

PROTEİN MÜHENDİSLİĞİ

Yrd. Doç. Dr. EMEL ORDU

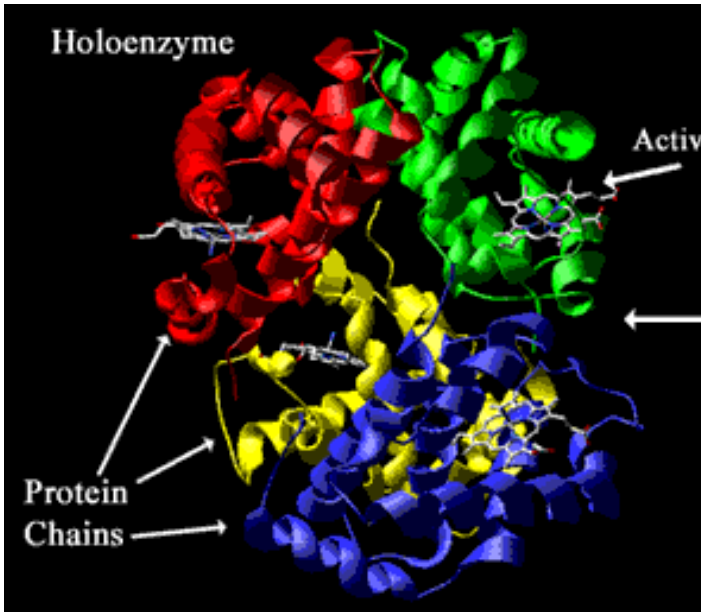
Yıldız Teknik Üniversitesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
2016

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

PRİMER YAPI, İKİNCİL YAPILAR, MOTİFLER

- Amino asit polimerleri olan proteinler büyük organik bileşiklerdir
- Canlı organizmaların temel bileşenlerdir

protean: farklı formlara girebilen mutasyona uğrayabilen, değişebilen,



Proteinler tüm canlıların yapılarında bulunduğu gibi

- iskelet ve kas sistemi (kimyasal enerjinin harekete cevrilmesi,
- dokular, vitamin,
- oksijen ve karbondioksit taşınması,
- katalitik, kinetik faliyetler (enzimatik reakisyonlar)
- sinyal iletimi
- Deteksiyon (rhodopsin-ışığın algılanması, oflactory receptors (sesin algılanması)

gibi faaliyetlerde yer alırlar.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

PRİMER YAPI, İKİNCİL YAPILAR, MOTİFLER

Proteinler değişim için en iyi adaylardır; bazen bir ya da birkaç mutasyonla bile fonksiyonlarını değiştirebilirler.



Mutasyonların Olumlu Etkisi

Evrim boyunca canlılar

- kaynar sular
- soğuk buz denizleri,
- dünyanın çok yüksek bölgeleri
- derin denizler
- mutlak karanlık mağaralara kadar

bulundukları ortama uyum sağlamıştır.

Bu uyum mutasyonlar sayesinde gerçekleşen yeni ve farklılaşmış veya gelişmiş diyebileceğemiz fenotipleri sayesinde olmuştur.

Doğal süreçte proteinler bulundukları ortamın değişen koşullarına uyum sağlayabilmek için çok farklı stratejilele değişmiş ya da gelişmiştir.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

PRİMER YAPI, İKİNCİL YAPILAR, MOTİFLER

Mutasyonların olumsuz Etkisi:

Proteini kodlayan gen bölgesinde ya da gen anlatımını kontrol eden DNA dizisinde meydana gelen bir mutasyon, bovine spongiform gibi prion diseases, Alzheimer diseases, Parkinson diseases, amylodosis gibi hastalıklara sebep olur.

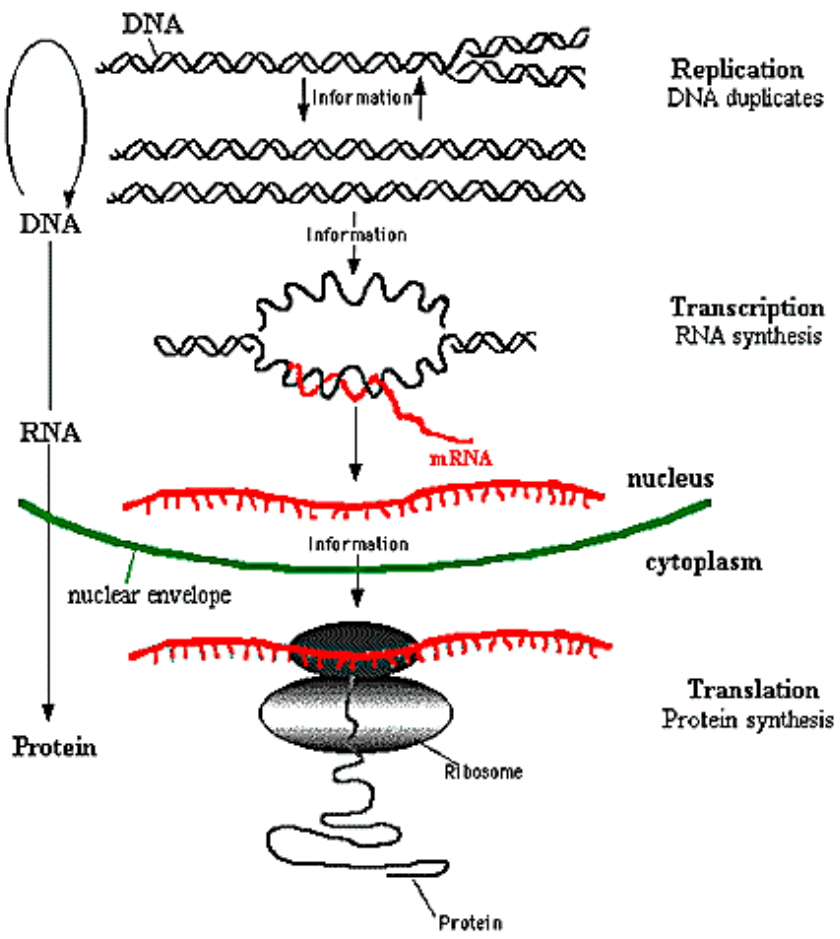
Birçok endüstride kullanılan enzimler de protein yapıda moleküllerdir.

Reaksiyonları hızlandıran organik moleküller olarak bilinen enzimler, günümüzde sağladığı avantajlar nedeniyle **tekstil, dericilik, zararlı atık temizliği, eczacılık, deterjan** gibi birçok endüstriyel alanda başarıyla kullanılmaktadır.



PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Proteinler bir ya da daha fazla polipeptid içeren makromoleküllerdir.



The Central Dogma of Molecular Biology

Proteinlerin yapı birimi amino asitlerdir.

- Doğada 300 civarında amino asit bulunur.

22 tanesi standart amino asit olarak bilinen, DNA tarafından kodlanan ve uygun tRNA antikodonları bulunan aalerdir.

- 22 tane aa çeşitli kombinasyonlar oluşturacak şekilde biraraya gelerek

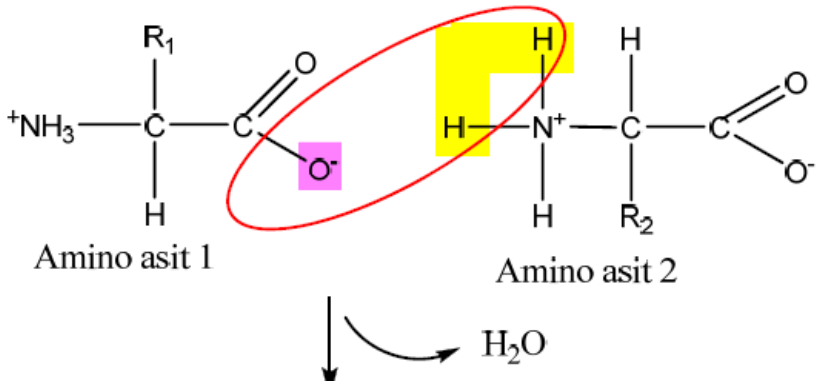
•enzim
•hormon,
•antikor,
•transporter,
•kas, gözün lens proteini,
•örümcek ağı, boynuz, süt proteini, antibiyotik, mantar zehiri gibi farklı fonksiyonlara sahip yuzbinlerce farklı protein molekulunun yapısında yer alırlar.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

AMİNO ASİTLER

Proteinler amino asit polimerlerdir.

Herbir amino asid birbirine özel bir tip kovalent bağ ile bağlanır.



	T			C			A			G		
T	TTT	Phe	F	TCT	Ser	S	TAT	Tyr	Y	TGT	Cys	C
	TTC	Phe	F	TCC	Ser	S	TAC	Tyr	Y	TGC	Cys	C
	TTA	Leu	L	TCA	Ser	S	TAA	stop	*	TGA	stop	*
	TTG	Leu	L	TCG	Ser	S	TAG	stop	*	TGG	Trp	W
C	CTT	Leu	L	CCT	Pro	P	CAT	His	H	CGT	Arg	R
	CTC	Leu	L	CCC	Pro	P	CAC	His	H	CGC	Arg	R
	CTA	Leu	L	CCA	Pro	P	CAA	Gln	Q	CGA	Arg	R
	CTG	Leu	L	CCG	Pro	P	CAG	Gln	Q	CGG	Arg	R
A	ATT	Ile	I	ACT	Thr	T	AAT	Asn	N	AGT	Ser	S
	ATC	Ile	I	ACC	Thr	T	AAC	Asn	N	AGC	Ser	S
	ATA	Ile	I	ACA	Thr	T	AAA	Lys	K	AGA	Arg	R
	ATG	Met	M	ACG	Thr	T	AAG	Lys	K	AGG	Arg	R
G	GTT	Val	V	GCT	Ala	A	GAT	Asp	D	GGT	Gly	G
	GTC	Val	V	GCC	Ala	A	GAC	Asp	D	GGC	Gly	G
	GTA	Val	V	GCA	Ala	A	GAA	Glu	E	GGA	Gly	G
	GTG	Val	V	GCG	Ala	A	GAG	Glu	E	GGG	Gly	G

Proteinlerin yapı ve fonksiyonları aa dizileri tarafından belirlenir.

mRNA dizisindeki 3lü baz grupları (triplet) 22 aminoasit molekülünü kodlamaktadır. 3lü baz gruplarına kodon adı verilmektedir.

(A T G C) triplet oluşturarak bir amino asidi kodladığı düşünüldüğünde 4x4x4=64 olasılık

Dolayısıyla bir amino asidi kodlayan birden fazla kodon bulunmaktadır.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

İlk amino asidin keşfi 1806' da Asparagin ile olmuştur.

Treoninin 1938 yılında keşfinden sonra 1986 yılına kadar proteinlerin yapısında bulunan amino asit sayısı 20 oalrak kabul edilmiştir.

1986' da keşfedilen ve 21. amino asit olarak kabul edilen Selenosistein (Sec) ile bu dogma yıkılmıştır.

2002 yılında Ohio State Üniversitesinde Krzycki ve Chan tarafından Archaea' lara ait olan *Methanosrcina barkeri* isimli mikroorganizmada Pirolizin (Pyl) adı verilen amino asidin genetik kodu keşfedilmiştir.

Selenosstein: UGA

Pirolizin : UAG kodları tarafından şifrelenmektedir.

Sec ve **Pyl**' in keşfi ile genetik kodun stop kodonlarının yeniden programlanabileceği gösterilmiştir. (Stop kodonları: TAA, TAG, TGA)

Bu iki amino asidin keşfi araştırıcıları yeni amino asitler keşfetmeye ve bunlardan yeni endüstriyel enzimler elde etmek amacıyla çalışmalar yapmaya yöneltmiştir.

1.pozisyon bazlar \ 2.pozisyon bazlar	U	C	A	G	3. pozisyon bazlar
U	UUU Phe	UCU	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC F	UCC	UAC Y	UGC C	C
	UUA Leu	Ser UCA	UAA Stop	UGA Sec/Stop	A
	UUG L	S UCG	UAG Pyl/Stop	UGG Trp/W	G
C	CUU	CCU	CAU His	CGU	U
	CUC Leu	CCC	CAC H	CGC Arg	C
	CUA L	Pro CCA	CAA Gln	CGA R	A
	CUG	P CCG	CAG Q	CGG	G
A	AUU	ACU	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC	AAC N	AGC S	C
	AUA I	Thr ACA	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met/M	T ACG	AAG K	AGG	G
G	GUU	GCU	GAU Asp	GGU	U
	GUC Val	GCC	GAC D	GGC Gly	C
	GUC V	Ala GCA	GAA Glu	GGA G	A
	GUG	A GCG	GAG E	GGG	G

Phe: Fenilalanin
Leu: Lösin
Ile: İzolösin
Val: Valin
Trp: Triptofan
Gly: Glisin

Tyr: Tirosin
Pyl: Pirolizin
His: Histidin
Gln: Glutamin
Asn:Asparagin
Met: Metionin

Lys: Lizin
Asp: Aspartat
Glu: Glutamat
Cys: Sistein
Arg: Arginin

Ser: Serin
Sec: Selenosistein
Pro: Prolin
Thr: Treonin
Ala: Alanin

Aminoasitler isimlerini keşfedildikleri kaynaklara göre almışlardır.

Asparagin ilk kez asparaggusta,

Glutamat buğday gluteninde,

Tyrosine peynirde (Yunanca peynir anlamına gelen tyros)

Glycine (tatlı tadından dolayı yunanca tatlı anlamına gelen glykosdan almaktadır.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Doğada bulunan 22 amino asit dışında çok yaygın olmayan başka amino asitler de bulunmaktadır.

Bunlar;

- 22 amino asidin protein sentezinden sonra modifikasyona uğramış şekilleri veya
- protein yapısında yer almayan amino asitlerdir.

Nadir amino asitler:

bitki hücre duvarlarında bulunan 4-hidroksiprolin , prolin türevidir.

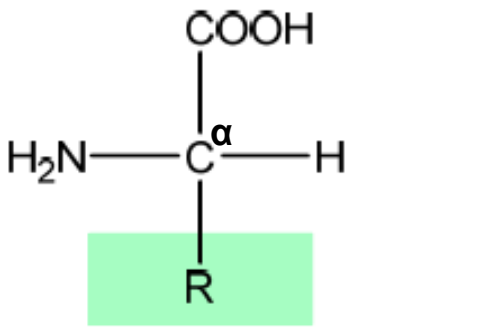
kollajen doku ve fibriller bağ dokuda bulunan 5-hidroksilizin, lizin türevleridir.

Ornithine ve Citrulline üre siklusunda ve arginine biyosentezinde ara metabolitlerdir.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ



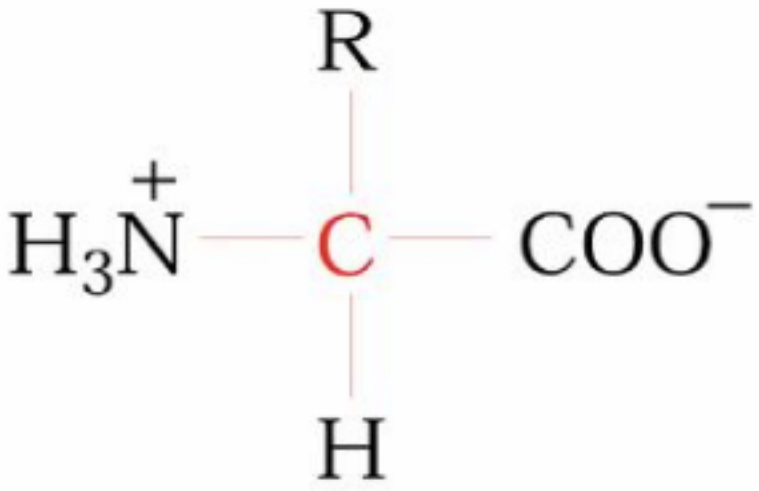
Amino asitler, amino grubunun karboksil grubuna göre bulunduğu pozisyona bağlı olarak **alfa-**, **beta**- ve **gama-amino asit** şeklinde adlandırılırlar



amino asit genel formul

Protein yapısında bulunan standart 22 amino asidin fonksiyonel grupları olan karboksil (COOH) ve amino (NH2) grupları aynı alfa karbona bağlı olduklarından **alfa amino asit** olarak tanımlanmaktadır

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ



Fizyolojik pH'da, amino asitlerin amino grubu proton taşır ve pozitif yüklüdür;

Karboksil grubundan ise proton ayrılmıştır ve negatif yüklüdür.

Amino asitleri birbirinden farklı kılan C ve N gruplarının da bağlı olduğu alfa karbona bağlı olan yan zincirlerdir. (R-grupları).

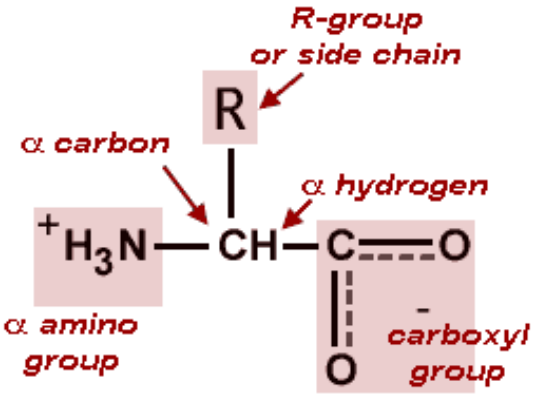
R grupları amino asitlere

- yapısal özellikler,
- elektrik yükü,
- hidrofilik ya da
- hidrofobik olma özelliklerini katmaktadır.

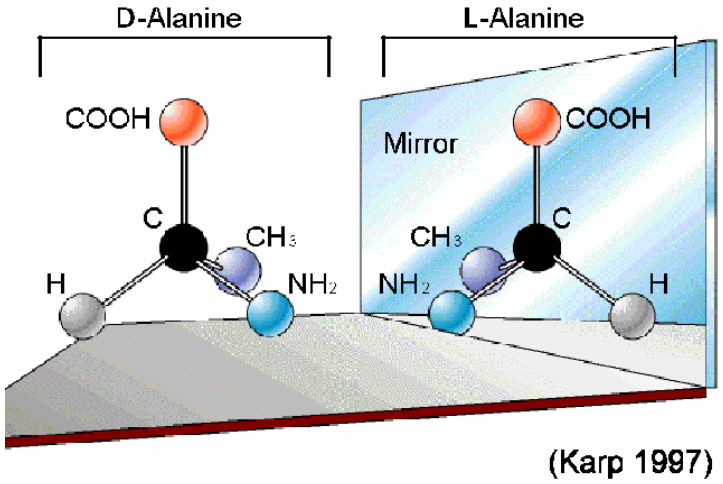
PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Glisin dışıda tüm amino asitlerde alfa karbon 4 farklı grupla bağ yapmıştır.

1. **Karboksil grup**
2. **Amino grup**
3. **R grup**
4. **H atomu**



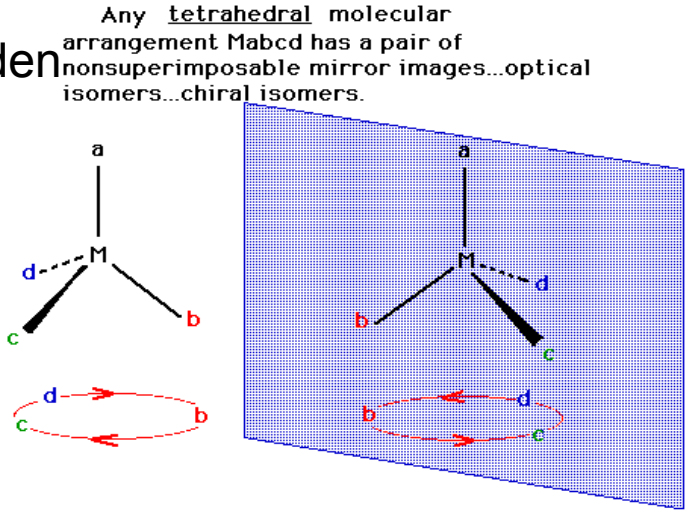
Alfa karbon= kiral merkez



(Karp 1997)

Alfa karbon etrafındaki tetrahedral düzenlenmeden dolayı aminoasitlerin 2 steroizomeri (optik izomeri) bulunmaktadır.

Birbirinin ayna görüntüsü olan bu tip steroizomerelere enantiomer adı verilir.



PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

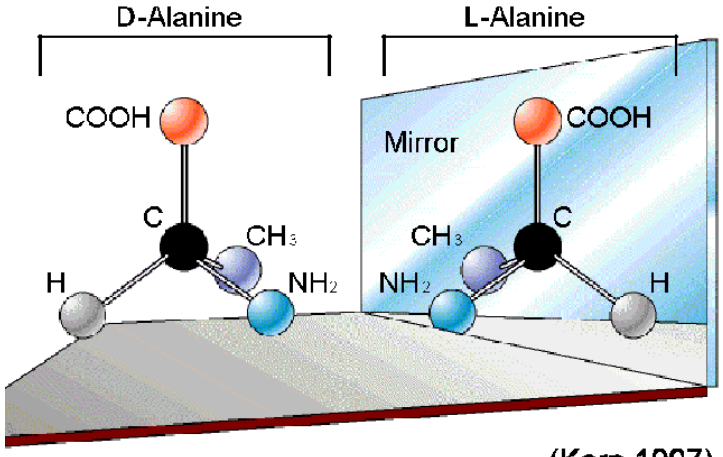
Kiral bir merkez taşıyan tüm moleküller optikçe aktiftir.

Optikçe aktif bileşikler polarize ışık düzlemine etki ederek ışık düzlemini sağa ya da sola çevirirler.

Optikçe aktif moleküllerin sulu çözeltileri de optikçe aktiflik gösterir.

Polarize ışığı sağa (D izomeri) veya sola (L izomeri) çeviren izomerleri eşit miktarda bulunduran karışıma rasemik karışım denir.

Rasemik karışımlar polarize ışığı kırmaz.

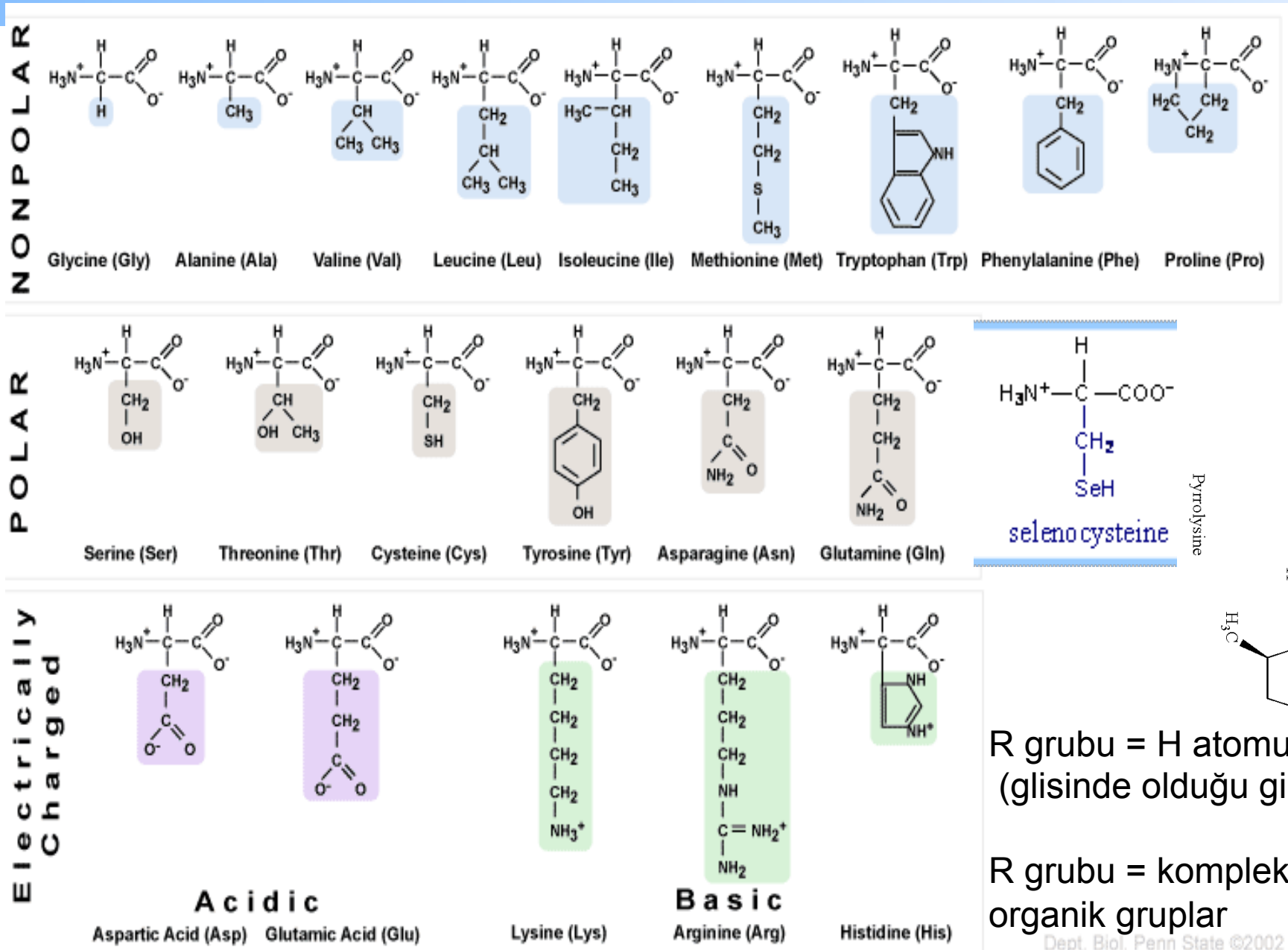


(Karp 1997)



NOT: Optikçe aktif bileşiklerin optik izomeri sayısı 2n formülüyle bulunur. “n” asimetrik karbon sayısıdır. Optik izomerin hemen hemen tüm fiziksel ve kimyasal özellikleri aynıdır.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ



R grubu = H atomu
(glisinde olduğu gibi)

R grubu = kompleks
organik gruplar

Dept. Biol. Penn State ©2002

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

AMİNO ASİT SINIFLANDIRILMASI

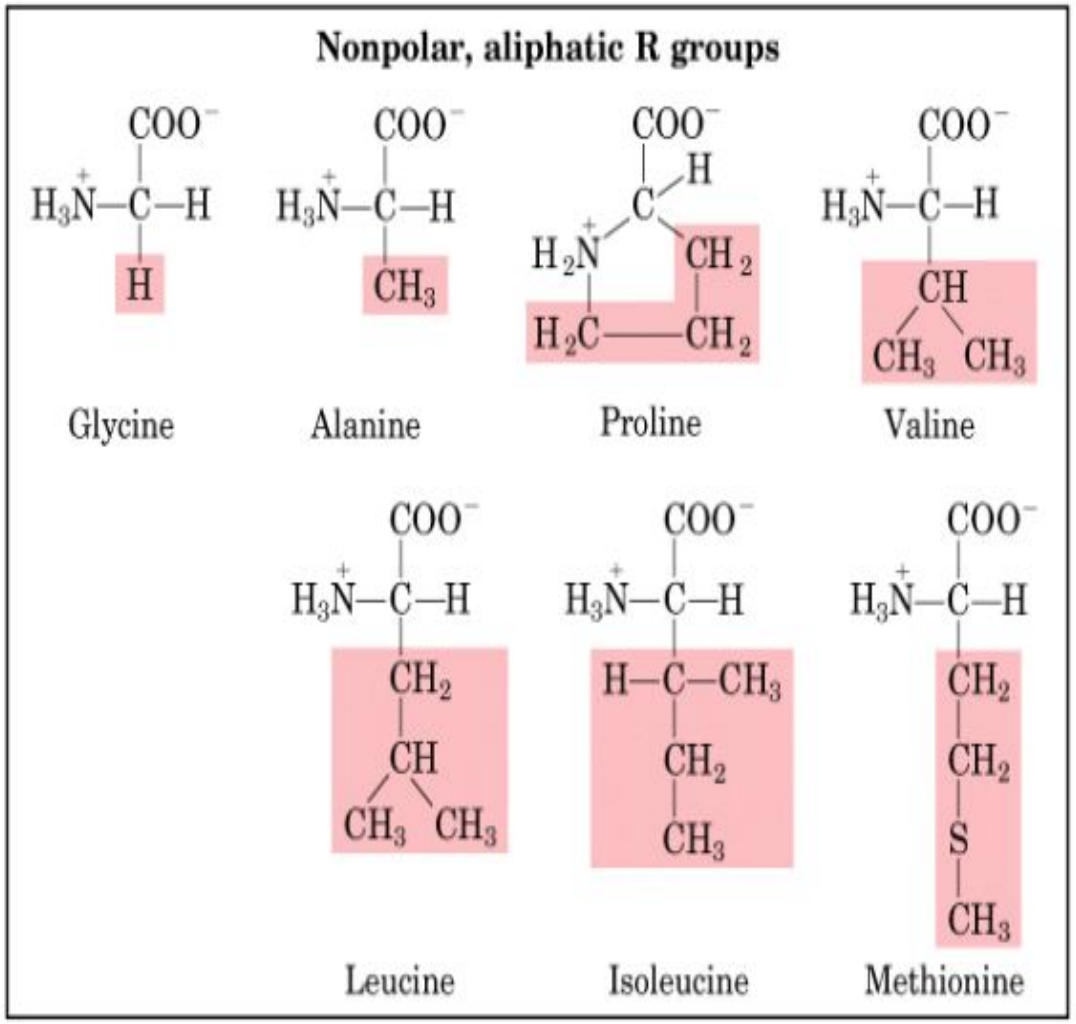
1- Nonpolar Alifatik R Grupları:
R grupları nonpolar ve hidrofobiktir.

Protein içinde birlikte kümeler oluşturmaya eğilimde olan *alanine*, *valine*, *leucine* ve *isoleucine* hidrofobik etkileşimler ile protein yapısını stabilize ederler.

***Glycine* en basit yapılı amino asittir. R grubu nonpolar olsa da bu küçük yan zinzirin hidrofobik etkileşimlere gerçek bir katkısı bulunmamaktadır.**

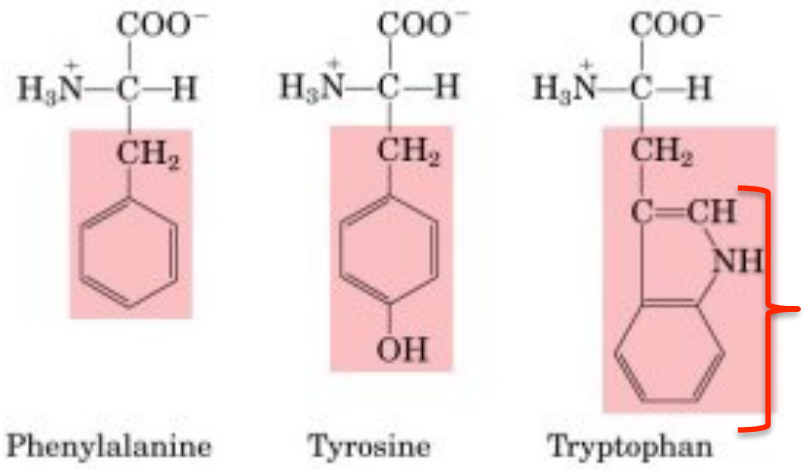
***Methionine* sülfür içeren bir yan zincire sahiptir.**

***Proline* halkasal yapıda alifatik bir yan zincire sahiptir. Yapısındaki imino grubu nedeniyle yapısal esneksikliği azaltarak bulunduğu polipetid bölgesinde ridid bir konformasyona neden olur**



PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

AMİNO ASİT SINIFLANDIRILMASI



2- Aromatik R Grupları

fenilalanin, tirosin ve triptofan

Göreceli olarak nonpolar (hidrofobik)
Hidrofobik etkileşimlere katılırlar

triozinin hidroksil grubu H bağı
yapabildiğinden enzimler için önemli bir fonksiyonel gruptur.

tirozin ve triptofan taşıdıkalrı hidroksil ve indol halkası nedeniyle
fenilalanine göre daha polar bir özellik gösteriler.

Aromatik gruplar ultraviole ışığı absorblar.
Böylece çoğu protein 280 nm dalga boyunda güçlü bir absorbans gösterir.
Bu özellik protein karakterizasyonu çalışmalarında kullanılmaktadır.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

AMİNO ASİT SINIFLANDIRILMASI

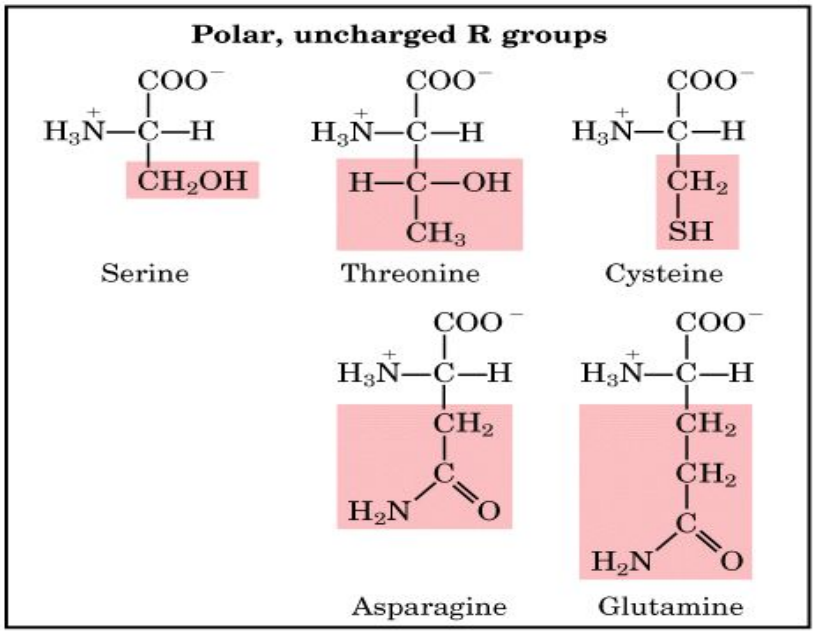
3- Polar ve Yüksüz R Grupları

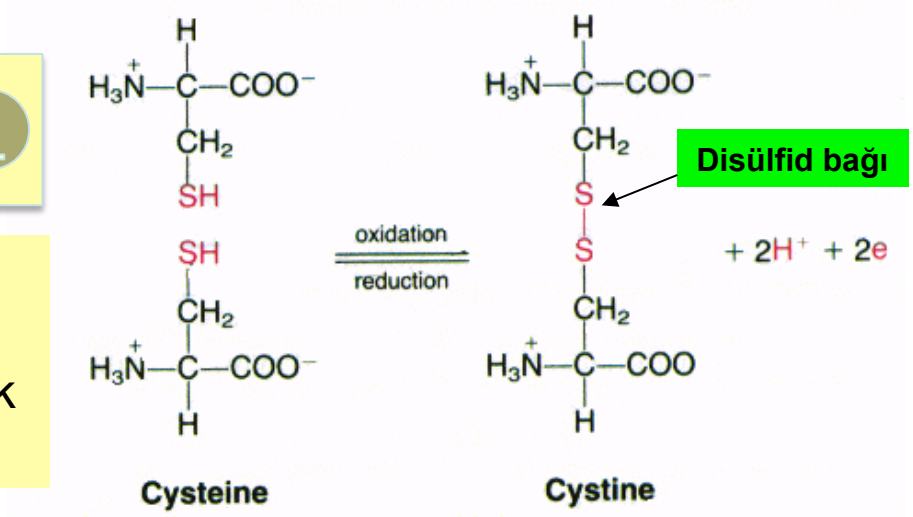
Su ile Hidrojen bağı kurabilecek yan zincirlerinden dolayı su içinde çözüebilen hidrofilik amino asitlerdir.

Taşıdıkları hidroksil, sülfdiril ve amid grupları sayesinde polar özellik gösterirler.

Asparagin ve glutamin aspartat ve glutamat amino asitlerinin amid formudur. Asit ya da baz ile kolayca hidrolize edilebilirler.

Cysteine kovalet bağlı dimerik amino asit "Cystin"e kolayca okside olabilme özelliğindedir.





Disülfid bağı iki farklı polipeptid zinciri arasında ya da protein molekülünün kısımları arasında kovalent bir bağ kurarak protein yapısında özel bir role sahiptir.

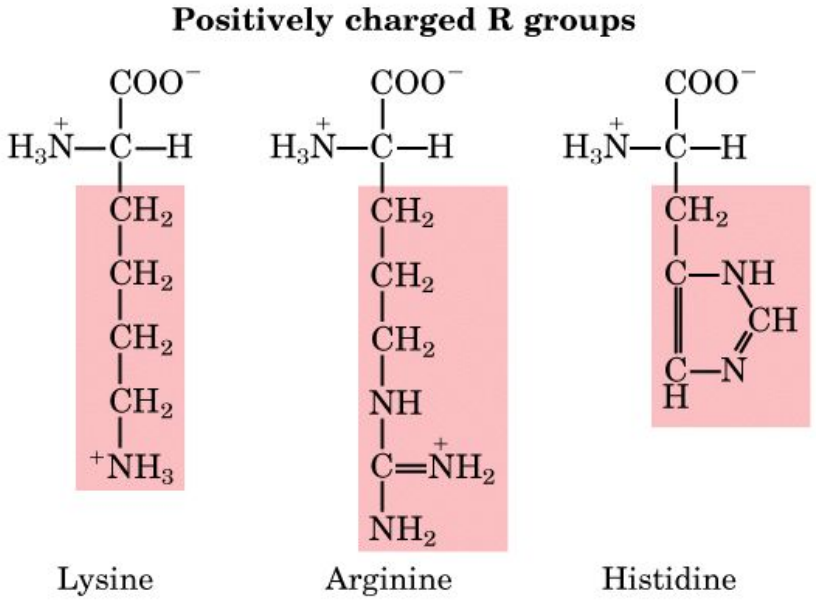
PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

AMİNO ASİT SINIFLANDIRILMASI

Pozitif ve negatif yüklü gruplar en hidrofilik R gruplarını içeren hidrofilik amino asitlerdir

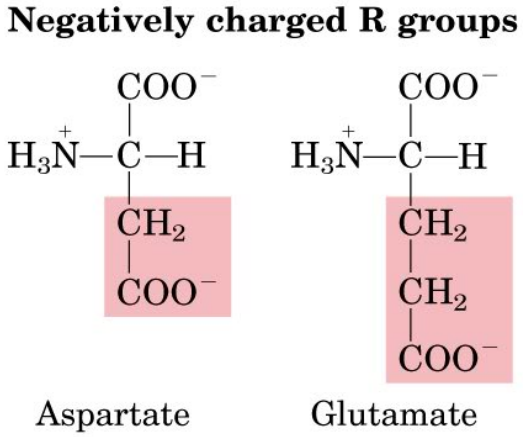
4- Pozitif Yüklü (Basik) R Grupları

- ***Lysine***
- ***Arginine***
- ***Histidine***



5- Negatif Yüklü (Basik) R Grupları

- ***Aspartate***
- ***Glutamate***

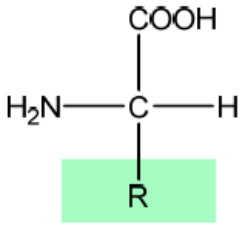


PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

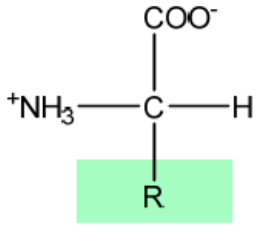
Amino asitlerin bir diğer özelliği suda çözündüklerinde hem asit hem de baz gibi davranabilmeleridir.

Ortamın pH'ı değiştikçe alfa karbona bağlı olan gruplar sırasıyla iyonlaşır ve amino asidin yükü değişir.

Amino asitler suda çözüldüklerinde öncelikle daha güçlü bir baz olan NH2 grubuna COOH grubundan bir proton transfer olur. Böylece karboksil grubu hidrojen iyonu kaybettiğinden negatif yüklenirken amino grubu bir H kazandığından pozitif yüklü hale gelir.



amino asit genel formul



Zwitterion

Bu durumda amino asidin net yükü sıfırdır ve ortamın o andaki pH'ı bu amino asidin izoelektrik noktasını (pI) göstermektedir.

$$pI = pH = \tfrac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$$

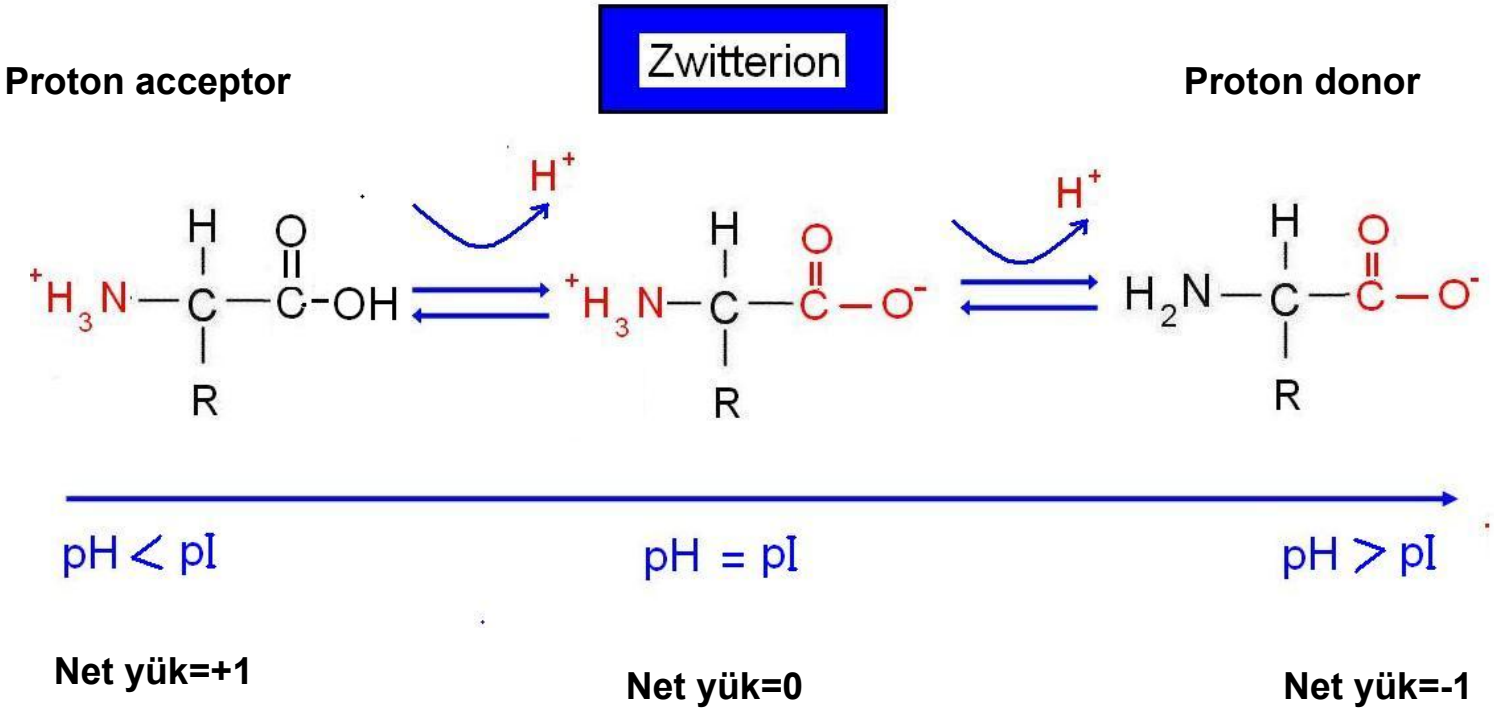
Bu özellikteki dipolar iyonlara " Zwitterion"

bu şekilde hem asit hem baz özelliği gösterebilen moleküllere de amfoterik veya amfolit adı verilmektedir.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Zwitterion ortamın pH sına göre bazik ortamda asit gibi (proton donor) ya da asidik ortamda baz gibi (proton acceptor) olarak davranabilir.

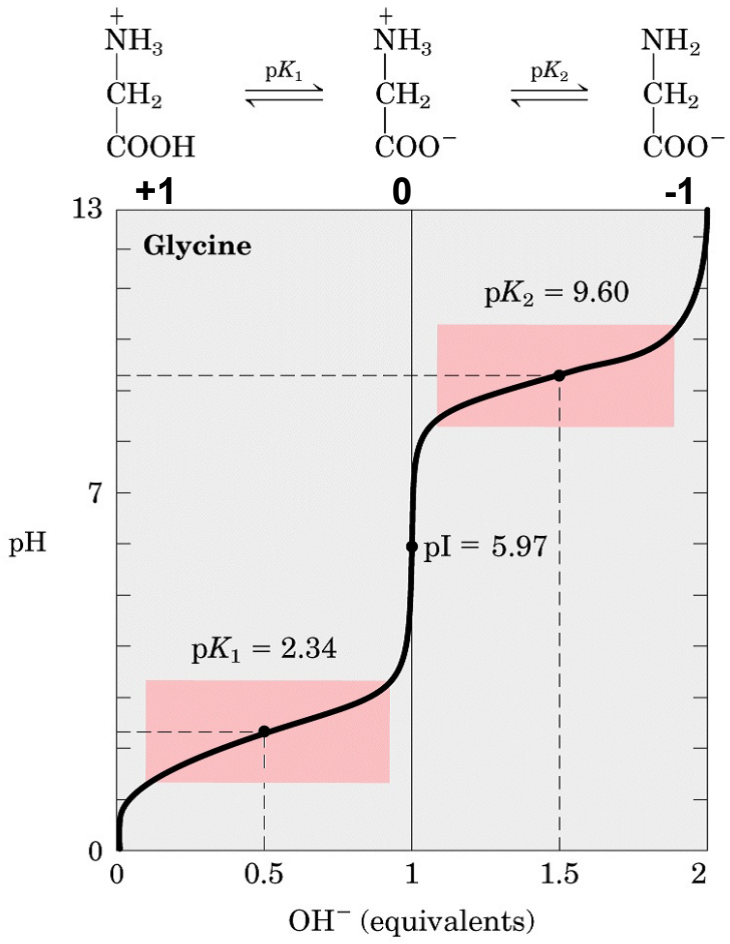
amino asidi protonlandığında;



Amino asitler bu asit-baz özelliklerinden dolayı da karakteristik titrasyon eğrileri ile tanımlanırlar.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Amino Asit Titrasyonu



Asit-baz titrasyonları kademeli olarakproton eklenmesi veya uzaklaştırılmasıdır. Şekilde glisinin titrasyon eğrisi gösterilmiştir

- **Çok düşük pH'da baskın glisin iyonu tam olarak protonlanmış durumdadır.**

pH yavaş yavaş arttırıldığında önce karboksil grubu proton kaybeder.

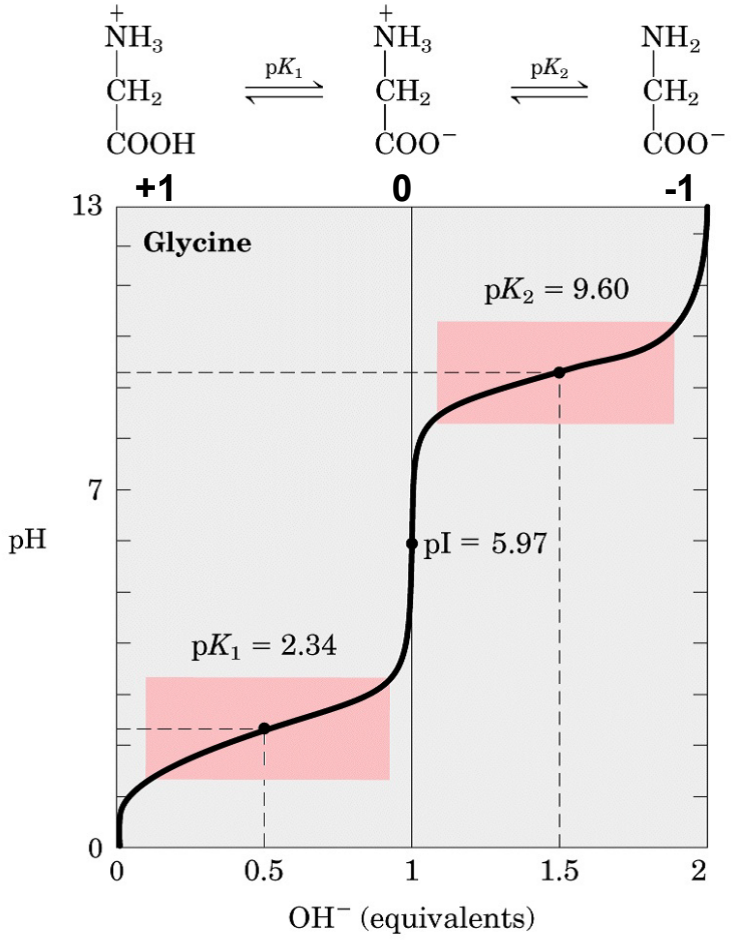
İlk aşamanın orta noktasında proton donor ve zwiterion eşit miktarda bulunmakatdır.
Titrasyonun orta noktasının pH'ı protonlanan grubun pKa değerine eşittir.
pK1 (glisinin karboksil grubunun pKa değeri)= 2.34

- **Titrasyonda ikinci önemli nokta ilk proton kaybedeşin tamamlanıp ikicisinin başladığı noktadır ki bu noktada glisin büyük oranda dipolardır. pH=pI**

- **3. Aşamada glisinin amino grubu proton kaybeder. Bu aşamanın orta noktası olan pK2 (glisinin amino grubunun pKa değeri)= 9.6**

pI=1/2.(pK1+pK2)
(2.34+9.6)/2=5.97

Amino Asit Titrasyonu



Glisinin titrasyon eğrisinden,

1) Iyonize olabilen her iki grubun pKa değerini kalitatif olarak ölçmüş oluruz

2) Amino asidin tamponlama bölgelerini tespit ederiz.
Bu amino asit 2.34 ve 9.6 da iki tamponlama bölgesine sahiptir.

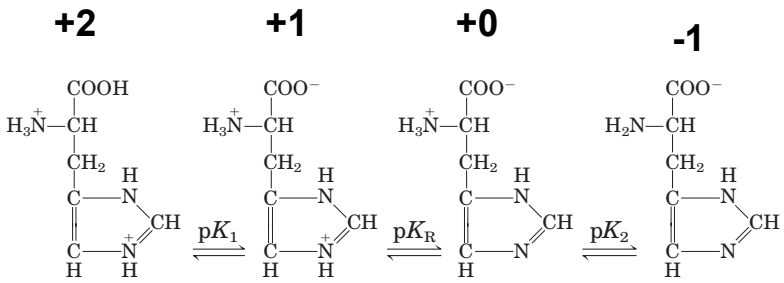
3) Amino asidin net yükü ve çözeltinin pH'ı arasındaki ilişki hakkında bilgi edinilir

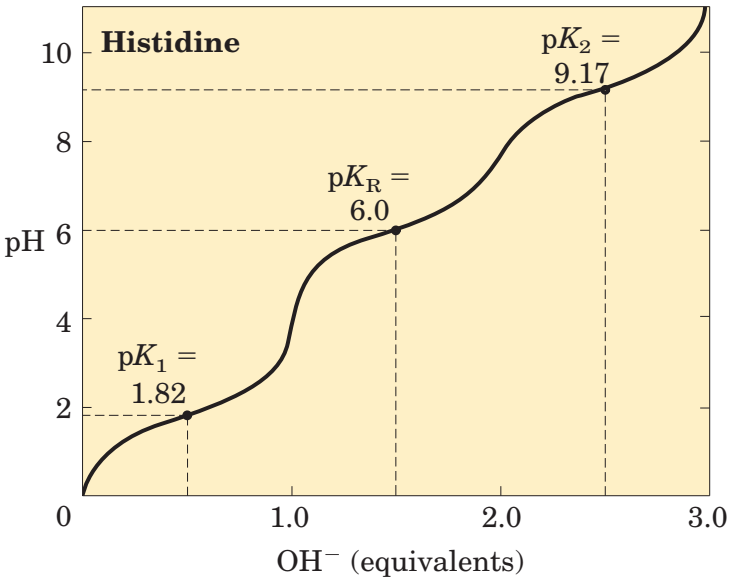
pI=1/2.(pK1+pK2)
(2.34+9.6)/2=5.97

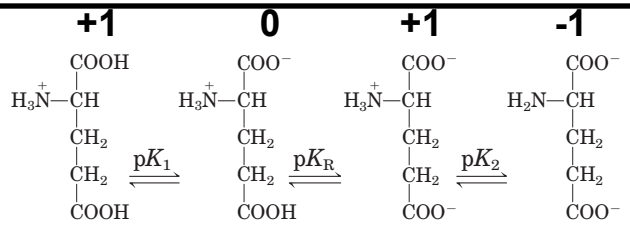
PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

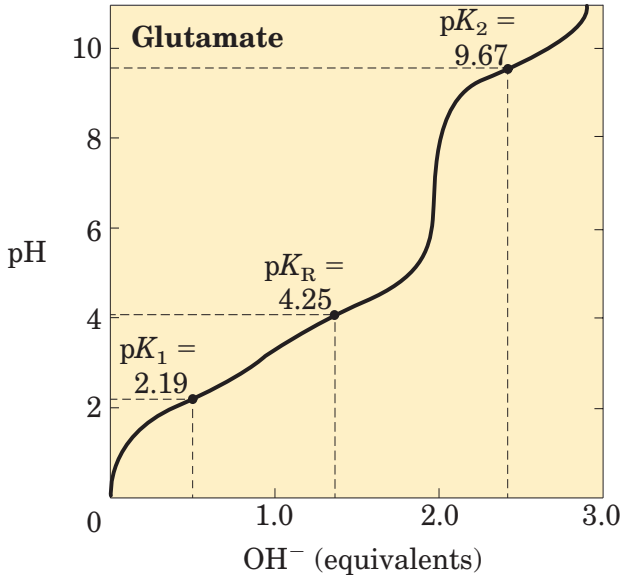
Amino Asit Titrasyonu

İyonlaşabilen yan zincire sahip amino asitlerde ise üç bölgeli bir titrasyon grafiği beklenmelidir.









pI= (pK_R + $pK_{2)}$ /2

Name	3-Letter Symbol	1-Letter Symbol	Molecular weight	Molecular Formula	Residue Formula	Residue Weight ($-H_2O$)	pK_a [1]	pK_b [2]	pK_x [3]	pI [4]
Alanine	Ala	A	89.10	$C_3H_7NO_2$	C_3H_5NO	71.08	2.34	9.69	—	6.00
Arginine	Arg	R	174.20	$C_6H_{14}N_4O_2$	$C_6H_{12}N_4O$	156.19	2.17	9.04	12.48	10.76
Asparagine	Asn	N	132.12	$C_4H_8N_2O_3$	$C_4H_6N_2O_2$	114.11	2.02	8.80	—	5.41
Aspartic acid	Asp	D	133.11	$C_4H_7NO_4$	$C_4H_5NO_3$	115.09	1.88	9.60	3.65	2.77
Cysteine	Cys	C	121.16	$C_3H_7NO_2S$	C_3H_5NOS	103.15	1.96	10.28	8.18	5.07
Glutamic acid	Glu	E	147.13	$C_5H_9NO_4$	$C_5H_7NO_3$	129.12	2.19	9.67	4.25	3.22
Glutamine	Gln	Q	146.15	$C_5H_{10}N_2O_3$	$C_5H_8N_2O_2$	128.13	2.17	9.13	—	5.65
Glycine	Gly	G	75.07	$C_2H_5NO_2$	C_2H_3NO	57.05	2.34	9.60	—	5.97
Histidine	His	H	155.16	$C_6H_9N_3O_2$	$C_6H_7N_3O$	137.14	1.82	9.17	6.00	7.59
Hydroxyproline	Hyp	O	131.13	$C_5H_9NO_3$	$C_5H_7NO_2$	113.11	1.82	9.65	—	—
Isoleucine	Ile	I	131.18	$C_6H_{13}NO_2$	$C_6H_{11}NO$	113.16	2.36	9.60	—	6.02
Leucine	Leu	L	131.18	$C_6H_{13}NO_2$	$C_6H_{11}NO$	113.16	2.36	9.60	—	5.98
Lysine	Lys	K	146.19	$C_6H_{14}N_2O_2$	$C_6H_{12}N_2O$	128.18	2.18	8.95	10.53	9.74
Methionine	Met	M	149.21	$C_5H_{11}NO_2S$	C_5H_9NOS	131.20	2.28	9.21	—	5.74
Phenylalanine	Phe	F	165.19	$C_9H_{11}NO_2$	C_9H_9NO	147.18	1.83	9.13	—	5.48
Proline	Pro	P	115.13	$C_5H_9NO_2$	C_5H_7NO	97.12	1.99	10.60	—	6.30
Pyroglutamatic	Glp	U	139.11	$C_5H_7NO_3$	$C_5H_5NO_2$	121.09	—	—	—	5.68
Serine	Ser	S	105.09	$C_3H_7NO_3$	$C_3H_5NO_2$	87.08	2.21	9.15	—	5.68
Threonine	Thr	T	119.12	$C_4H_9NO_3$	$C_4H_7NO_2$	101.11	2.09	9.10	—	5.60
Tryptophan	Trp	W	204.23	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	$C_{11}H_{10}N_2O$	186.22	2.83	9.39	—	5.89
Tyrosine	Tyr	Y	181.19	$C_9H_{11}NO_3$	$C_9H_9NO_2$	163.18	2.20	9.11	10.07	5.66
Valine	Val	V	117.15	$C_5H_{11}NO_2$	C_5H_9NO	99.13	2.32	9.62	—	5.96

[1] pK_a is the negative of the logarithm of the dissociation constant for the -COOH group

[2] pK_b is the negative of the logarithm of the dissociation constant for the $-NH_3^+$ group

[3] pK_x is the negative of the logarithm of the dissociation constant for any other group in the molecule

[4] pI is the pH at the isoelectric point

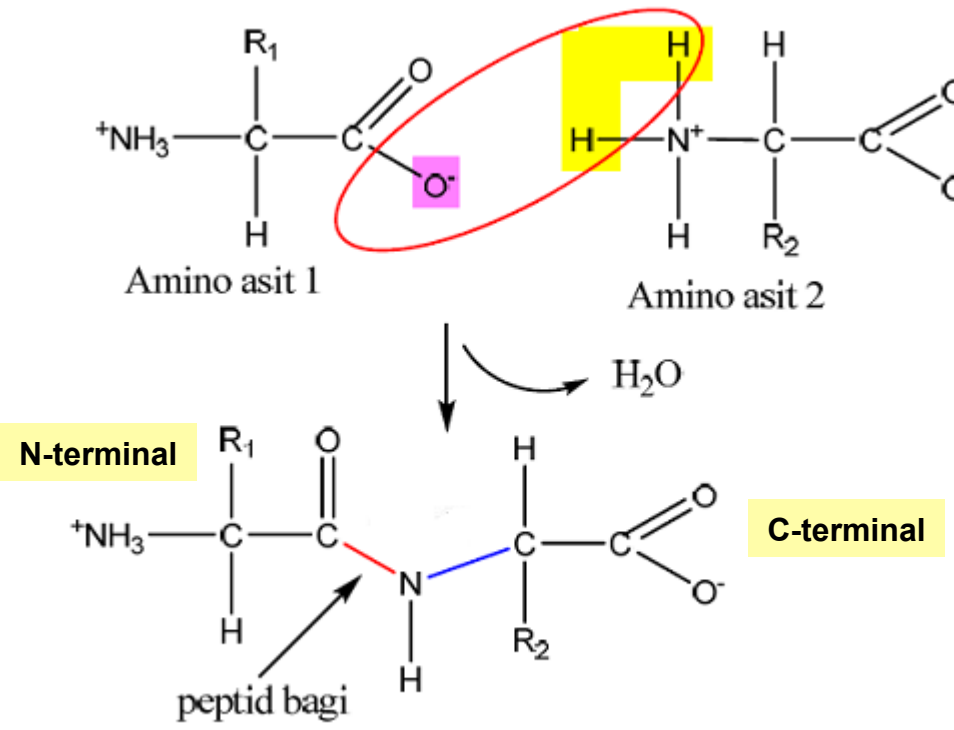
References: D. R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics, 72nd Edition,* CRC Press, Boca Raton, FL, 1991.

Peptid Yapısı

Biyolojik olarak oluşan polipeptidler 2-3 amino asitten oluşabileceği gibi

L-aspartil-Lfenilalanin metil ester : aspartam

1000lerce amino asitin birleşmesiyle çok büyük ölçülerde de olabilir.



Şekil 2.11. Peptid bağı ve kısmi çift bağ oluşumu

2 amino asitin kovalent bir bağ olan peptid bağı (amid bağı) ile birleşmesi sonucu bir *dipeptid* oluşur

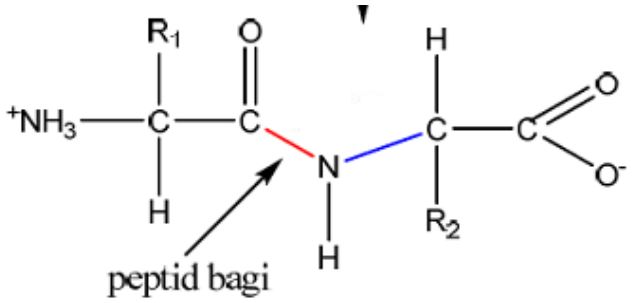
Kondensasyon Bağı

•Bu tip bağlar aradan bir H2O molekülünün çıkmasıyla (dehidrasyon) meydana gelir

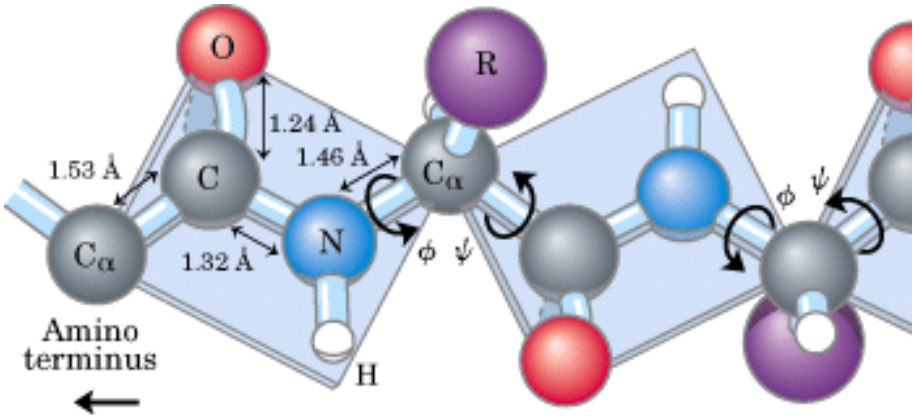
•Canlılarda birçok yaşamsal faliyette bu rxn tipi görülmektedir.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Peptid Yapısı



Şekil 2.11. Peptid bağı ve kısmi çift bağ oluşumu



Peptid bağının proteinin katlanma ozellikleri uzerine etkisi onemlidir.

- Oksijen ve azot atomları arasında yuksek hızda gercekleşen elektron rezonansı C ve N arasında kısmi bir cift bağ oluşmasına neden olmaktadır.

Daha az esnek olan bu kısmi cift bağ, tek bağ oluşumuna gore peptid bağına daha kırılgan bir ozellik kazandırmaktadır.

- Psi ve fi açıları düz bir peptid için 180 derecedir. Ancak rotasyon açıları sterik engellemelerden dolayı kısıtlanır. Bu nedenle psi ve fi açıları da protein katlanmasında önemlidir.

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Peptid Yapısı

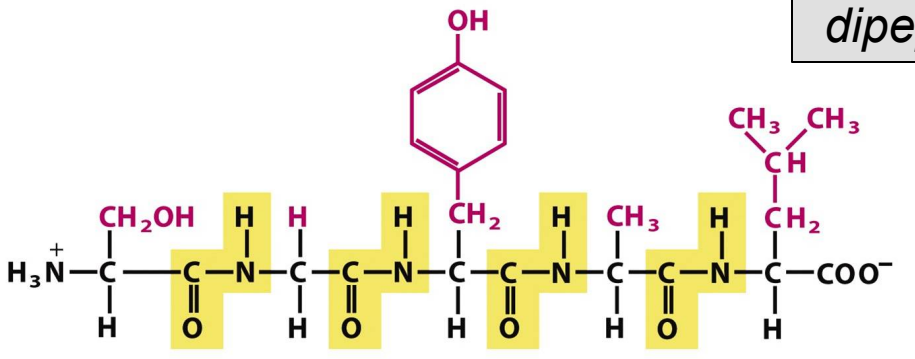


Figure 3-14
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Ser-Gly-Try-Ala-Leu

dipeptid, tripeptid, tetrapeptid, pentapeptid

Oligopeptid *(2-20 amino asit… tripeptid, tetrapeptid, pentapeptid vb….*

Oksitosin (9aa), amanitin (mantar zehiri), bazı antibiyotikler, aspartam(dipeptide)

Serbest amino asitler gibi peptidler **de karakteristik tirasyon eğrilerine** ve İsoelektirik pH (pI) sahiptir.

Bu özellikleri peptid ve proteinleri ayırma tekniklerinde faydanılmaktadır.

Polipeptid
Mw <10000 ➔ polipeptid (genellikle 50 aa'e kadar)
İnsülin (30 aa), glukagon (29 aa)

Protein
Mw >10000 ➔ protein
Kimotripisnojen : 245 aa
Titin: 27000 aa

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Peptid Yapısı

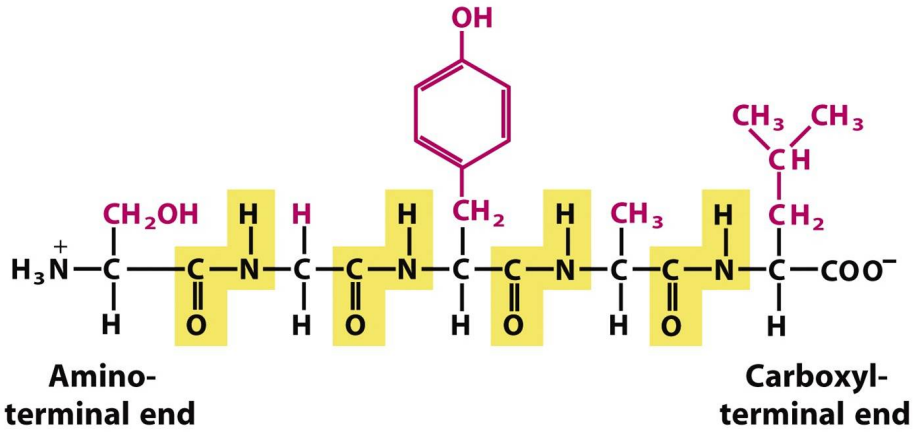


Figure 3-14
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Ser-Gly-Try-Ala-Leu

Proteinler ***tek bir polipeptid*** zincirinden oluşabilecği gibi

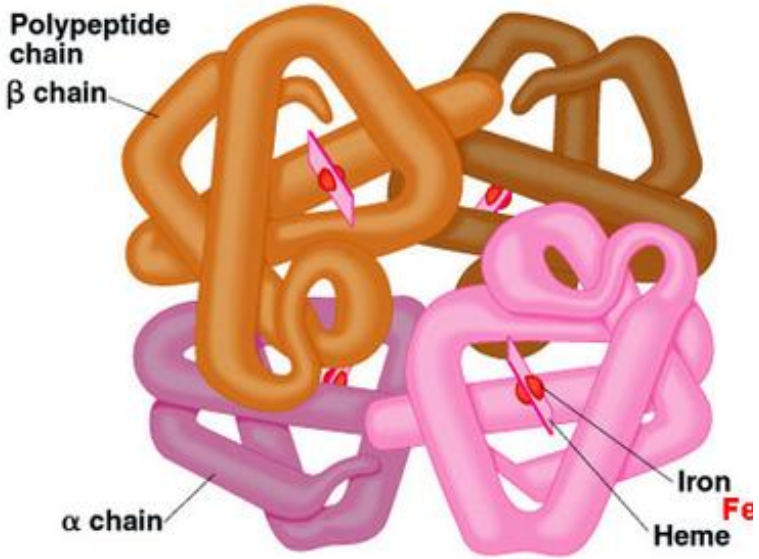
2 ya da daha fazla polipeptid zincirinin nonkovalanet biçimde bağlanmasıyla ***multisubunit*** proteinler oluşabilir.

Mulitisubunit proteinlerde her bir polipeptid zinciri biribiri ile aynı olabileceği gibi birbirinden farklı da olabilir.

Oligomerik

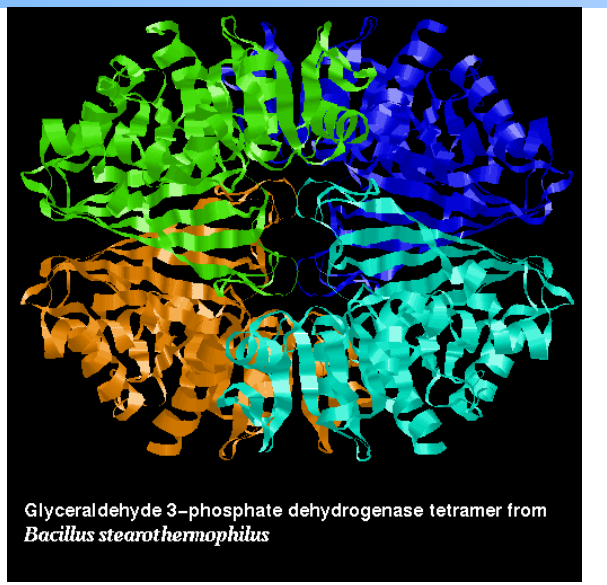
Tetramerik

2 identik alfa zincir
2 identik beta zincir



Hemoglobin

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

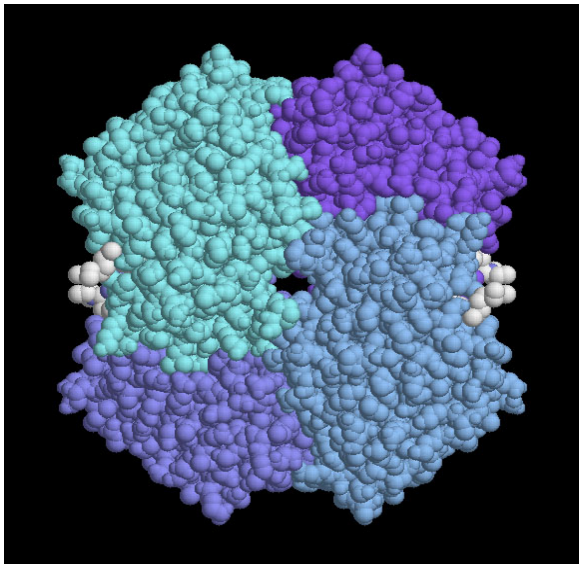


Proteinlerin ağırlıkları ifade edilirken “ Dalton” birimi kullanılır.

Örneğin Moleküler ağırlığı 64000 g mol-1 olan bir protein 64000 Dalton ya da 64 kDa olarak ifade edilir.

g/mol =Dalton

Bir amino asit = 110 D



Bir peptitdeki/ proteindeki amino asit sayısını moleküler ağırlığı 110’a bölerek bulabiliriz.

Protein içinde yer alan amino asitlerin ortalama M_W:128
Peptid bağı ile çıkan H_2O: 18 ➔ 128-18= 110

Oligomerik protein: *Bacillus* sp Gliseraldehid 3-fosfat dehidrogenaz, tetramer

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Polipeptidler karakteristik amino asit kompozisyonlarına sahiptir.

TABLE 2
Amino acid composition of the P3 proteins obtained from the bone of different mammalian species

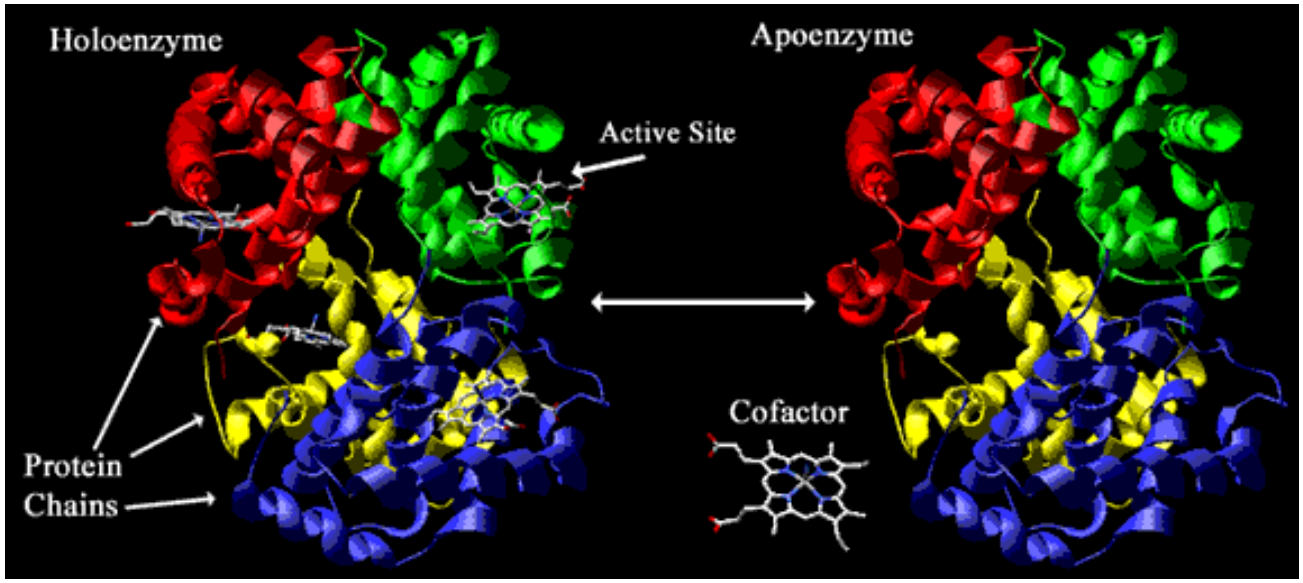
	Number of residues in Human P3 protein	Porcine P3 protein	Calf P3 protein
Aspartic Acid & Asparagine	21	24	23
Threonine	9	9	8
Serine	11	14	12
Glutamic Acid & Glutamine	30	30	28
Proline	10	13	8
Glycine	18	18	20
Alanine	9	7	8
Valine	9	10	8
Methionine	5	9	4
Isoleucine	6	5	5
Leucine	8	6	8
Tyrosine	20	24	16
Phenylalanine	7	8	8
Histidine	2	3	4
Lysine	5	5	5
Arginine	10	9	19
Tryptophan	(10)	(7)	(4)
Cysteine	(6)	(7)	(6)

Bir peptid ya da protein hidrolize edildiğinde karakteristik bir amino asit kompoziyonundan oluşturduğu görülür.

Amino asitler eşit miktarda dağılmamıştır. Araştırılan protein,

- **bazı amio asitleri çok sayıda içerirken**
- **bazı amino asitler sadece 1 kez yer almaktadır.**
- **Bazı amin asitler hiç bulunmayabilir.**

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ



Enzimler sözkonusu olduğunda;

Protein kısmı: apoenzyme.
Kofactor/Koenzim: prosthetic groups.

The complete enzyme (apoprotein + cofactor) is termed the **holoenzyme.**

Bazı proteinler farklı kimyasal gruplar içerebilir

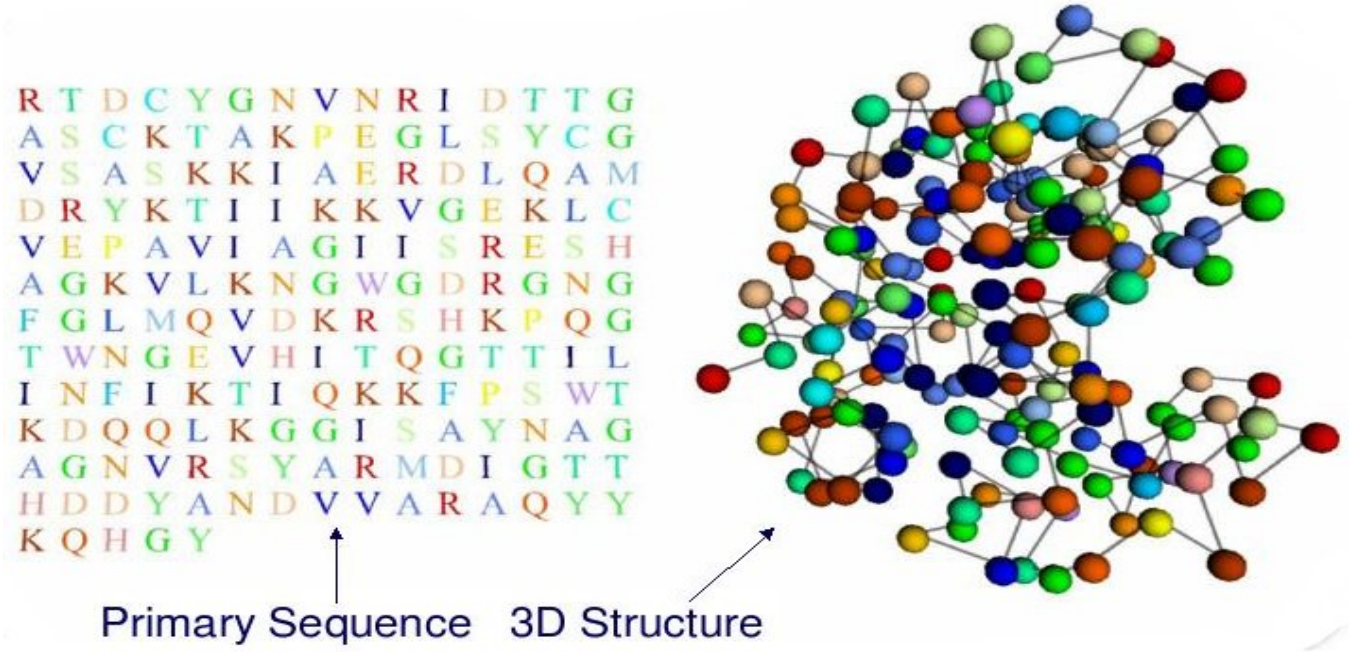
Basit Proteinler: sadece amino asitlerden oluşur

Konjuge Proteinler: amino asitlerle beraber farklı kimyasal komponentler içerirler.
lipoproteinler, glikoproteinler, metalloproteinler….

proteinin amino asit olmayan kısmına **prostetik grup** adı verilir.

PROTEİNLERİN KOVALENT YAPISI

Bir proteini enzim, hormon ya da yapısal bir protein yapan nedir?



Proteinler farklı sayı ve kombinasyonda amino asit bilgisine sahiptir.

Bu primer yapı proteinin kendine has 3 boyutlu yapısında nasıl katlanacağını ve fonksiyonunu belirler.

Primer yapıdaki farklılık (yük, hidrofobiklik, aromatiklik vb) proteinin yapı ve fonksiyonunu belirler.

Escherichia coli: 3000 protein İnsan: 25000-35000 protein

Her bir proteinin kendine özel bir amino asit dizi ve bunun sonucunda ortaya çıkan kendine özel bir 3 boyutlu yapısı ve fonksiyonu vardır.

amino asit dizi bilgisi ⇒ protein yapısı ve fonksiyonu

Bizi bu sonuca götüren nedir?

- **Farklı fonksiyona sahip proteinler farklı amino asit dizilerine sahiptir.**

- **Birçok genetik hastalığın hatalı protein sentezi ile ilgili olduğu ortaya konulmuştur. (Primer yapıda hata= bozuk fonksiyon)**

- **Farklı türlerden benzer fonksiyonlara sahip proteinler karşılaştırıldığında amino asit dizi bilgisinin benzer olduğu görülmüştür.**

-- İnsanda aynı fonksiyonu gören bir proteinde proteinin fonksiyonunu değiştirmeyen %20-30 farklılık görülebilir (polimorfizm).

---- Korunmuş bölgeler

Bazen de çok uzak türler arasında aynı görevi gören proteinlerin çok farklı amino asit dizi bilgisine ve büyüklüğe sahip olduğu görülebilmektedir.

1953 yılında Frederick Sanger İnsülin proteini üzerinde yaptığı çalışmalarla bir polipeptidin amino asit dizisinin belirlenebileceğini gösteriken,

DNA dizi bilgisi ile amino asit dizi bilgisi arasındaki bağlantıyı da göstermiştir.

Günümüzde protein veri bankalarından birçok proteinin amino asit dizi bilgisine erişelebilmesi mümkündür

Halen Sanger'in temel prensiplerini oluşturduğu geleneksel yöntemlerle de polipeptid dizilemesi yapıldığı gibi;

bu yöntemden geliştirilmiş farklı teknikler de dizileme yapılmaktadır.

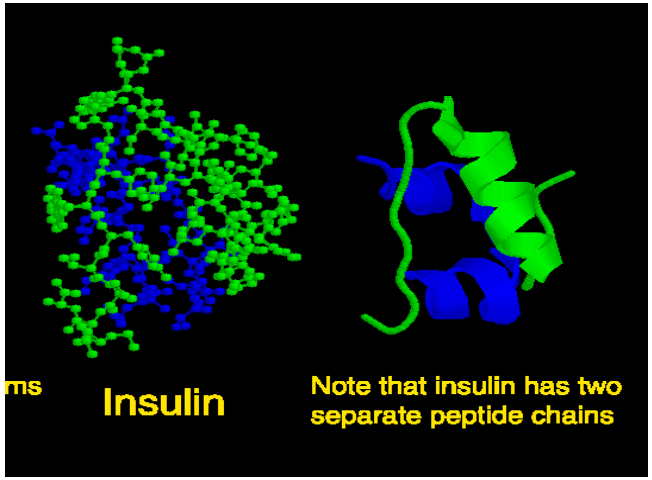




FIGURE 1.—The structure of bovine insulin.

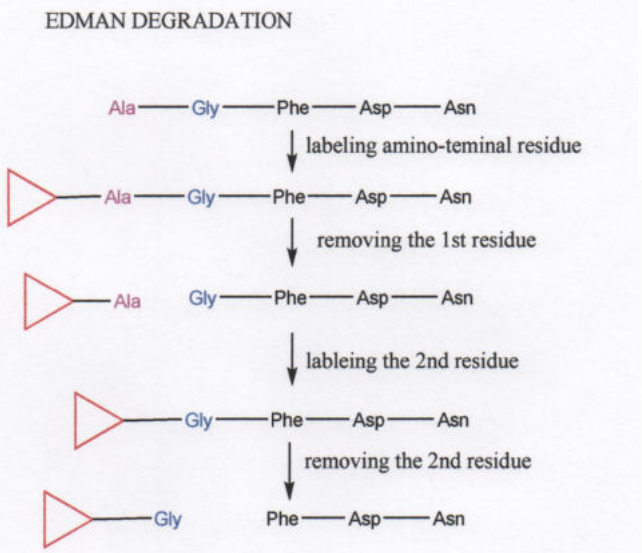
1,2,4 florodinitrobenzen amino grup ile reaksiyona giren bir moleküldür.

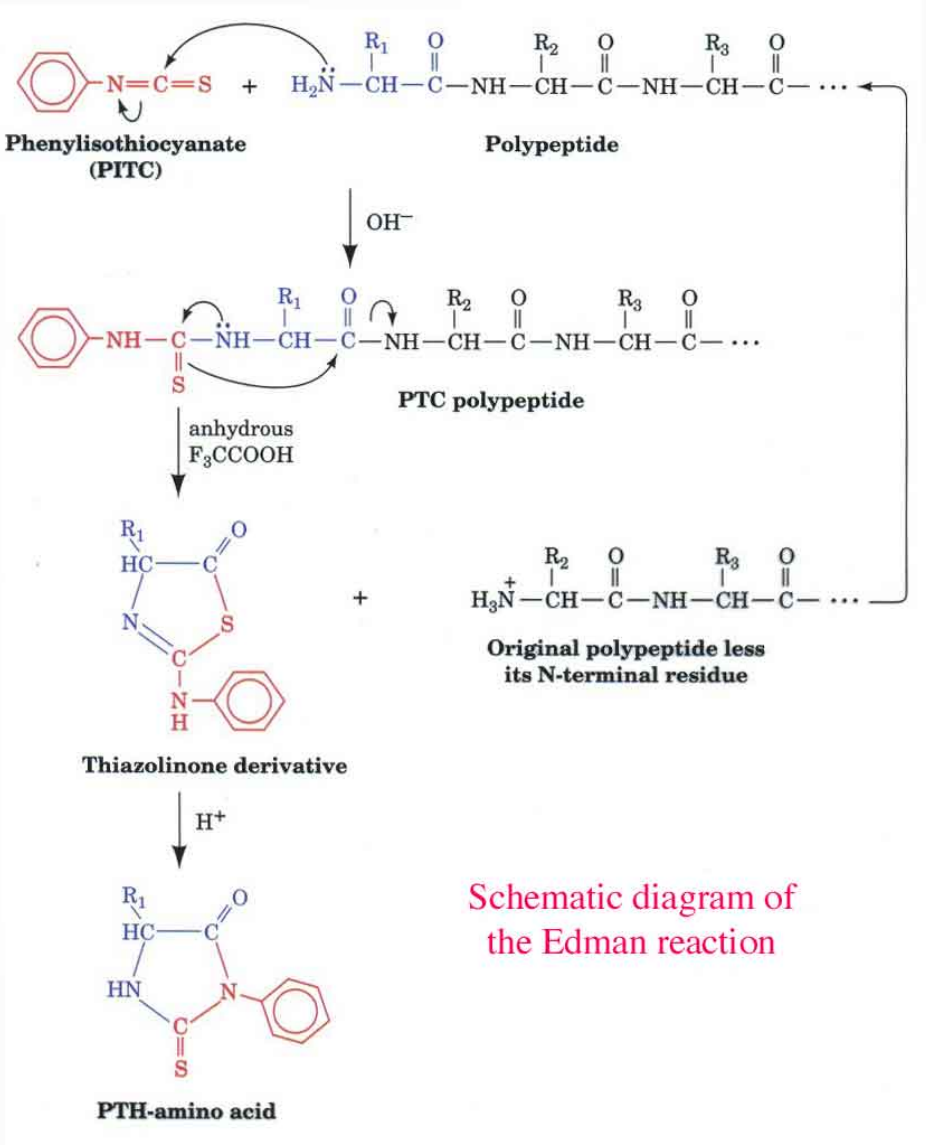
- Sanger 1,2,4 FDNB reagentını peptidin amino ucunu işaretlemek için kullandı.
- Peptidin amino terminal işaretlendikten sonra polipeptid dizisini hidrolize etti.
- Böylelikle ayrılan işaretli amino asid ortamdan izole edilebildi ve tanımlandı.

Ancak hidroliz sırasında peptid zinciri zarar gördüğünden bu yöntemle zincirin tamamı tanımlanamaz sadece amino ucu tanımlanabilmektedir.

Sanger bu yöntemle insülin proteininin 2 glisin 2 fenilalanin amino terminal olduğunu dolayısıyla 4 polipeptid zincirinden oluştuğunu göstermiş oldu.

Tüm peptid dizisini belirlemek için kullanılan yöntem ise ilk kez **Pehr Edman** tarafından geliştirilmiştir.





Schematic diagram of the Edman reaction

Bir proteinin amino asit dizisinin bilinmesi bize ne sağlar?

Proteinin 3 boyutlu yapısı,

fonksiyonu,

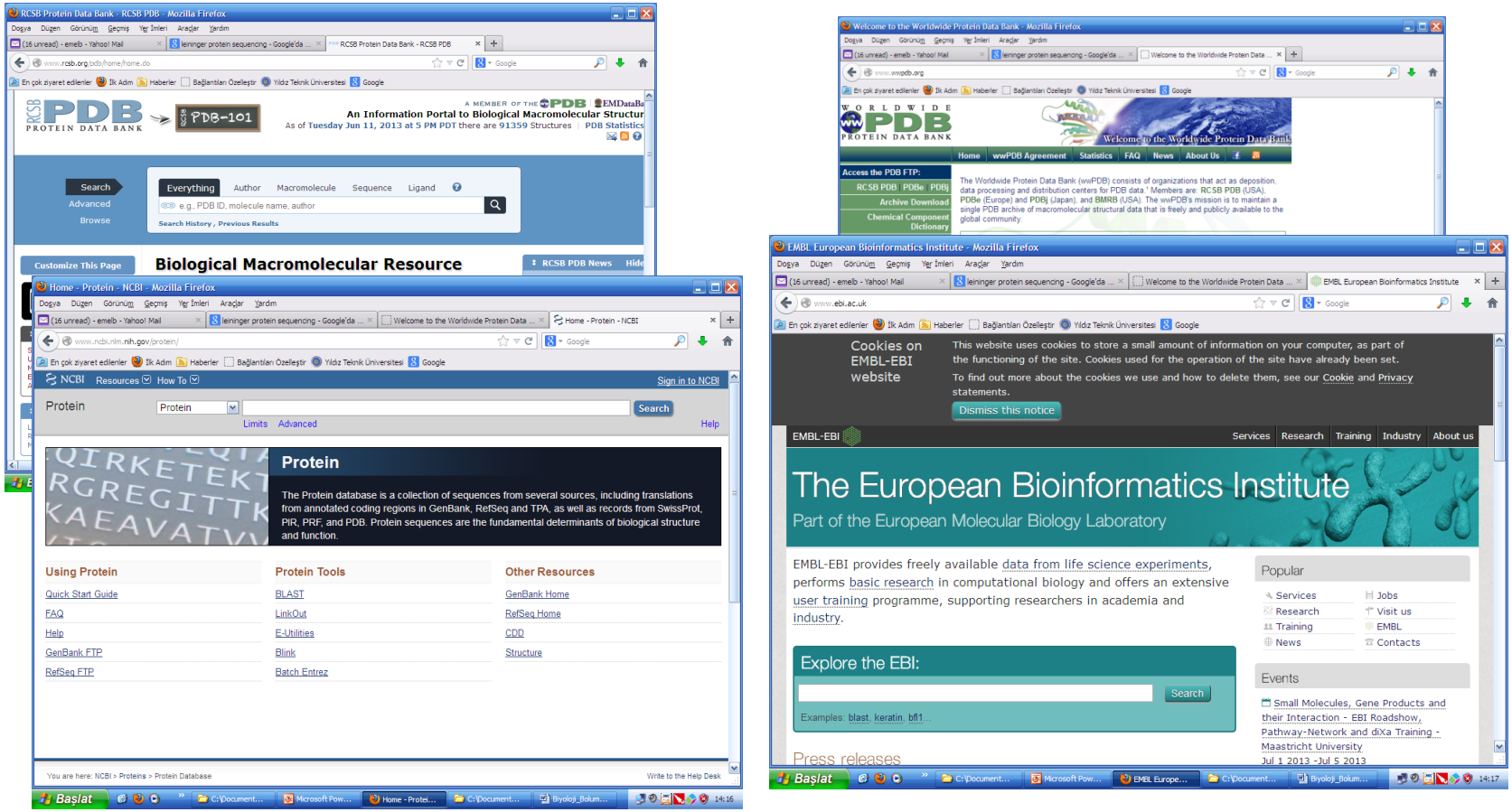
moleküler evrimi

hücresel lokasyonu

hakkında bilgi sağlamaktadır.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protei http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do

http://www.ebi.ac.uk/ http://www.wwpdb.org/



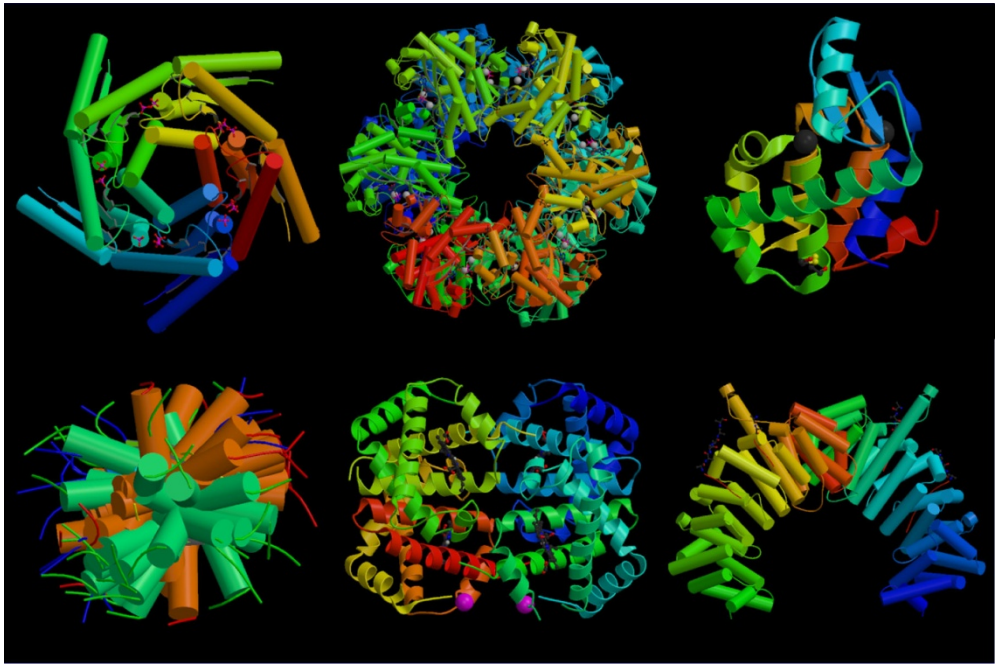
Dizi bilgisi yeni elde edilmiş bir proteinin **amino asit dizi bilgisi** veri bankalarındaki proteinlerle karşılaştırılması yapılarak **fonksiyonu, yapısı, diğer proteinlerle ilişkisi** vb birçok bilgiye ulaşılabilir.

PROTEİNLERİN 3 BOYUTLU YAPISI

Tipik bir proteinde yüzlerce bağ bulunabilir.

Bu bağların çoğu kendi etrafında dönebilme kapasitesine sahip olduğundan proteinlerin sınırsız sayıda konformasyonu olduğu varsayılır.

Bununla birlikte her proteinin kendine has bir 3 boyutlu yapısı ve bunun sonucunda gerçekleşen katalitik, sinyal, yapısal vs. bir fonksiyonu vardır.



PROTEİNLERİN 3 BOYUTLU YAPISI

Protein 3 boyutlu yapısını incelerken bahsedeceklerimiz aslında 5 temel kavram üzerinde devam etmektedir:

1. **Bir proteinin 3 boyutlu yapısı o proteinin amino asit dizisi tarafından belirlenir.**

2. **Bir proteinin fonksiyonu o proteinin yapısına bağlıdır**



3. **İsole edilmiş bir protein genellikle bir ya da az sayıda stabil yapısal formda mevcuttur.**

4. **Bir proteinin spesifik yapısını koruyan en önemli etki nonkovalant etkileşimlerden gelmektedir.**

5. **Proteinlerdeki bazı ortak yapılar protein yapısını anlamamızda önemlidir.**

Konformasyon: bir proteindeki atomların uzaysal yerleşimini ifade etmektedir.

Proteinin 3 boyutlu yapısını işaret eder.
Atomlar arasındaki uzaysal ilişkiler ve düzenlenmeleri ifade eder.

Tek bir bağın dönmesiyle değişebilir. Kovalent bir bağın kırılması gerekmez

Yüzlerce tek bağ içeren bir prtoeinin teoritik olarak sayısız konformasyonu olabilir ancak bir ya da birkaç konformasyon (en düşük serbest enerjiye sahip) domaninant halde bulunur

Belli koşullarda stabil olan konformasyon genellikle o koşullarda termodianmik olarak en kararlı ve en düşük serbest eneriye sahip (Gibss free energy) konformasyondur.

Native Protein: Fonksiyonel konformasyondaki proteindir

Proteinlerin doğal formları oldukça kararlı yapılardır.

Bir proteinin stabilitesi (kararlılığı) doğal konformasyonunu koruyabilme devam ettirebilme başarısıdır.

Proteinin doğal konformasyonunu koruyan kuvvetler nelerdir?

Protein konformasonunun oluşmasını sağlayan ve doğal konformasyonu kararlı halde tutan kuvvetler **amino asitlerin birbirleri** ve **bulundukları ortam ile** yaptıkları nonkovalent etkileşimler ve kovalent bir bağ olan disülfid bağıdır.

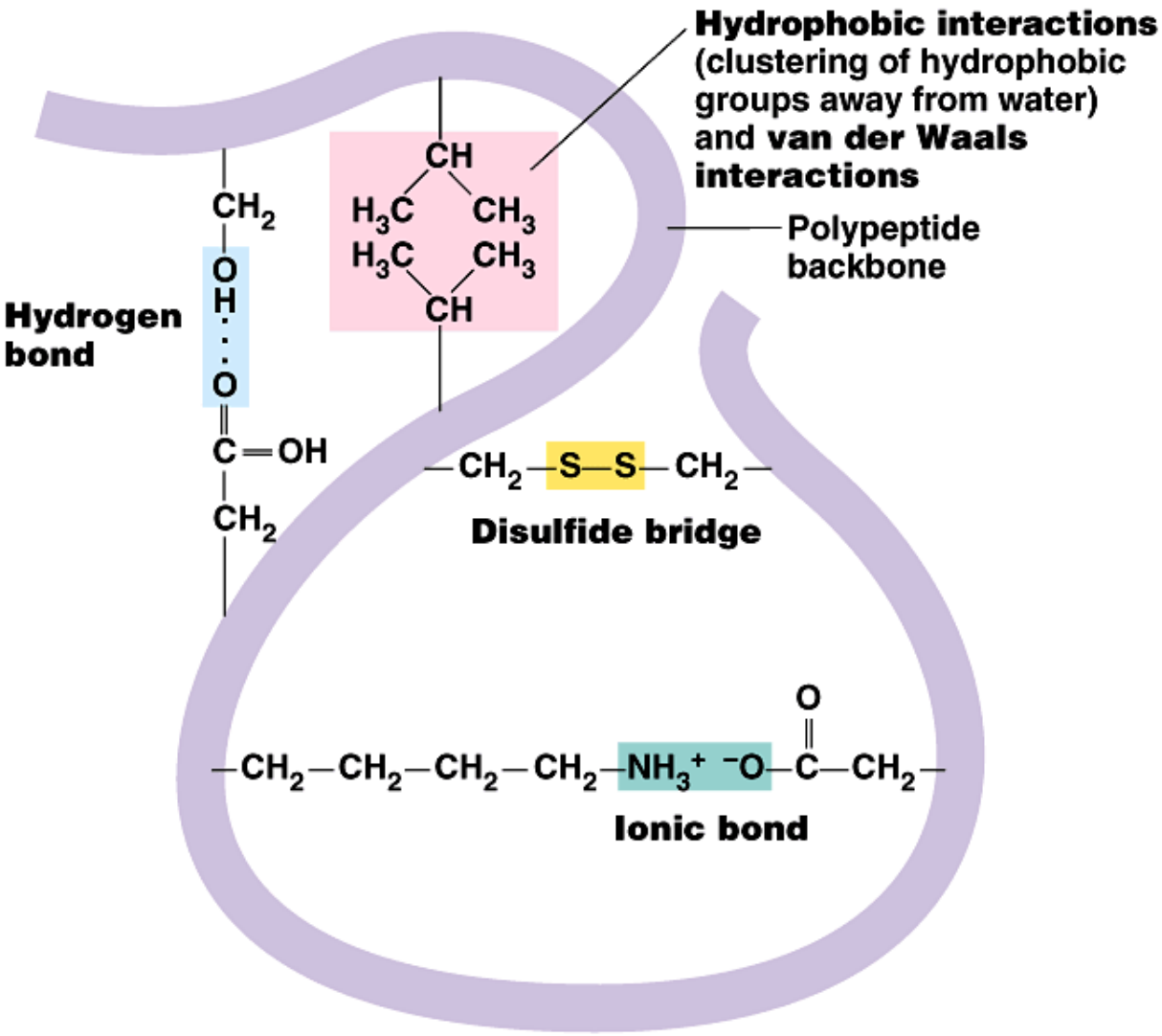
Nonkovalent Bağlar:

Hidrojen bağları her bir peptid bağının C=O ve N-H grupları ve polar yan zincirlerin elektronegatif atomları arasında oluşur. Bu gruplar birbirleri ile ve protein yüzeyinde su ile Hidrojen bağı yaparlar.

Hidrofobik etkileşimler: hidrofobik amino asit yan zincirleri katlanmayla beraber sulu ortamdan kaçarak proteinin (interior) iç kısmına yerleşirler ve serbest enerjiyi düşürerek kararlılığa katkıda bulnurlar.

Van der Waals etkileşimleri hidrofobik gruplar arasında yer alarak stabiliteye katkıda bulunurlar

İyonik etkileşimler zıt yüklü iyonlaşabilen R gruplarına sahip residular arasında bağ kurarak stabiliteye katkıda bulunurlar (elektrostatik etkileşimler, tuz köprüleri)



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Proteinin doğal konformasyonunu koruyan kuvvetler nelerdir?

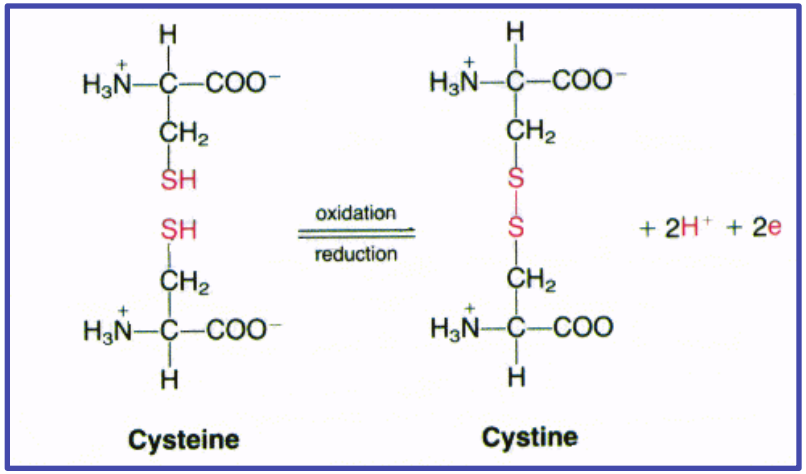
Bu bağlar proteinin spesifik 3 boyutlu yapısına nasıl katlandığının anlaşılması açısından önemlidir.

Kovalent bir bağı kırmak için 200-460 kj/mol enerji gerekirken

nonkovalent bağlar gibi zayıf etkileşimleri ortadan kaldırmak için gereken enerji sadece 4-30 kJ/moldür.

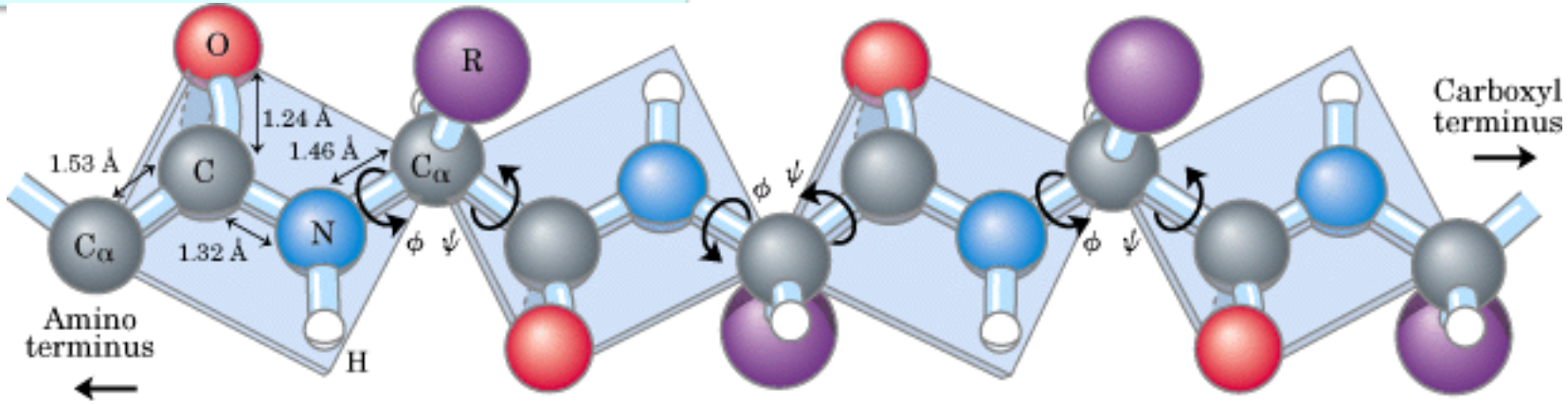
Polipeptid zincirinin farklı bölgelerini birarada tutan bir disülfid köprüsü bir nonkovalant bağdan normalde daha kuvvetli olsa da biraraya gelen çok sayıda nonkovalent bağ protein yapısının korunmasında daha önemli bir katkı sağlamaktadır.

- Hidrojen bağları
- Hidrofobik etkileşimler
- Van der Waals etkileşimleri
- İyonik etkileşimler



Proteinin doğal konformasyonunu koruyan kuvvetler nelerdir?

Peptid Bağları rigid ve planardır.



Yanayana gelmiş iki residunun alfa karbonları 3 kovalent bağ ile birbirinden ayrılır. Cα-C-N-Cα.

X-ray kristalografi çalışmaları göstermiştir ki C-N bağı N-Cα bağından daha kısadır. Bu durumda karboksl oksijen ile amid nitroheni arasında hızlı bir rezonans ve oksijenin kısmi negatif yükü ile nitrojenin kısmi pozitif yükü paylaşılması sonucu peptid bağında kısmi bir çift bağ oluşur.

Peptid grubunun 6 atomu aynı düzelmede yer alması yapıya düzlemsellik kazandırırken, Kısmi çift bağdan dolayı peptid bağının serbestçe dönememesi yapıya bir rigidlik sağlamaktadır. Bu rigid yapı konformasyonun oluşması açısından önemlidir.

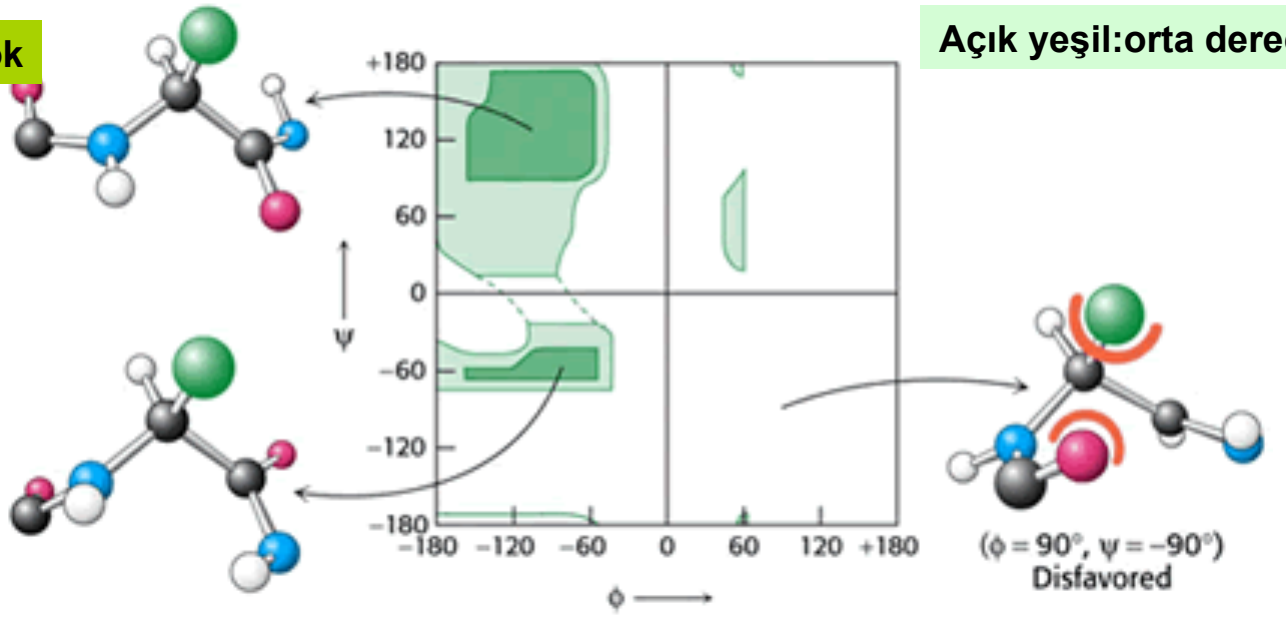
psi ve fi açıları teoride -180-+180 derece dönebilme özellğinde olsalar da protein iskeletindeki ve diğer R gruplarındaki atomlarla aralarında gerçekleşen sterik etkiden dolayı belirli açılarda dönebilmektedir. Bu da yapıya rigidlik kazandıran bir başka durumdur.

Ramachandran Plot

Proteindeki sterik etkilerin izin verdiği Φ (fi) ve ψ (psi) açılarının dönme açıları birbirlerine karşı grafikte yerleştirilerek proteinin konformasyonu hakkında bilgi veren bir grafik oluşturulur. Bu grafik Ramachadran Plot olarak bilinir.

Sterik etki yok

Açık yeşil:orta derecede engellenmiş



Tamamen kısıtlanmış açıkar

shows allowed Φ and Ψ angles white areas = sterically disallowed conformations
protein structures all fall within allowed regions

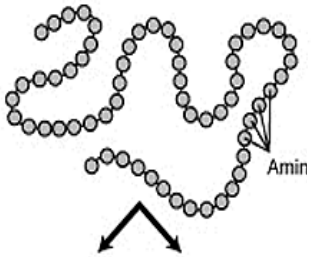
Protein Yapısının 4 Aşaması

1. Primer Yapı: Disülfid köprülerini de içeren amino asit dizisi.

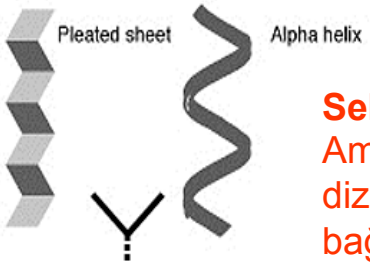
2. Sekonder Yapı: alfa heliks, beta –konformasyon gibi yanayana gelmiş amino asitlerin oluşturduğu düzenli tekrarlanan yapılar.

3. Tersiyer Yapı: proteinin 3 boyutlu yapısını kazanmış durumu

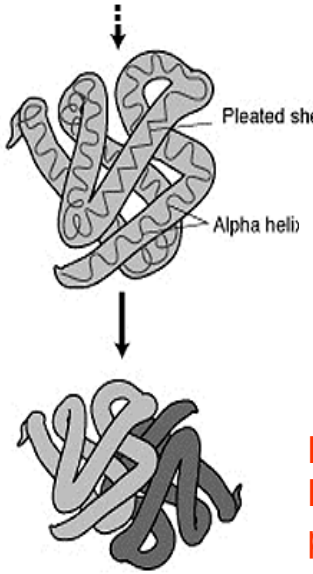
4. Kuarterner Yapı: 2 ya da daha fazla polipeptid zincirinin etkileşimi ile alt ünitelerin organizasyonu



Primer Yapı
Proteini oluşturan amino asit zinciri



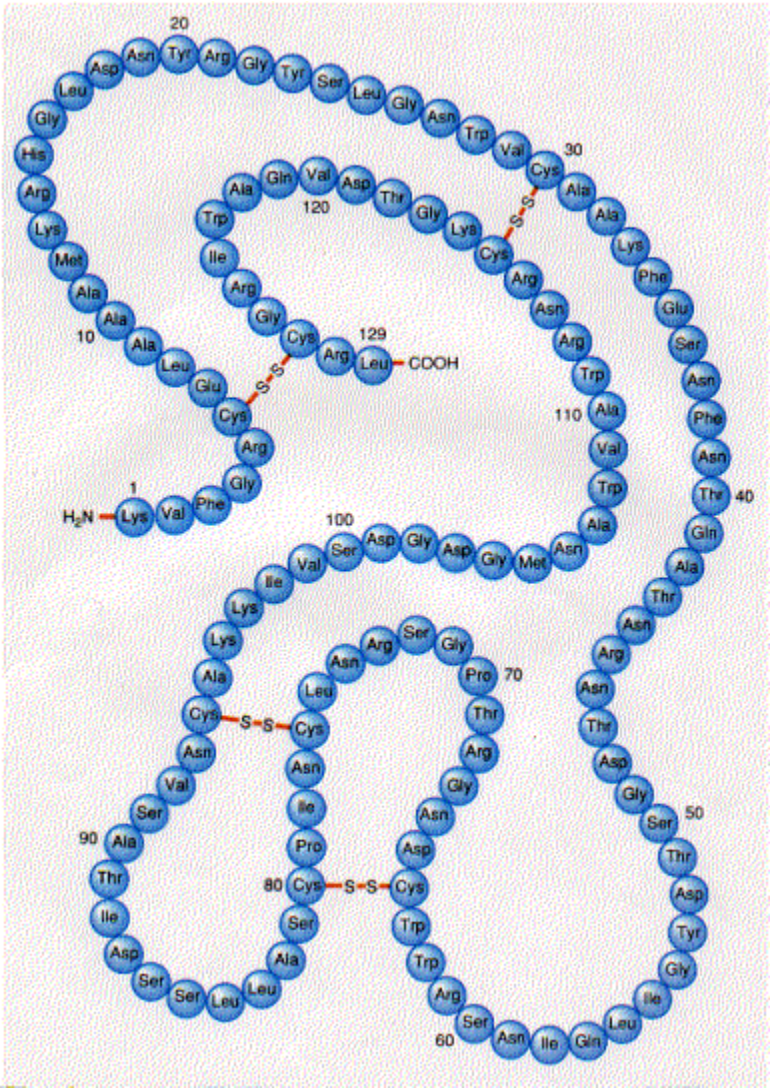
Sekonder Yapı
Amino asit dizisinin H bağlarıya biraraya gelmesi sonucu oluşur



Tersiyer Yapı
Alfa helix ve beta sheet yapıları arasında belli etkileşimler sonucu oluşur

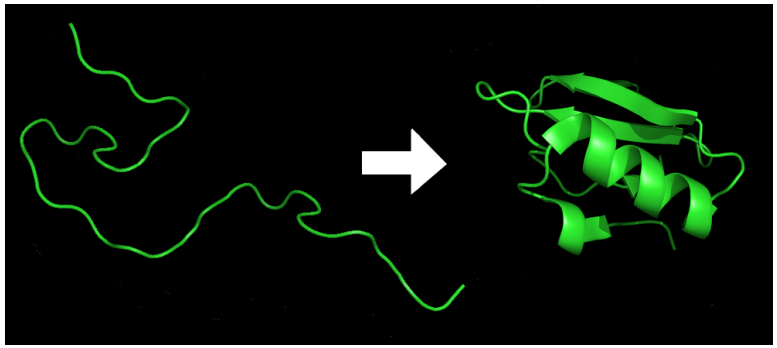
Kuarterner Yapı
Birden fazla polipeptid zincirinden oluşan proteinler için geçerlidir.

Primer Yapı



Proteinler belli bir ortamda doğal yapısını kaybettiğinde ortamdaki denature edici faktörler ortadan kaldırıldığında, uygun pH, sıcaklık ve iyonik denge sağlandığında doğal yapısını geri kazanırlar.

Dolayısıyla anlaşılmaktadır ki Primer yapıdaki amino asit dizisi proteinin doğal yapısını kazanması için gereken bilgiyi içermektedir.

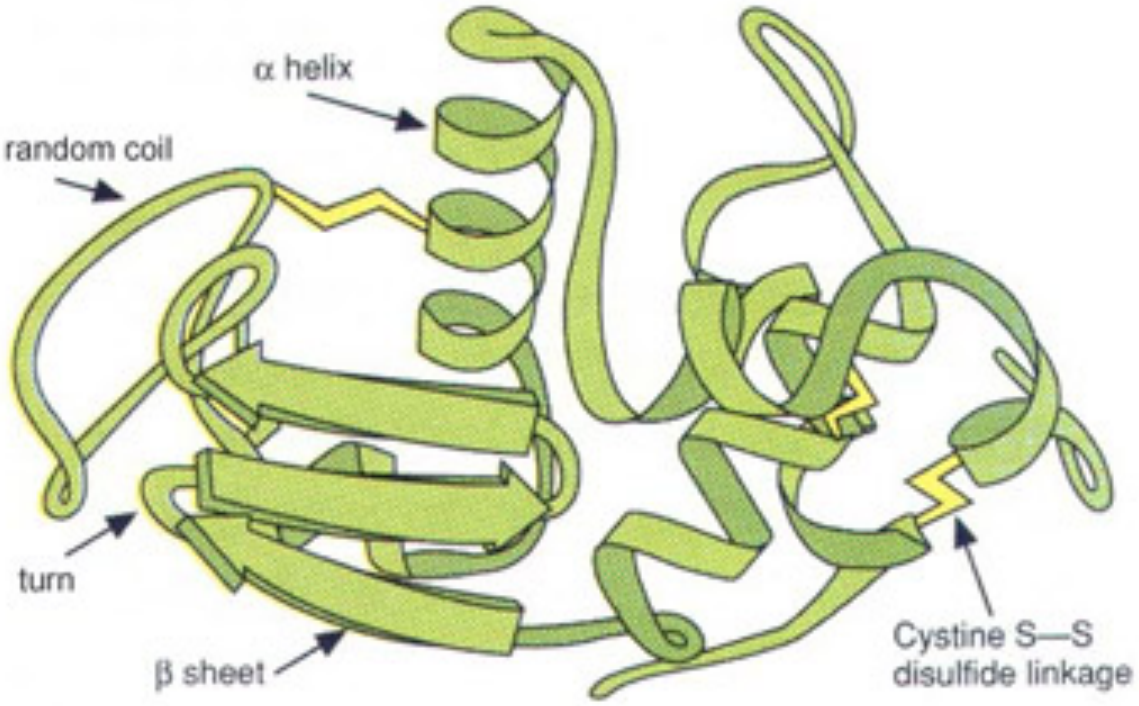


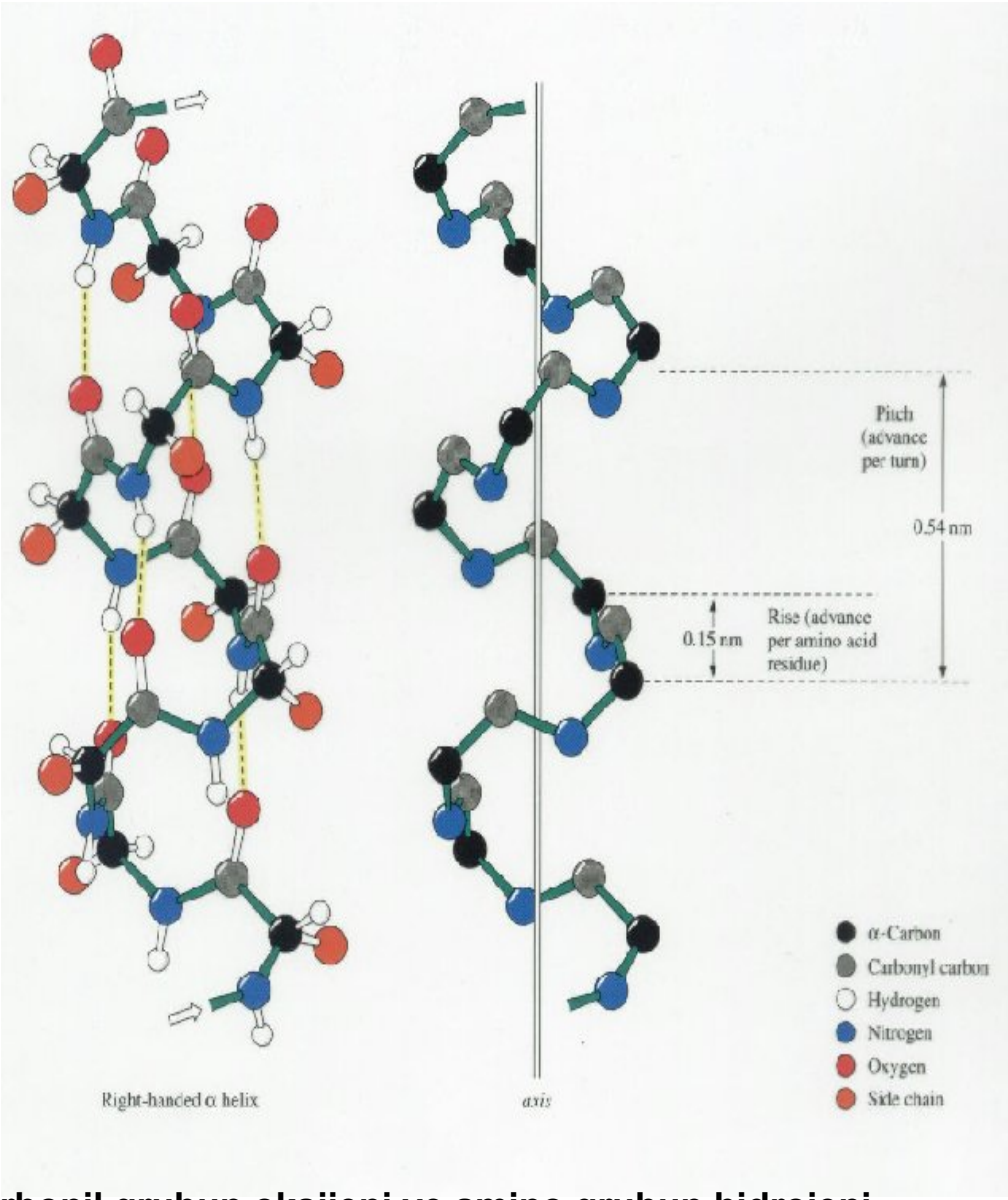
Sekonder Yapı

Sekonder yapı **polipeptidinin bir kısmının lokal konformasyonunu** ifade etmektedir.

Proteinlerde görülen başlıca sekonder yapılar:

- **alfa –sarmal,**
- **beta-tabaka**
- **rastgele döngüler (loop yapıları , beta turn)** yapılarıdır.





Karbonil grubun oksijeni ve amino grubun hidrojeni arasında Hidrojen bağları oluşur.

Alfa-Sarmal

Polipeptid zinciri her bir **alfa karbon etrafında** eşit miktarda dönerek sarmal bir yapı meydana getirmektedir.

Her bir dönüm 5.4 Å=3.6 residue

R grupları sarmal ekseninden dışarıya doğrudur.

Alpha heliks in diğer konformasyonlardan daha fazla görülmesinin nedeni **internal hidrojen bağlarının optimal kullanımını sağlamasıdır.**

L- amino asit ler sağ ya da sol dönümlü alfa heliksler oluşturabilir

sol dönmlü alfa heliks lere doğal protenlerde rastlanmamıştır.

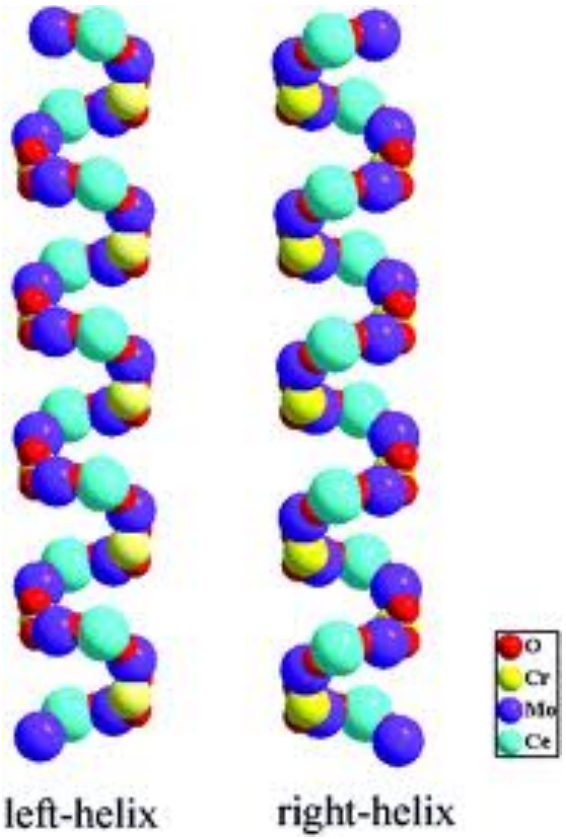
Alfa-Sarmal

Tüm polipeptid zincirleri alfa heliks yapsı oluşturamaz. Amino asitlerin yan zincirleri arasındaki etkileşimler bu yapıyı stabilize ya da destabilize edebilir.

Örn: Glu residue uzun bir blok oluşturuyorsa bu segmentde negatif yükler birbirini iteceği için sarmal yapı oluşturamaz.

Ya da Lys ve Arg residualrı yanyana sıklıkla bulunuyorsa pozitif yükler birbrini iteceği için ,

Asn, Ser, Thr ve Cys amino asitleri de şekillerinden dolayı sıklıkla yanyana bulunduklarında alfa heliks yapısını destabilize ederler

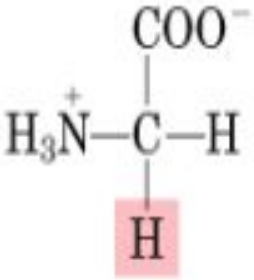


Alfa-Sarmal

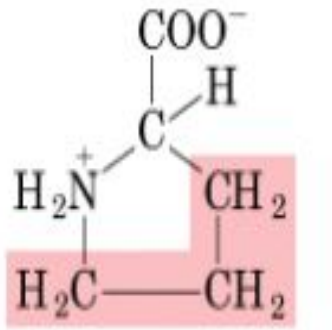
Proline residundaki N atomu diğer residularla H bağına katılacak hidrojen içermediği için de alfa heliks yapısında nadiren görlür

Glisin aa de alfa sarmal yapıda nadiren görülmektedir.

Küçük yapısından dolayı alfa heliksden daha farklı bir kıvrılmaya neden olur.



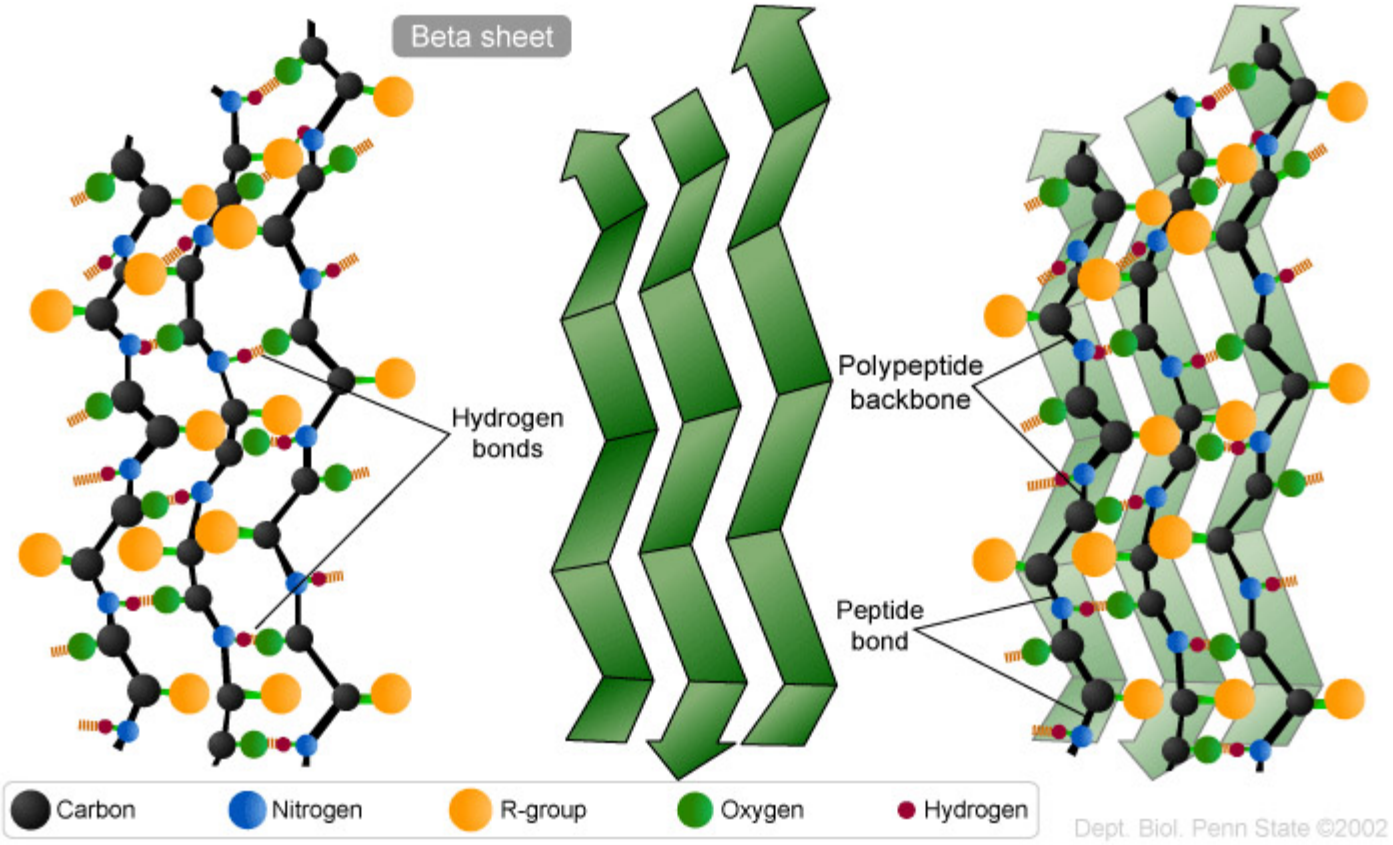
Glycine



Proline

Beta-Tabaka (beta conformation)

Zig zag şeklindeki polipeptid zincirleri plise şeklini oluşturacak şekilde yanyana dizilerek B-sheet ismi verilen yapıyı oluştururlar.

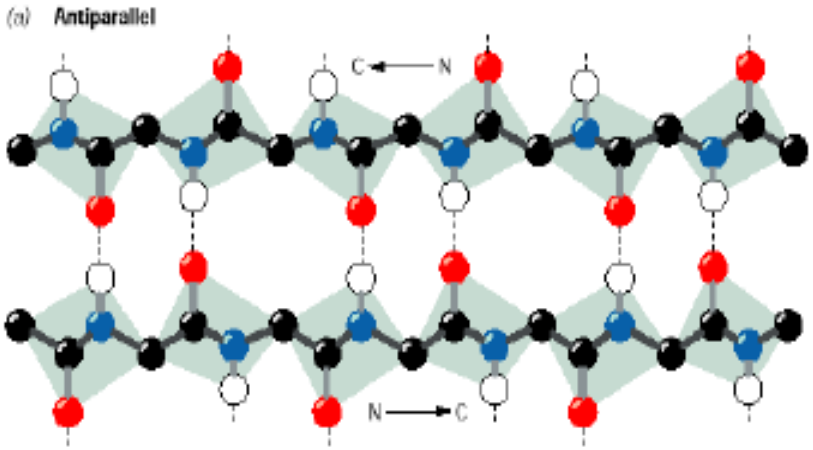


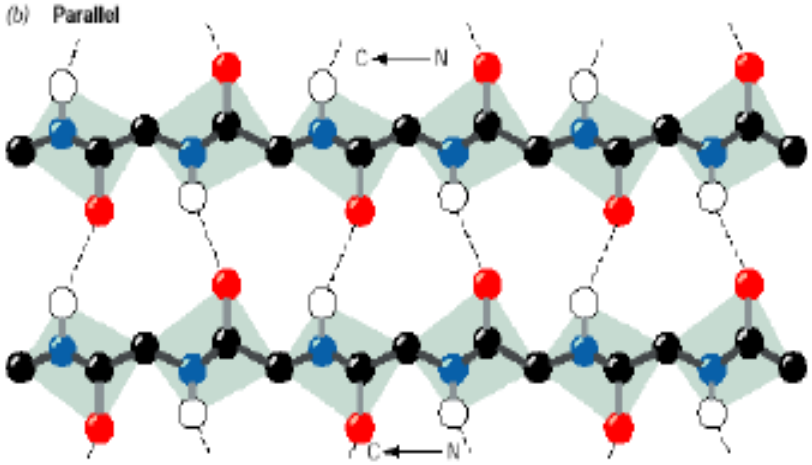
Segmentler arasında H bağları oluşur

Yanyana aa lerin R grupları zıt yönlere bakacak şekilde konumlanmıştır.

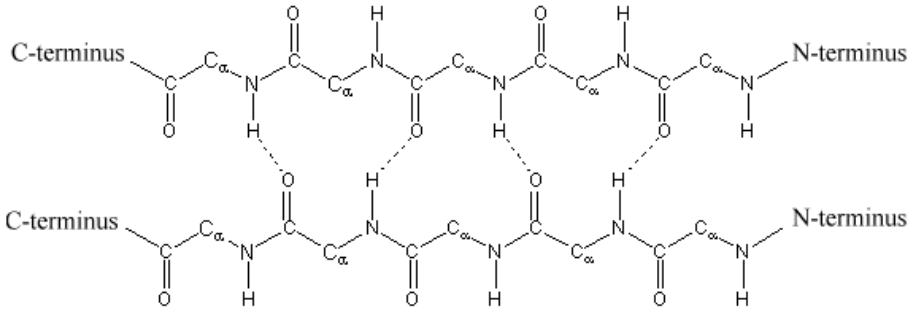
2 ya da daha fazla beta stabaka yanyana geldiğinde birbirine dokunan yüzeylerdeki amino asitler genellikle Gly Ala gibi küçük amino asitlerdir (ipek ya da örümcek ağı)

Beta-Tabaka (beta conformation)

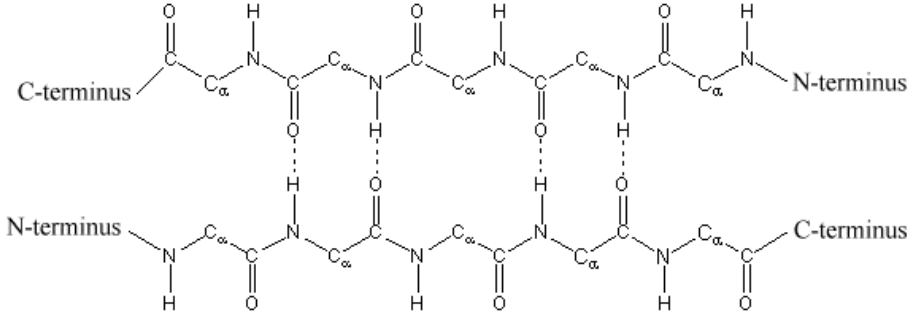




Parallel β Sheet



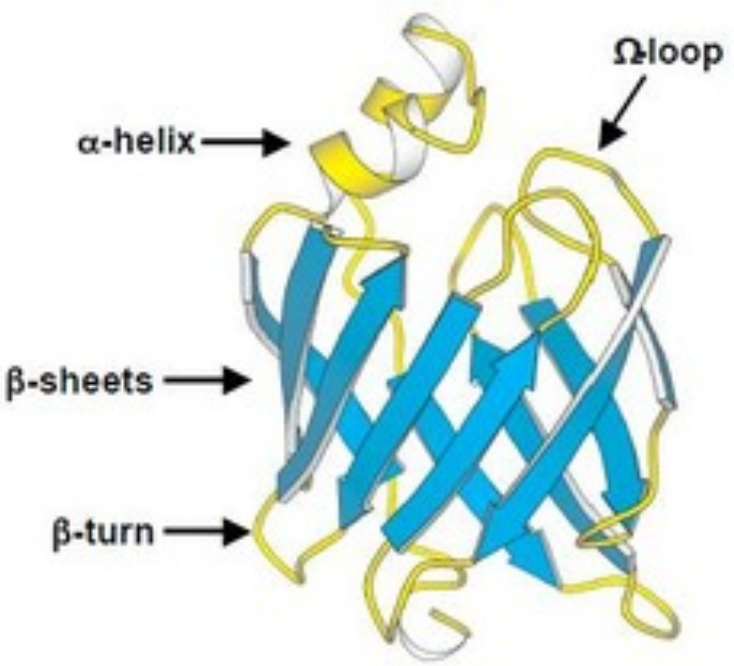
Antiparallel β Sheet

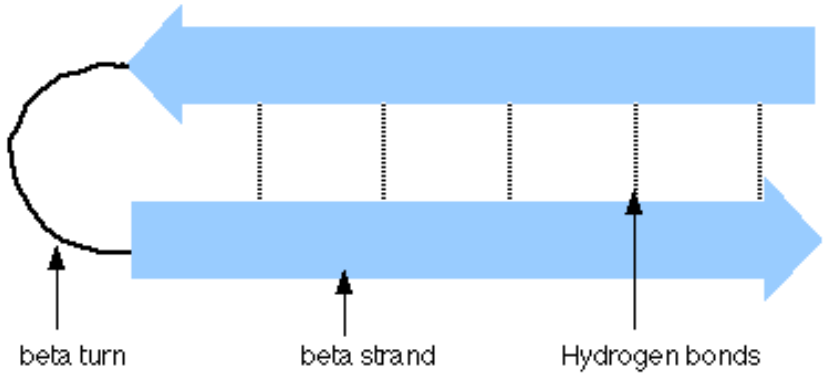


Rastgele döngü yapıları (Beta Turn ve Loop Yapısı)

Alfa-Sarmal ve Beta tabaka yapıları birbirine bağlayan **düzensiz sekonder yapılardır**.

Genellikle globular proteinlerde ve yüzeyde bulunarak su ile H bağı yaparlar.
Protein iskeletinde Hidrojen bağı yapmazlar

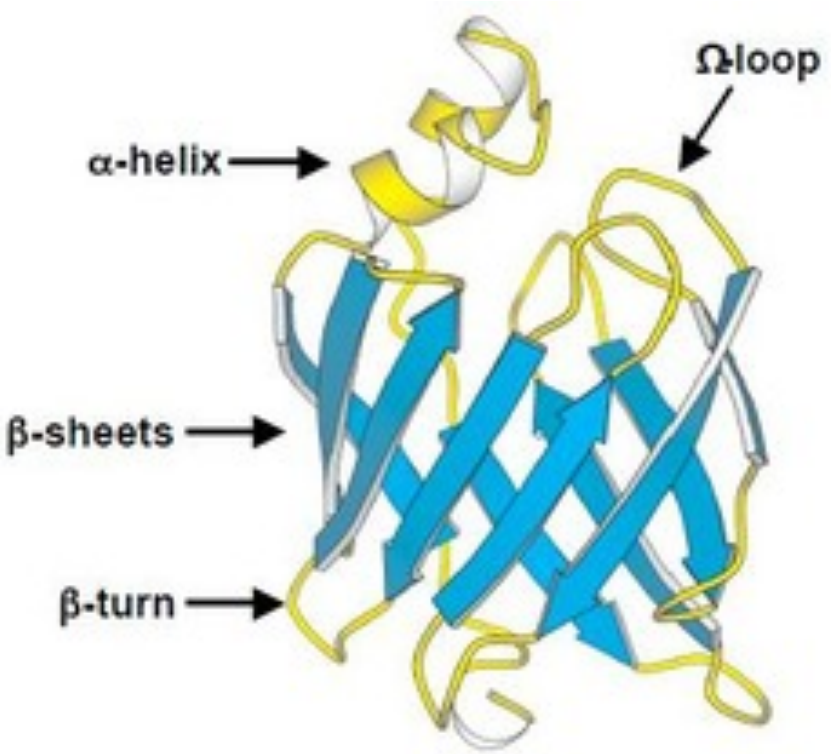




Beta turn ile bağlanmış 2 antiparalel beta-tabaka yapısına **saç tokası (hairpin)** adı verilir.

BETA-TURN:
2 beta tabaka arasındaki loop yapısı **beta-turn** olarak tanımlanır.

Beta Turn ve Loop Yapısı



B-turn

4 residu içeren bir yapıdır.

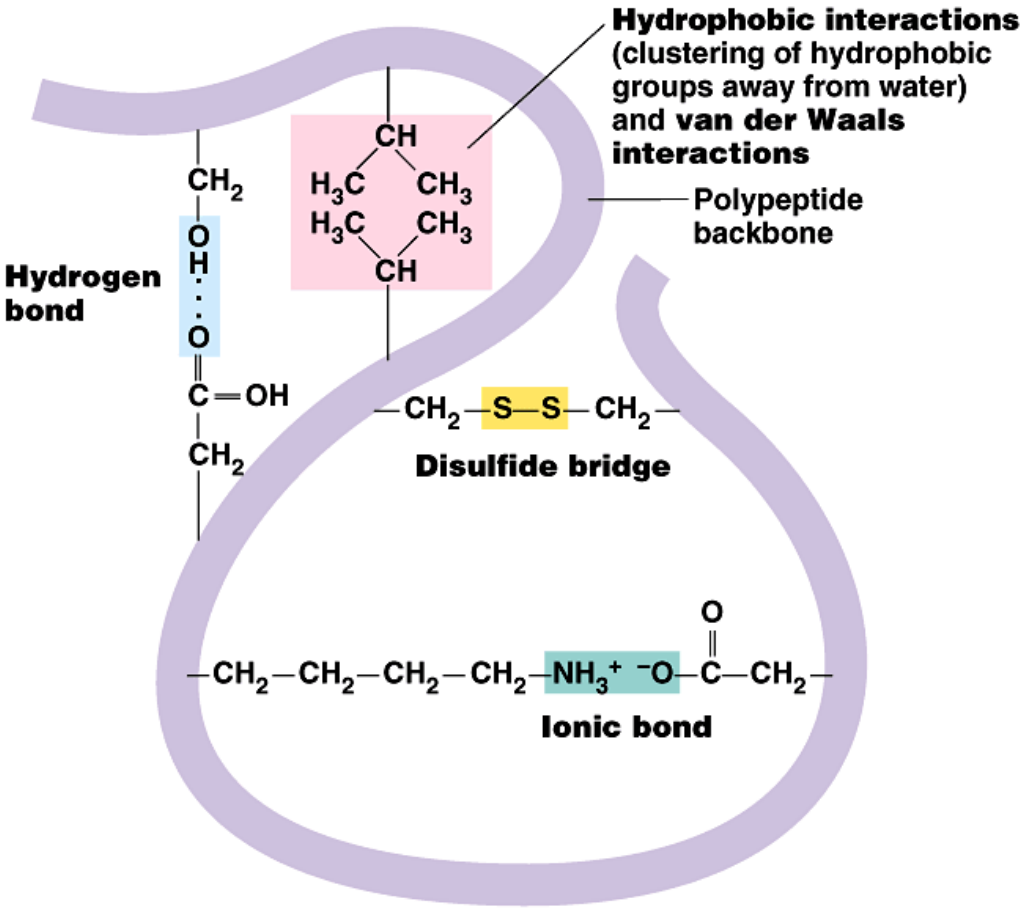
**Ortadaki 2 residu,
residular arasında hidrojen bağı yapımına katılmaz.**

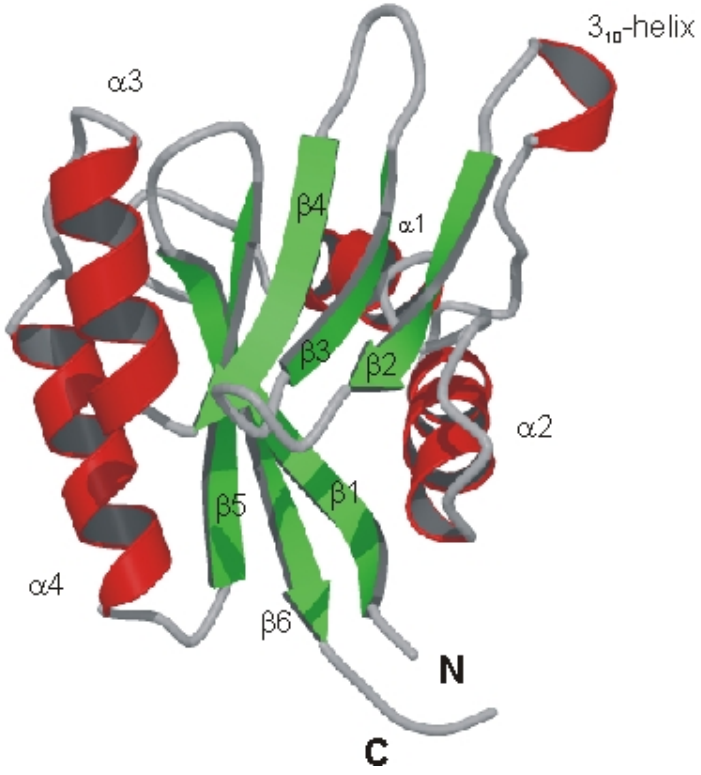
Genellikle protein yüzeyinde bulunan beta-turn yapılarında ortadaki 2 residu su ile H bağı yapar.

Küçük ve esnek yapılarından dolayı Glisin ve Prolin beta-turn yapısında sıklıkla rastlanmaktadır.

Tersiyer ve Kuarterner yapı

Farklı sekonder yapıları oluşturmakta olan polipeptid zincirlerindeki birbirinden uzak amino asitlerin tamamen katlanmış bir yapı oluşturmak üzere birbiriyle etkileşim kurması sonucu proteinin **tersiyer yapısı** meydana gelmektedir.



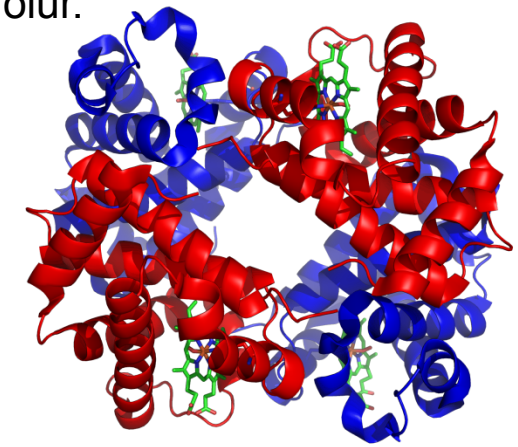


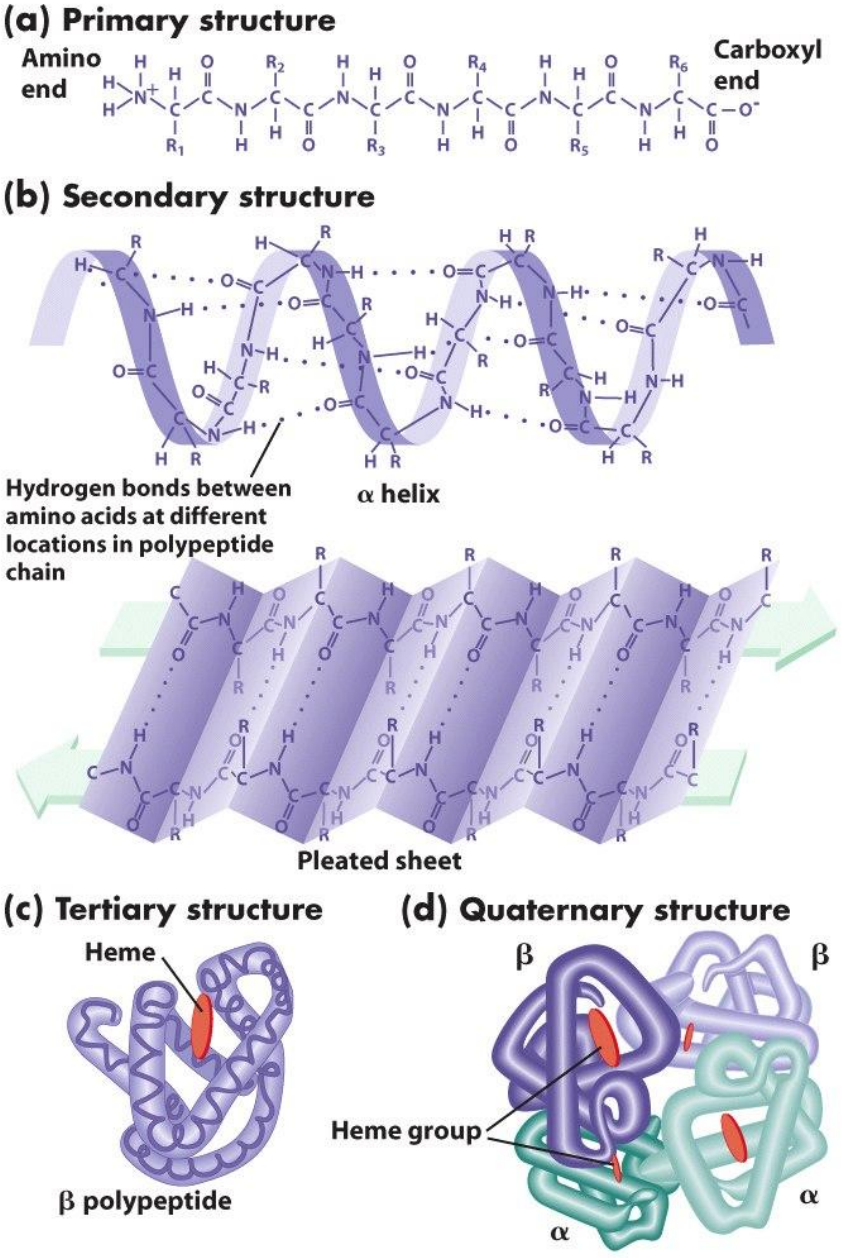
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Tersiyer ve Kuarterner yapı

Bazı proteinler 2 ya da daha fazla polipeptid zinciri içerir. Bunlara alt ünite (protomer) adı verilmektedir. Birbiri ile aynı ya da farklı olabilirler.

Bu alt ünitelerin nonkovalanet bağlarla bir araya gelmesiyle da proteinin kuarterner yapısı oluşmuş olur.





Bu dördüncül yapılanmaya göre düşünüldüğünde proteinler uzun bloklar olarak yapılanmış fibriler proteinler ve yuvarlak biçimlerde katlanmış globular proteinler olarak sınıflandırılmaktadır.

Tersiyer ve Kuarterner yapı

FİBRİLER PROTEİNLER

• tek tip sekonder yapı içerir.

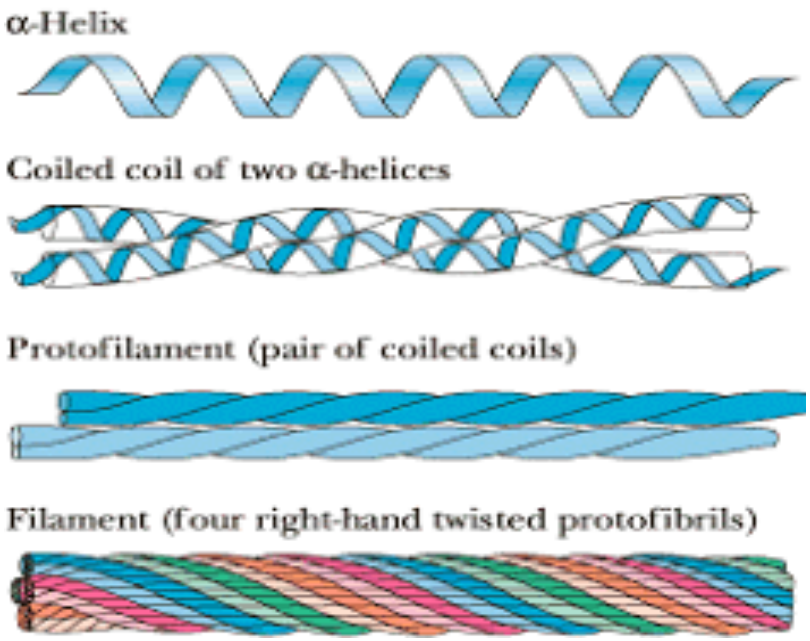
• destek, yapı, koruma ,dayanıklılık ve esneklik
(keratin, kolajen, ipek)

Kolajen: tendon, kıkırdak kemik gibi bağ dokular, göz kornea tabakası

Keratin: Saç, tırnak, odun, boynuz, kirpi oku

•iç kısmında ve yüzeyde yer alan hidrofobik aa lerden dolayı suda çözünmezler.

•polipeptid zincirleri arasındaki kovalant çapraz bağlarla (disülfid bağı) dayanıklıkları arttırılır.

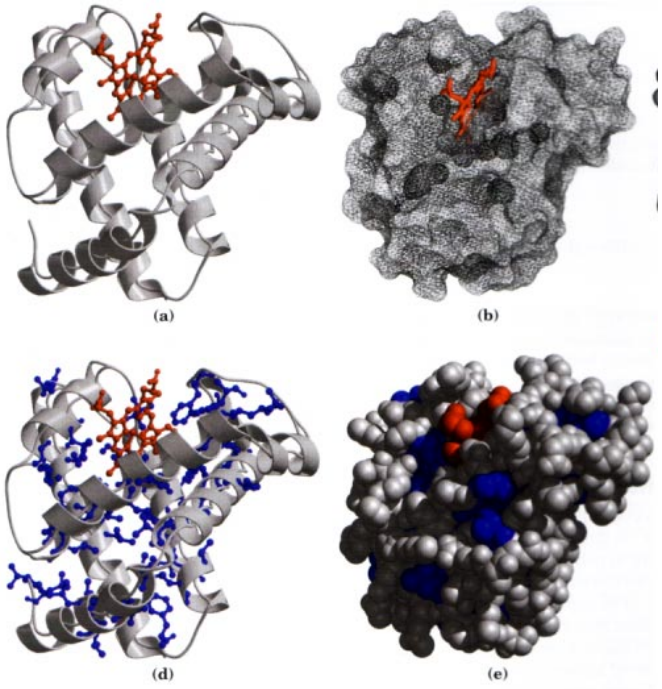


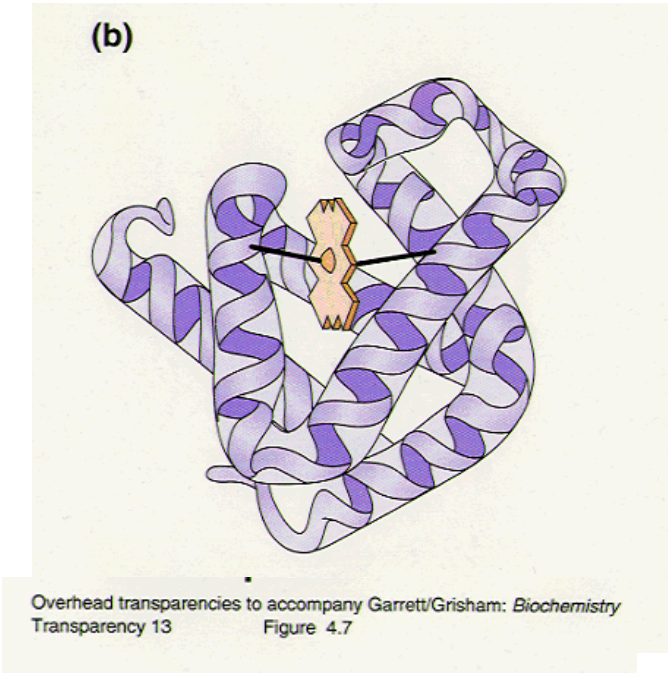
Tersiyer ve Kuarterner yapı

GLOBULAR PROTEİNLER

•Bir polipeptidin farklı segmentleri ya da birden fazla polipeptid zinciri katlanarak pakentlenmiş sıkı bir yapı oluşturur.

•Katlanma sayesinden artan yapısal çeşitlilik farklı biyolojik fonksiyonların gerçekleşebilmesi için de önemlidir.





•birden fazla sekonder yapı içerir.

•enzimler, düzenleyici proteinler,
transport proteinler,
motor proteinler,
immunoglobulinler
vb.

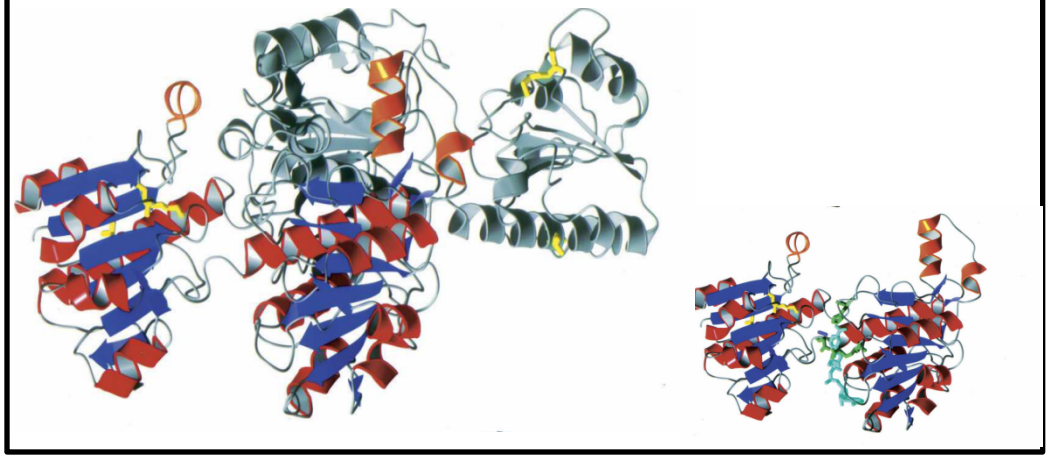
Tersiyer ve Kuarterner yapı

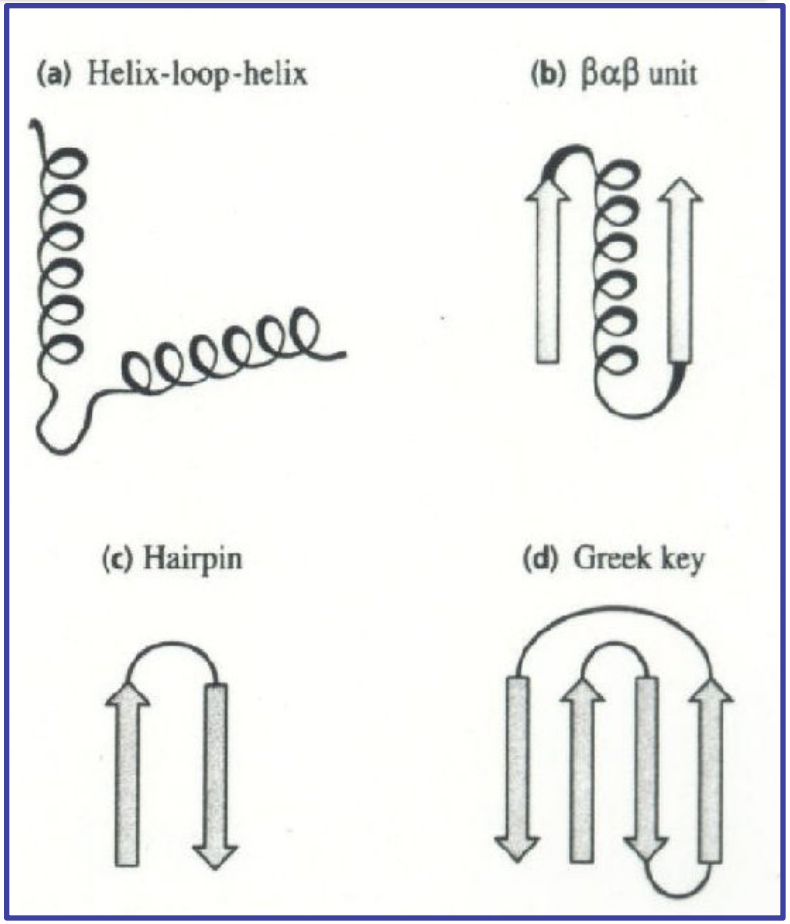
Birçok globular proteinde alfa heliks, beta sheet gibi sekonder yapılar kendi içlerinde birbirleri ile bağlantılı kararlı **“katlanmalar “ “supersekonder yapılar” “motifler”** meydana getirirler.

Polipeptid katlanması fiziksel ve kimyasal kısıtlamaların özelleştirdiği bir yerleşmedir. Böylece amino asit dizilişine göre motifler meydana gelmektedir.

Büyük polipepitid zincirleri (>100) yapsal olarak bağımsız 2 ya da daha fazla kararlı globular birimlere katlanarak **“domain”** yapılarını oluşuturur.

Domainler kofaktör ve koenzim bağlanması; diğer proteinlerle etkileşim ya da katalitik aktivite gibi özel görevler üstlenmiştir.





Tersiyer ve Kuarterner yapı

Sınıf / katlanma / evrimsel ilişki

1. Primer dizisi ve/veya yapı ve fonksiyonu önemli ölçüde benzeyen proteinler aynı protein ailesi (protein family)dir

2. Primer dizisindeki benzerlik çok az olmasına rağmen yapısal motifleri ve fonksiyonları benzeyen proteinler süperaile (superfamily) olarak gruplandırılır.