

HÜCRE METABOLİZMASININ REGÜLASYONU

Dr. Güler ORALER
I.Ü. Botanik ve Genetik Kürsüsü

METABOLİK REGÜLASYON KAVRAMI

Hücrelerin ve buna bağlı olarak organizmanın hayatını devam ettirmesi, kitlesinde bir artış meydana gelmesi ve çoğalması "anabolik reaksiyonlar" adı altında toplanabilecek sentez olayları ağına bağlıdır. Biyosentez reaksiyonları için gerekli enerji de diğer bir kimyasal reaksiyon grubu olan "katabolik reaksiyonlar" ile sağlanır. O halde, hücre metabolizmasını inceleyebilmek için, enerji elde etmeye yönelik reaksiyonlarla, biyosentez reaksiyonları üzerine eğilmek gerekmektedir.

Hücrenin en belirgin özelliklerinden biri, gereksinimlerine, değişen iç ve dış ortam şartlarına göre metabolizmasını regüle etme (düzenleme) ve bunun sonucunda da değişen şartlara uyabilme yeteneğidir; metabolik reaksiyonlar arasındaki sabit dengeyi de bu reaksiyonları kataliz eden enzimleri regüle ederek korumaktadır.

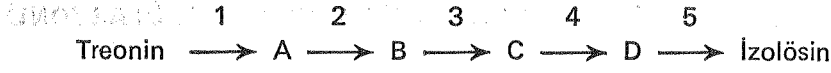
Hücrenin kendi metabolizmasını regüle etme özelliği, metabolizması dış ortama sıkıca bağlı olan tek hücreli organizmalarda kolaylıkla gösterilebildiğinden bu alandaki araştırmalar genellikle bakterilerde veya tek hücreli basit eukaryotlarda yapılmaktadır.

REGÜLASYON TIPLERİ

Son 10-15 yıl içinde metabolik fonksiyonların ve bunlara ait regülasyon mekanizmalarının araştırılmasında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bakterilerde hücre içinde aynı anda işleyebilen başlıca iki tip regülasyon mekanizması bilinmektedir:

1 - Enzim aktivitesinin regülasyonu

Bir bakteri hücresi minimal ortamda kendine gerekli olan bütün metabolitlerin sentezini, örneğin 5 kademeden oluşan bir reaksiyon zinciriyle treoninden izolösini yapma yeteneğindedir.

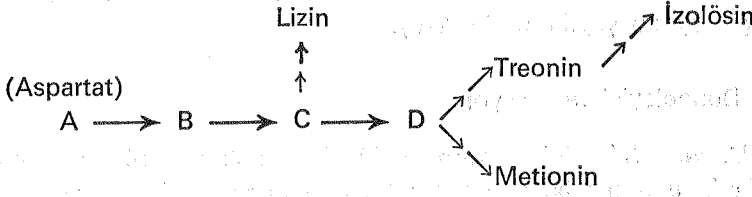


Bakteri içinde izolösün bulunan bir besiyerine alındığında, bu sentez faaliyeti durur ve hücreler ortamdaki amino asidi (izolösün) kullanırlar. Bu durum en basitinden bir ekonomi kuralı olarak ortaya çıkmakta yani hücre gereksiz yere enerji harcamamaktadır. Yapılan araştırmalar, reaksiyon zincirinin son ürünündeki fazlalığın sentezi durdurma etkisini zincirin ilk kademesini kataliz eden enzimi bloke edip onun katalitik aktivitesi üzerine ket vurucu etki yaparak meydana getirdiğini ortaya çıkarmış; çeşitli organizmaların değişik metabolit sentezlerinde gözlenen bu tip regülasyon mekanizmasına "rétrocontrole=feedback mekanizması" adı verilmiştir. Aktiviteleri metabolik regülasyona bağlı olduğundan biyosentezde önemli rolleri olduğu saptanan bu tip enzimlerin yapı ve kinetik özellikleri ortaya konarak regülasyon hakkında geniş bilgiler elde edilmiştir.

Son ürünün zincirin ilk kademesindeki enzimin aktivitesini kontrol ederken onunla bir kompleks yapması gerekir. Temel kural olarak, enzimin substratla kompleks oluşturan aktif noktaları sadece kendi substratına özeldir. Buna karşılık, son ürünle substrat arasında kimyasal yapı olarak hiç bir yakınlık bulunmadığından bu durumda son ürünün enzimin aktif noktasından başka bir noktayla kompleks meydana getirmesi gerekir. Bu tip enzimlere, kendini etkileyen bileşiklerle substratı arasında hiç bir sterik analogi olmadığından dolayı "allosterik enzimler" adı verilmektedir (Monod ve ark., 1963). Allosterik enzimlerin en temel özelliği substratlarından başka metabolitler tarafından aktive veya inhibe edilme yetenekleridir. Metabolit bir inhibitör gibi davrandığında enzimdeki allosterik noktaya tesbit olmakta ve enzimin protein yapısını değiştirerek aktif noktayla substratı arasındaki yakınlığı azaltmaktadır. Bir aktivatör gibi davrandığında ise aktif noktanın substratla yakınlığını arttıracak yapısal değişmelere neden olmaktadır. Allosterik bir enzim diğer enzimlerin gösterdiği "Michaelien kinetiği" göstermez, $V=f(S)$ fonksiyonu bir hiperbol değil bir sigmoiddır. Monod ve ark. (1965) nın bu enzimlerin yapısal ve kinetik özellikleri üzerinde elde edilen sonuçları içine olan "allosteric transition" teorileri ve bu teoriye dayanan bir model teklifleri vardır. Modelde en çok dikkate alınan husus bu sınıf en-

zimlerin "oligomerik" yapıları, yani, katalitik ve regülatör özellikte farklı alt-ünitelerden (protomer) meydana gelmiş olmalarıdır.

Verilen ilk örnekteki gibi lineer yollarda son ürün ilk enzimi ve dolayısıyla yoldaki bütün enzimleri etkilemektedir. Fakat metabolik yolların çoğu dallanma veya birleşme gösterir. Bu iki görünüm metabolik regülasyonun daha karışık hale gelmesine yol açar. Örnek olarak aspartik asitten amino asit türevlerinin sentezini ele alalım:



Bu durumda, ortamda örneğin metioninin fazlalığı kendi sentezi üzerinde ket vurucu etki yapmak üzere ilk enzimi bloke ederken diğer amino asitlerin sentezleri de duracak ve ortamda bu amino asitler bulunmadığından hücrenin büyüme ve çoğalmasında bir duraklama olacaktır. Organizmalar bu probleme çare olarak değişik regülasyon mekanizmaları geliştirmişlerdir:

a) İzoenzimler tarafından yapılan regülasyon.

Bu tip regülasyonda aynı başlangıç reaksiyonunu kataliz eden fakat farklı bir son ürün tarafından regüle edilebilen birden fazla enzim vardır (Şekil 1-a). Bu durum ilk defa Stadtman ve ark. (1961) tarafından aspartat türevlerinin (lizin, treonin, metionin, izolösün) sentezinde gözlenmiştir.

b) Çok değerli regülasyon.

Bu regülasyon mekanizması ilk defa Caskey ve ark. (1964) tarafından hayvansal dokulardaki purin biyosentezinde bulunmuştur. Son ürünler tek başlarına ilk enzimi regüle edemezler, ancak birlikte bulduklarında etkili olurlar (Şekil 1-b)

c) Kumulatif regülasyon.

Son ürünlerin herbiri, ortamda diğerleri olsun veya olmasın, ilk enzimi etkileyerek bağımsız bir regülasyon meydana getirir; ancak regülasyonun

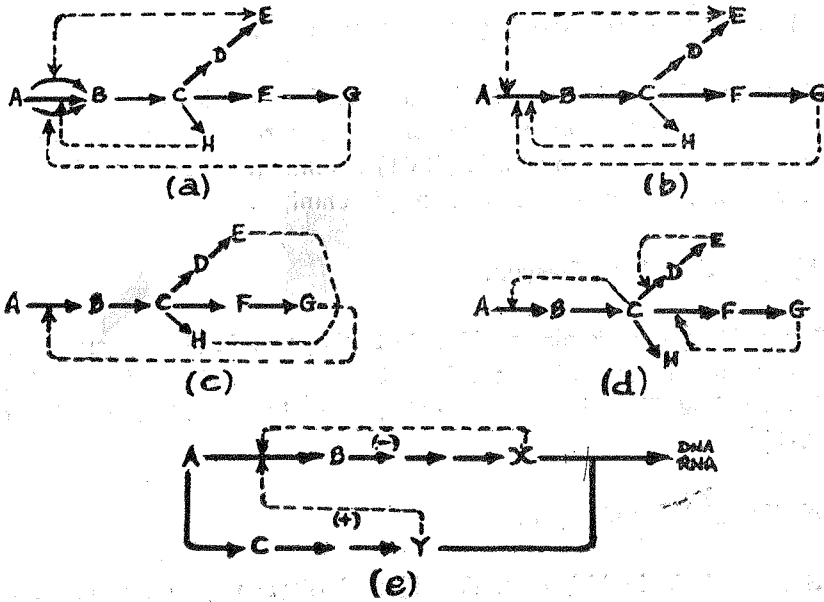
tam olması için bütün son ürünlerin varlığı şarttır (Şekil 1-c). İlk defa Woolfolk ve Stadtman (1964) tarafından E. coli'deki glutamin sentetazın regülasyonunda gösterilmiştir.

d) Sıralı regülasyon.

Nester ve Jensen (1966)'in Bacillus subtilis'te aromatik amino asitlerin biyosentezinde gözledikleri bu tipte, her son ürün kendine özel yolun ilk enzimini regüle eder; bu durumda biriken bir ara ürün tarafından da sentezin ilk enziminin regülasyonu yapılır (Şekil 1-d).

e) Dengeleyici regülasyon.

DNA ve RNA gibi makromoleküllerin sentezinde ribo ve dezoksiribonükleotidlerin uygun miktarları kullanılır. Gerekli nükleotidlerin sentezleri feedback mekanizmasıyla kontrol edildiğinde bunların miktarlarındaki azalma veya çoğalma sonucunda meydana gelecek eşitsizliği önlemek üzere, şekil 1-e'de şematik olarak gösterilen bir tip kontrol mekanizmasıyla, aktivitesi inhibe edilmiş enzim üzerine başka bir yolun son ürünü aktive edici etki yapar. Bu şekilde makromolekül sentezlerinin durmaması sağlanır.



Şekil 1. Dallon ma ve birleşme gösteren metabolik yollardaki regülasyon tipleri (Heslot'dan).

2 - Enzim sentezinin regülasyonu.

Mikroorganizmalar değişik maddelerden oluşan ortamlarda üretildiklerinde, enzimlerinin spesifik aktivitelerinin değiştiği yani enzimlerinin sentez faaliyetinde de değişme olduğu bilinmektedir. O halde diğer önemli bir regülasyon mekanizması da enzimlerin sentezi üzerindedir. Örneğin, E. coli triptofan ortamda üretildiğinde bu amino asidin biyosentezine giren bütün enzimler aktif şekilde sentez edilirler; ortama triptofan eklendiğinde bu enzimlerin sentezi durur. Demekki triptofan kendi biyosentezindeki enzimlerin sentezi üzerine repressif (bastırıcı) bir etki yapmaktadır. Buna karşılık, aynı bakteri laktosuz ortamda üretildiğinde, hücreler son derece az miktarda β -galaktosidaz sentezlerler; ortama laktoz eklendiğinde ise bu enzimin sentezi hızla artar (yaklaşık olarak 10.000 misli hızlanır). Burada laktoz indükleyici etki yapmaktadır.

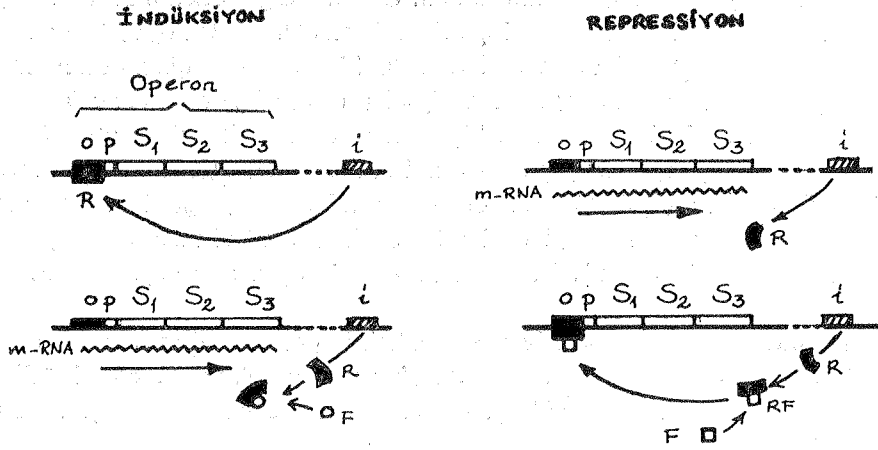
Bu indüksiyon ve repressiyon sistemlerinin genetik düzeyde nasıl iş gördükleri hakkındaki temel bilgilerimiz Jacob ve Monod'nun E. coli K-12'deki laktoz fermentasyonunun regülasyonu üzerindeki aydınlatıcı araştırmalarına dayanmaktadır.

Bir enzimin strüktürü DNA'daki spesifik bir baz sırası tarafından kodlanır buna "strüktürel gen" (S) denir. Yani bir strüktürel gen bir proteinin strüktürünü tayin edecek genetik bilgiyi taşır. Bakterilerde aynı sentez zincirinde iş gören strüktürel genler genellikle yan yanadır ve meydana getirdikleri m-RNA, operatör (o) ve promotör (p) diye adlandırılan DNA'nın iki özel segmenti tarafından kontrol edilir (Operon). Operatör, m-RNA sentezinin başladığı, promotör ise RNA polimerazın bağlandığı bölgedir. Bu şekilde m-RNA polarize şekilde sentez edilmeye başlar. Sentezin başlamasında en önemli rolü de aynı lokusunda bulunan regülatör (i) genin meydana getirdiği bir madde (repressör) oynamaktadır (R).

Laktoz (lac) lokusundaki gibi indükleyici sistemlerde, ortamda substrat bulunduğu repressör maddesi "effektör" (F) adı verilen ufak moleküllü metalitler (ki bunlar bir biyosentezin son ürünü olup genellikle substratın analoglarıdır) ile reversibl bir 'RF' kompleksi yaparlar. Bu kompleks inaktiftir, operatör geni etkilemeyeceği için m-RNA sentezi başlar. Substrat bulunmadığında ise R aktif şekilde operatörü bloke ettiğinden, RNA polimeraz serbestçe çalışamaz ve m-RNA sentezini başlatamaz (Şekil 2-a).

Triptofan sentezindeki gibi repressibl sistemlerde ise R tek başına inaktiftir, ancak RF kompleksi iş görebilir; bu kompleks operatör geni bloke eder.

rek m-RNA sentezini engeller yani m-RNA'nın sentezi ancak F'nin yokluğunda başlayabilir (Şekil 2-b).



Şekil 2. İndüksiyon ve repressiyon mekanizmalarının işlediği sistemlerde enzim sentezinin regülasyonu (Hayes' den).

Yapılan araştırma sonuçlarına göre, repressör allosterik tabiatta bir proteindir, üzerinde F'yi ve o'yu tanıyan aktif noktalar bulunur. Gilbert ve Müller-Hill (1966, 1967) tarafından laktoz operonuna ait repressör izole edilmiş, molekül ağırlığının 160.000 olduğu ve 4 alt-üniteden (4 x 40.000) meydana geldiği saptanmıştır. Daha sonra, Riggs ve ark. (1968, 1970) iyice saflaştırılmış repressörde farklı özellikteki noktaları tayin etmişler ve repressörün operatöre çok yakın şekilde bağlandığını ($K_{diss} \approx 10^{-13}$ M) göstermişlerdir.

Bakteriler için böyle genel bir model kabul edilse bile birçok repressibl sistemin buna uymadığı bilinmektedir. Şimdiye kadar yalnız iki repressibl sistemde (arginin ve triptofan) regülatör genin genin varlığı saptanmıştır.

Eukaryotlarda ve özellikle yüksek organizmalarda bu mekanizmaların nasıl işlediği problemi çok daha karışıktır ve henüz kesin bir sonuca varılamamıştır. Genlerin fonksiyonel olarak gruplanarak bir operon meydana getirmelerine ait örnekler eukaryotlarda çok nadir rastlanmaktadır. Aspergillus nidulans'da nitrat redüktaz ve Neurospora'da aromatik amino asitlerin senteziyle ilgili genlerin bir arada buldukları biliniyorsa da bunlarda operatör genin varlığı henüz ortaya

konulamamıştır. Bazı eukaryotlarda da sentezin regülasyonunda birden fazla genin rol oynadığı saptanmıştır (Örneğin, *Saccharomyces*'de maltaz genleri, *Coprinus*'da alkalın fosfataz genleri v.b.). Aynı fonksiyonun regülasyonu ile neden bu kadar çok genin karışık şekilde ilgili olduğu konusu da henüz açıklıktan uzaktır.

Yüksek bitkilerde ise bu tip araştırmalar pek başarılı olamamaktadır. Bilinen az sayıdaki örnekler arasında, şeker kamışı bitkisinde invertaz sentezinin gibberellik asit ve diğer hormonlar tarafından regülasyonu; çeşitli bitkilerde (örneğin, *Hordeum sativum*'da) nitrat redüktaz enziminin kontrolündeki operatör-regülatör gen ilişkisine benzer durumun varlığı sayılabilir. Bu alanda ayrıca repressörün yapısı hakkında da uzun süreden beri çalışmalar yapılmaktadır ve farklı araştırmacılar tarafından repressörün histon veya aksine non-histon yapıda protein olduğuna dair değişik deliller verilmektedir (Stein ve ark., 1974).

Buraya kadar sadece metabolitlerin biyosentezinde iş gören enzimlerin senteziyle ilişkili olarak m-RNA sentezinin ve hücrede mevcut enzimlerin aktiviteilerinin regülasyonu konu edildi. Protein sentezinde m-RNA'nın transkripsiyonundan sonraki safhanın ve bu safhada iş gören diğer RNA türlerinin regülasyonu; ayrıca çeşitli örnekleri bilinen bazı enzimlerin katalitik görevlerini yaparken bir başka enzimin sentezini regüle etme özellikleri üzerinde durulmadı. Bütün bunlar da bir arada düşünüldüğünde en basit bir hücrede bile metabolik regülasyonun ne derece karmaşık yapıda olduğu ortaya çıkacaktır.

BİBLİYOGRAFYA

- COHEN, G. (1971): *Le métabolisme cellulaire et sa régulation*. - Hermann, Paris.
- HAYES, W. (1968): *The genetics of bacteria and their viruses*. Blackwell Scientific Publ., Oxford.
- HESLOT, H. (1976): *Génétique des microorganismes et applications industrielles*. - Institut National Agronomique, Paris-Grignon.
- LOPPES, R. ve MATAGNE, R. F. (1975): *Principles of genetic regulation in lower and higher plants*. - *Genetic Manipulations with Plant Material* (Edit.: L. Ledoux): 89-105, Plenum Press, NewYork.
- SANWAL, B. D.; KAPOOR, M. ve DUCKWORTH, H. W. (1971): *The regulation of branched and converging pathways*. - *Current Topics in Cellular Regulation*, Vol. 3 (Edit.: B.L. Horecker ve E.R. Stadtman): 1-115, Academic Press, NewYork, London.
- STEIN, G. S.; SPELSBERG, T. C. ve KLEINSMITH, L. J. (1974): *Nonhistone chromosomal proteins and gene regulation*. - *Science*, 183 (4127): 817-824.
- WOODS, R. A. (1973): *Biochemical genetics*. Chapman and Hall, London.