

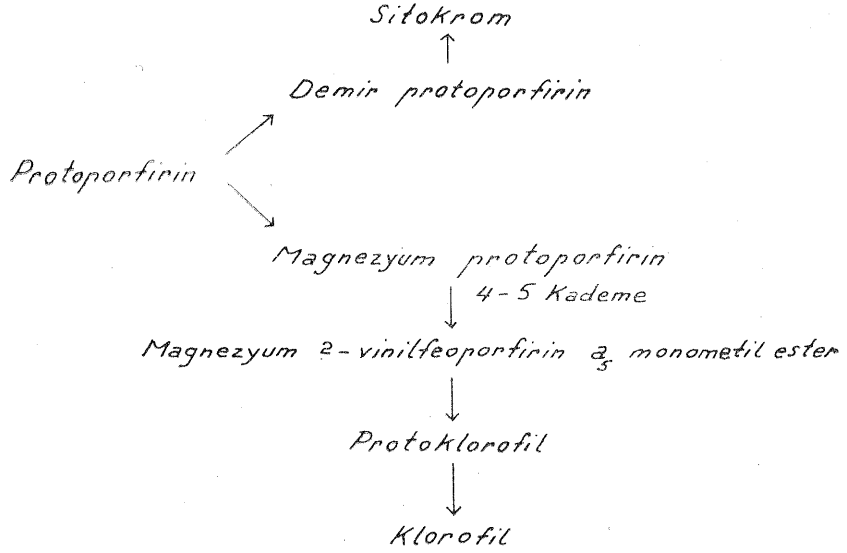
KLOROFİLİN VE HEMİNİN BİYOSENTEZİ

Doç. Dr. Emine BİLGE, Refik YİĞİT
Botanik ve Genetik Kürsüsü İst. Üniv. Fen Fakültesi

19. Asrın sonlarına doğru bitkilerin yeşil pigmenti olan klorofilin hemin'e yakın olduğuna ait ilk delil elde edildi. Hemin kana kırmızı rengini veren hemoglobinin prostetik grubudur. Hemoglobinde hemin ve globin 1:1 oranında bulunmaktadır. Hemin 1929 yılında sentetik olarak elde edilebildiği halde, klorofilin bu şekilde elde edilmesi ancak son yıllarda mümkün oldu.

Şekil (1) de görüldüğü gibi klorofil Mg çekirdek etrafında yer almış dört pirol halkası ihtiva etmekte ve bunların birine de bir alkol olan fitol bağlanmış bulunmaktadır. Hemin'de ise çekirdek Fe'dir ve fitol yerine bir vinil grubu bulunmaktadır. Yapıdaki bu benzerlikler bu iki maddenin biyosentezinin birbirine yakın yolları takip edeceği fikrini ortaya çıkarmıştır.

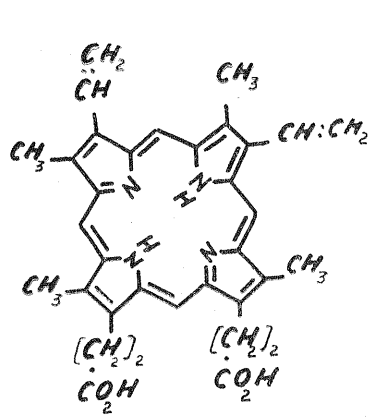
GRANICK, *Chlorella vulgaris* hücrelerini radyasyona maruz bırakarak bir mutant tip elde etti. Bu mutantlara Beyerinck mutantları adı verildi. Bunlar klorofil husule getiremediler, fakat protoporfirin yığılması dolayısıyla koyu kahverengi oldular. Bu tecrübeye protoporfirin'in klorofil biyosentezinde bir ara madde olduğu açıkça görüldü. Bu çalışmalar devam ederken, diğer bir mutantta Mg-protoporfirin başka bir mutantta da 2-vinil feoporfirin a₅ monometil ester bulundu. Bu müşahedeler neticesinde GRANICK klorofilin sentezi için aşağıda görülen şemayı hazırladı.



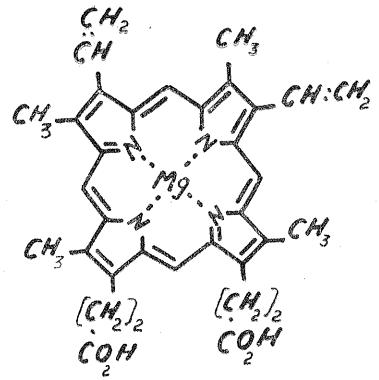
Hemin'in ve klorofil'in sentezinde müşterek olan son mahsul protoporfirindir. Gene GRANICK'in 1963 yılındaki çalışmalarında belirtilmektedir ki, protoporfirin teşekkülü hayvansal hücrelerde mitokondrielerde vuku bulmakta; halbuki bitkisel hücrelerde hem mitokondrielerde hem de kloroplastlarda vaki olmaktadır. Fakat mitokondrieler sadece Fe porfirinleri, kloroplastlar ise hem Fe hem de Mg-protoporfirinleri yapabilirler.

Klorofilin biyosentezinde mühim bir madde olan protoporfirin teşekkülünde ilk kademe suksinil-CoA ve glisin kondansasyonu ile δ -aminolevulinik asidin teşekkülüdür. Bu sonuncu maddenin iki molekülü δ -aminolevulinik asit dehidraz enziminin etkisi ile birbirine bağlanarak monopirolü hasil eder. Bunu porfogilinogen, tetrapirel ve uroporfirinogen'in teşekkülü takip eder. Tetrapirel CO_2 ayrılması neticesinde kaproporfirinogene döner ki bu madde protoporfirin'in öncül maddesidir.

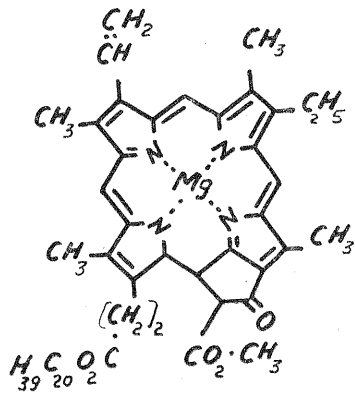
Bir çok dokularda ve mikroorganizmalarda bulunan demir katalaz enzimi Fe'in bağlanmasını katalize ederek protoporfirinden protohemin meydana gelmesini sağlar. Katalazın, peroksidazın ve çeşitli sitokromların heminlerinin, hemoglobinin hemini gibi meydana geldiği kabul edilmektedir. Protoporfirine Mg'un girmesi evvelce de bahsedildiği gibi, Mg-protoporfirin'in ve sonra klorofilin teşekkülünü sağlamaktadır.



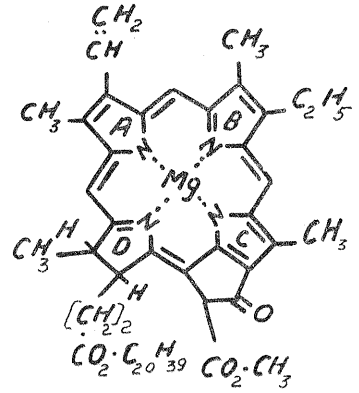
Protoporphirin



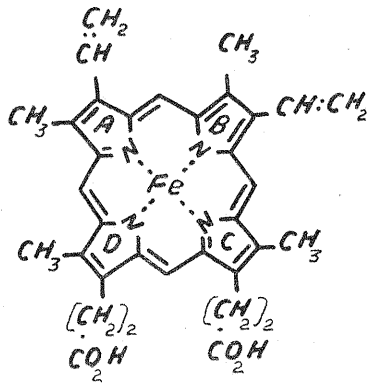
Magnezyum protoporphirin



ProtoKlorofil



Klorofil A



Hemin

Şekil 1. — Hemin'in, klorofil'in ve onun biyosentezinde önemli olan bazı ara maddelerin kimyasal formülleri.

Protoporfirin klorofile dönmesinde şu ara mahsuller görülmektedir:

- 1) Mg-protoporfirin monometil ester
- 2) Mg-protoporfirin
- 3) Mg-2vinilfeoporfirin a₅ monometil ester

Bu sonuncu madde fitilleşmek suretiyle protoklorofili husule getirir, o da sonra klorofil A ya döner. Klorofilin biyosentezi esnasında ışık her kademede teşvik edici bir rol oynar. Mg-protoporfirin teşekkülüne kadar cereyan eden reaksiyonlar karanlıkta meydana gelebilir. Halbuki Mg-protoporfirinden klorofilin teşekkülüne kadar geçen bütün reaksiyonlar muhakkak surette ışığa ihtiyaç gösterirler (Bazı özel durumlar hariç).

Bilindiği üzere klorofil, umumiyetle klorofil A ve klorofil B şeklinde bulunmaktadır. Klorofil B pirol halkalarının birinin köşesinde 1 CHO (aldehid) grubu taşır. Halbuki klorofil A aynı yerde bir CH₃ (metil) grubuna sahiptir. Klorofil A, C₅₅H₇₂O₆N₄Mg formülü ile; klorofil B ise C₅₅H₇₀O₆N₄Mg formülü ile gösterilir. Bu iki klorofil çeşidinin biyosentezleri arasındaki münasebeti izah etmek için dört ihtimal üzerinde durulmaktadır.

- 1) Klorofil A ve B, farklı öncül maddelerden ayrı ayrı teşekkül etmektedirler.
- 2) Klorofil A, klorofil B den husule gelmektedir.
- 3) Klorofil A ve B, müşterek bir ara mahsulden farklı yollarla meydana gelmektedir.
- 4) Klorofil B, klorofil A dan hasil olmaktadır.

Birinci ihtimalin mümkün olmadığı işaretli protoklorofil kullanmak suretiyle tecrübî olarak gösterilmiştir. Şöyle ki işaretli protoklorofil ihtiva eden genç bitkiler 6-8 saat ışıktaki bırakıldıkları zaman klorofil A ve B nin eşit miktarlarda husule geldiği kaydedilmiştir.

İkinci ihtimal de mümkün görülmemektedir. Çünkü klorofil teşekkülü ve birikmesi olayında önce sadece klorofil A görülür. Klorofil B nin teşekkülü daha sonra vaki olur. Son yıllarda fasulye bitkileri ile yapılan tecrübeler göstermiştir ki aydınlık ve karanlık periyotları birbirini takip ederken, karanlık devreler esnasında genç fasulye yaprakları total kloro-

fil miktarını değiştirmeksizin klorofil A nisbetini, klorofil B ye nazaran çoğaltmaktadır. Buradan anlaşılıyor ki karanlıkta klorofil B, klorofil A ya dönmemektedir.

Üçüncü ihtimal, SMITH; SMITH ve FRENCH tarafından bazı müşahedelere istinaden ileri sürülmüş ise de kuvvetli destek bulamamıştır.

Dördüncü ihtimal, yani klorofil B nin klorofil A dan meydana geldiği fikri genetik incelemelerle desteklenmiştir. Bir çok tür ve mutant sadece klorofil A ihtiva eder. Fakat sadece klorofil B ihtiva ettiği bilinen hiç bir fert yoktur. Yapraklara işaretli klorofil A verildiği zaman onlar bundan klorofil B yapabilirler, ama bunun aksi görülmemiştir. GODNEV, ROTFARB ve AKOULIVITCH'in bu şekildeki tecrübeleri klorofil B nin klorofil A dan meydana geldiği fikrini doğrulamıştır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, klorofil A ve B ye klorofil C ve D yi de eklemiştir. Klorofil C, STRAIN ve MANNING tarafından kahve rengi alglerde bulundu. HARDIN tarafından da *Diatomeae* ve *Dinoflagellatae* de bulundu. Yapı bakımından klorofil C, Mg-2 vinilfeoporfirin a₃ monometil estere çok yakındır. Klorofil D, kırmızı alginlerin bazı türlerinde bulundu. Son zamanlardaki deliller onun bir 2-devinil-2-formilklorofil A olduğunu düşündürmektedir.

H e m i n v e K l o r o f i l B i y o s e n t e z i n i n k o n t r o l m e k a n i z m a l a r ı

Porfirin biyosentezini farklı mekanizmaların kontrol ettiği ileri sürülmektedir :

1. SANO ve GRANICK porfirin biyosentezinin ilk enzimi olan δ -aminolevulinik asit sentetazın ve zincirin son enzimi olan kaproporfirinogen oksidazın mitokondrilerde bulunduğunu ve suda eremediğini gösterdiler. Porfirin biyosentez zincirinin geri kalan enzimlerinin sitoplazmada bulunduğu düşünölmektedir. Bundan anlaşılıyor ki δ -aminolevulinik asit mitokondrilerde sentez edilir, kaproporfirogen'e çevrilmek üzere sitoplazmaya geçer, protoporfirine çevrilmek için tekrar mitokondriye geri döner. Bu geçişlere müsaade edilmesi veya edilmemesi porfirin biyosentezini kontrol eden bir mekanizma olarak görölmektedir.

2. Bir çok araştırıcı son mahsöl inhibisyonunun hemin biyosentezinde aktif rol oynadığını göstermiş bulunmaktadır. LASCELLES'in incelemelerini misal olarak alabiliriz. LASCELLES'in müşahedelerine göre

Rhodopseudomonas spheroides, Fe ihtiva etmeyen ortamda yetiştirildiği zaman porfirinleri biriktirmekte ve eğer az miktarda Fe verilirse hemin husulü dolayısıyla porfirin yığılmasında bir azalma görülmektedir. O halde Fe, metabolik silsilede hemin sentezini hızlandırmak suretiyle porfirin teşekkülüne katalitik olarak tesir etmektedir. Hemin de silsilenin ilk enzimi olan δ -aminolevulinik asit sentetazı inhibe eder. Böylece enzim faaliyetinde bir değişme gene bir kontrol mekanizması gibi çalışmaktadır. Bu fikir son zamanlarda birçok araştırmacı tarafından doğrulanmıştır.

3. Hemin ve klorofil sentezinde rol oynayan enzimlerin farklı miktarlarda sentez edilmesi de hemin ve klorofil biyosentezinde bir kontrol mekanizması olarak rol oynamaktadır. Meselâ δ -aminolevulinik asit sentetaz enziminin miktarı porfirin sentezini tahdit eder. 1,4-dehidro-colloidin 3,5 dekarboksilat (DDC), yedirilen kobaylarda porfirinlerin ve porfirinin öncül maddelerinin karaciğer hücrelerinde fazla miktarda husule gelmesi, bu mitokondrial enzimlerin sentezinde özel bir çoğalmadan ileri gelmektedir. Porfirin husulüne sebep olan kimyasal maddelerin faaliyet mekanizmasının esası protein sentezi inhibitörlerinin incelenmesi ile anlaşıldı. DDC tarafından, husule getirilen çoğalmanın aksine Mitomisin ve Aktinomisin, δ -aminolevulinik asit husulünde bir inhibisyona sebep oldular. Çünkü aktinomisin, M-RNA teşekkülüne mani olur. Mitomisin de DNA'nın iki helozonî ipliğinin birbirinden ayrılmasına sebep olur. Buradan anlaşılıyor ki δ -aminolevulinik asit sentetaz, tam DNA molekülüne ihtiyaç göstermektedir. Enzim teşekkülünün baskı altına alınması da hemin ve klorofil biyosentezi için ayrı bir kontrol mekanizmasıdır.