteinler, alternatif bir mekanizma ile ER zarına yerleşirler.

Translokasyon sırasında polipeptid zinciri membranı geçerken sinyal dizisi uzaklaştırılır. Böylece pp zincirin amino uucu ER lümenine bakar. Ancak translokunun diziyi tanımasıyla pp zincirin membrandan geçişi durdurulur. Bu, proteinin translokonu yandan terk etmesine ve ER membranına çapalanmasına izin verir. Translasyonun devamıyla membranı kat eden ve karboksilik ucu sitozolik yüzde olan bir protein oluşur.

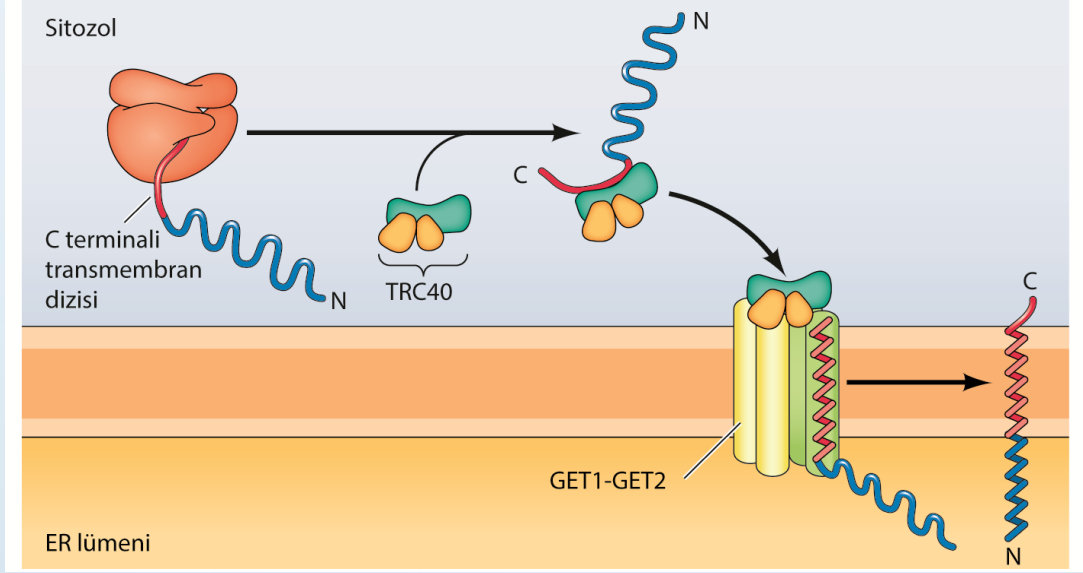
Pek çok protein SRP/Sec61 ko-translasyonel yolak ile ER yapısına katılır. Proteinlerin çoğu, SRP tarafından tanınarak translokona getirilen internal transmembran diziler ile ER zarına doğrudan yerleştirilir. fakat bu diziler siyal peptidaz tarafından kesilerek uzaklaştırılmaz. Bunun yerine, bu transmembran alpha heliksler translokondan lateral yönde çıkarak proteini ER zarının içine çapalar. Protein yapısındaki bu hidrofobik transmembran diziler translokona yapısındaki transmembran heliksin açılmasını ve protein hidrofobik membran domaininin translokondan lipid zarının iç kısmına çıkmasını sağlar. C uçları sitozole bakan transmembran proteinler, alternatif bir mekanizma ile ER zarına yerleşirler. Burada, translasyon sırasında translokondan ER içerisine artarılırken kesilen normal bir N ucu dizisi içerirler. Protein translasyonu devam ettikçe polipeptidin uzayan amino asit bölgesi ER iöerisine aktarılır.

3. Membranı birçok kez geçen proteinin yerleştirilmesi



Translayonun devam etmesi ile polipeptid zinciri sentezini ER lümeni içine doğru yönlendirir. İkinci bir transmembran bölgenin varlığı, polipeptidin ER lümeninde ilmik oluşturmaya yol açar, bu arada sentez sitozolik yüzeyde devam eder. Üçüncü bir transmembran dizi ile karşılaşması halinde uzayan pp zincir bu sefer sitozolik yüzeyde ilmik oluşturarak tekrar ER'ye gömülür ve süreç bu şekilde devam eder. Bunu, başka transmembran bölgeler takip edebilir ve bu süreç hem lümen tarafında, hem de sitozolik yüzde ilmik yapıları bulunan, zarı çok kez kat eden proteinlerin oluşumu ile sonuçlanır.

4. C-ucunda transmembran dizisi bulunan proteinin hücre zarına post-translasyonel yerleşimi



Bu proteinlerin karboksi ucunda bulunan transmembran diziler, protein sentezi bitip polipeptid zincir serbestleşinceye kadar ribozom tarafından maskelendiğinden SRP tarafından tanınmaz. Bunun yerine, protein sentezi bittikten sonra TRC40 veya GET3 olarak adlandırılan özel bir hedefleme faktörü tarafından tanınırlar. TRC40, transmembran proteinini ER'ye getirir ve GET1-GET2 reseptörü yoluyla bu proteinler ER zarına yerleşir.

C ucunda transmembran dizi barındıran bazı proteinler, alternatif bir post-translasyonel mekanizma ile ER zarına yerleşirler. Bu proteinlerin C ucunda bulunan transmembran diziler, protein sentezi bitip de polipeptid zinciri serbestleşinceye kadar ribozom tarafından maskelendiğinden, SRP tarafından tanınmaz. Bunun yerine, protein sentezi bittikten sonra TRC40 GET3 olarak adlandırılan özel hedefleme faktörü tarafından tanınırlar. TRC40, transmembran proteinini ER'ye getirir ve GET1-GET2 reseptörü yoluyla bu proteinler ER zarına yerleşir.

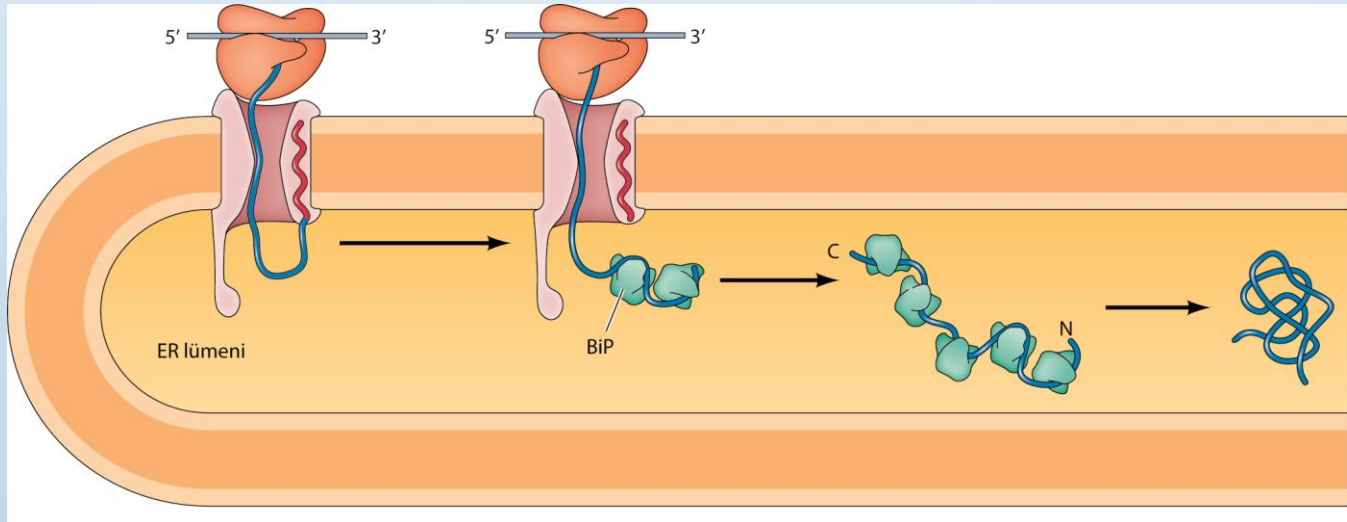
ER'de Proteinin Katlanması ve İşlenmesi

Salgı yolağına giren proteinler için katlanma, işlenme, kovalent modifikasyon vb aşamaların çoğu ER zarından içeriye aktarılırken veya ER lümeninde gerçekleşir.

***lümendeki ER'nin birinci işlevi içeriye yeni alınmış pp zincirlerin katlanmasında ve bir araya getirilmesinde göre almaktır.**

ER;

- Protein katlanmasının gerçekleştiği,
- Çoklu alt birime sahip proteinlerde alt birimlerin bir araya geldiği,
- Disülfid bağlarının oluştuğu,
- N-nağlı glikozillenmenin gerçekleştiği,
- Bazı plazma zar proteinlerine glikolipid çapaların eklendiği yerdir.

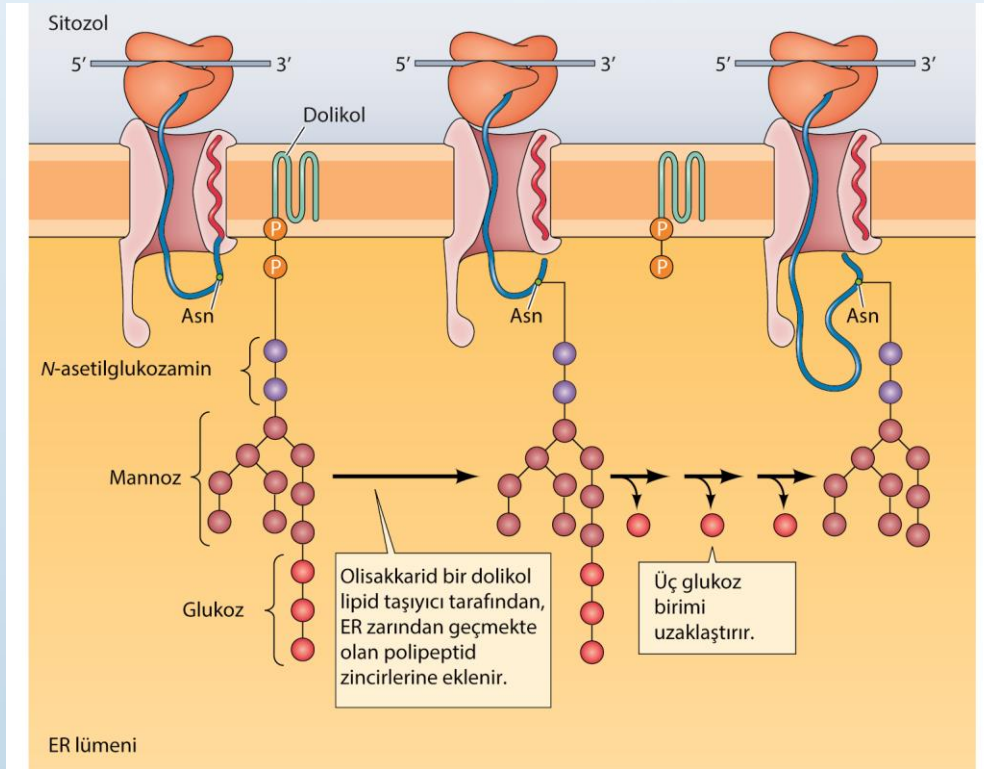


Bir Hsp70 şaperonu olan BiP, katlanmamış polipeptid zincirine zarı geçerken bağlanır ve ER içerisinde protein katlanması ile alt birimlerin bir araya getirilmesini düzenler.

Doğru yapılandırılmış proteinler BiP'ten ayrılarak Golgi'ye aktarılırken, hatalı olanlar yıkıma yönlendirilir.

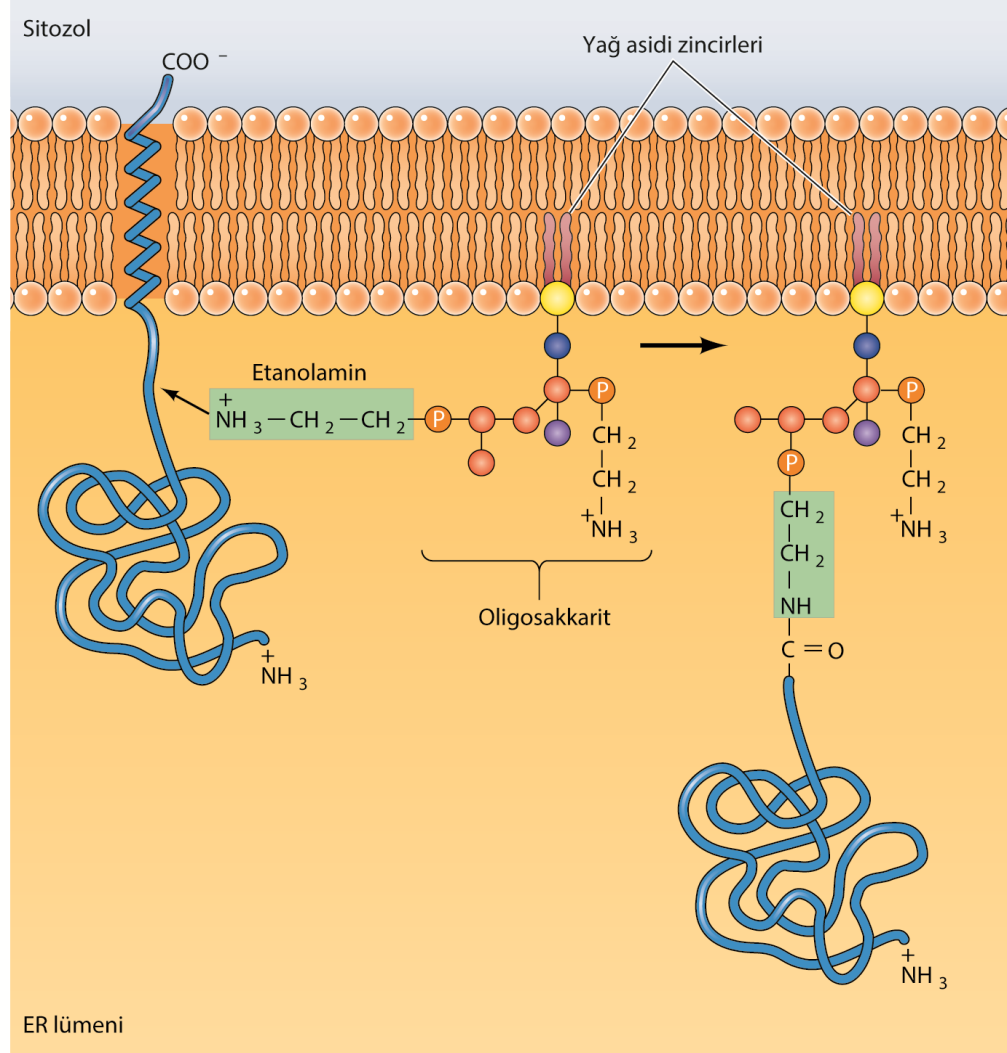
Sistein birimlerinin yan zincirleri arasında disülfid bağlarının oluşumu ER içindeki protein katlanma ve yapılanmasının önemli bir aşamasıdır. Bu bağlar sistein aminoasitlerini indirgenmiş formda (-SH) tutan sitozolde değil, ER lümeninde yerleşik, **protein disülfid izomeraz(PDI)** enzimi ile gerçekleşir.

Proteinler ayrıca translasyonları sürerken ER içinde bazı özel asparagin birimlerinden glikozilleinirler.



Uzayan polipeptid zincirleri ER zarından lümene geçerken asparajin birimlerine 14 şeker biriminden oluşan oligosakkarit birimleri eklenir. Oligosakkarit, ER zarına sabitlenmiş bir lipid taşıyıcı üzerinde sentezlenir. Sonra bir bütün olarak zara bağlı bir enzim olan oligosakkarit transferaz tarafından Asp-X-Ser/Thr ortak dizisindeki asparajin birimine aktarılır. Protein henüz ER içindeyken 3 glukoz birimi uzaklaştırılır ve daha ileri modifikasyonlar, protein golgiye taşındıktan sonra devam eder. Glikozilasyon hem ER içinde protein agregasyonunun önlenmesinde hem de salgı yolağında proteinlerin hedeflenmesi için gerekli sinyallerin sağlanmasında rol oynar.

Bazı proteinler plazma zarına transmembran bölgeleriyle değil, glikololipidler aracılığıyla sabitlenir(çapalanır). Bunlar fosfatidilinositol içerdiklerinden **glikosilfosfatidilinositoz (GPI) çapaları** olarak adlandırılırlar.



GPI çapaları, ER zarı içinde yapılandırılırlar. Protein sentezinden hemen sonra karboksi terminalde bulunan hidrofobik bir dizi ile zara sabitlenmiş olan bazı proteinlerin **hidrofobik C-ucu GPI çapası ile değiştirilir**. Böylece bu proteinler zara sadece ilgili glikolipidler sayesinde bağlı kalırlar. Transmembran proteinler gibi, bunlar da hücre yüzeyine salgı yolağı ile zar bileşenleri olarak ulaşırlar. GPI çapasına sahip proteinlerin ER içindeki yönelimleri, hücrenin dış yüzeyine yerleşeceklerini gösterir. GPI çapası, proteinin zar ile olan bağlantısından sorumludur.

ER'de Kalite Kontrolü

ER içerisinde sentezlenen proteinlerin birçoğu hızla yıkıma uğrar. Bunun başlıca nedeni proteinlerin doğru katlanamamasıdır. ER içerisindeki protein katlanma süreci hem yavaş hem de verimsizdir. Yanlış katlanmış proteinler önce tanıdıkları, sonra ubiquitin proteozom sistemince yıkılmak üzere ER'den sitozole aktarıldıkları **ER-ilişkili yıkım(ER-associated degradation:ERAD)** olarak bilinen bir süreç ile ortadan kaldırılırlar.

ER lümeninde bulunan şaperon ve protein işleme enzimleri proteinlerin katlanmasında görev aldıklarından, çoğu kez yanlış katlanmış proteinlerin tanınmasından da sorumludurlar. İyi tanımlanmış glikoprotein katlama yollarından birinde, ER lümeninde yerleşik **kalneksin** ve ER zarında yerleşik **kalretikulin** rol oynar. Hem kalneksin hem kalretikulin, uçtan iki glikoz biriminin ayrılmış olduğu, kısmen işlenmiş oligosakkaridleri tanır.

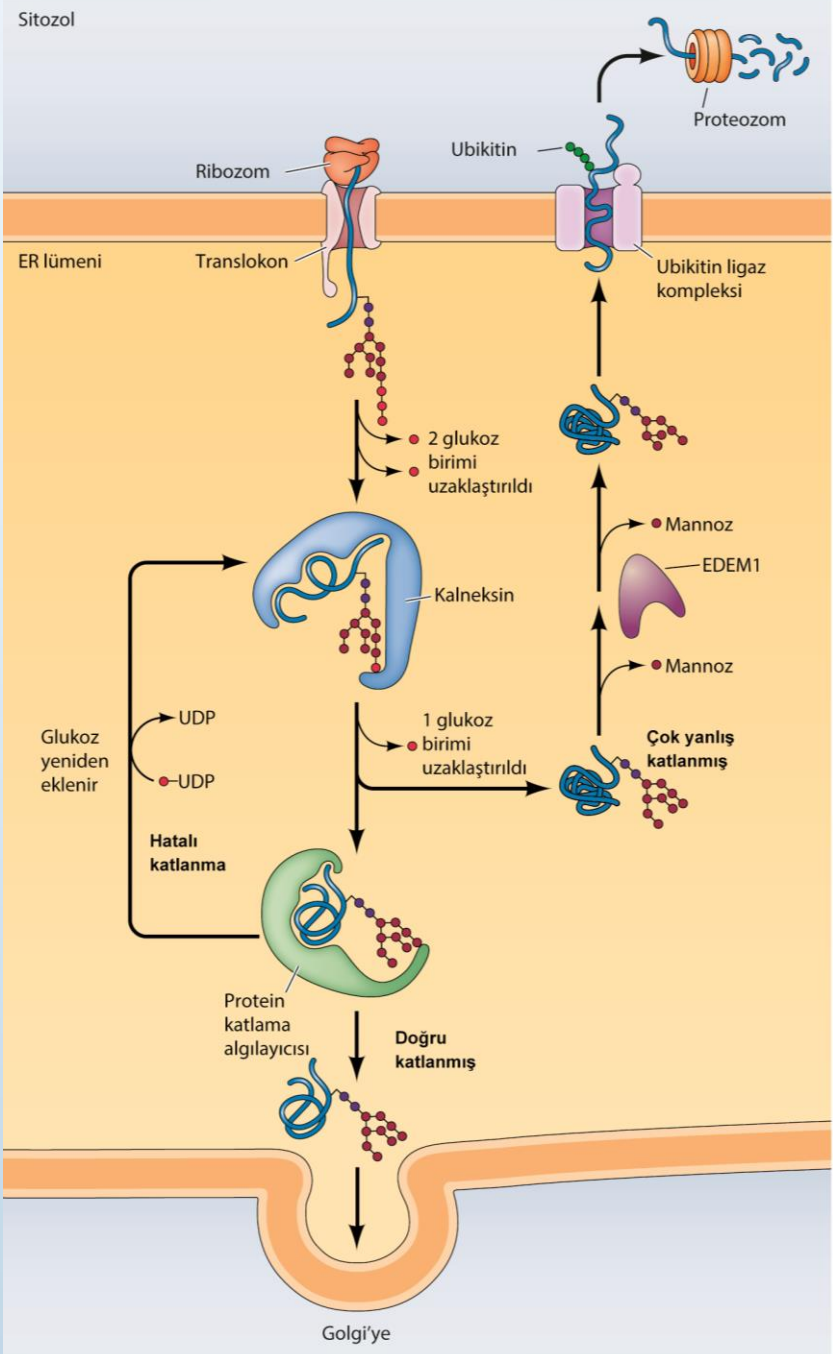
Bir peptidil prolil izomeras ve protein disülfid izomeras enzimleriyle birlikte kalneksin veya kalretikulin glikoproteinin doğru üç boyutlu yapısına katlanmasına yardımcı olur. Daha sonra oligosakkaritin ucundaki üçüncü glukoz molekülünün ayrılmasıyla glikoprotein serbestleşir. Bu glikoproteinin tam ve doğru katlandığını kontrol eden bir protein-katlanma algılayıcısı molekül tarafından tanınmasını sağlar. Eğer doğru katlanma gerçekleşmişse, glikoprotein ER'yi terk ederek Golgi'ye doğru yolculuğuna devam eder.

Glikoprotein doğru katlanmamışsa, katlanma algılayıcı molekül glukoz birimini oligosakkarite tekrar ekleyerek kalneksin ya da kalretikülinle yeniden etkileşmesine ve doğru katlanma için ikinci denemede bulunmasını sağlar. Tekrarlayan döngülerden sonra halen katlanamayan veya düzeltilemeyecek kadar yanlış katlanmış olan glikoproteinler yıkım için ERAD yolağına hedeflenirler.

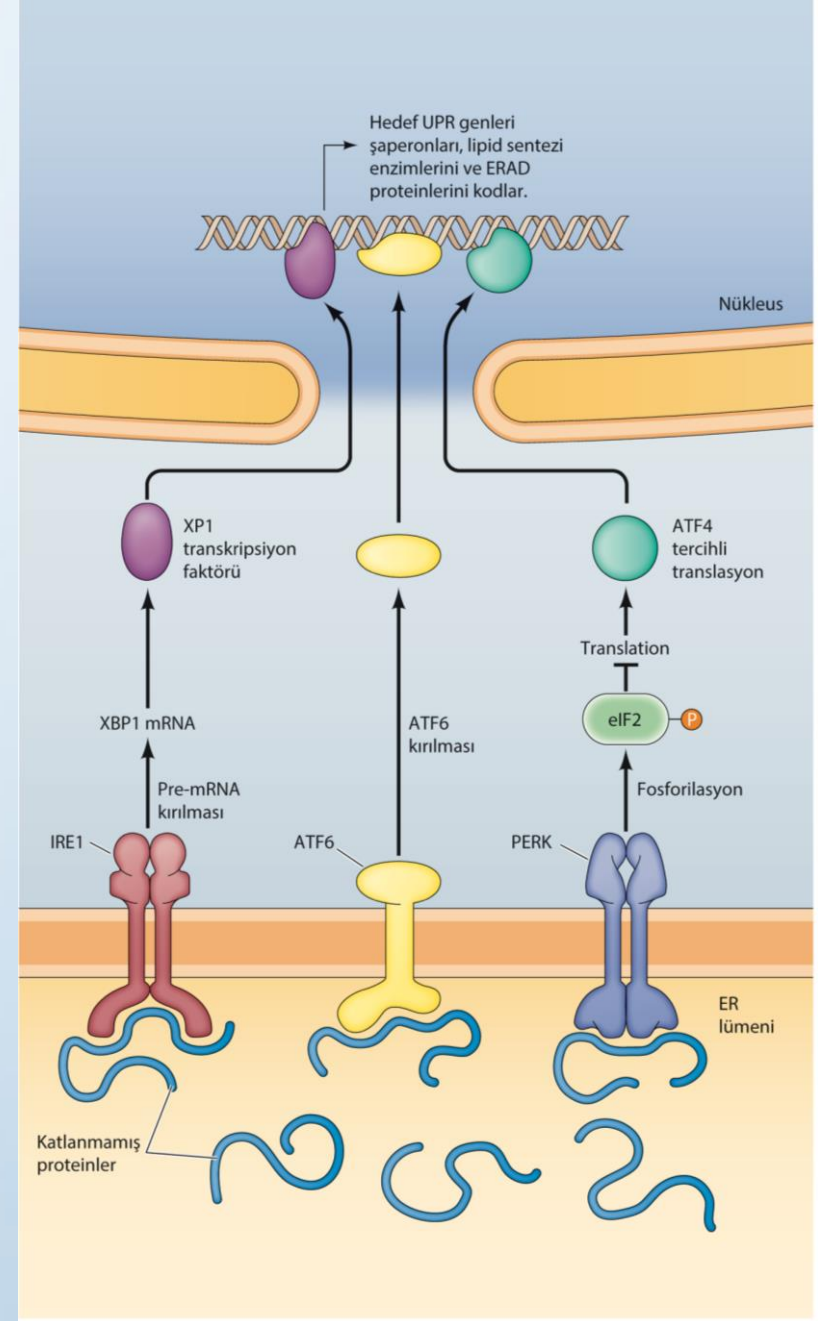
Yanlış katlanmış protein, oligosakkaritlerden mannoz birimlerini ayıran, EDEM1 adında bir enzim tarafından tanınır. Mannoz birimlerinin koparılması proteinin kalneksin veya kalretikuline geri gönderilmesini önler ve yanlış katlanmış proteinler, ubiquitin ligaz aktivitesi bulunan bir transmembran kompleksine aktarılırlar. Bu kompleks yoluyla ubiquitinlendikleri ve proteozomda yıkıma uğradıkları sitozole geri gönderilirler.

Katlanmamış protein düzeyi sürekli izlenir. Bu süreç ER'de katlanmamış protein birikimi ile aktive olan **katlanmamış protein yanıtı(unfolded protein response:UPR)** sinyal yolağı tarafından düzenlenir. Bu yolağın aktivasyonu ER'nin genişlemesine, artan ihtiyacı karşılamak için ek şaperon yapımına ve bunlara ek olarak da yeni sentezlenen proteinlerin ER'ye geçiş düzeyinin geçici olarak azaltılmasına yol açar.

Bu değişikliklerin ER'deki katlanmamış protein düzeyini normale çekememesi halinde, katlanmamış protein yanıt yolağının aktivasyonu programlanmış hücre ölümünü tetikler. Böylelikle sentezlenen proteinleri doğru katlayamayan hücreler ortadan kaldırılır.



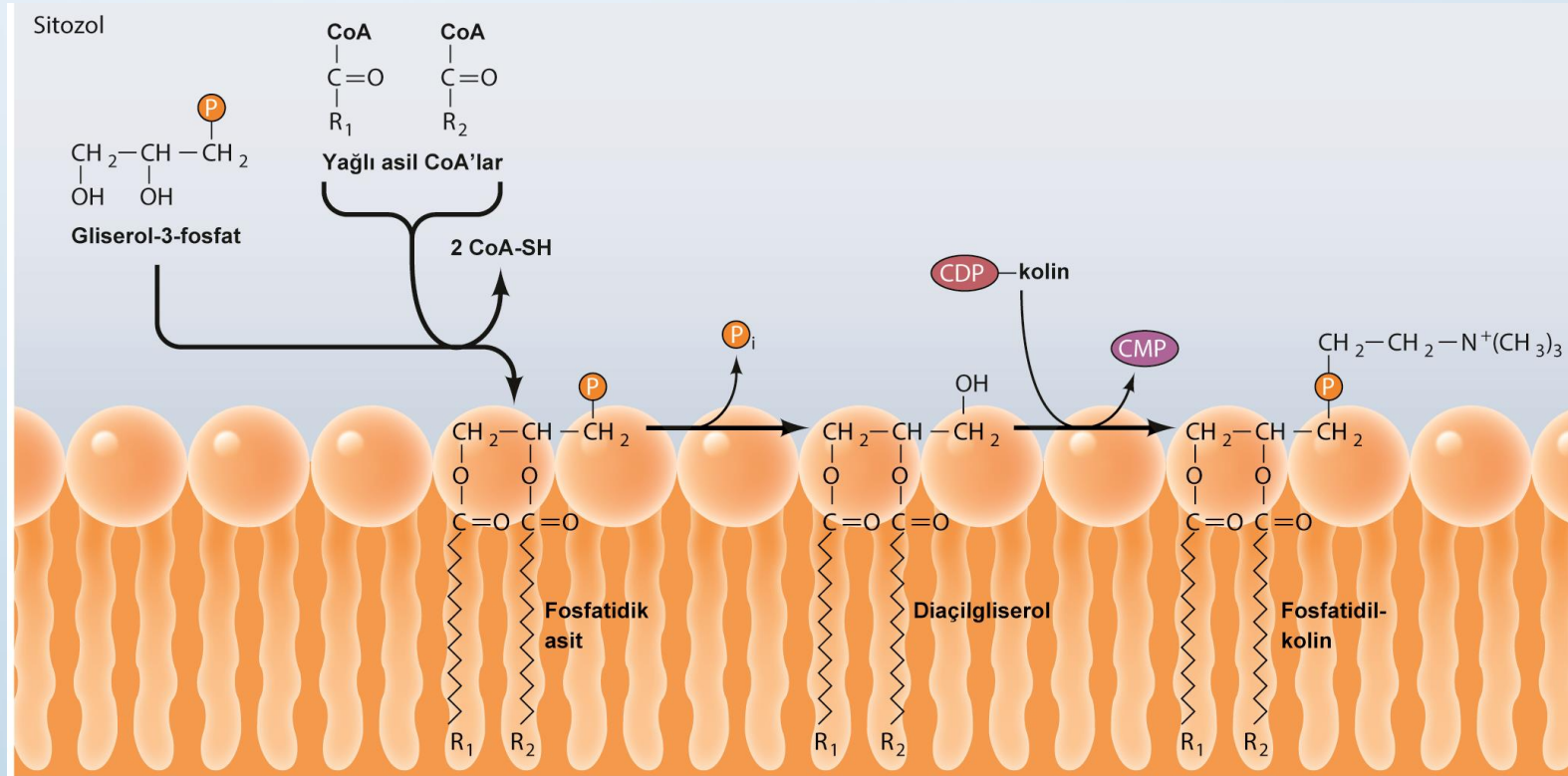
Kalneksin yoluyla glikoprotein katlanması

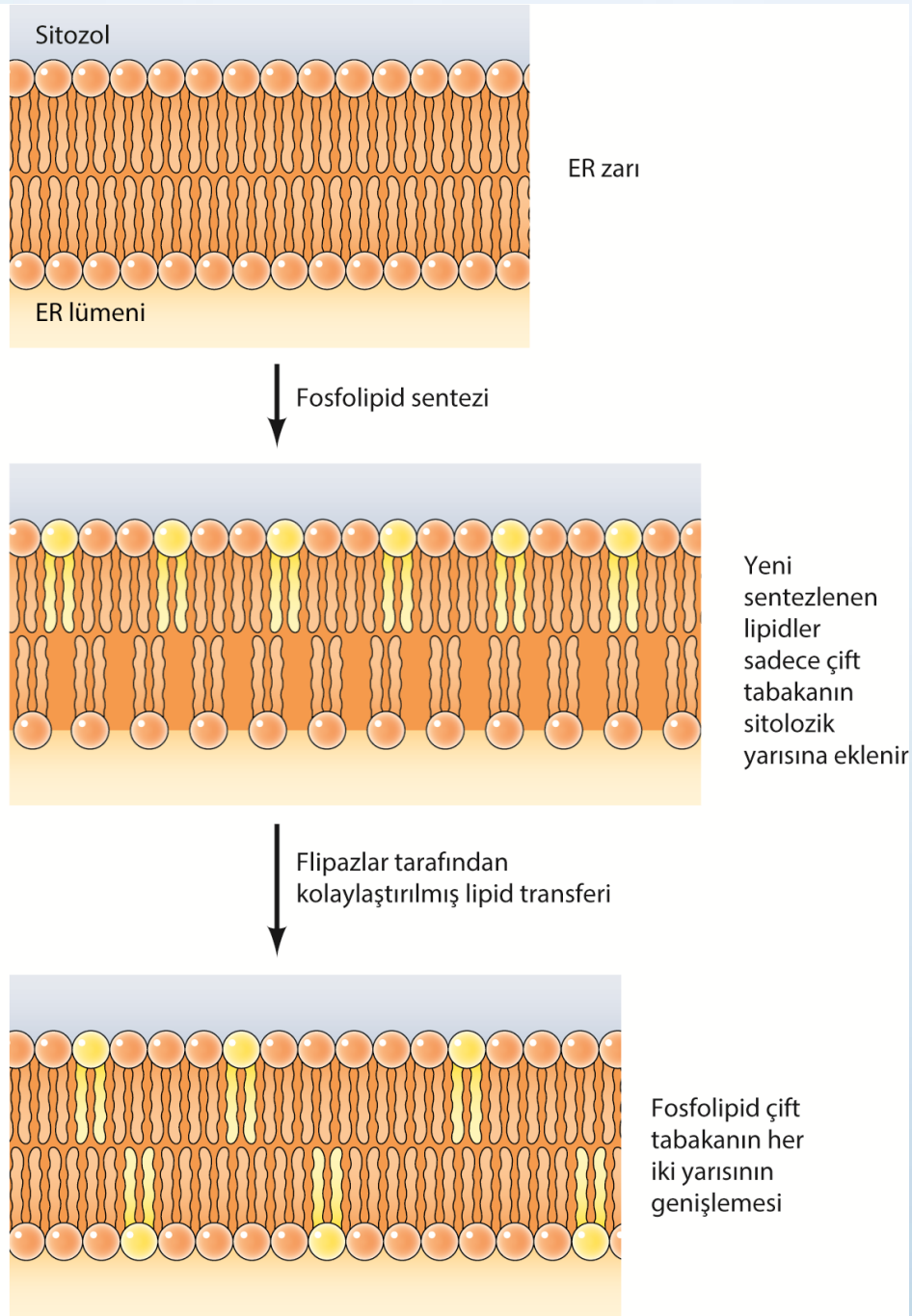


Katlanmamış protein yanıtı (UPR)

Düz ER ve Lipid Sentezi

Ökaryot hücre zarları başlıca üç tip lipiddten oluşur ; fosfolipid, glikolipid ve kolesterol. Zar temel yapı taşları olan fosfolipidlerin çoğu gliserolden elde edilir. ER zarının sitozol tarafında, suda çözünebilen sitozolik öncül moleküllerden sentezlenirler.





Yağ asitleri, önce koenzim A taşıyıcılarından gliserol-3-fosfata, zara bağlı bir enzim aracılığı ile aktarılırlar ve oluşan fosfolipid zar içine yerleşir.

Sonra ER zarının sitozol yüzünde yer alan enzimler fosfatidik asidi diaçilgliserole dönüştürür ve fosfatidilkolin, fosfatidilserin, fosfatidiletanolamin veya fosfatidilinositol oluşturmak üzere değişik polar grupların eklenmesini katalizler.

Fosfolipidlerin ER zarının sitozol tarafında sentezlenmesi, hidrofobik yağ asidi zincirlerinin zar içinde gömülü kalmalarına izin verirken, zara bağlı enzimler sitozoldeki suda çözünen öncüller ile (örn CDR-kolin) reaksiyonlarını katalize eder.

Ancak yerleşim nedeniyle yeni fosfolipidler sadece ER zarının sitozolik yüzeyine eklenebilirler.

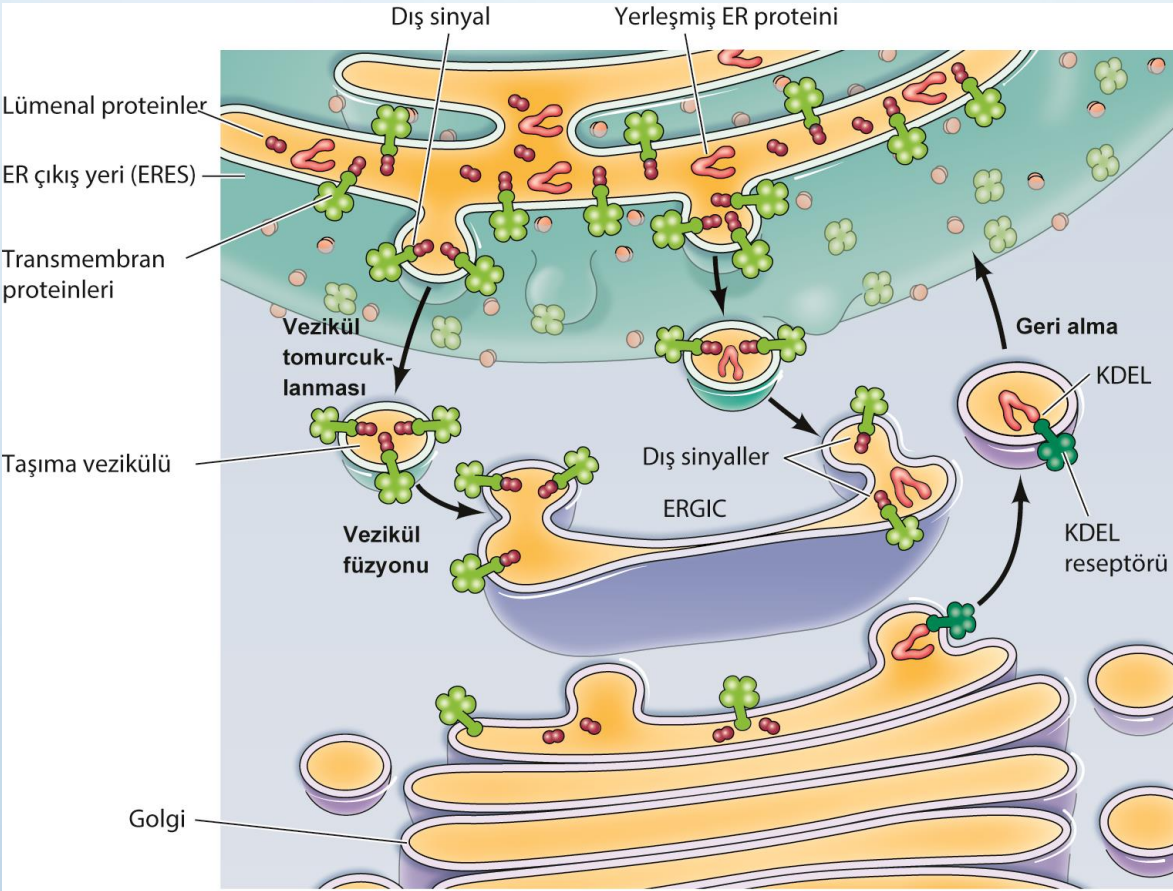
Gliserol fosfolipidlerin sentezi yanı sıra, ER aynı zamanda diğer iki zar lipidi olan kolesterol ve seramid için de temel sentez yeridir. Sonuç olarak ER, ökaryot hücre zarlarındaki üç temel lipid grubunun son ürün ya da öncüllerinin sentezinden sorumludur.

Düz ER, özellikle lipid metabolizması aktif olan hücrelerde bol miktarda bulunur;

- Steroid hormonlar
- Testis ve yumurtalıklarda steroid sentezleyen hücrelerde
- Karaciğer (yağda çözünen maddeler karaciğer enzimleri ile metabolize olduğundan) vb.

Protein ve Lipidlerin ER'den Dışarı Çıkışları

Hem proteinler hem de fosfolipidler salgı yolağında, bir zardan tomurcuklanıp diğeriyle kaynaşan veziküllere iletilirler. Bu moleküller özelleşmiş bir bölge olan ER çıkış bölgesinden (ERES) tomurcuklanarak çıkış yaparlar.

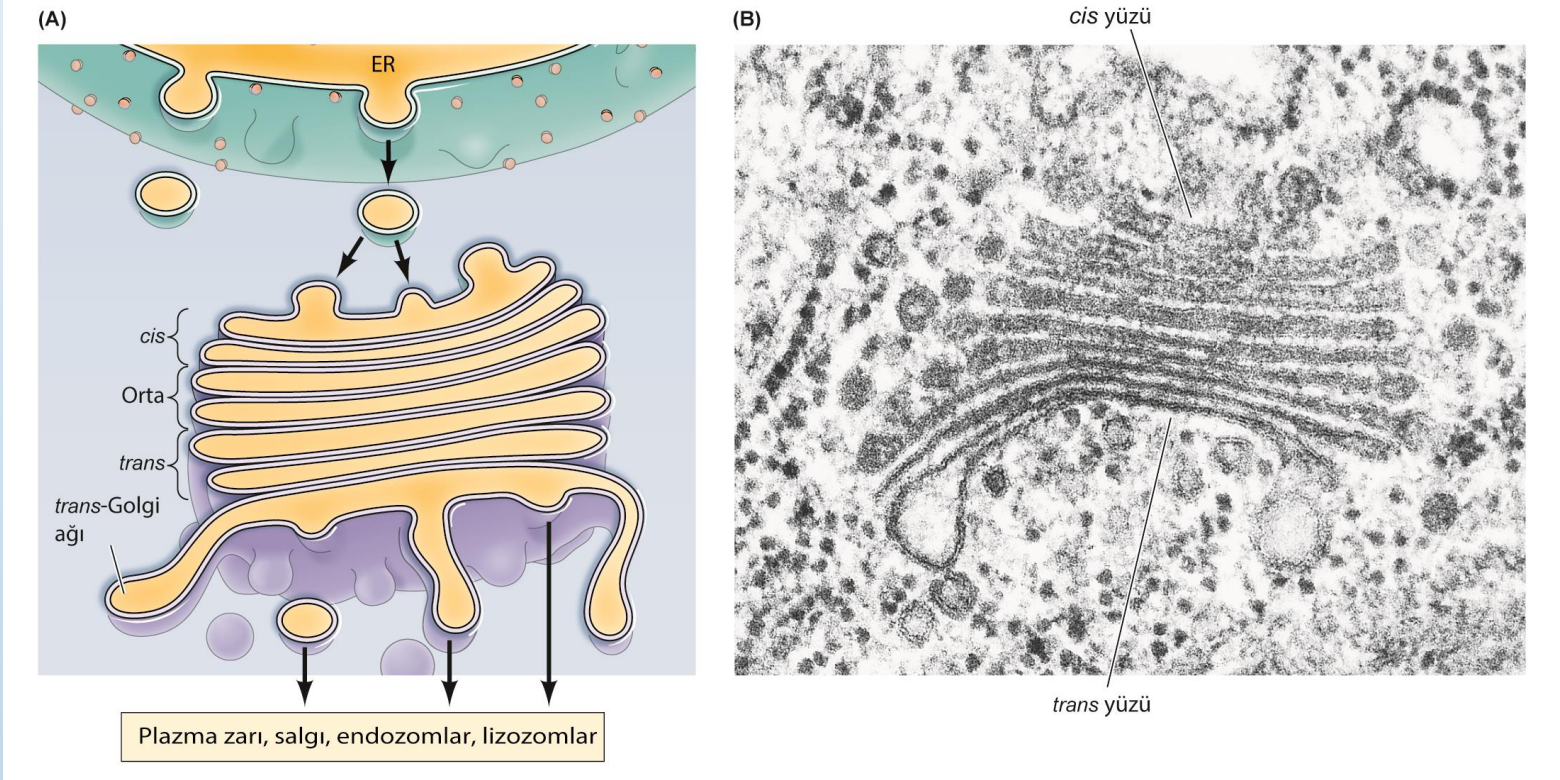


Tomurcuklanan veziküller, kaynaşarak ER-Golgi ara kompartmanı olan ERGIC'ı oluştururlar ve içeriklerini buradan Golgi'ye aktarırlar. Böylece transmembran proteinler Golgi aracılığı ile salgılanır. Sadece salgılanacak proteinler değil, ER'de görev alan proteinlerin de taşıma veziküllerinde paketlenip Golgi'ye aktarılmaması için yerleşik ER proteinleri bu bölgede tanınır ve geri kazanım yolağıyla ER'ye geri taşınır.

GOLGİ AYGITI

ER'den gelen proteinlerin daha ileri işlendiği ve endozom, lizozom, plazma zarı ve salgı gibi son hedef bölgelerine sınıflandırıldıkları yerdir.

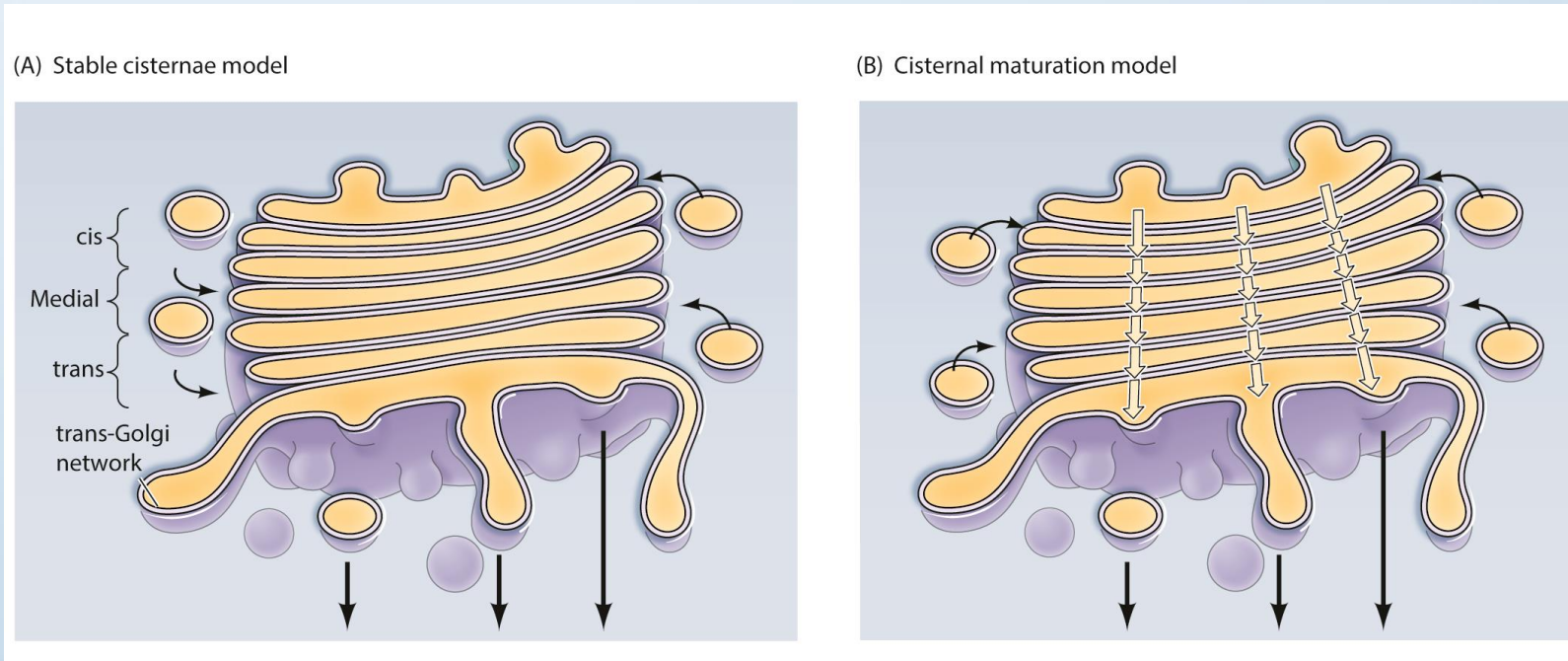
Glikolipidler, sfingomiyelinler, bitki hücre duvarının kompleks polisakkaritleri Golgi içinde sentezlenir. Kısaca, **salgı yolağı boyunca hareket eden hücresel ürünlerin işlenmesinden sorumludur**. Çoğu hücrede Golgi, zarla çevrili, yassılaştırmış keselerden ve bunlarla ilişkili veziküllerden oluşmuştur.



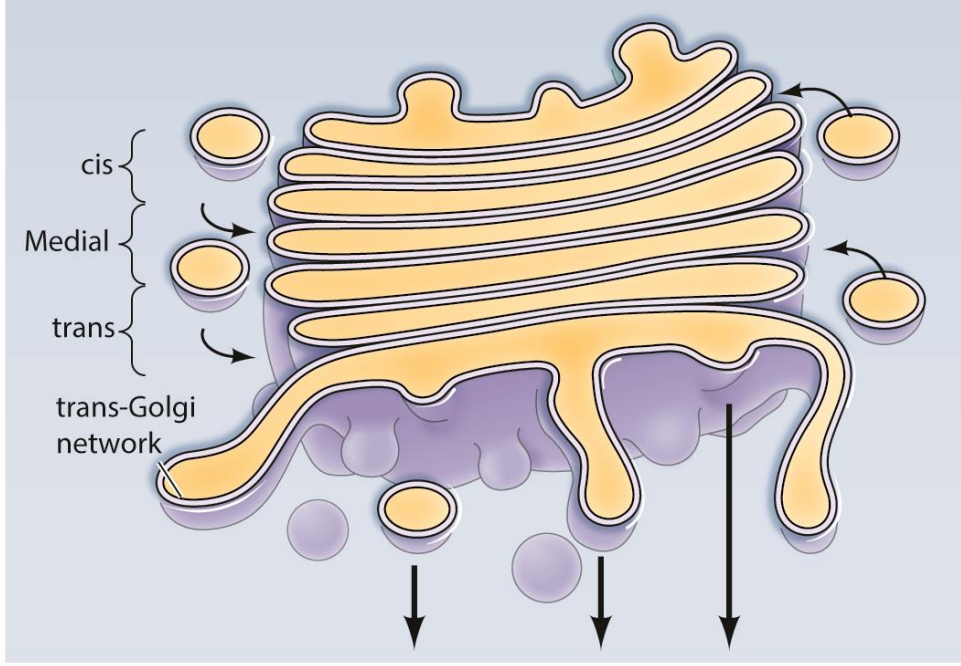
Genel olarak Golgi'nin yapısal ve işlevsel olarak dört bölmeden oluştuğu kabul edilir : **cis, medyal, trans alt bölmeler ve trans Golgi ağı**.

ER-Golgi ara kompartımanından proteinler, protein, lipid ve polisakkarid modifikasyonlarının başladığı **cis Golgi ağı**na geçerler. Buradan, daha ileri modifikasyonların gerçekleştiği **medyal** ve **trans** bölmelerinde ilerlerler. Modifiye protein, lipid ve polisakkaridler ; endozom, lizozom, plazma zarı ve hücre dışına gidecek şekilde sınıflandırılarak dağıtım merkezi olarak işlev gören **trans Golgi ağı**na geçerler.

Proteinlerin Golgi içinde hangi mekanizmayla hareket ettiği uzun süre tartışılmış ve iki genel model önerilmiştir.

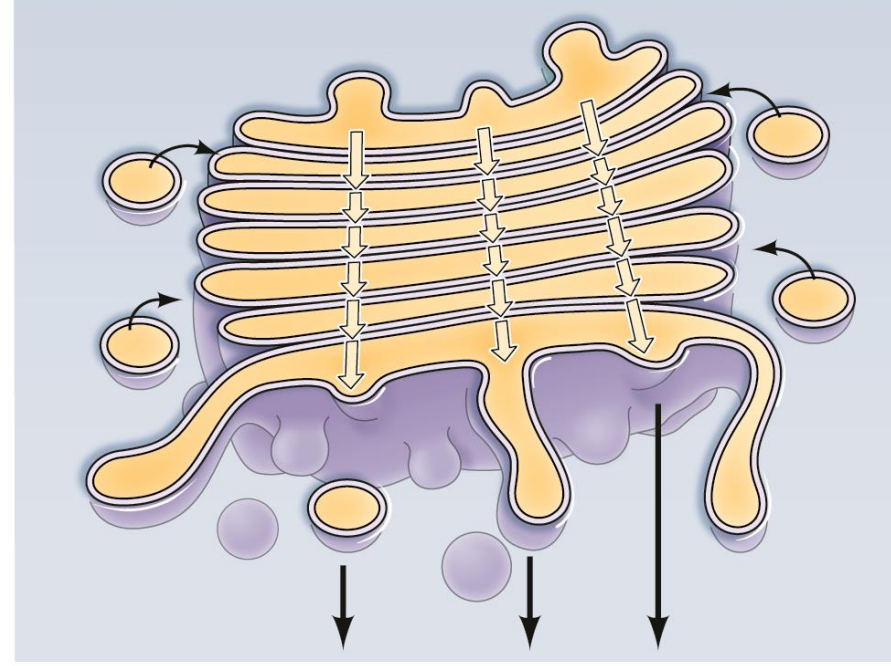


(A) Stable cisternae model



Kararlı sarnıç modelinde proteinler taşıyıcı vezkül içerisinde cis-trans yönünden taşınırlar. Burada sarnıçlar kararlı yapıdadır ve içlerinde görev yapan aktif enzimler ya burada tutulu ya da bir geri dönüşüm döngüsü ile tekrar kullanıma sokulur.

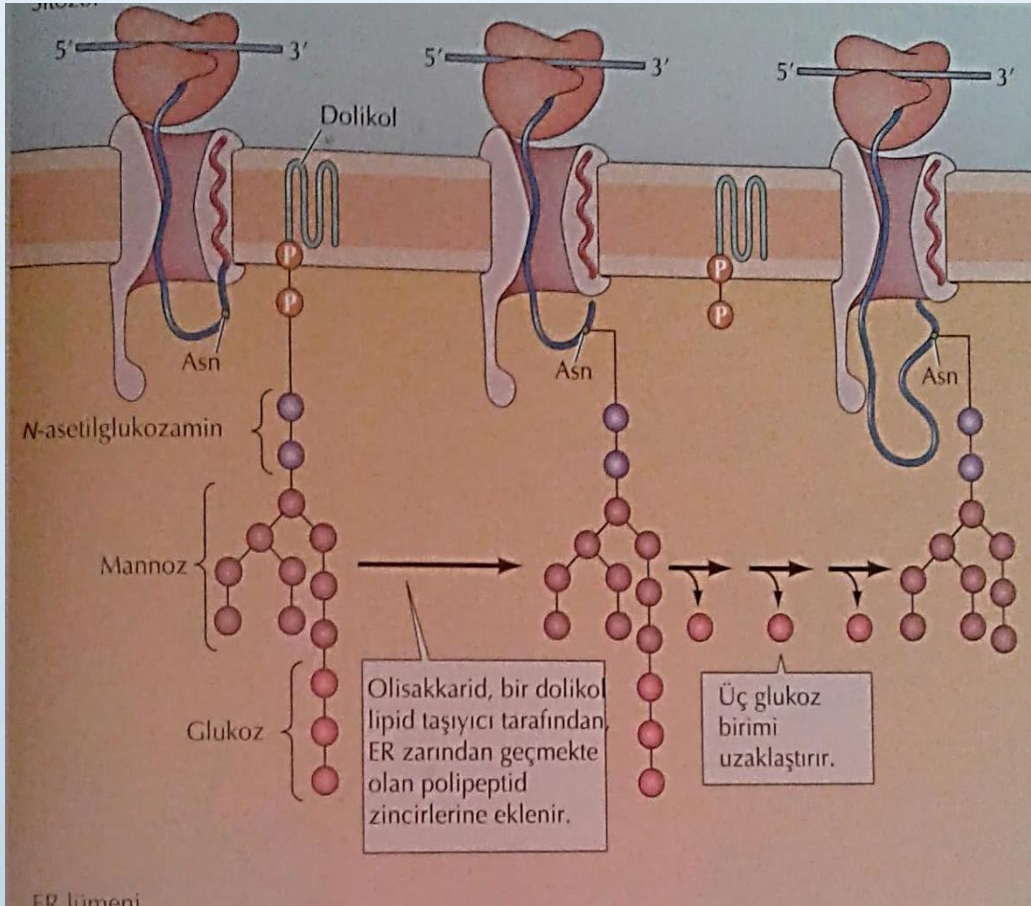
(B) Cisternal maturation model



Olgunlaşan sarnıç modelinde proteinler bulunduları yapı içerisinde golgi bölmelerinden sırayla taşınır ve her aşamada bu yapı olgunlaşarak cisten transa doğru hareket eder.

Proteinlerin Golgi İçinde Glikozillenmesi

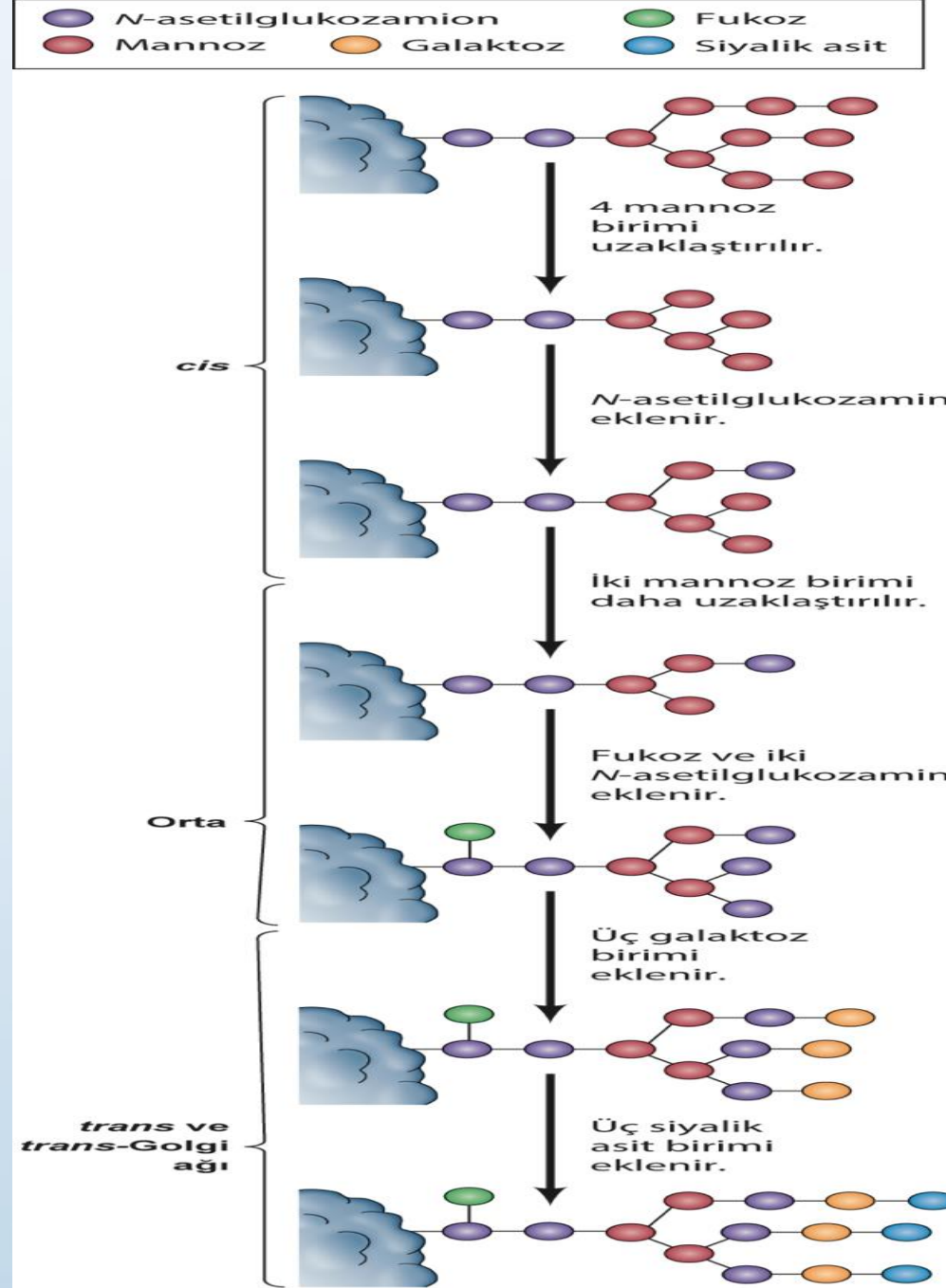
Bu aşama, glikoproteinlerin karbonhidrat kısımlarının kapsamlı modifikasyonunu içerir. Glikoproteinlere farklı şeker birimlerinin eklenmesini sağlayan 250'den fazla enzim bulunmaktadır. Bu enzimler farklı kısımlarda konumlandığından glikoproteinlerde karbonhidrat işlenmesi, golgi kompleksinden taşınırken sıralı bir şekilde gerçekleşir.



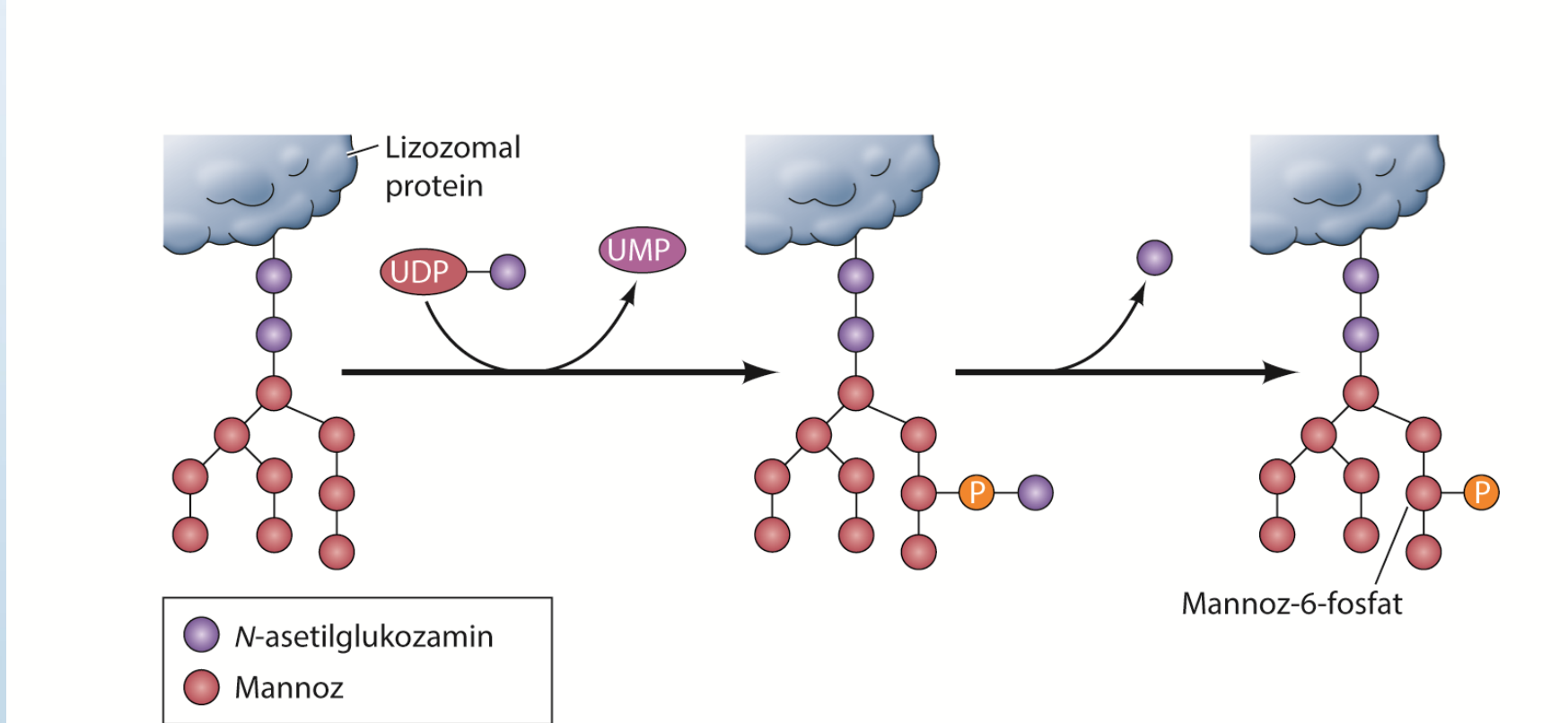
Hatırlatma : Uzayan polipeptid zincirleri ER zarından lümeneye geçerken asparajin birimlerine 14 şeker biriminden oluşan oligosakkarit birimleri eklenir. Protein henüz ER içindeyken 3 glukoz birimi uzaklaştırılır, protein golgiye taşındıktan sonra bu glikoproteinlerin N-bağlı oligosakkaritleri daha ileri işlemlere tabi tutulur.

Golgi'de **cis kısmına** aktarılan N-bağlı oligosakkaritlerden;

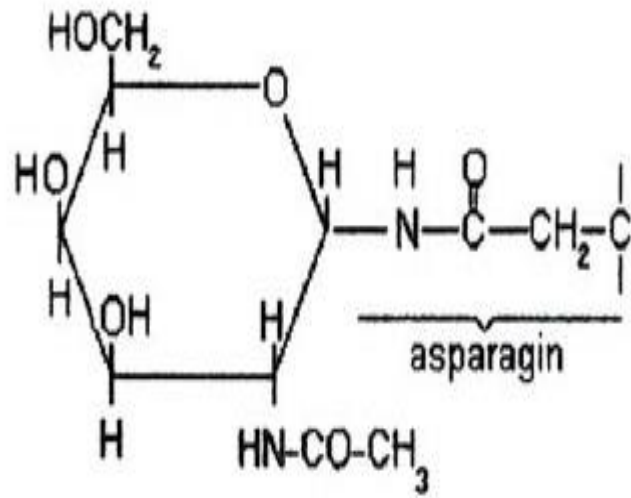
1. 4 mannoz birimi uzaklaştırılır,
2. N-asetilglukozamin eklenir,
3. **Cis bölgeden medyal kısma geçiş** yapılırken 2 mannoz kalıntısı uzaklaştırılır.
4. 1 fukoz, 2 N-asetilglukozamin birimleri eklenir.
5. **Trans bölgeye geçilir** ve bu esnada 3 galaktoz kalıntısı eklenir.
6. **Trans ve Trans golgi ağı bölgelerinde** 3 siyalik asit kalıntısı eklenir.



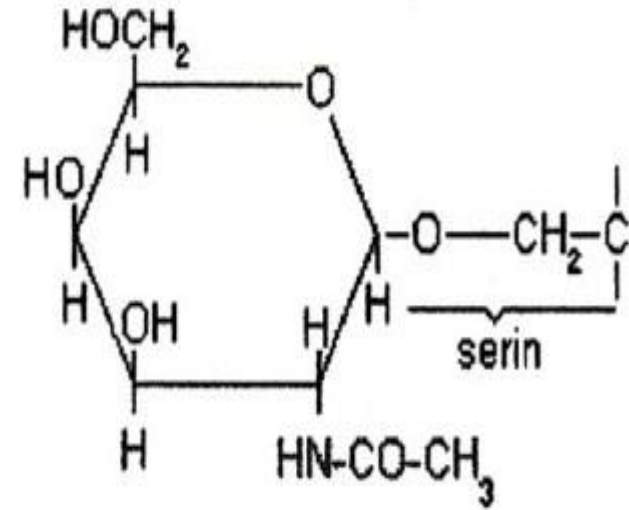
Lizozomal proteinlere ait N-bağlı oligosakkaritlerin işlenmesi, salgılanan ya da plazma zarına yerleşik proteinlerden farklıdır. Bu proteinler, mannoz birimlerinin uzaklaştırılması yerine mannoz fosforillenmesi ile değiştirilirler. Bu reaksiyonun ilk aşamasında, N-asetilglukozamin fosfatlar, protein hala cis golgi ağında iken spesifik mannoz birimlerine eklenir (1). Daha sonra N-asetilglukozamin grubu uzaklaştırılır ve reseptörler tarafından tanınan mannoz-6-fosfat grupları kalır(2).



Proteinler ayrıca spesifik aminoasit dizileri içerisinde bulunan alıcı serin ve treonin kalıntılarına yan zincirlerine karbonhidratların eklenmesiyle de modifiye edilebilir. Buna **O-bağlı glikozillenme** denilmektedir.



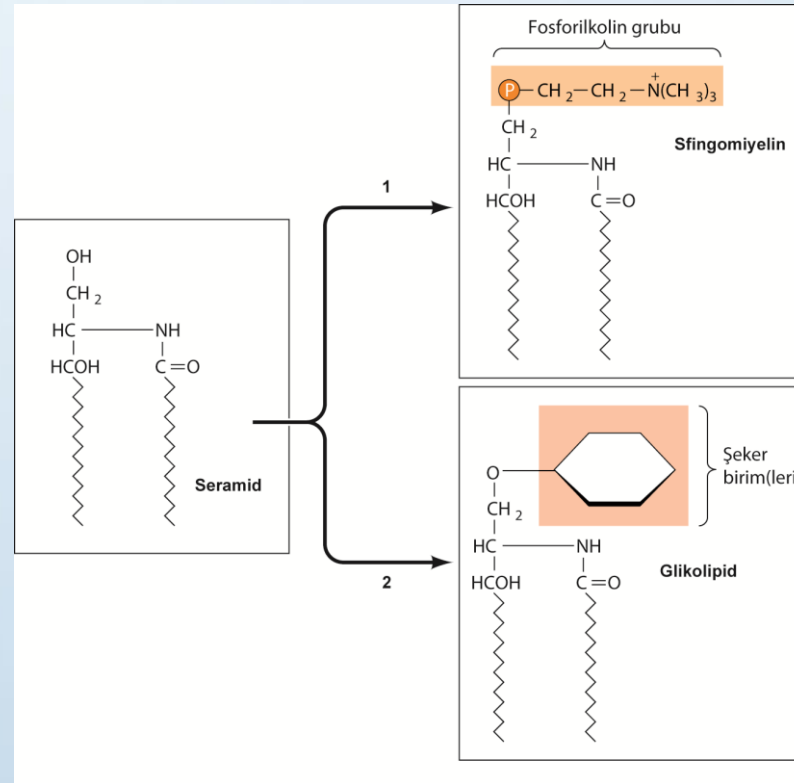
Şekil 1. Bir N-bağlı glikoprotein (N asetil glikozaminin asparajine bağlanması) (4).



Şekil 2. Bir O-bağlı glikoprotein (N asetil galaktozaminin serine bağlanması) (4).

Golgideki Lipid ve Polisakkarid Metabolizması

Golgi aygıtı, lipid metabolizmasında özellikle glikolipid ve sfingomiyelin sentezinde rol oynar. Gliserol fosfolipidler, kolesterol ve seramid ER'de sentezlenir. Daha sonra Golgi aygıtında seramid kullanılarak glikoproteinler ve sfingomiyelin sentezlenir.

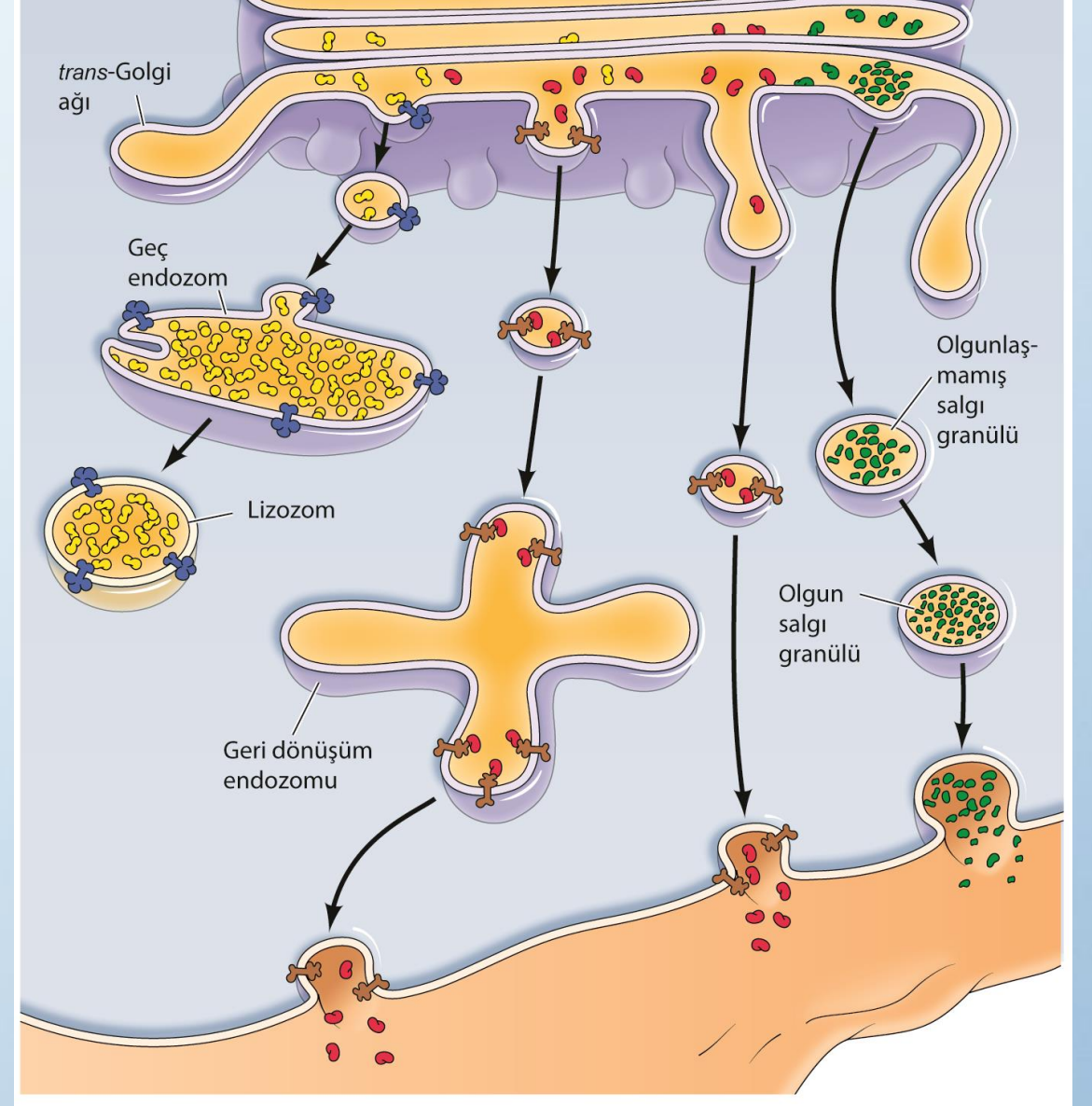


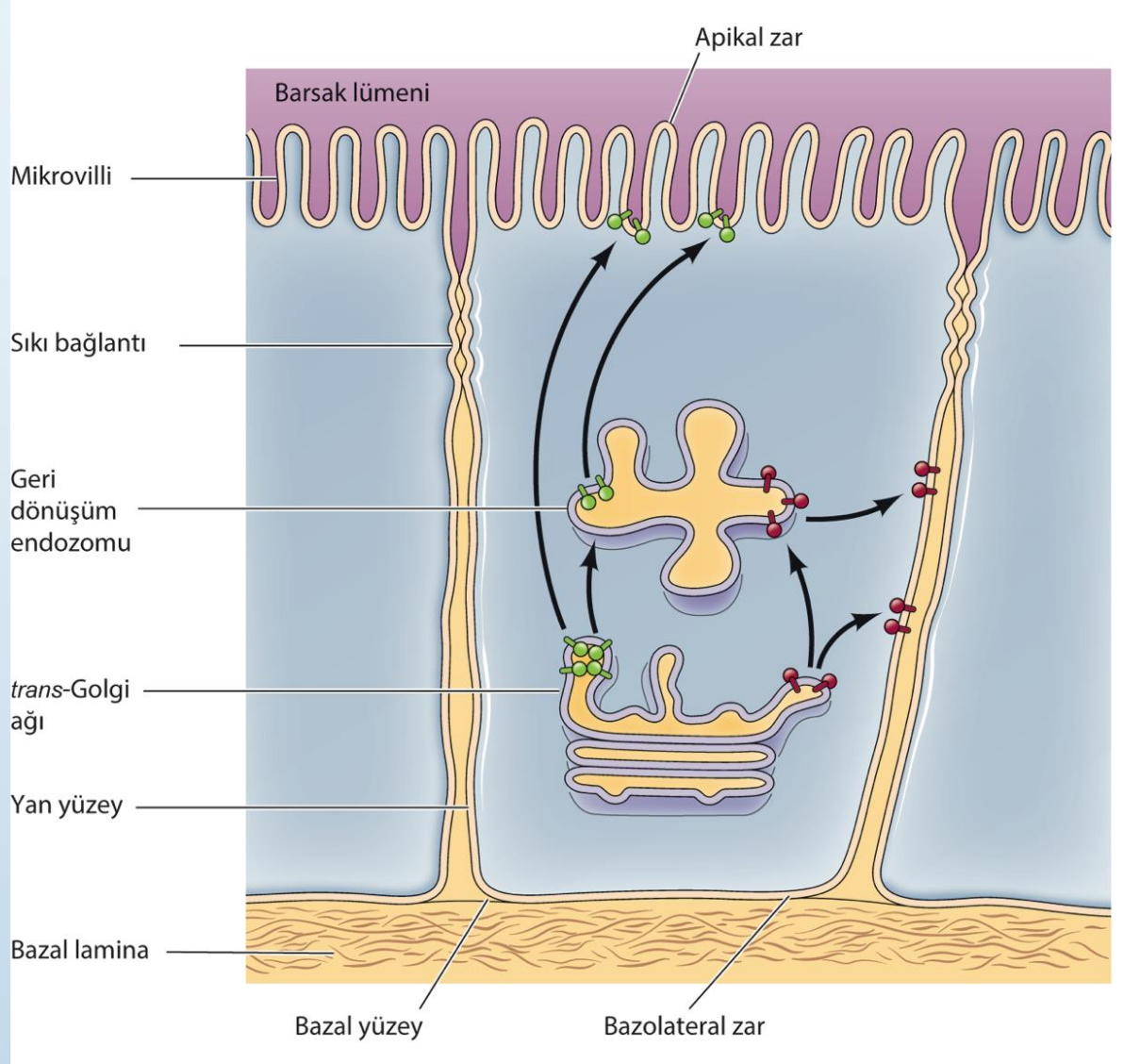
Proteinlerin Tasnifi ve Golgi Aygıtından Dışarı Gönderilmesi

Protein, lipid ve polisakkaritler Golgi aygıtından son yerleşim yerlerine salgı yolağıyla taşınırlar. Bu süreç proteinlerin, trans-golgi ağından tomurcuklanan farklı veziküllere dağılmasını ve vezikül içeriğinin uygun hücreyel yerleşim yerine gönderilmesini kapsar.

Bazı proteinler, doğrudan ya da endozomları bir ara basamak olarak kullanarak Golgi'den plazma zarına taşınırlar. Diğerleri hücreden salgılanır.

Golgi aygıtından hücre yüzeyine taşıma en az üç yolla gerçekleşir. En basit yol, proteinlerin hücreden sürekli salgılanmasına olanak veren, bunun yanı sıra plazma membranına protein ve lipidlerin eklenmesini de sağlayabilen, trans-golgi ağından hücre yüzeyine doğrudan taşımadır. Buna ek olarak proteinler Golgi'den plazma zarına, hayvan hücrelerinde bulunan üç endozom türünden biri olan geri dönüşümlü endozomların bir ara formuyla da taşınabilirler.





Epitel hücrelerinde, proteinlerin plazma membranına taşınmasında bir zorluk ortaya çıkmaktadır. Epitel hücreleri dokular halinde organize olduklarında, polarize olurlar.

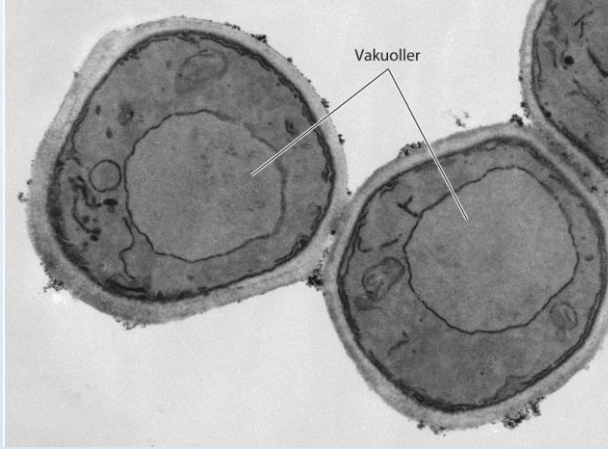
Bu tip hücrelerin plazma zarları, kendi özgül işlevlerine göre farklı proteinleri barındıran, **apikal bölge** ve **bazolateral bölge** olarak iki farklı bölgeye ayrılır. Plazma zarlarına ait farklı bölgeler epitel dışında değişik hücre tiplerinde de bulunur. Sonuç olarak **trans-golgi ağından çıkan proteinler bu farklı plazma zarı bölgelerine seçici olarak taşınabilmelidir.**

Bu sorun, proteinlerin, seçici olarak hücrenin ya apikal ya da bazolateral bölgeyi hedefleyen genel salgı vezikülüne paketlenmesiyle çözümlenmektedir.

- Bu paketlenme trans-golgi ağında veya endozom içerisinde gerçekleşebilir.
- Proteinler sitoplazmik bölgesinde bulunan di-lösin (LL) ya da tirozin içeren kısa hidrofobik motiflerle plazma zarının **bazolateral bölgesine** hedeflenir.
- **Apikal bölgeye** proteinlerin taşınması tam olarak anlaşılmamakla beraber bu süreçte amino asit dizilerinden ziyade **GPI çapaları** ve **karbonhidrat motiflerinin** rol oynadığı düşünülmektedir.

□ Golgi içerisinde tanımlanmış en iyi protein tasnif ve taşınması proteinlerin lizozoma seçici olarak hedeflenmesidir. Lümendeki lizozomal proteinler, golgiye girdikten sonra N-bağlı oligosakkaritlerdeki modifikasyon sonucu mannoz-6-fosfat ile işaretlenir , trans-golgi ağında mannoz-6-fosfata özgü bir reseptör bu birimleri tanır ve sitozolik bölgelerinde reseptör-lizozomal enzim kompleksi yönlendirme dizilerini içeren reseptörler, taşıyıcı veziküllere paketlenerek daha sonra lizozomlara olgunlaşacak olan genç enzimlere hedeflenir.

- Lizozomları olmayan maya ve bitki hücrelerinde proteinler, golgiden sonra vakuole hedeflenir. Vakuol lizozom işlevlerinin yanı sıra, osmotik denge ve turgor basıncının düzenlenmesinden de sorumludur.

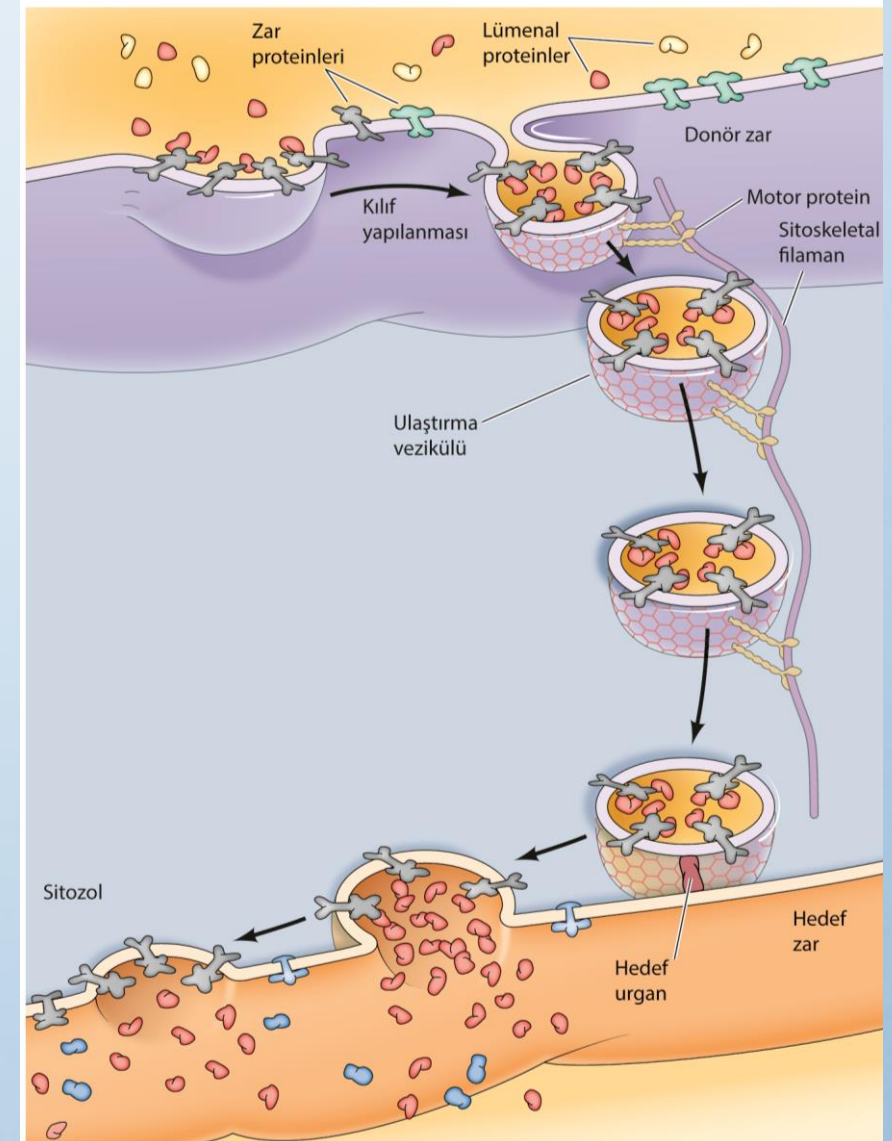


VEZİKÜLLE TAŞINMA MEKANİZMASI

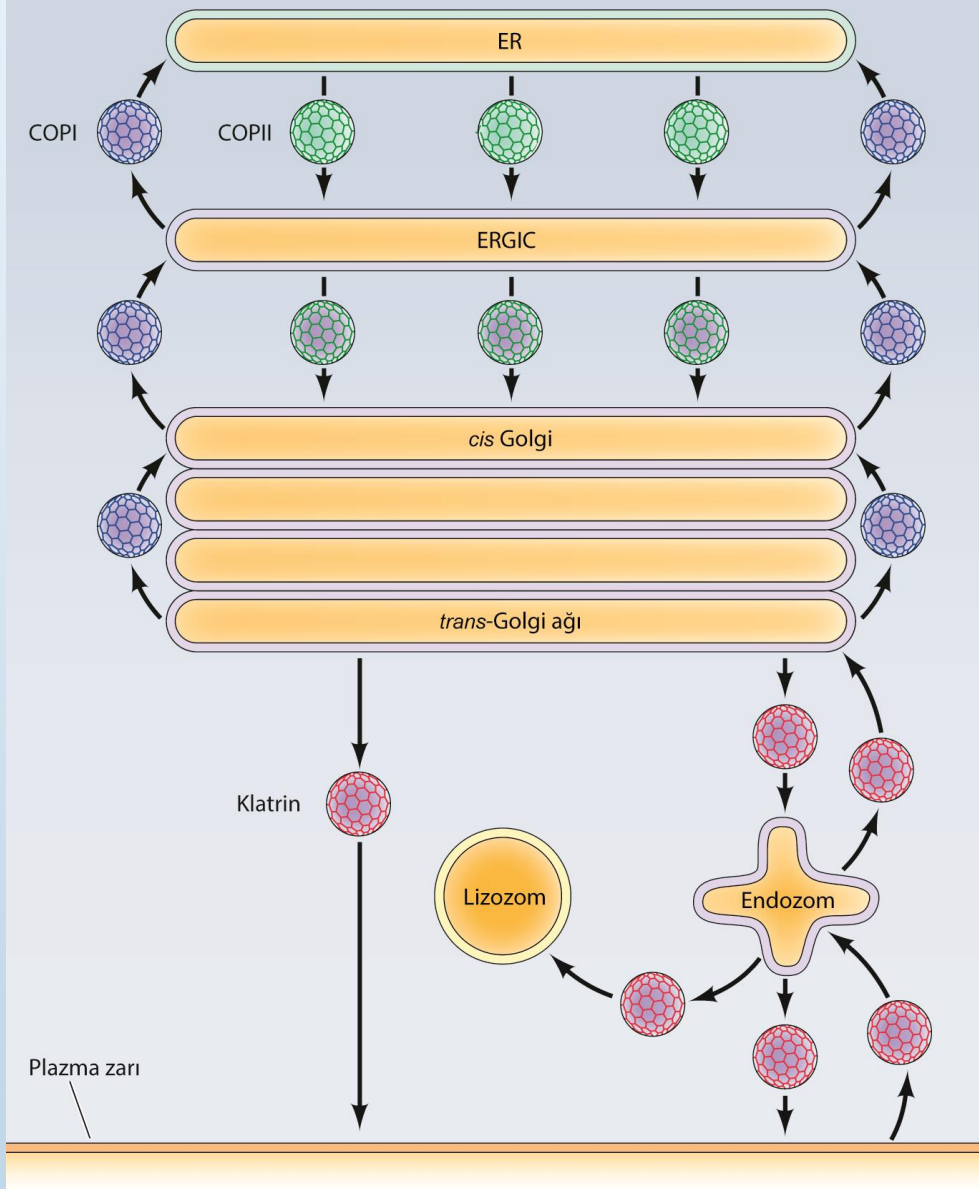
Kargo seçimi, kaplayıcı proteinler ve vezikül tomurcuklanması

ER'den ileriye salgı proteinlerini taşıyan veziküller, sitozolik manto proteinleri ile kaplı olduklarından, mantolu veziküller olarak adlandırılırlar. Spesifik kargo proteinlerini barındıran vezikülün etrafında manto proteinlerinin bir araya gelmesi, verici membrandan tomurcuklanma sürecinin yürütülmesinde önemli rol oynar.

Daha sonra veziküller hücre iskelet flamanları üzerinde ilerleyerek hedeflerine ulaşır ve hedef membranda manto proteinleri vezikülden ayrılarak veziküllerin zarla kaynaşmasına, lüminal kargolarını boşaltmasına ve membran proteinlerinin hedef membranda yerleşimine izin verir.



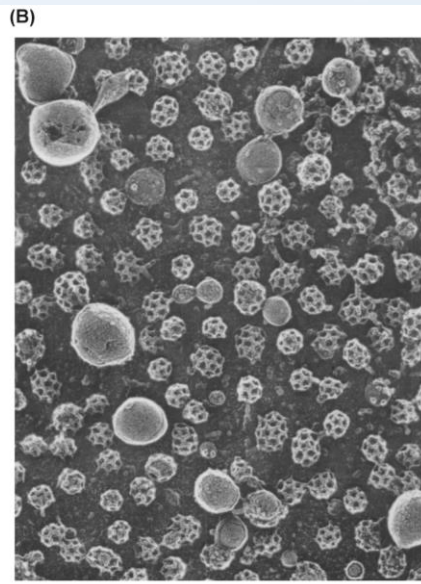
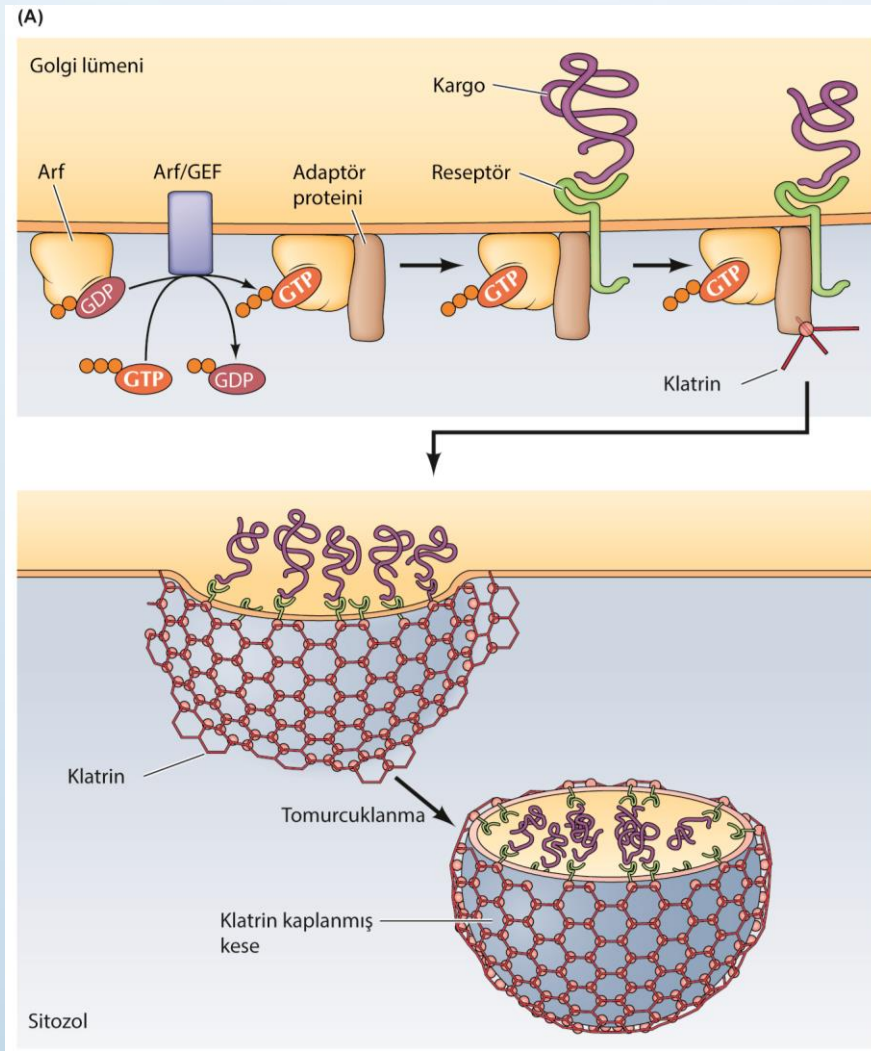
Klatrin, COPI ve **COPII** (COP: manto proteinleri) olmak üzere üç vezikül manto protein ailesi tanımlanmıştır.



COP-II kaplı veziküller translasyonel ER'den tomurcuklanarak kargolarını, ER'den ERGIC'e, oradan da golgi aygıtına ve salgı yolağında ileriye doğru taşıyarak götürür.

COP-I kaplı veziküller ERGIC veya golgiden tomurcuklanır ve kargolarını yolakta geriye doğru taşıyarak daha önceki kompartımanlara geri götürür.

Klatrin kaplı veziküller kargoların trans golgi ağından endozom, lizozom ve hücre zarına doğru taşınmasından sorumludur.



Taşıyıcı veziküllerin oluşumu Ras ve Ran proteinleriyle ilişkili küçük GTP-bağlayan proteinler(arf ve sar) tarafından düzenlenir. **Arf**, Golgi aparatından tomurcuklanan COPI ve klatriin kaplı veziküllerin oluşumunda rol alırken; **Sar**, ER'den tomurcuklanan COPII kaplı veziküllerin oluşumunda rol oynar. GTP-bağlayan bu proteinler hem kargo hem de manto proteinleriyle etkileşime girerek vezikül oluşumunu destekleyen adaptör proteinleri çağırır.

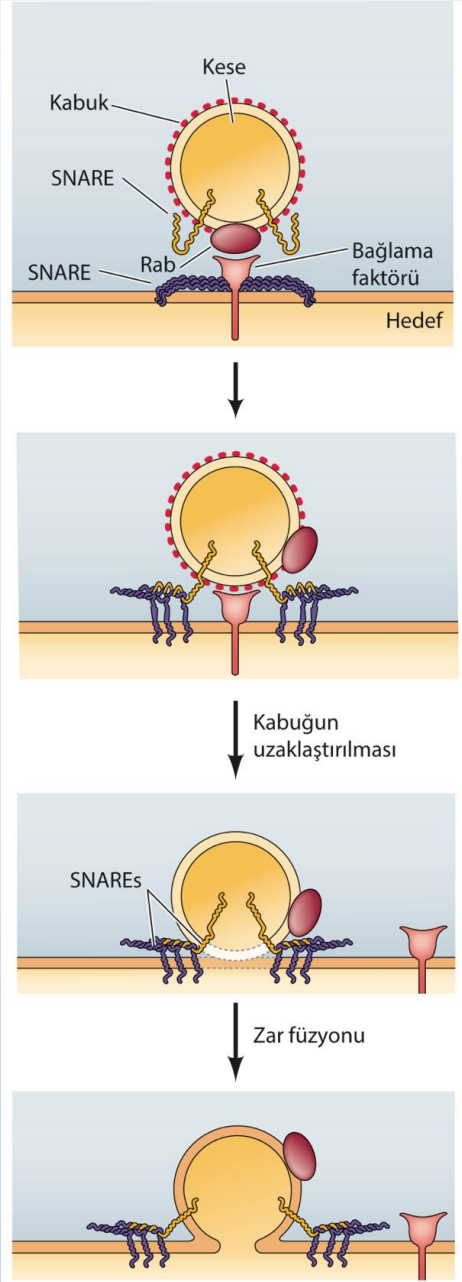
Vezikül Kaynaşması

Taşıyıcı vezikülün hedefi ile kaynaşması için iki farklı olayın gerçekleşmesi gerekmektedir.

- Taşıma veziküllerinin doğru hedef zarını tanıması,
- Vezikül içeriğinin hedef organelle aktarılması için vezikül ile hedef organel zarlarının birbiriyle kaynaşması.

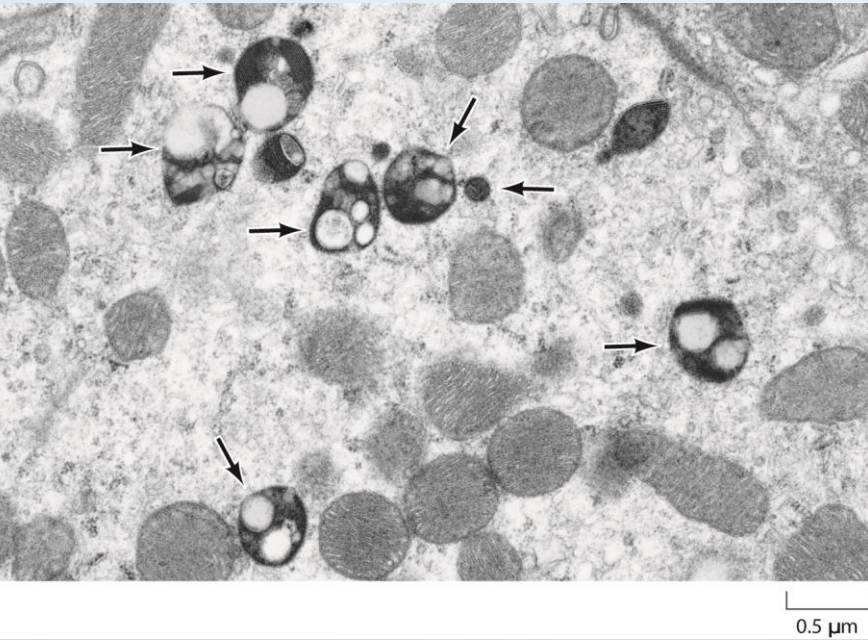
Taşıyıcı veziküller ile hedef zar arasındaki ilk etkileşim **bağlayıcı faktörler** ve **küçük GTP bağlayan proteinler (Rab proteinleri)** ile düzenlenir.

Vezikül membranda bulunan bir **Rab proteini**, hedef membran ile ilişkili bir **bağlayıcı faktöre bağlanır**. Bunu takiben, hedef ve vezikül membranlarındaki **SNARE proteinleri aralarında kompleksler oluşturur**. SNARE'lerin **coiled-coil** bölgeleri bir fermuar gibi birbirine bağlanarak vezikül ve hedef membranları fiziksel olarak yakınlaştırır ve membranlar kaynaşır.



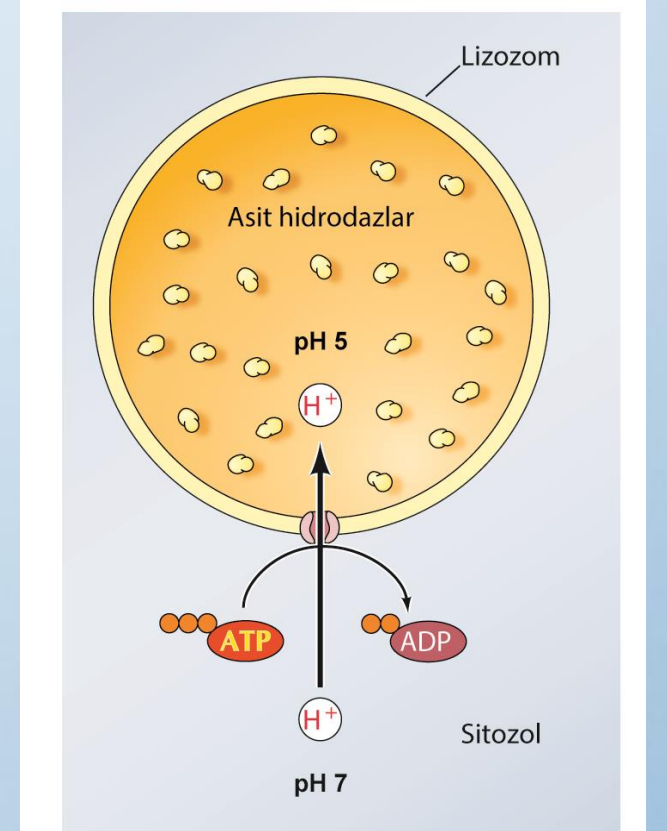
Lizozomlar

Lizozomlar; protein, nükleik asit, karbonhidrat ve lipid gibi her türlü biyolojik polimeri parçalayacak enzimler içeren zarla çevrili organellerdir. 60 kadar farklı yıkım enzimini barındırırlar. Bu enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar, etkilenen kişilerde lizozom içi materyalin birikimi nedeniyle **lizozomal depo hastalıkları** olarak tanımlanan 30'dan fazla hastalıktan sorumludur (Örn. Gaucher Hastalığı).



Lizozom

Lizozomal enzimlerin çoğu lizozom içi asidik pH'da (5 civarı) aktif olan ancak sitoplazmanın nötral pH'ında (7,2) aktivite göstermeyen asit hidrolazlardır. Lizozomal hidrolazların asidik pH'ya gereksinimleri, sitozol içeriğinin istenmeyen sindirime karşılık çifte koruma sağlamaktadır.



Lizozom organizasyonu

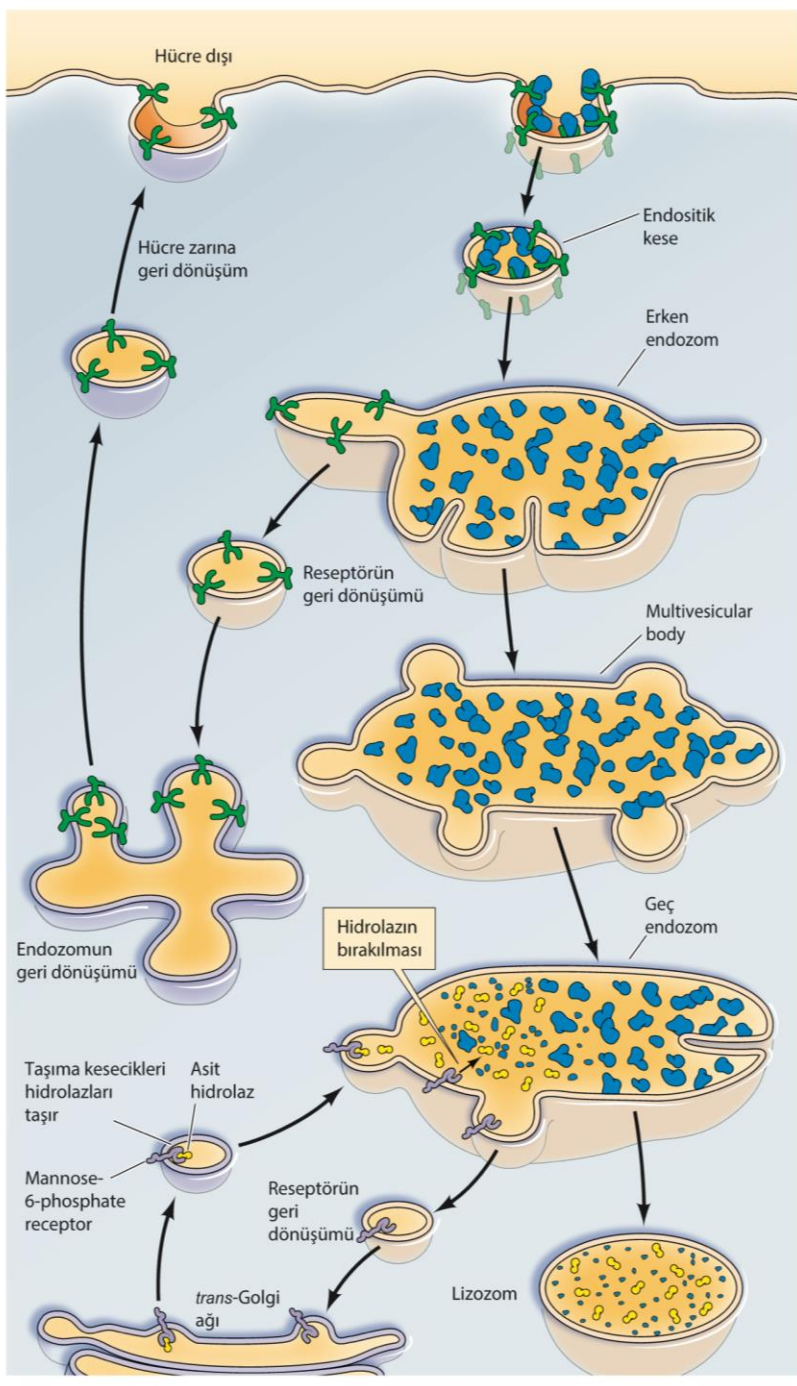
Endositoz ve Lizozom Oluşumu

Hücre dışındaki moleküller, erken endozomlar ile kaynaşan endositik veziküller aracılığıyla hücre içine alınır.

Membran reseptörleri geri dönüşüm endozomları ile hücre zarına geri gönderilir. Öte yandan erken endozomlar, geç endozomlara ve çok veziküllü yapılara olgunlaşabilir.

Trans-golgi ağından gelen ve asit hidrolazları taşıyan veziküller geç endozomlar ile kaynaşarak, onların lizozomal enzimlerini tamamlayarak lizozoma olgunlaşmalarını sağlar.

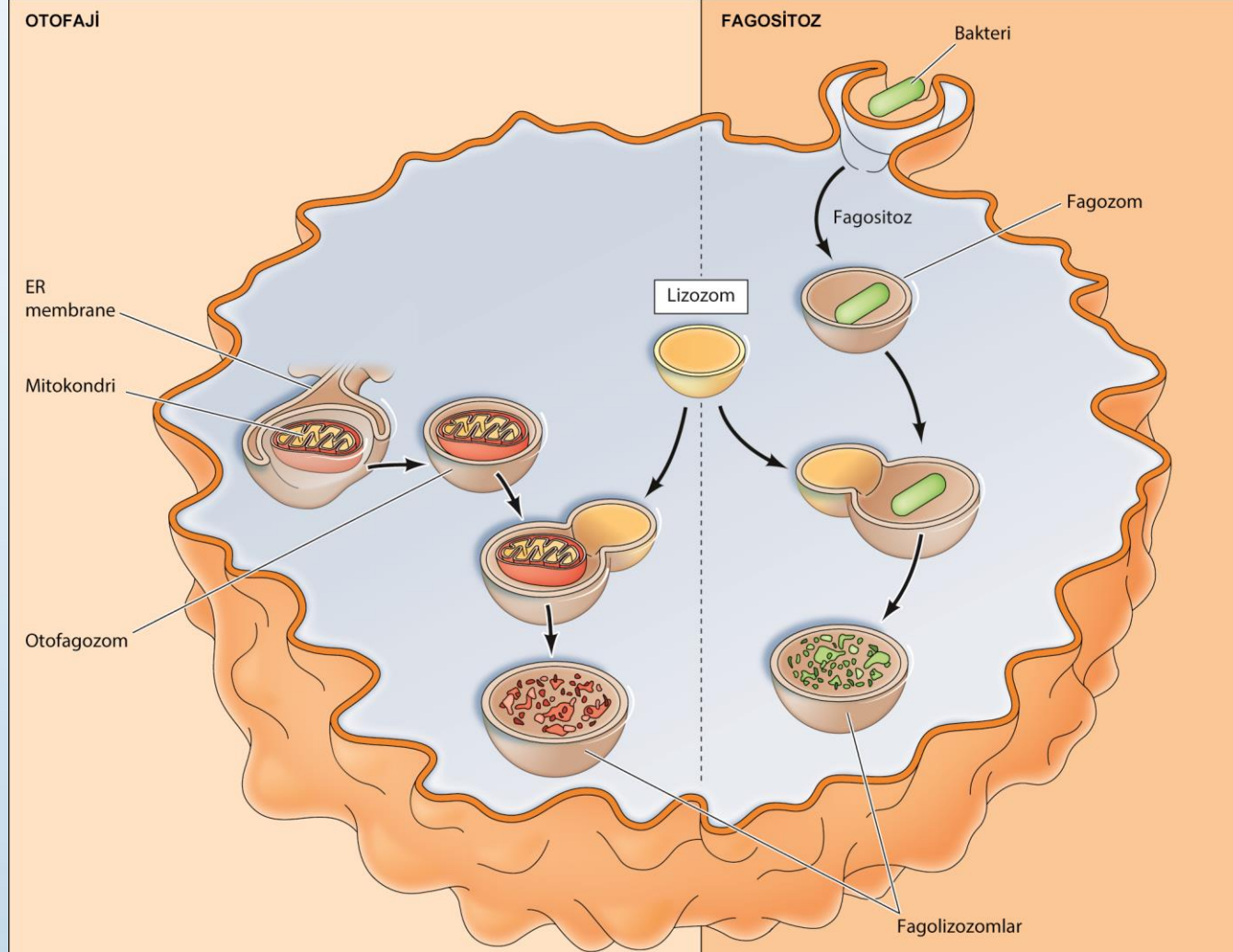
Taşıma vezikülleri geç endozomlar ile kaynaştığında asit hidrolazlar mannoz-6-fosfat reseptörlerinden ayrılır ve mannoz-6-fosfat reseptörleri trans-golgi ağına geri gönderilir.



Fagositoz ve Otofaji

Endositoz yoluyla alınan moleküllerin yıkımına ek olarak, lizozomlar iki farklı yolla gelen materyali de sindirirler.

Otofaji, hücrenin kendi yapıtaşlarının aşamalı olarak dönüşümünü sağlar. Fagositozdan farklı olarak tüm hücrelerde izlenen bir işlevdir ve hücrede uzun ömürlü proteinlerin kademeli olarak yıkımını sağlar. Otofajinin ilk adımı, bir organelin ER'den türemiş bir zar ile çevrelenmesidir. Bu şekilde oluşan vezikül (otofagozom) bir lizozom ile kaynaşır ve içeriği sindirilir. Otofaji ile hücre yapıtaşları sürekli yenilenirken aynı zamanda gelişim süreçleri ve stres yanıtları da düzenlenir.



Fagositozda, makrofaj gibi özelleşmiş hücreler, bakteri, hücre artıkları ve vücuttan atılması gereken yaşlı hücreler gibi büyük partikülleri içine alıp parçalarlar. Bu tür partiküller lizozomlarla kaynaşan fagositik vakuoller (**fagozomlar**) içine alınır. Bu şekilde oluşan lizozomların (**fagolizozomlar**) boyut ve şekilleri sindirdikleri içeriğe bağlı olduğundan oldukça büyük ve farklı yapılarda olabilirler.