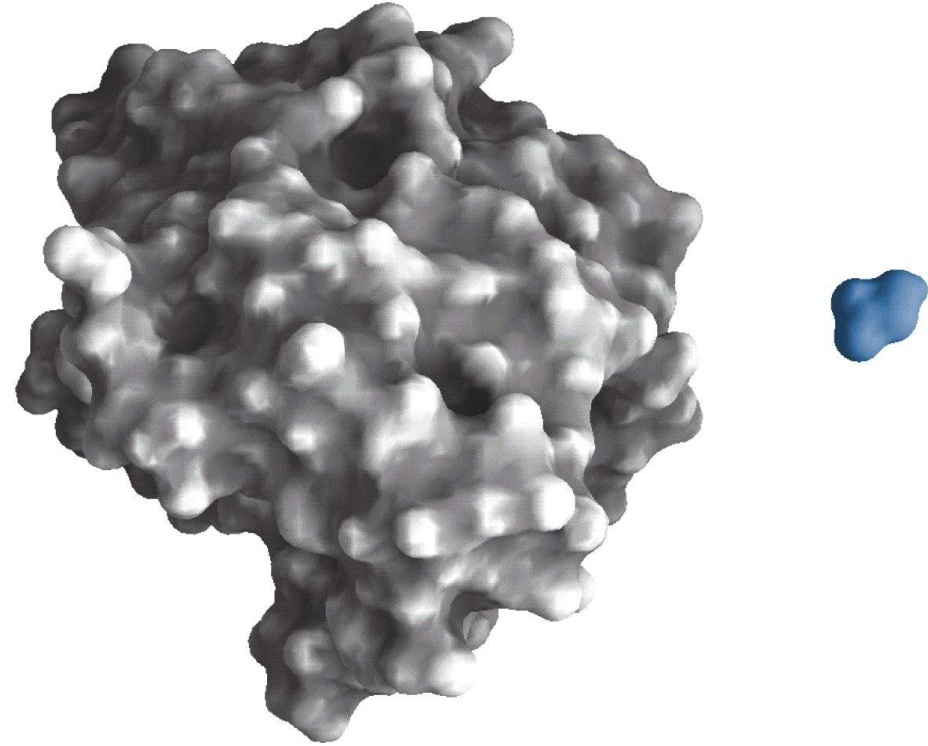


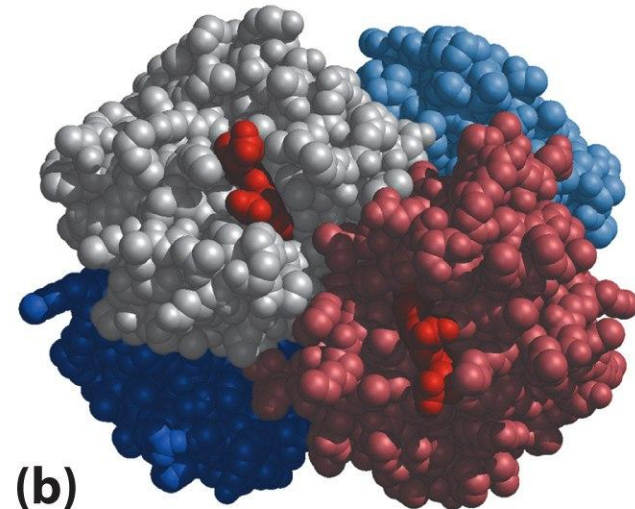
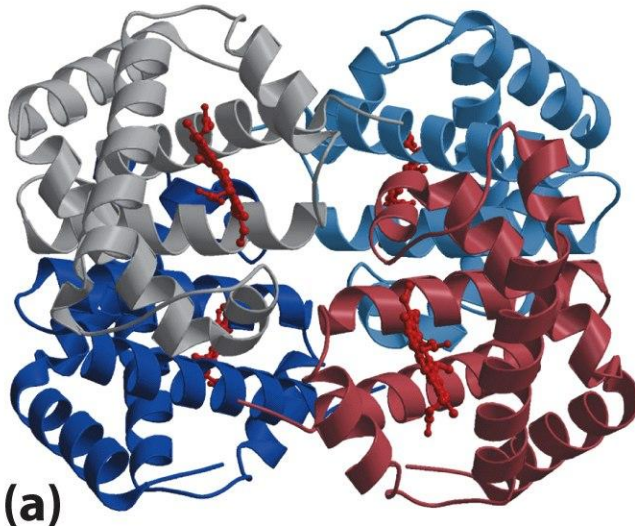
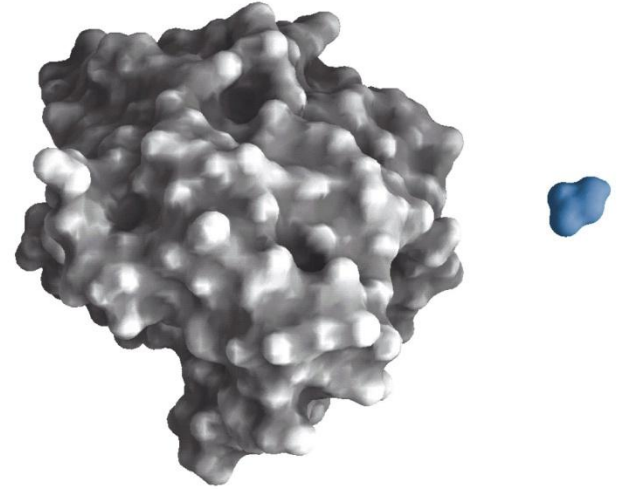
PROTEİN İŞLEVİ

- Proteinler, işlevleri diğer moleküllerle etkileşimlerine bağlı olan dinamik moleküllerdir
- Birçok proteinin işlevi diğer moleküllerle geri dönüşümlü olarak bağlanmayı içerir. Bir protein tarafından geri dönüşümlü olarak bağlanan moleküle ligant denir.
 - Başka bir protein de ligant olabilir ör?
- Bu ilişkinin geçici özelliği çevresel koşullara hızlı ve geri-dönüşümlü cevap için çok kritiktir



PROTEİN İŞLEVİ

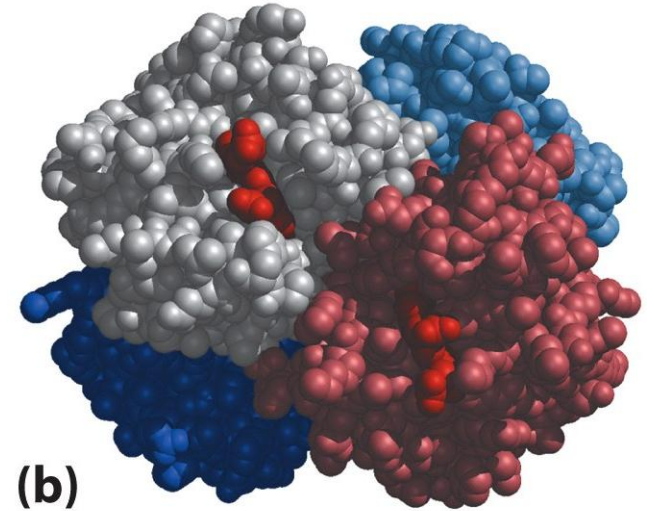
- Protein üzerinde ligandı bağlayan yer , bağlanma yeri olarak adlandırılır
- Bu bölge ligandın şekli, boyutu, yükü hidrofilik hidrofobik özelliği hakkında bilgi verir
- Bu etkileşimler özgüdür, binlerce molekül arasından ligandını ayırabilir
- Bir protein birden fazla ligant için bağlanma Yeriine sahip olabilir



PROTEİN İŞLEVİ

•Proteinler soluk alır!!

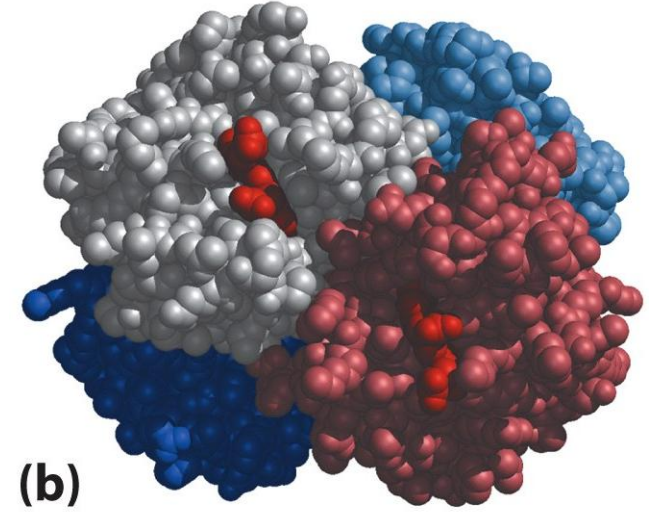
- Moleküler titreşimler, termal enerji kaynaklı bağ bozunup kırınmaları, ayrıca AA lerin protein boyunca hareketleri esneklik sağlar
- Konformasyonel değişiklikler peptit parçalarının nm düzeyinde hareketini bile içerebilir.
- Ligantın proteine bağlanması, proteinin konformasyonel değişiklikler geçirmesini tetikleyebilir. Buna P-L arasında uyarılmış uyum denir.
- Çoklu altbirimli bir proteinde, bir altbirimdeki konformasyonel değişiklik, sıklıkla diğer altbirimlerin konformasyonunu etkiler.



- Ligantla substrat ayrımı nedir?
- Enzimlerin etkilediği moleküller ligant değil substrat olarak adlandırılır
- Enzimlerde bağlanma yerine de katalitik veya aktif yer adı verilir

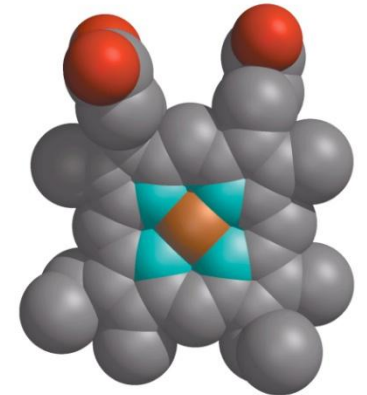
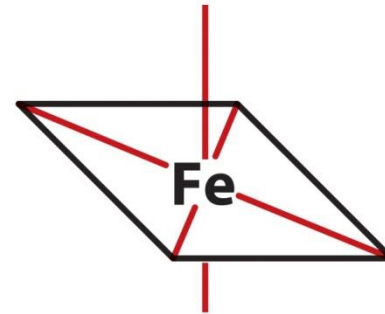
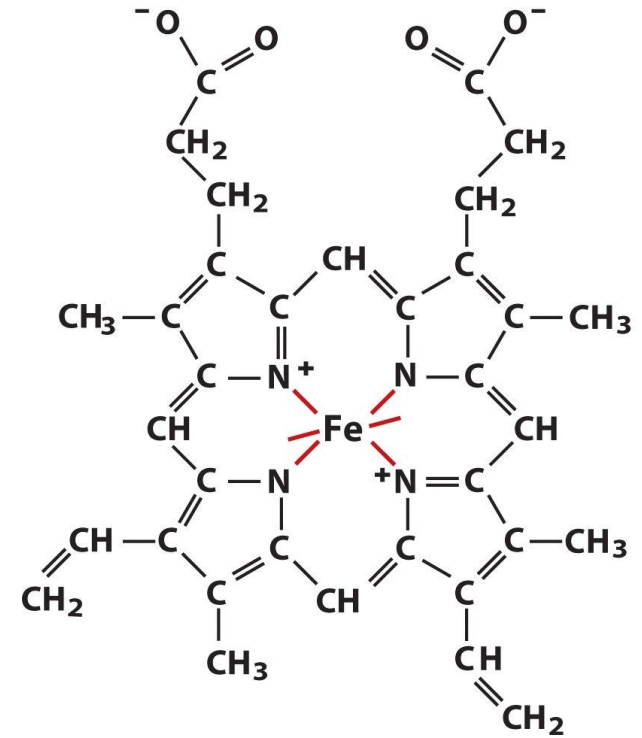
PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI

- Bu kavramı açıklamak için en çok çalışılmış ve anlaşılmış proteinler olan miyoglobin, hemoglobin proteinleri kullanılmaktadır
- Ligant?
- Oksijen suda çok az çözünür !
- Sadece kan plazmasında çözünmüş oksijen dokular için çok yetersiz.
- Oksijeni depolayan ve taşıyan proteinlerin varlığı yaşam için kaçınılmaz
- Bağımsız AA zincirlerinin hiçbirisi geri-dönüşümlü olarak oksijen bağlanması için uygun değildir
- Bu görev oksijen bağlamaya eğilimli olan demir ve bakır gibi metallerce yerine getirilir



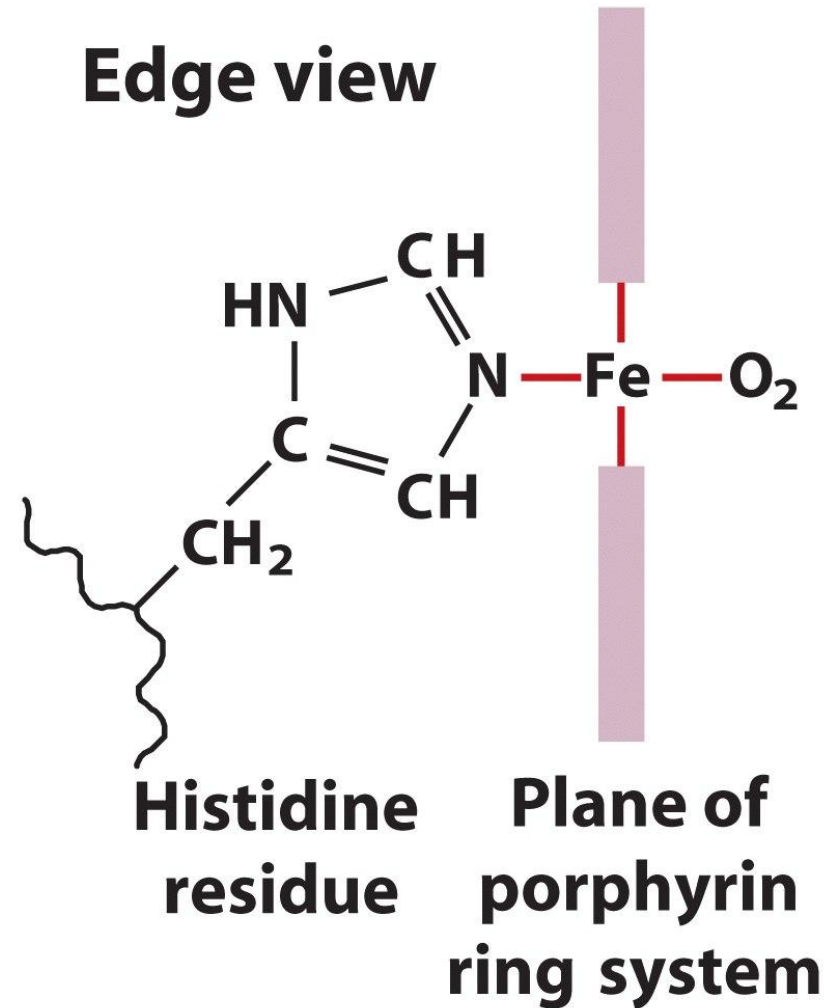
PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI

- Serbest metaller ise tek başlarına DNA ve benzeri makromoleküllere zararlı OH. gibi radikallerin oluşumunu tetikler
- Hücrelerde kullanılan demir bağlı formlarda ve reaktivitesi düşürülmüş halde
- Çok hücreli canlılarda hem grubu tarafından oksijen taşıma ve depolama gerçekleştirilir
- Hem, Protoporfirin isimli kompleks organik bir halka ortasına Fe^{+2} (ferröz) bağlanmış yapıdır
- Porfirin 4 koordinasyonlu düzlemsel grup + 2 dik
- Bazik azotlar Fe^{+3} (ferrik) oluşumunu önleyici?
- Neden önemli:
Ferröz geri dönüşümlü bağlarken, diğeri oksijen bağlayamaz



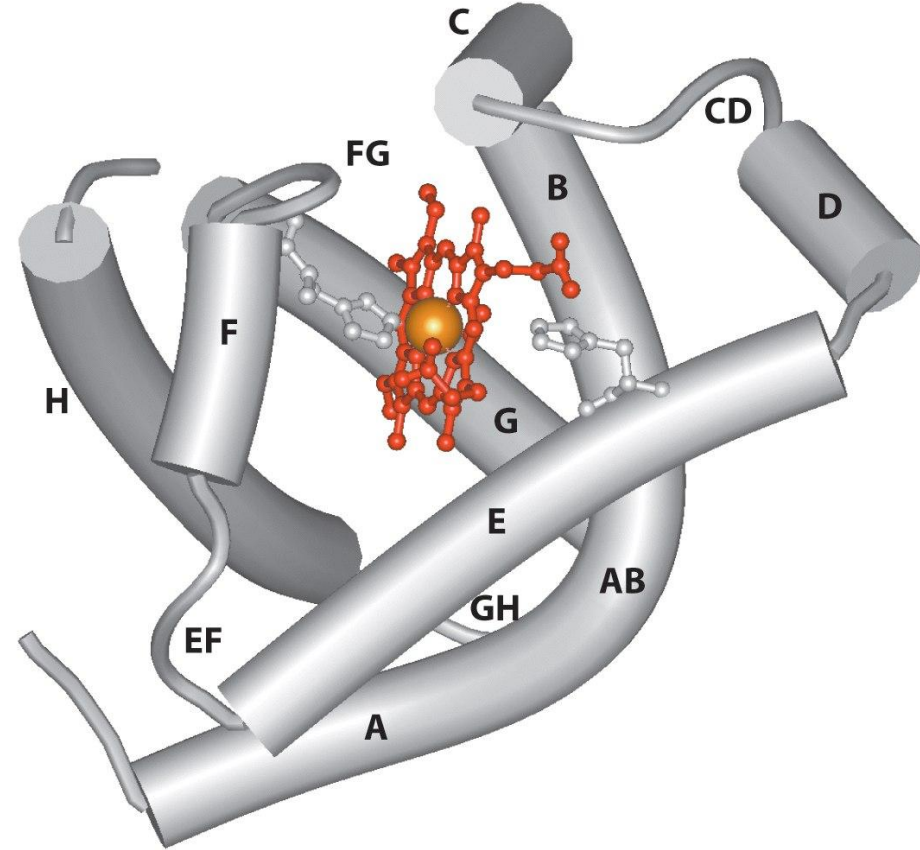
PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI

- Oksijen varlığına göre değişen hem grubu demiri ven kanının mor, arter kanının ise parlak kırmızı görünmesine sebeptir
- CO ve NO gibi küçük moleküller hem demirine oksijenden daha büyük ilgiyle bağlanır
 - CO heme bağlandığında oksijen çıkarılır
 - Aerobik organizmalar için toksik



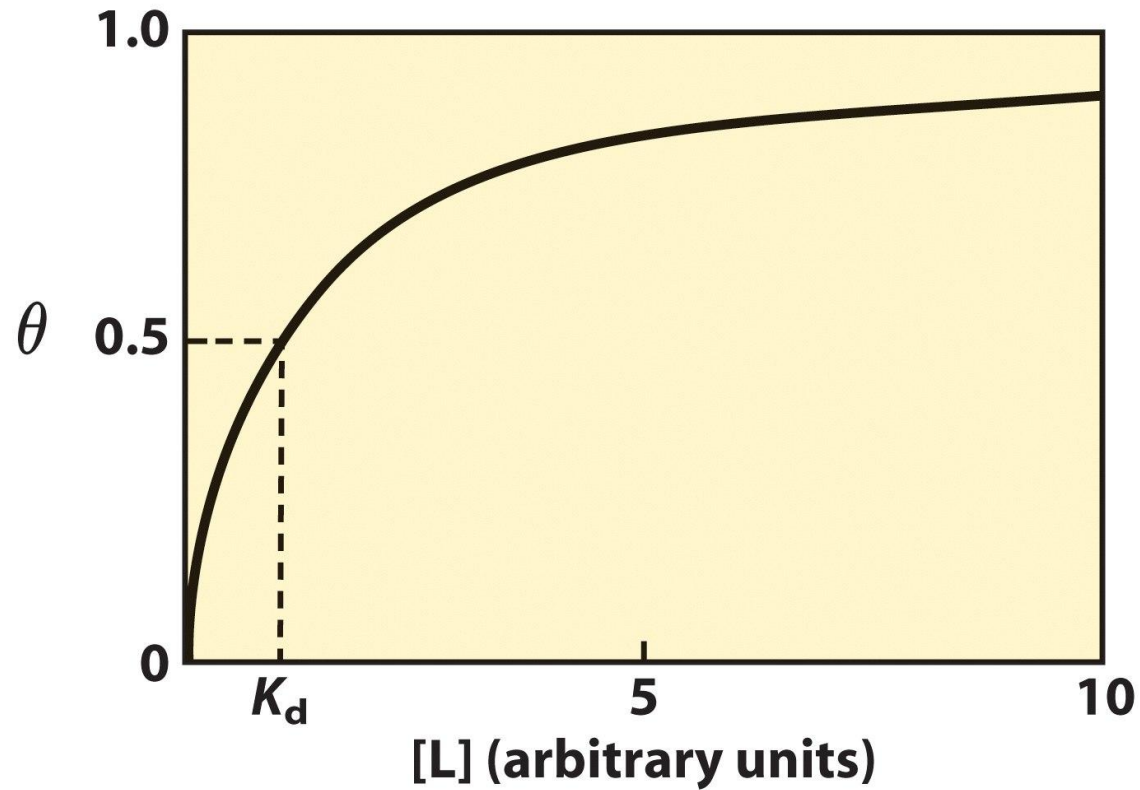
PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI

- Miyoglobin bir molekül hem ve 153 AA tek ppz
- Ne işe yarıyordu?
- Sekiz alpha heliks yapısı harfler ifade edilir ve Aralarındaki dönemeçlerde EF, AB gibi ifade edilir
- Hangi AA ile kovalent bağlanmıştı?
- Amino terminalden 93. AA His⁹³ ya da His F8 olarak yani ?
- Çok önemli bir işleve sahip
 - Hem oksijen bağlama yeteneğine hem de
 - Gereken yer ve zamanda bırakmaya
 - Yani geri dönüşümlü protein-ligant etkileşimine en iyi örneklerden birisidir



Bu etkileşimler nicel olarak tanımlanabilir...

PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI



PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI

TABLE 5-1 Some Protein Dissociation Constants

<i>Protein</i>	<i>Ligand</i>	K_d (M)*
Avidin (egg white) [†]	Biotin	1×10^{-15}
Insulin receptor (human)	Insulin	1×10^{-10}
Anti-HIV immunoglobulin (human) [‡]	gp41 (HIV-1 surface protein)	4×10^{-10}
Nickel-binding protein (<i>E. coli</i>)	Ni ²⁺	1×10^{-7}
Calmodulin (rat) [§]	Ca ²⁺	3×10^{-6}
		2×10^{-5}

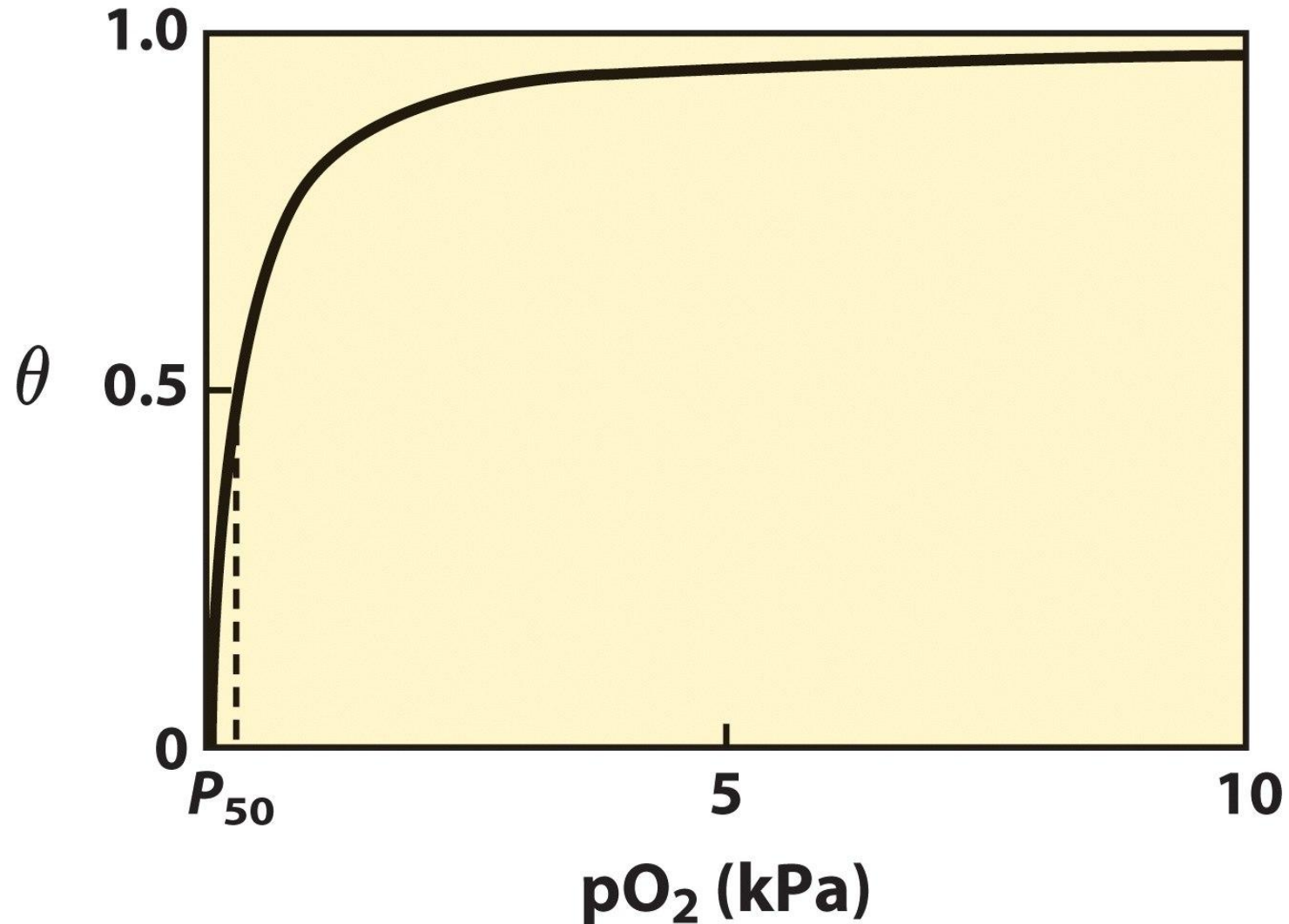
*A reported dissociation constant is valid only for the particular solution conditions under which it was measured. K_d values for a protein-ligand interaction can be altered, sometimes by several orders of magnitude, by changes in the solution's salt concentration, pH, or other variables.

[†]Interaction of avidin with biotin, an enzyme cofactor, is among the strongest noncovalent biochemical interactions known.

[‡]This immunoglobulin was isolated as part of an effort to develop a vaccine against HIV. Immunoglobulins (described later in the chapter) are highly variable, and the K_d reported here should not be considered characteristic of all immunoglobulins.

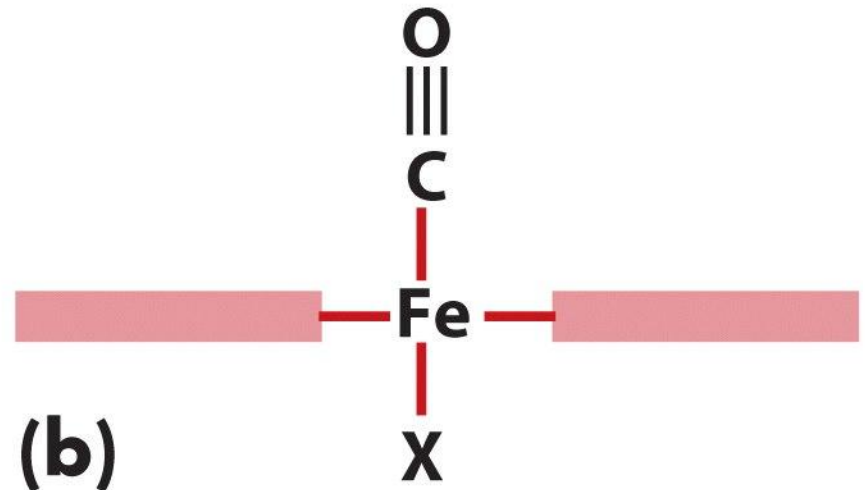
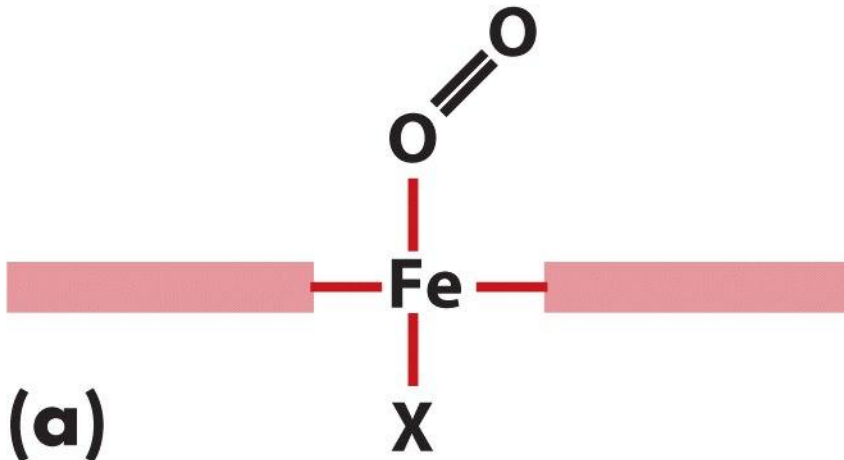
[§]Calmodulin has four binding sites for calcium. The values shown reflect the highest- and lowest-affinity binding sites observed in one set of measurements.

PROTEİN-LİGANT GERİ DÖNÜŞÜMLÜ BAĞLANMASI



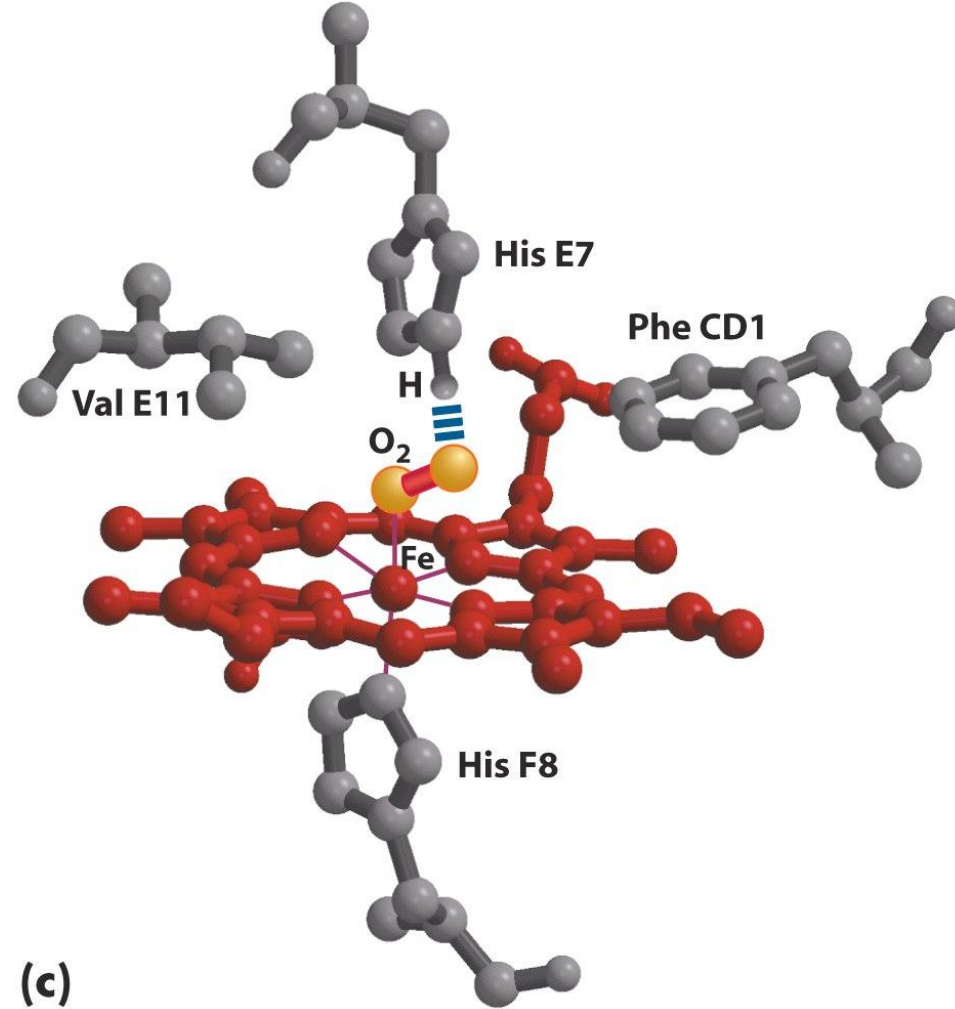
LİGANTA GÖRE ÖZGÜLLÜK DEĞİŞİMİ

- Heme çeşitli ligantlar farklı özgüllükte bağlanır
- CO serbest hem molekülüne oksijene göre 20000 kat daha iyi bağlanır
- CO nun Kd si 20000 kat daha düşük yani P50 değeri!
- Peki miyoglobindeki hem böylemi
- Böyle olsa yaşam olası olmayabilirdi
- Hem miyoglobine bağlı olduğunda bu oran 200 dür.
- Orbital geometrileri nedeniyle oksijen belli bir açıyla bağlanırken CO porfirin halkaya dik bağlanır
- Miyoglobinde durum nasıl?



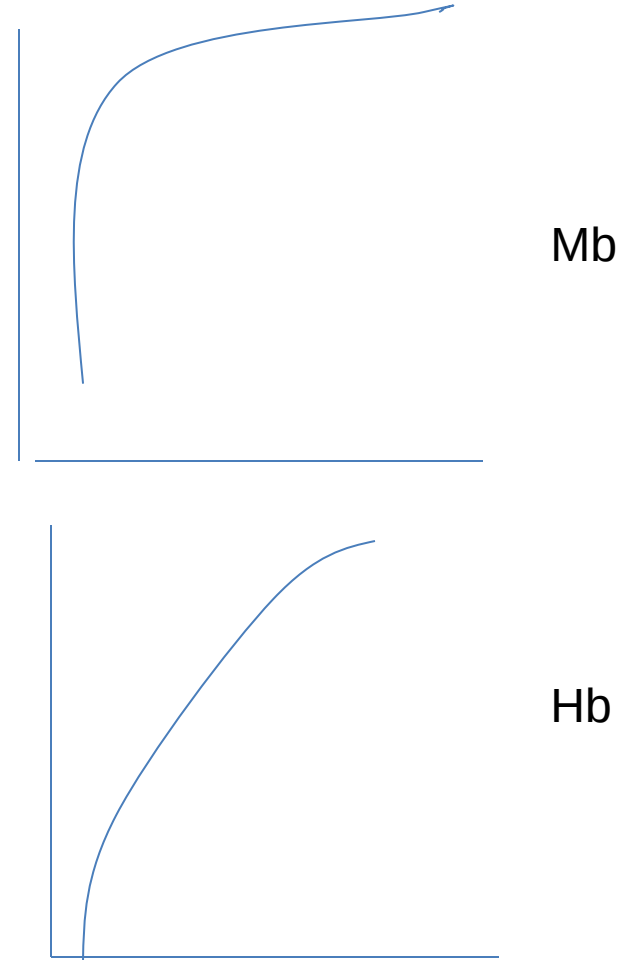
LİGANTA GÖRE ÖZGÜLLÜK DEĞİŞİMİ

- Distal His olarak adlandırılan kalıntı oksijen bağlanmasını etkilemezken, CO doğrusal bağlantısını etkiler
- Bu şekilde miyoglobinde CO bağlanma azalması açıklanmaktadır
- Fizyolojik olarak önemli çünkü CO düşük düzeyde hücre metabolizma son ürünü
- Oksijenin miyoglobindeki heme bağlanması soluk almaya bağlıdır?
- Hem molekülü derinde, gaz halindeki oksijen için buraya doğrudan yol yok
- Katı statik protein olsa hızla girip çıkamaz
- AA yan zincirlerinin hızlı moleküler esnemesi, protein yapısında geçici boşluklar oluşturur ve oksijen içeri ve dışarı geçişi bu boşluklardan yapar.



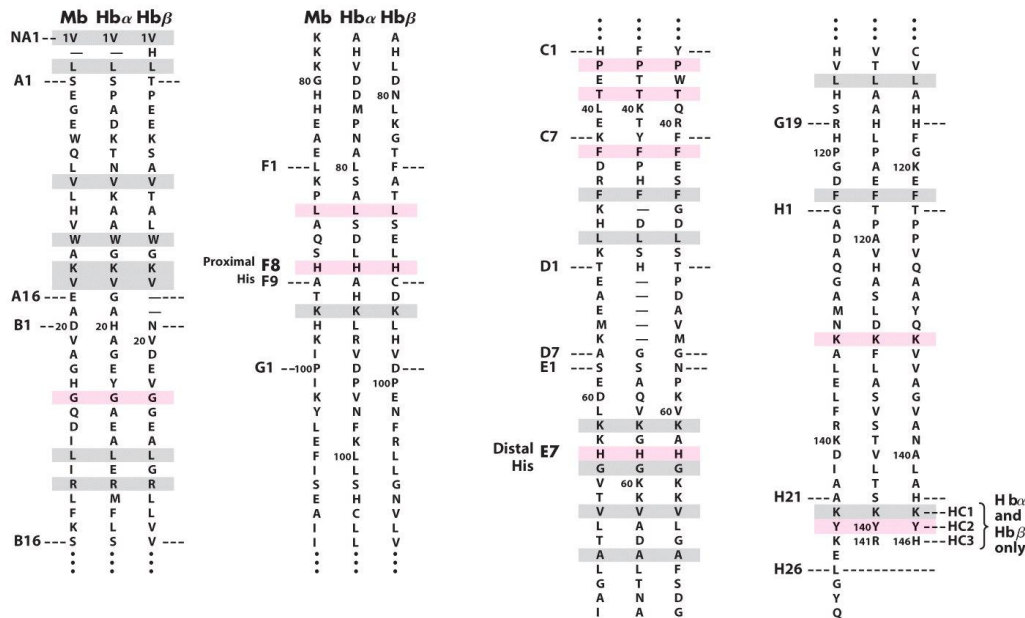
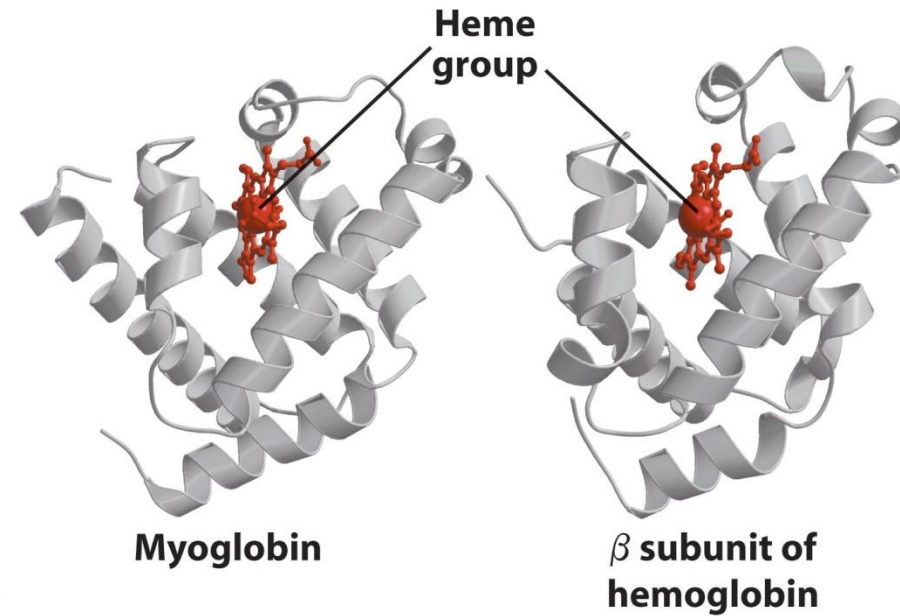
HEMOGLOBİNLE OKSİJEN TAŞINIMI

- Hayvanlarda oksijen kandaki eritrositlerce taşınır
- Bu hücrelerde bolca hemoglobin bulunur
- Bu hücreler çoğalamaz?
- 120 gün civarında ömürleri vardır ve bölünemezler
- Çekirdek, mitokondri ve ER içermeyen hücrelerdir
- Arterlerdeki hemoglobin % 96 oranında doymuşken, venlerdeki % 64 oranında
 - Yani Hb taşıdığı oksijenin üçte birini dokulara bırakmaktadır
- Multimerik bir protein olan Hb de, altbirimler arasındaki etkileşimlerle, ligant derişimindeki küçük değişikliklere yüksek duyarlılıkla cevap vermeyi sağlar ör graph
 - İhtiyacı olan dokuya oksijen bırakır...



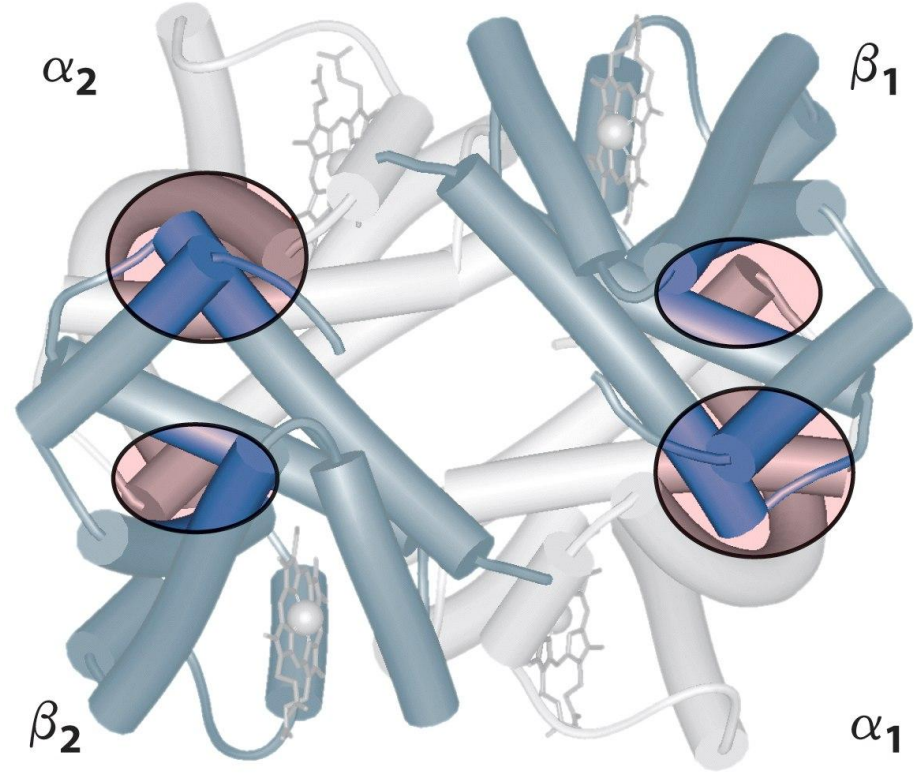
HEMOGLOBİNLE MİYOGLOBİN BENZERLİĞİ

- Üç polipeptidin (Mb, Hbalph, Hb-beta) amino asit sıraları sadece 27 pozisyonda aynı olmasına karşın, alpha ve beta yapılar Mb ye çok benzer
- 27/153



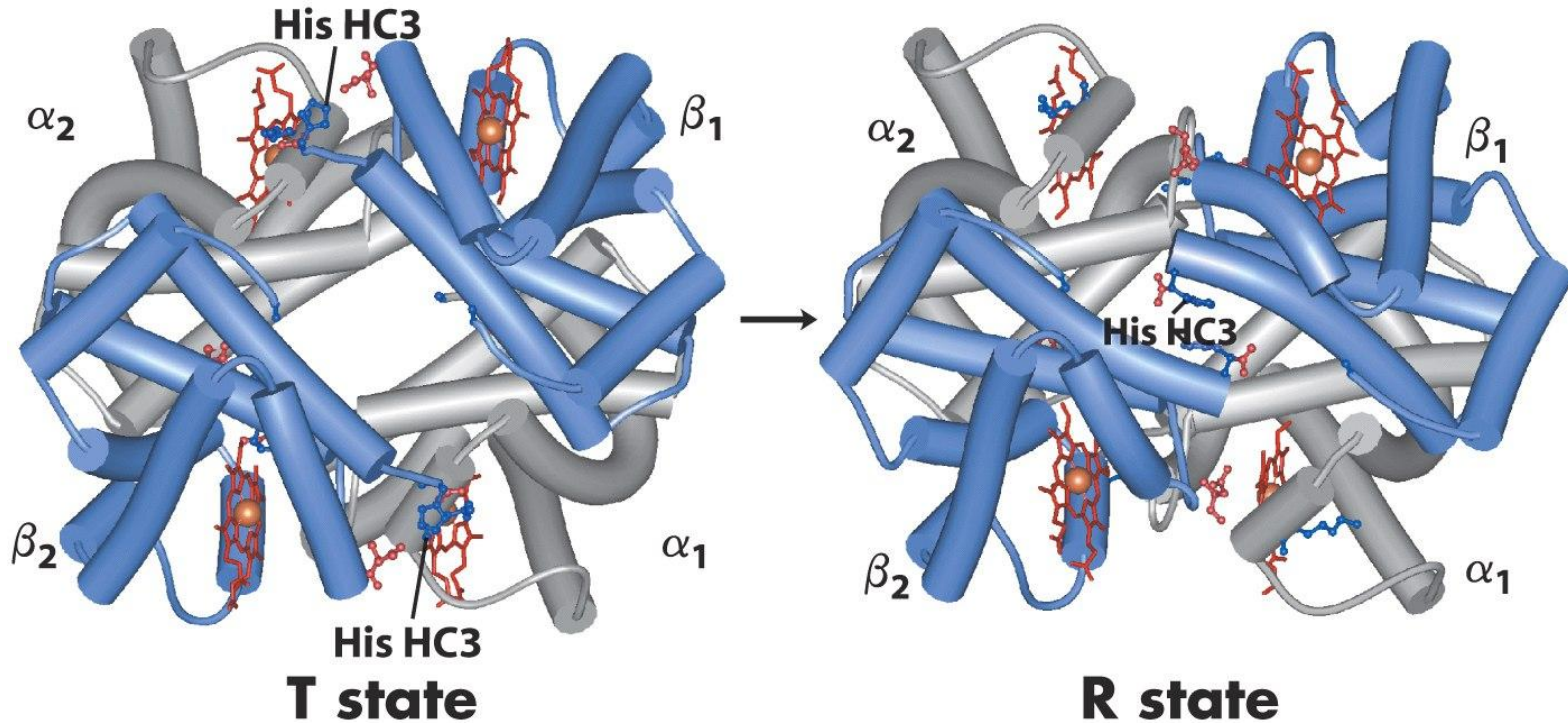
HEMOGLOBİNDE ALTBİRİM ETKİLEŞİMLERİ

- Farklı altbirimler arasında , arayüzeylerde etkin etkileşimler vardır (parlak renkler, alpha-betalar arasında)
 - H-bağları
 - İyon çiftleri
 - Hidrofobik etkileşimler
- Üreye tabi tutulduklarında iki ayrı dimere ayrışır ancak alpha-betadan ayrılmaz
- Oksijen bu yapıya eklendiğinde alpha2-beta2 arası etkileşimler birkaç iyon çiftinin kırılmasıyla önemli ölçüde etkilenir



HEMOGLOBİNDE FARKLI DURUMLAR

- XRC çalışmaları Hb iki farklı konformasyon olduğunu göstermiştir, T for tense and R for relaxed
- Oksijen Hb ye her iki durumdada bağlanabilir ancak R durumunda oksijene ilgi çok daha fazla
- Oksijen yokken yani deoksiHb durumunda T daha kararlı, oksijenli iken R durumu
 - Yani T durumundaki bir Hb altbirimine bir oksijen bağlanması bütün konfosmasyonda R durumuna doğru bir değişim başlatır
 - Tekil altbirim yapıları çok az değişir, yapılar birbiri üzerinde dönerek kayar ve beta altbirimleri arasındaki cep daralır, T durumundaki bazı iyon çiftleri kırılır, tense → relax



HEMOGLOBİNDE KOOPERATİF BAĞLANMA

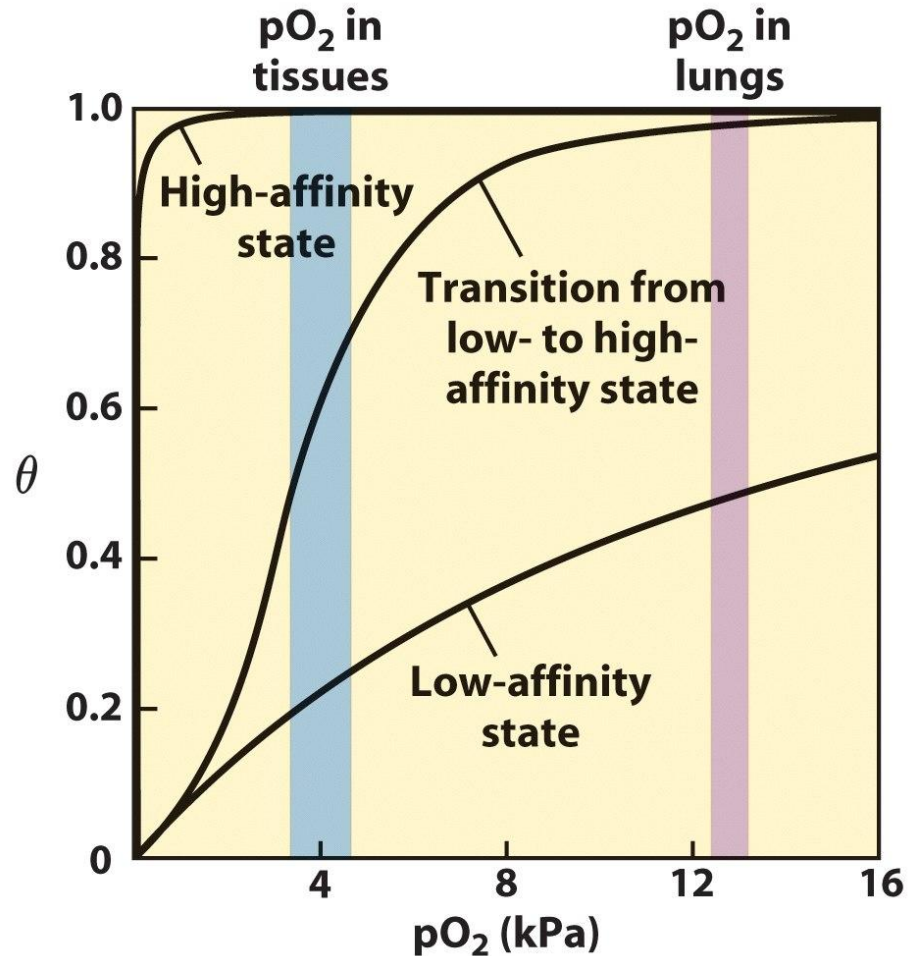
- Hemoglobin oksijeni pO_2 yaklaşık 13 kPa olduğu akciğerlerde etkin olarak bağlamalı ve pO_2 nin yaklaşık 4 kPa olduğu dokularda serbest bırakmalıdır!!!

- Miyoglobin bunu yerine getirebilir mi?

- Yukarıdaki bırakma işleminin gerçekleşmesi belirtilen aralıkta teta değerinin kontrol edilebilmesi anlamına gelmektedir ki Mb de bağlanma grafiğinde bu yoktur
En sol hiberbolik grafik

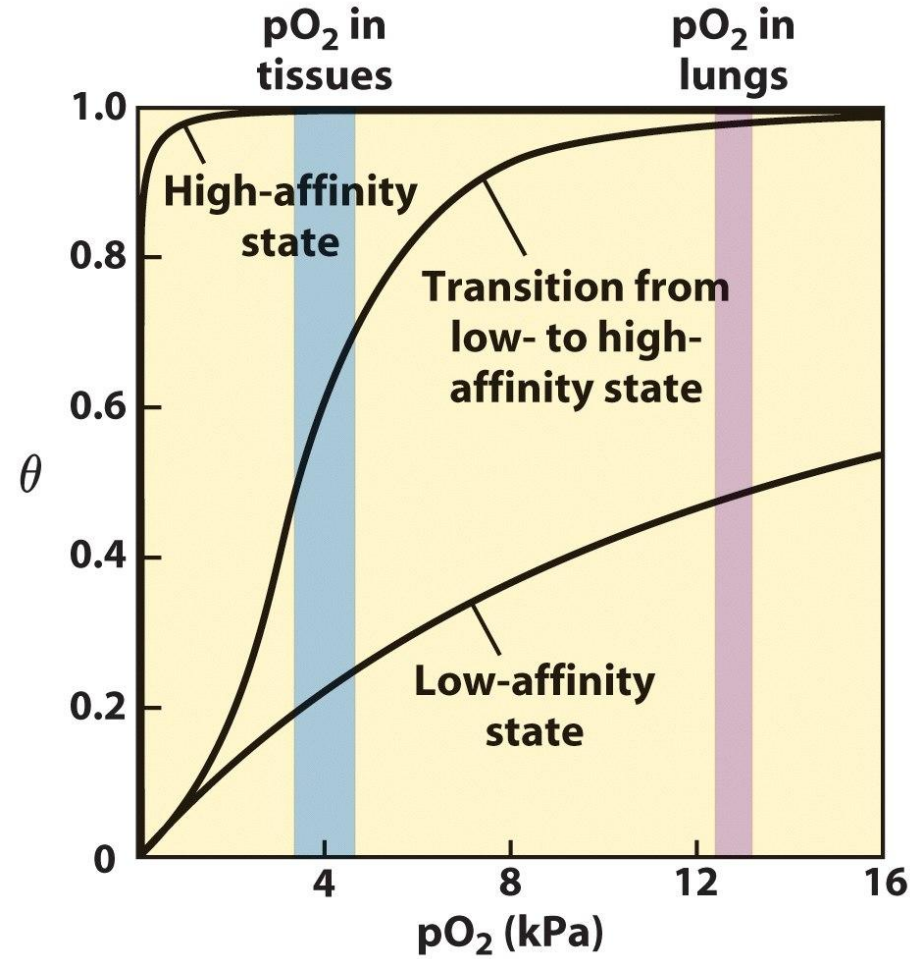
- Yani oksijeni etkin bağlayacak bir protein bunu akciğerde yapacaktır (teta max) ancak dokularda bırakamayacak (teta aynı)

- Öte yandan eğer protein oksijeni dokularda bırakmaya yetecek şekilde düşük ilgiyle bağlarsa bu sefer de akciğerde yeteri kadar oksijen toplayamaz (en sağ grafik)



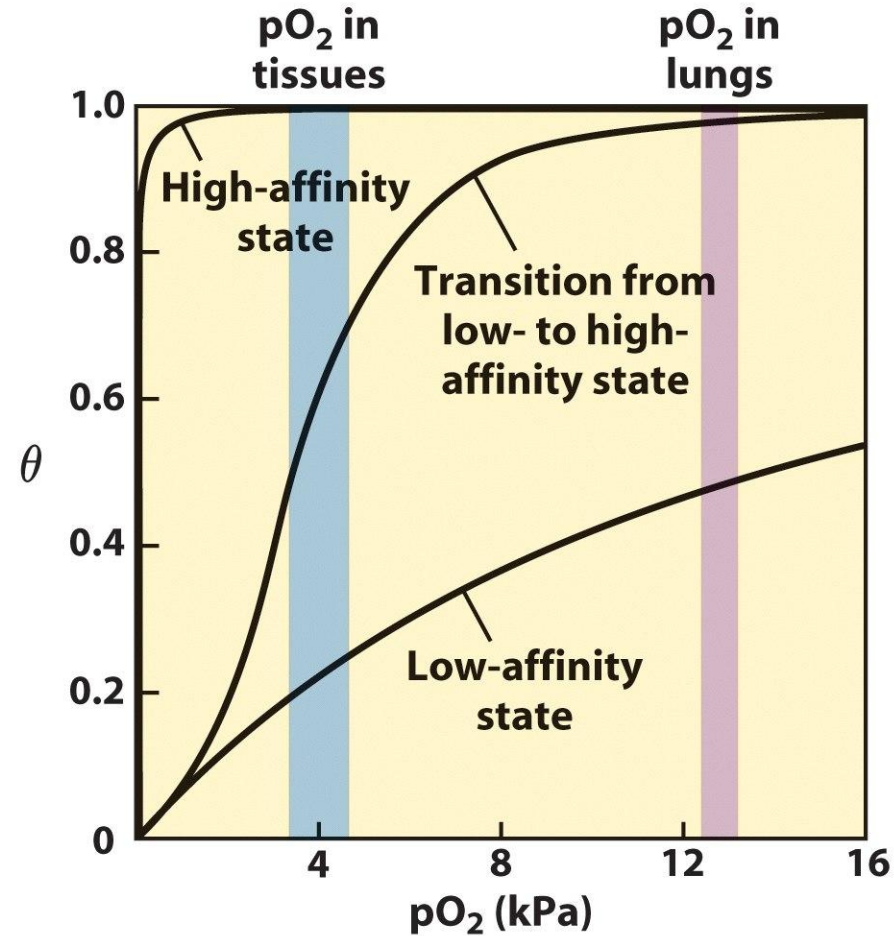
HEMOGLOBİNDE KOOPERATİF BAĞLANMA

- Hb düşük ilgili T durumdan yüksek ilgili R duruma geçerek bu sorunu çözer ve sonuçta sigmoid şekilli (s benzeri) oksijen bağlama eğrisi oluşur
- Tek ligant bağlanma bölgesi olan bir protein sigmoid şekilli bir eğri oluşturamaz! (ör Mb)
- Hb de bireysel altbirimlere oksijen bağlanması komşu altbirimleri oksijene ilgisini değiştirir (allosterik protein)
- İlk oksijen T durumundaki bir altbirime bağlanacağı için zayıf etkileşir (eğri bşlncg)
- Bu komşu altbirimlerde konformasyonel değişimleri tetikler, zincirleme (kooperatif)
- Bir kez oksijen ilk altbirime bağlandıktan sonra, $T \rightarrow R$ geçişi ikinci altbirimde daha kolay gerçekleşir
- Son oksijen molekülü R durumuna geçmiş bir altbirime yani yüksek ilgiyle bağlanır



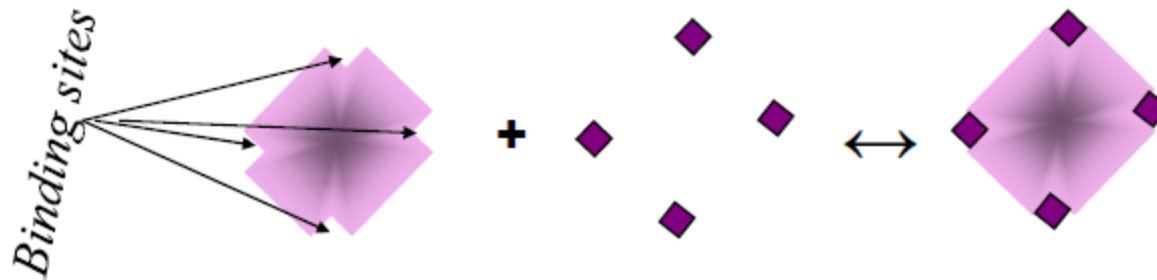
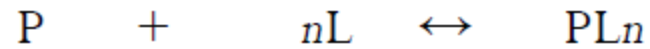
HEMOGLOBİNDE KOOPERATİF BAĞLANMA

- Sigmoid eğriler, kooperatif bağlanma göstergesi
- Ligant derişimine duyarlı cevap
 - Yüksek oksijende max doldur, düşükte bırak
 - Eğim max ortadaki için özellikle 3-8 kpa aralığında
- Bu kooperatif bağlanma nicel olarak tanımlanabilir mi?



HEMOGLOBİNDE KOOPERATİF BAĞLANMA

n sayıda bağlanma bölgesi olan bir protein için



$$K_a = \frac{[PL_n]}{[P][L]^n}$$

HEMOGLOBİNDE KOOPERATİF BAĞLANMA

$$K_a = \frac{[PL_n]}{[P][L]^n}$$

Expression of Θ

$$\Theta = \frac{[L]^n}{[L]^n + K_d} \quad ?$$

rearrange

$$\frac{\Theta}{1 - \Theta} = \frac{[L]^n}{K_d} \quad ?$$

*Take log
of both
sides*

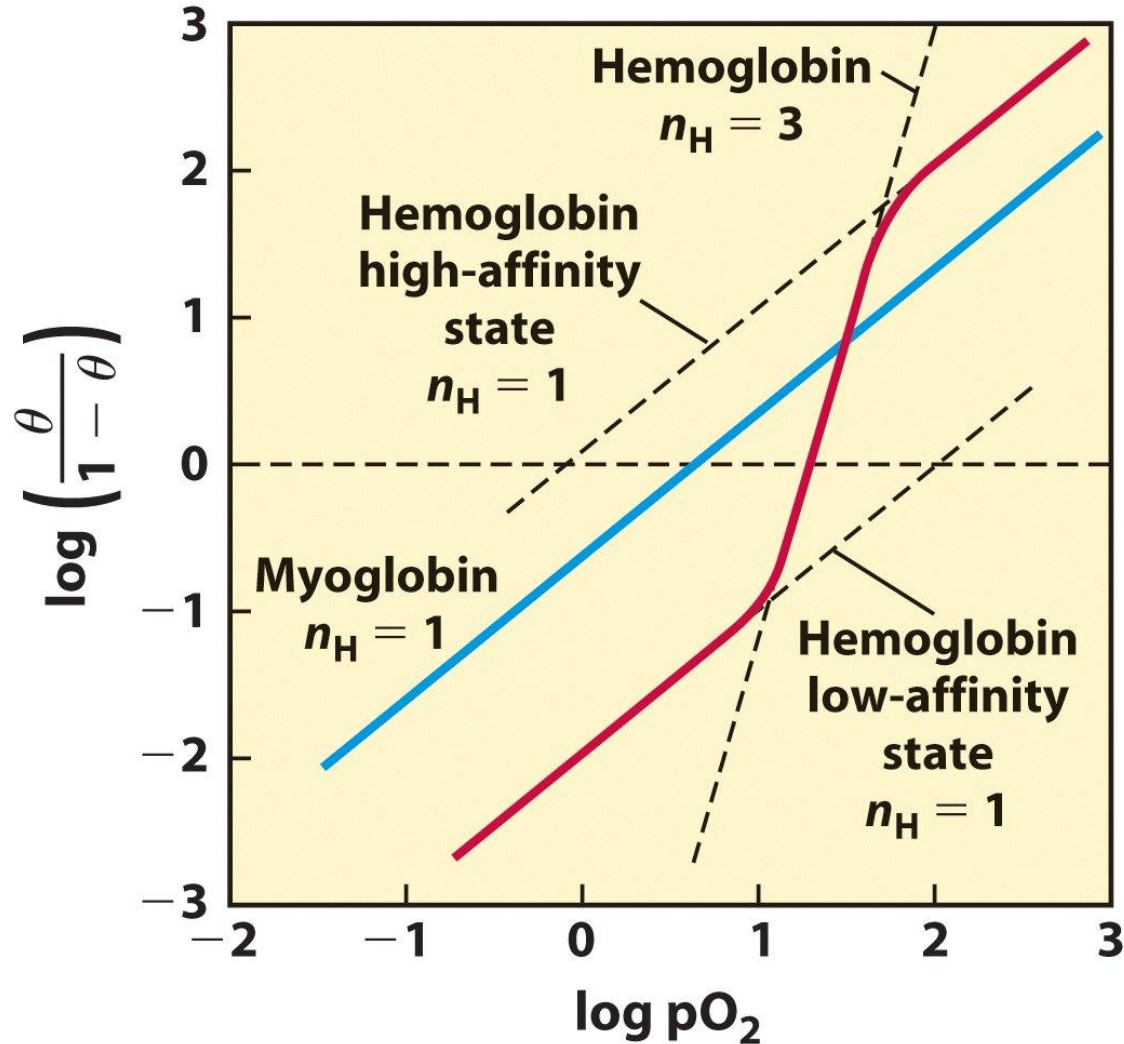
$$\log \left[\frac{\Theta}{1 - \Theta} \right] = n \log [L] - \log K_d$$

Where $K_d = [L]_{0.5}^n$

Hill equation

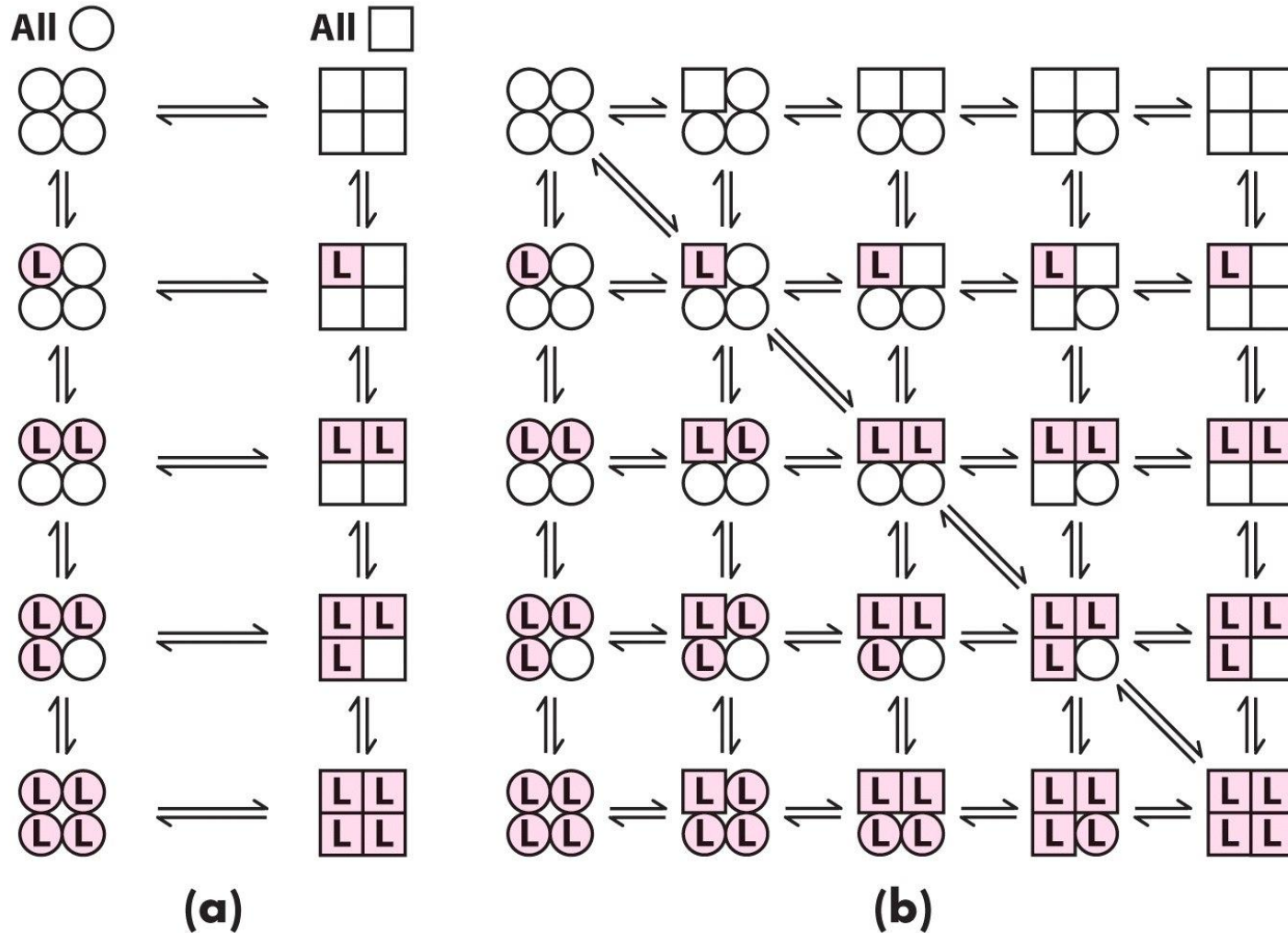
HEMOGLOBİNDE KOOPERATİF BAĞLANMA

- Hill eğrisinin eğimi, Hill katsayısı n_H
- $n_H = 1$, kooperatif değil
- $n_H > 1$ pozitif kooperatifiklik,
 - Hb deki gibi bir L bağlanması Diğerinin bağlanmasını kolaylaştırır
- $n_H < 1$ negatif kooperatifiklik yani Bir L bağlanması diğerlerini engeller
- $n_H = n$, teorik durum, bütün L ler aynı anda bağlanma yerine bağlanıyor, kısmen doymuş protein hiçbir zaman yok
- n_H bağlanma sıklığının bir ölçüsü mü?
- Hayır sadece kooperatifliğin çünkü R durumunda da $n_H = 1$



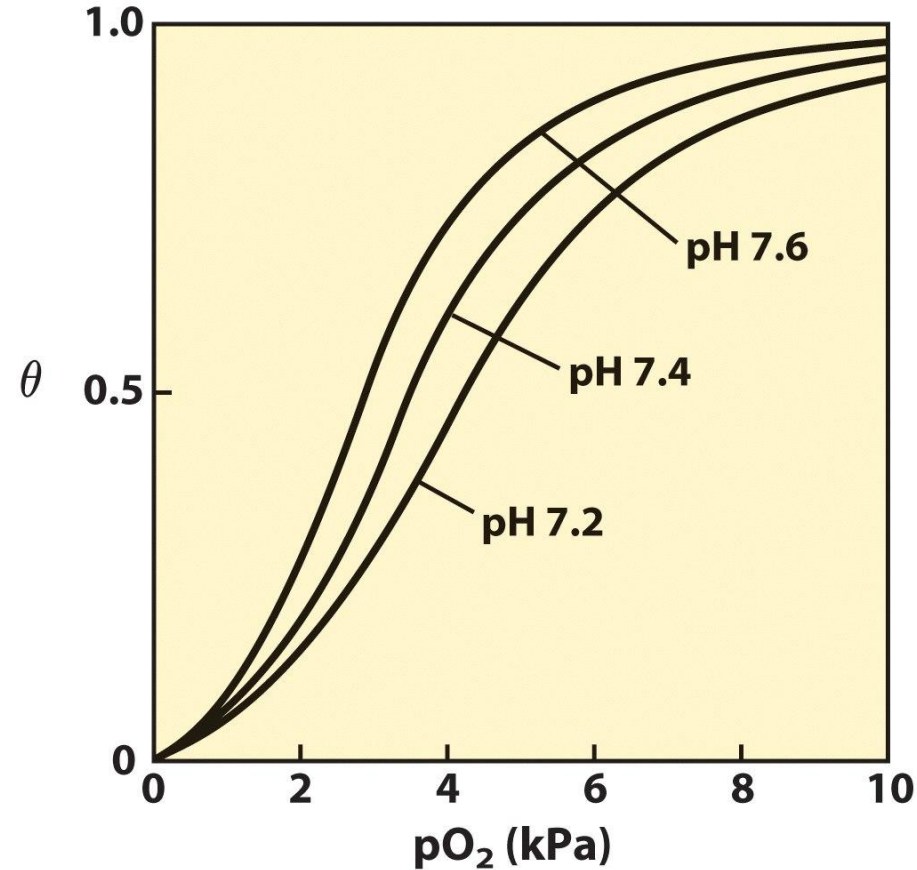
KOOPERATİF BAĞLANMA MODELLERİ

- Ortak modelde, T-R aynı anda proteinde yer alamaz, denge halinde olabilir
- Ardışık modelde, aynı anda T-R proteinde yer alabilir

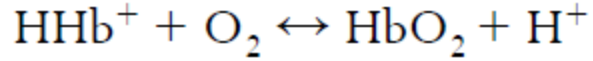


Hb DİĞER GÖREVLER!

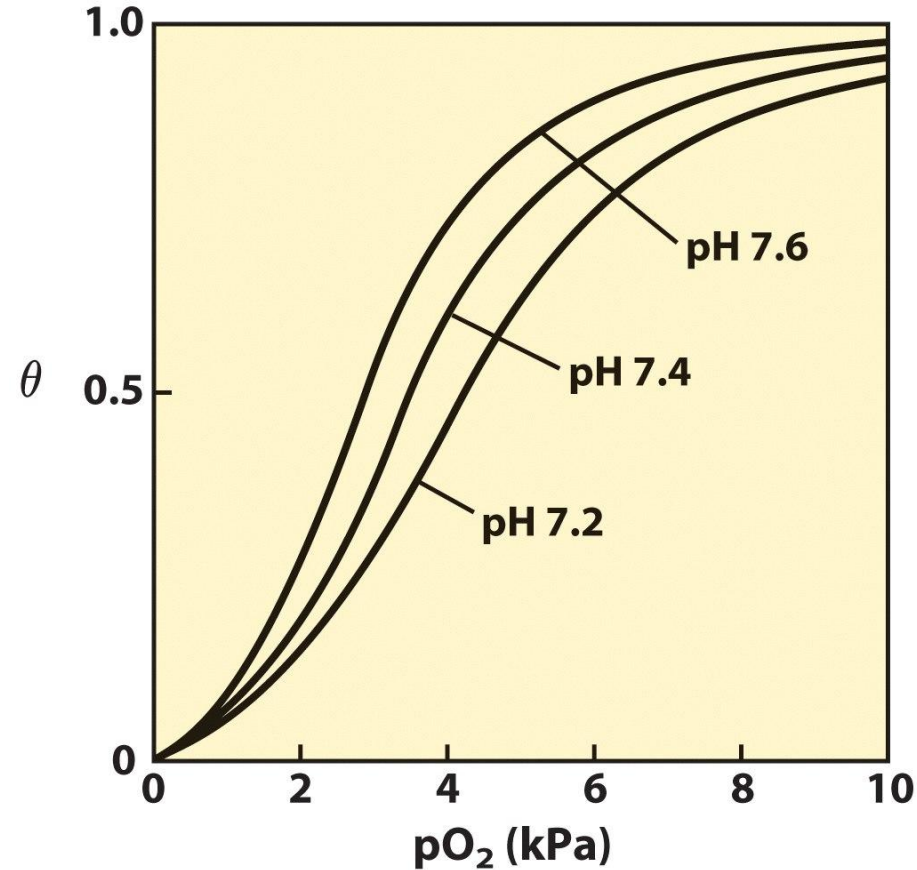
- Hb oksijeni dokulara taşımalarını yanısıra solunumun iki ürünü olan H^+ ve CO_2 de böbreklere ve akciğere taşımaktadır
- H^+ ve CO_2 bağlanması oksijenle ters orantılıdır (Bohr etkisi)
 - Çevresel dokularda düşük pH ve yüksek CO_2 derişimlerinde H^+ ve CO_2 bağlandığı için Hb nin oksijene ilgisi azalır ve oksijen dokulara verilir (pH düşük teta düşük)
 - Bunun tersi durumda ise yani akciğer kapillerlerinde CO_2 atıldığı ve sonuçta kan pH ı yükseldiğinden Hb nin oksijene ilgisi artar ve çevresel dokulara taşımak üzere protein daha fazla oksijen bağlar (pH yüksek teta yüksek)



Hb DİĞER GÖREVLER!

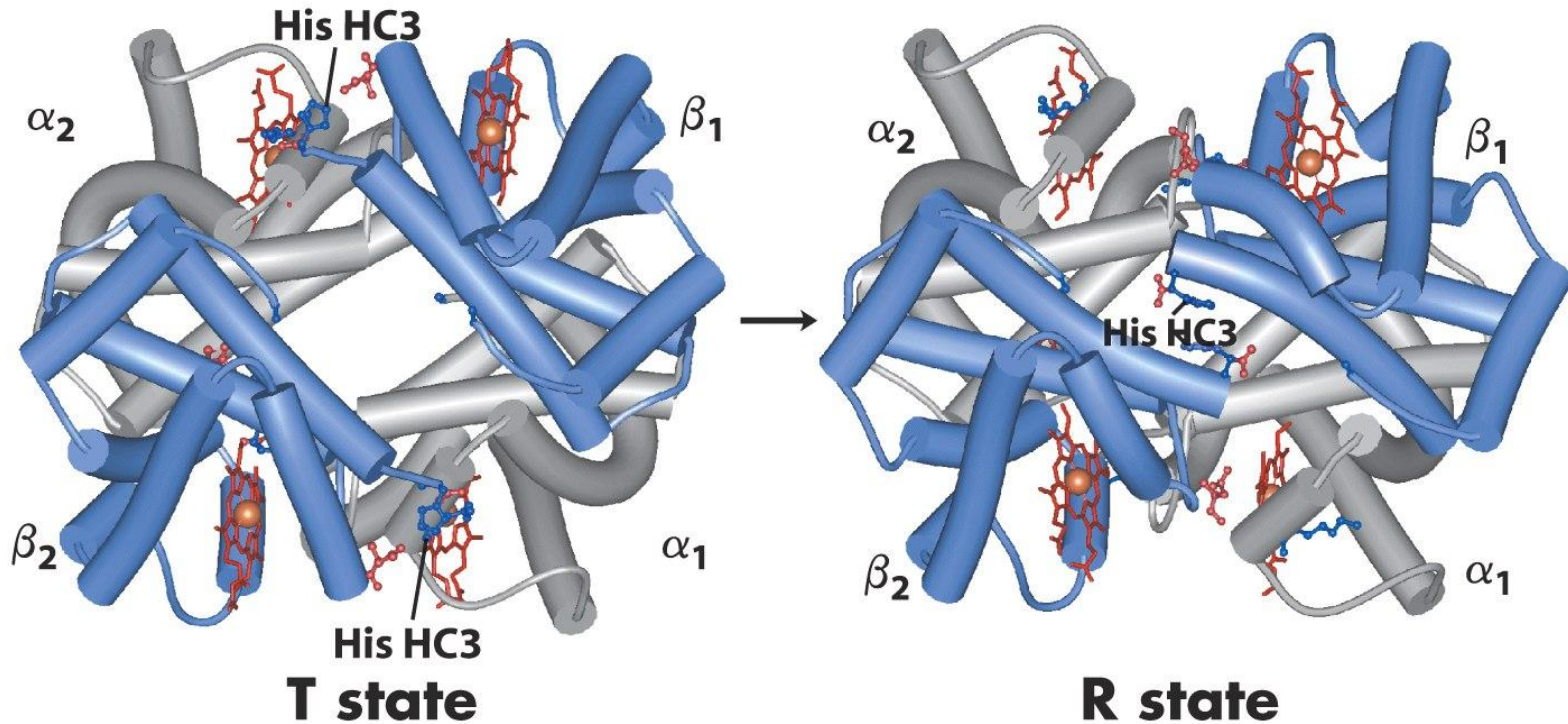
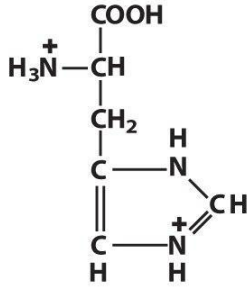


- Aynı olay yukarıdaki dengeyle de açıklanabilir
- Oksijen derişimi akciğerde yüksek , denge sağa ve Hb oksijen bağlar, proton ve CO2 bırakır, nefes veriş
- Proton derişimi çevresel dokuda yüksek, denge sola, oksijen dokuya, proton hemoglobine
- Proton ve oksijen Hb de farklı yerlere bağlanır?



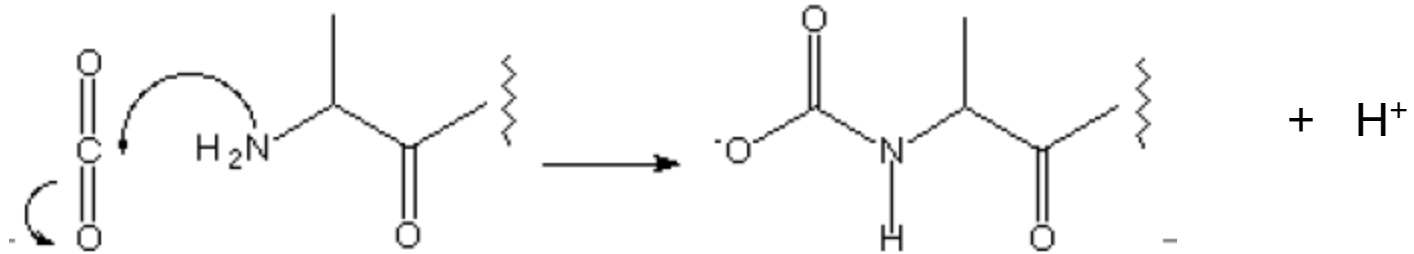
Hb DİĞER GÖREVLER!

- Proton birkaç AA kalıntısından birine bağlanır
- HC3 bunlardan biridir ve bu bağ gerçekleştiğinde bu histidin pK_a sı anormal yükselir!
- Bunun sebebi Asp FG1 ile olan iyon çiftidir, bu T durumunun stabilizasyonunda etkilidir, tense
- Oksijenin gelmesi ise iyon çiftini bozar, his pK_a sı normal 6 seviyesine döner, özellikle akciğerlerdeki 7.6 civarındaki pH ile tamamen deprotone haline döner (R durumda)

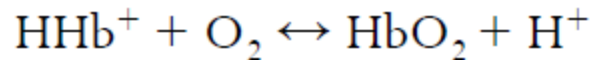


Hb DİĞER GÖREVLER!

- Hb bir diğer görevi de CO₂ taşınımında rol almaktır.
 - Çözülmüş CO₂ ve H₂CO₃ formu dışında
- Bu molekül her globülin zincirin amino-terminal ucundaki alpha-amino grubuna bağlanır
 - Karbamino-terminal bağlantılar oluşur

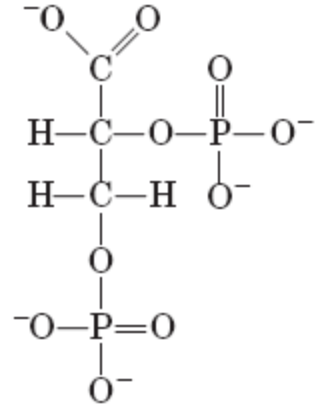


- Bu bağ ile H⁺ açığa çıkar
- Yine Bohr etkisi ile serbest oksijen salınımı tetiklenir
 - Karbondioksit derişimi periferik dokularda olduğu gibi yüksek olduğunda CO₂nin bir kısmı Hb ye bağlanır ve oluşan protonlar oksijene ilginin azalması ve salınmasını sağlar



2,3-Bifosfogliserat (BPG)

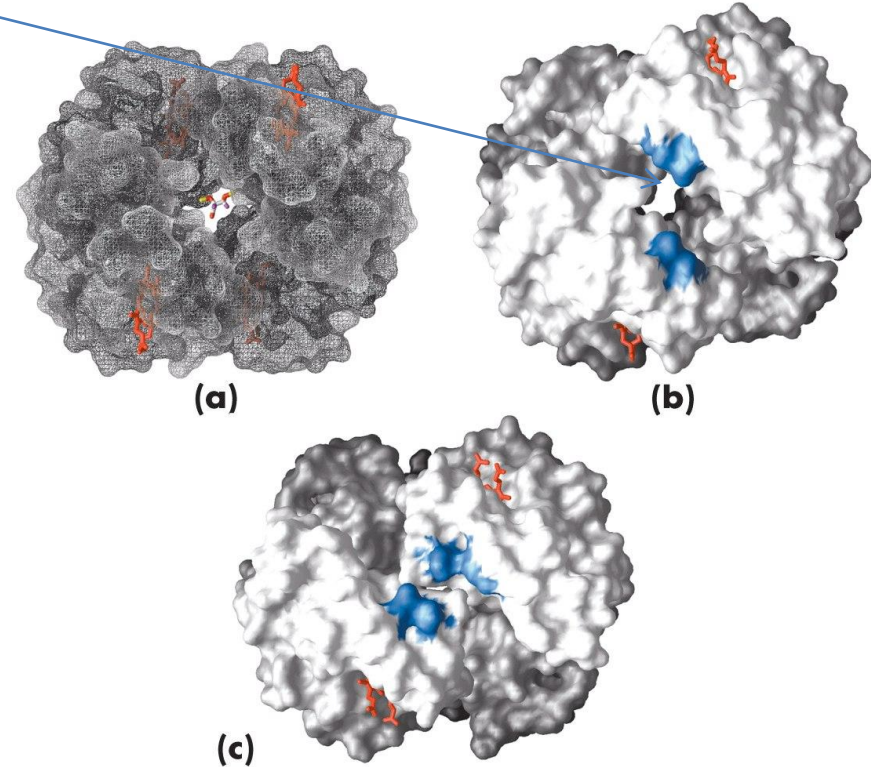
- Hemoglobinin oksijene ilgisini module eden bir proteindir.
- Eritrositlerde bol miktarda bulunan ve izole Hb de çoğu zaman bağlı halde gözlemlenen
 - Güçlü bir etkileşime sahip
- Heterotropik allosterik etkileşim
- Allosterik protein, bir bölgeye bir ligantın bağlanması, aynı protein üzerindeki başka bir bölgenin bağlanma özelliklerini etkiliyorsa allosterik proteindir
- Allosterik proteinlerin modülatörleri (kendi ligantı ve/veya başka moleküller)
 - İnhibitör veya aktivatör olabilir
 - Normal ligant ve modülatör aynı olduğunda homotropik etkileşim
 - Ligant ve modülatör farklı ise heterotropik etkileşim
 - Hb de nasıl?



2,3-Bisphosphoglycerate

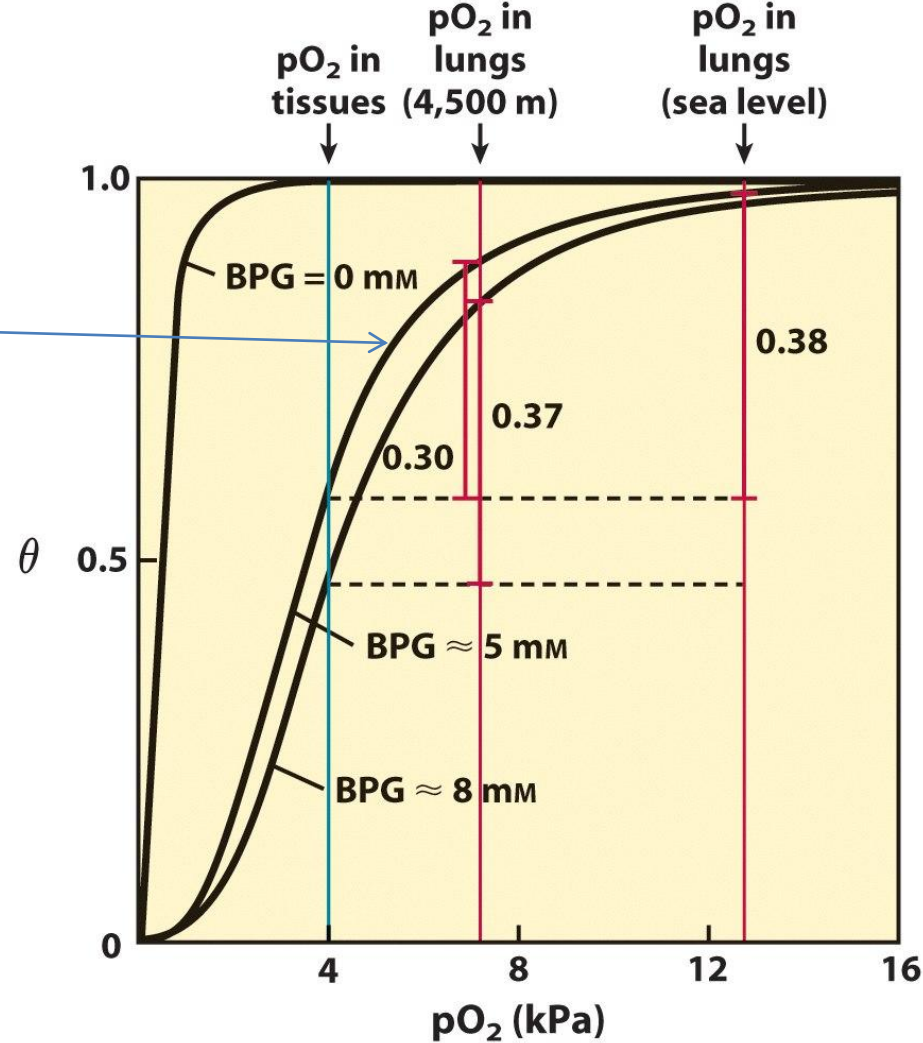
2,3-Bifosfogliserat (BPG)

- Yine proton benzeri yani inhibe edici şekilde oksijenin Hbye bağlanmasını azaltır
- $\text{HbBPG} + \text{O}_2 \leftarrow \rightarrow \text{HbO}_2 + \text{BPG}$, BPG nin artması oksijen salınımını tetikler
- T durumunda Hb ye bağlanır ve burda negatif yüklü BPG ile pozitif yüklü grupla etkileşir (mavi)
- Oksijenasyon ile bağlanma cebi kaybolur $\rightarrow \text{R}$
- Fetuslerde oksijen ihtiyacı daha fazla, bu yüzden anneden farklı oksijen ilgisine sahip hemoglobine sahiptirler. Bu hemoglobinin BPG ye ilgisi dolayısıyla daha düşüktür.



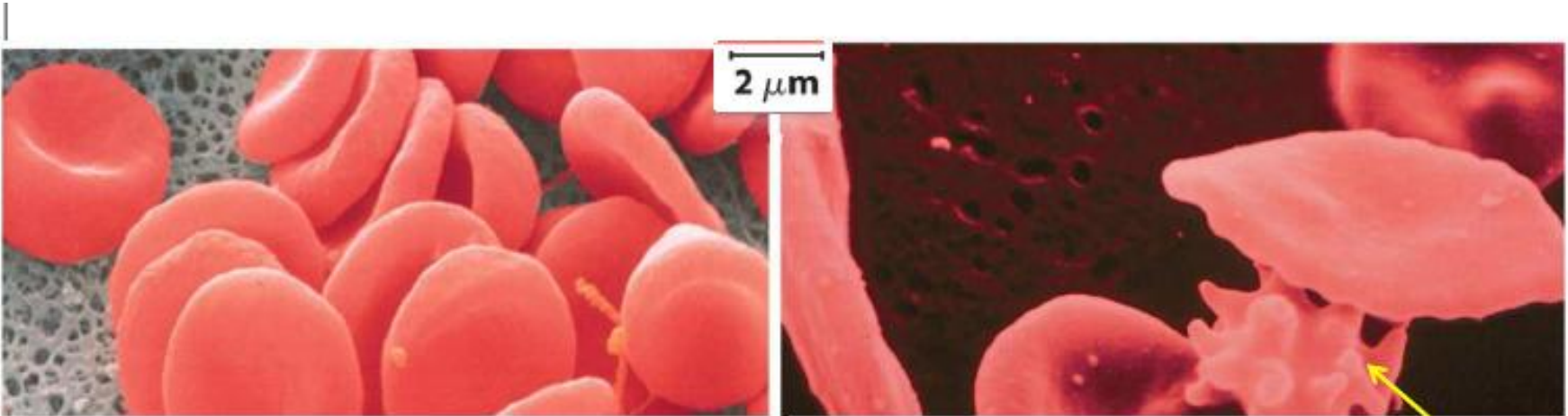
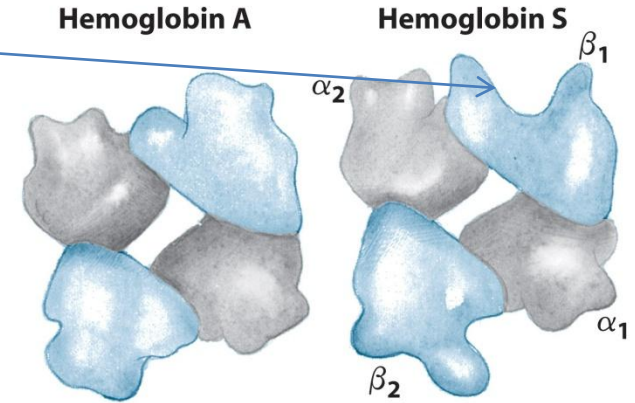
2,3-Bifosfogliserat (BPG)

- Deniz seviyesinde 5 mM BPG, kanla taşınabilecek oksijenin $\sim$ % 40'ı dokulara bırakılabilir
- Ağrı dağına çıktığınızda, aynı eğri devam,
- Oksijence doygunluk farkı dokulara bırakılan orandır ve bu sefer toplam taşınabilecek oksijenin sadece % 30 unu dokulara bırakabilir $\rightarrow$ yetersiz oksijen ölümcül olabilir
- Hemen BPG konsantrasyonu yükseltilir
 - Akciğerdeki doygunluk oranı azalan basınçla düşse de, doygunluk farkı, yani dokuya bırakılacak oksijen, toplamın yine % 40'ına ulaşarak dokular oksijene doyurulur

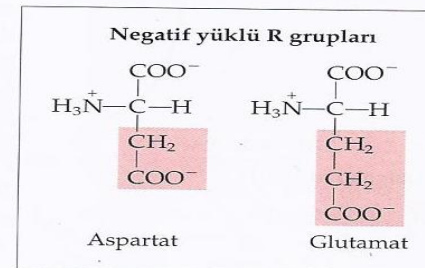
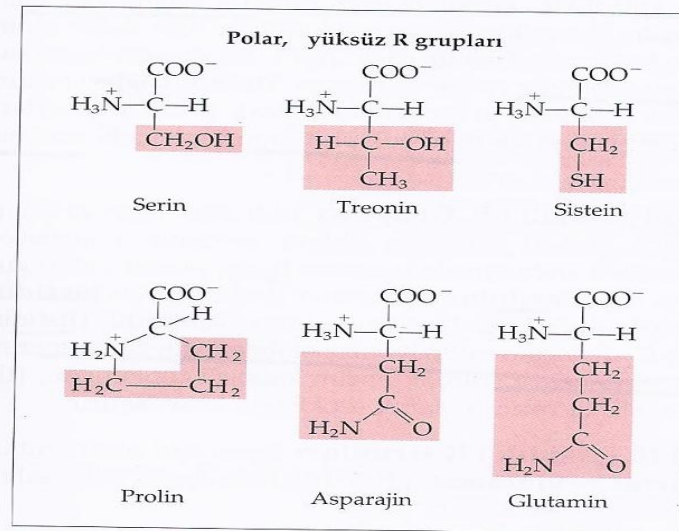
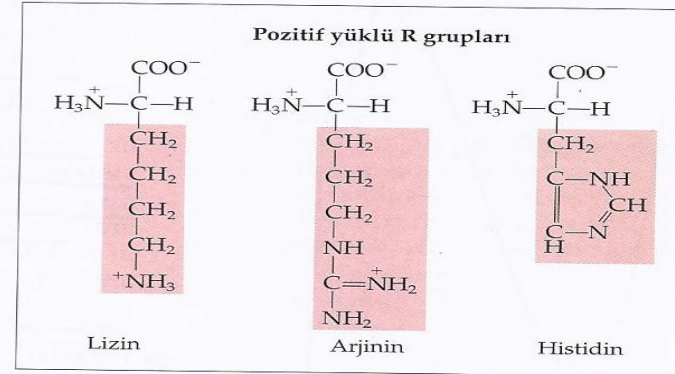
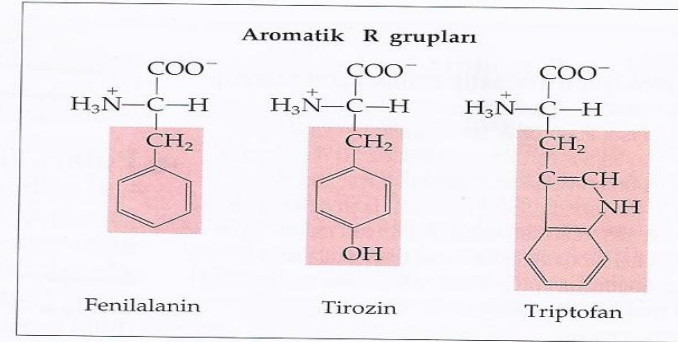
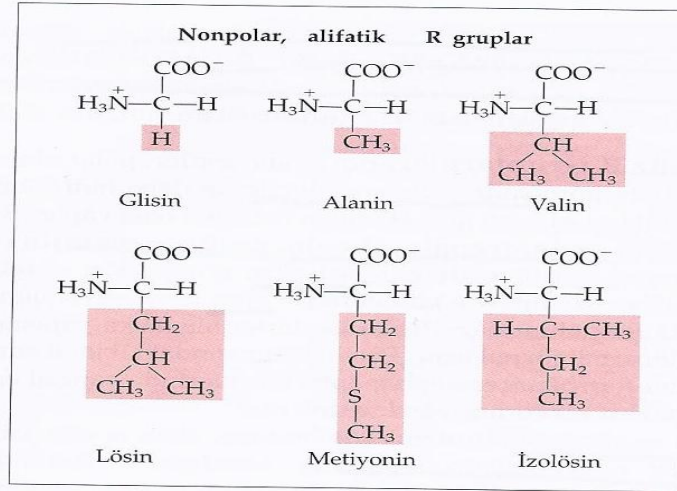


ORAK HÜCRELİ ANEMİ-GENETİK Hb HASTALIĞI

- Hb nin 300 den fazla genetik varyantından bir tanesi
- Beta zincirinin 6. pozisyonunda Glu yerine val gelmesi molekülün dış yüzeyinde yapışkan hidrofobik bir yama oluşturur
- Normal pH da HbS ile HbA arasındaki yük formülü?
- Bu durumdaki Hb ye HbS, normal Hb ye HbA ismi verilir
- Deoksijene durumdaki HbS suda çözünmez, HbA ise çözünür



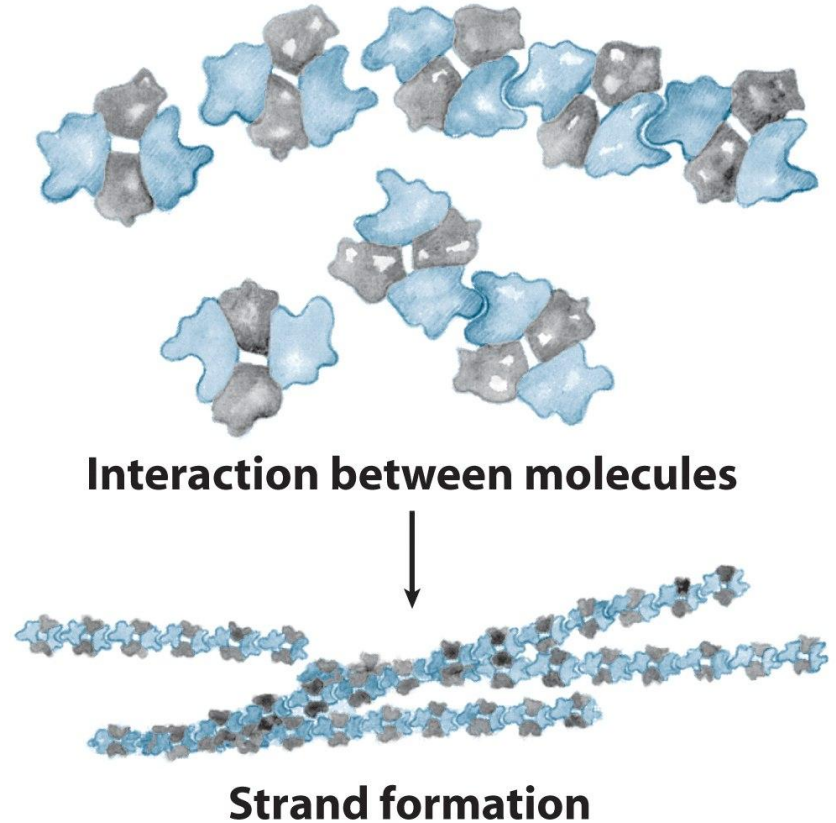
ORAK HÜCRELİ ANEMİ-GENETİK Hb HASTALIĞI



$$qS=qA+2$$

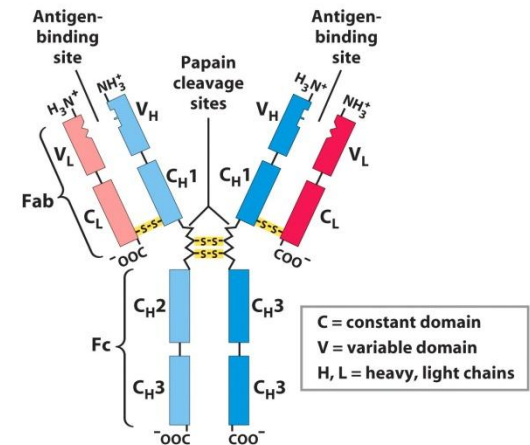
ORAK HÜCRELİ ANEMİ-GENETİK Hb HASTALIĞI

- Deoksijine olmuş HbS, tübüler fibriller şeklinde çöken polimerler oluşturur.
- Bu fibriller eritrositlerin deforme olmuş orak şeklinden sorumludur.
- Kan deoksijene oldukça oraklaşmış hücre oranı artar
- Normal Hb değerinin (15-16 g / 100 ml) yarısı seviyede Hb içerir
 - Oraklaşmış hücreler çok kırılgan, kolaylıkla Parçalanır ve kansızlık-anemi
- Erken yaşta ölüm ve önemli bir neden, anormal şekilli hücreler tarafından kan kapillerlerinin tıkanması ve organlarda işlev kaybı
- Afrikada özellikle yaygın



İMMÜN SİSTEM VE IgG LER

- Protein ligant etkileşimlerinin çoğu, prostetik grup içermez
- Ligantın bağlanma bölgesi sıklıkla BPG benzeri bir yapıdadır
 - AA kalıntılarıyla astarlanmış bir cebe yüksek özgüllükte ligant etkileşimi
 - Aralarında çok az yapısal fark bile olsa Ligantları ayırabilen bir özellikte
- Bütün omurgalılar, moleküler olarak kendini, kendinden olmayandan ayırdedebilen ve daha sonra kendinden olmayan olarak tanınan bu varlıkları tarip eden bir immün sisteme sahiptir
- Bu şekilde virüs, bakteri, patojen ve diğer tehditkar moleküller ortadan kaldırılır
- Kompleks bir cevap silsilesi
 - Proteinler, hücreler, moleküller içeren bir süreç



İMMÜN SİSTEM

- Kemik iliğindeki farklılaşmış kök hücrelerden kaynaklanan makrofaj ve lenfositleri içeren lökosit türlerinden (akyuvar) tarafından meydana getirilir.
 - Makrofajlar diğer dokularda da ürtm
- Kan dolaşımından ayrılıp dokulara gidebilirler ve enfeksiyon işareti olan moleküllere bağlanma ve tanıma yeteneğine sahip bir veya daha fazla protein üretirler
 - IgG türleri ve T hücre reseptörleri gibi
- İki çeşit immün sistem
 - Humarol
 - Hücresel

tablo 7-2

İmmün Sistemde Yeralan Bazı Lökosit Tipleri

Hücre tipi	İşlev
Makrofajlar	Büyük partikülleri ve hücreleri fagositozla sindirir
B lenfositler (B hücreleri)	Antikorları oluşturur ve salgılar
T lenfositler (T hücreleri) Sitotoksik (katil) T hücreleri (T_C)	T-hücre yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla enfekte olmuş konakçı hücrelerle etkileşir
Yardımcı T hücreleri (T_H)	Makrofajlarla etkileşir ve T_C , T_H ve B hücrelerini proliferetmek amacıyla sitokinleri (interlökinler) salgılar.

İMMÜN SİSTEM-HUMORAL

- Humoral immün sistem, sıvı ile ilgili anlamında
- Bakteri enfeksiyonları ve hücre dışı virüslere yönelik
- Burdaki immün cevabın merkezinde immünoglobulinler –Ig- ler (antikor), çözünebilen proteinlerdir
- Kan proteinlerinin 1/5 i
- Bakteri, virüs veya yabancı büyük moleküllere bağlanan proteinlerdir
- Bu proteinleri B lenfositler oluşturur
- Neden B?

tablo 7-2

İmmün Sistemde Yeralan Bazı Lökosit Tipleri

Hücre tipi	İşlev
Makrofajlar	Büyük partikülleri ve hücreleri fagositozla sindirir
B lenfositler (B hücreleri)	Antikorları oluşturur ve salgılar
T lenfositler (T hücreleri) Sitotoksik (katil) T hücreleri (T_c)	T-hücre yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla enfekte olmuş konakçı hücrelerle etkileşir
Yardımcı T hücreleri (T_H)	Makrofajlarla etkileşir ve T_c , T_H ve B hücrelerini proliferetmek amacıyla sitokinleri (interlökinler) salgılar.

İMMÜN SİSTEM-HÜCRESEL

- Hücresel immün sistemi T lenfositleri oluşturur, Katil ve yardımcı T hücreleri
- Neden hücresel?
- Enfekte olmuş hücreler ve parazitlerin tanımlaması T hücrelerin yüzeyindeki T hücre reseptörlerini gerektirir.
- Bu reseptör proteinler, hücre dışı ligantları tanır ve değişiklikleri başlatır
 - Mesela öldürmek için
- Yardımcı T hücreleri sitokin (interlökin) denilen çözünebilen işaret verici proteinleri
- Neden T?
- Gelişimleri timusta, göğüs boşluğunda tiroid altında bir lenf sistemi organı

tablo 7-2

İmmün Sistemde Yeralan Bazı Lökosit Tipleri

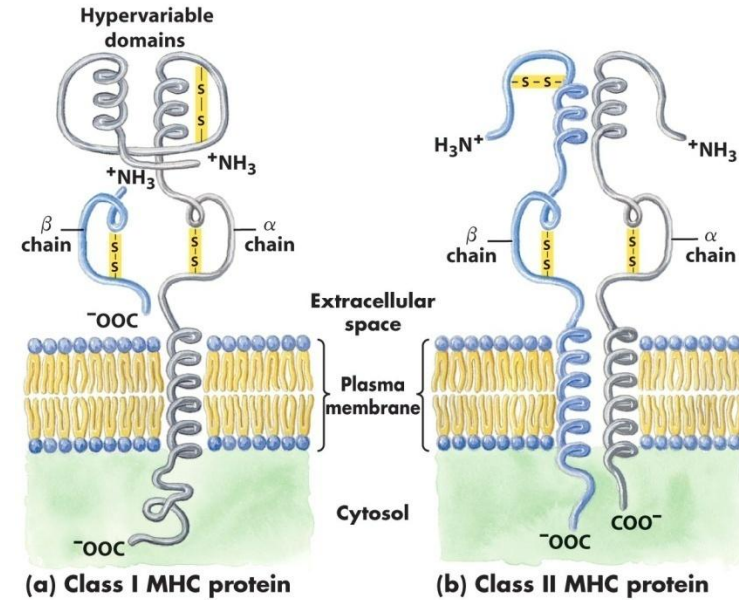
Hücre tipi	İşlev
Makrofajlar	Büyük partikülleri ve hücreleri fagositozla sindirir
B lenfositler (B hücreleri)	Antikorları oluşturur ve salgılar
T lenfositler (T hücreleri) Sitotoksik (katil) T hücreleri (T_c)	T-hücre yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla enfekte olmuş konakçı hücrelerle etkileşir
Yardımcı T hücreleri (T_H)	Makrofajlarla etkileşir ve T_c , T_H ve B hücrelerini proliferetmek amacıyla sitokinleri (interlökinler) salgılar.

İMMÜN SİSTEM PROTEİNLERİ ve ANTİJENLER

- İmmün sistemdeki tanımlayıcı proteinleri :
 - B hücrelerince oluşturulan antikorlar ve (insanlar 10^8 çeşit üretebilir, bir virüsü tanımak için birden çok antikor olabilir)
 - Özel kimyasal yapılara özgül olarak bağlanan T hücrelerin yüzeyindeki T hücre reseptörleridir
- İmmün cevabı sağlayabilen her molekül veya patojen antijen olarak adlandırılır
 - Virüs, bakteri duvarı, makromoleküller
- Antijende nereye bağlanılıyor?
 - Kompleks bir antijen farklı antikorlar tarafından bağlanabilir
 - Tekil bir antikor ve T-hücre reseptörü antijen içindeki epitop adı verilen özel moleküler yapıya bağlanır.
 - Birden fazla epitop içeren kompleks antijenler
- Normalde 5 kDa altındaki küçük moleküller antijenik değildir!

İMMÜN SİSTEM –kendi ile kendi değil ayırımı-

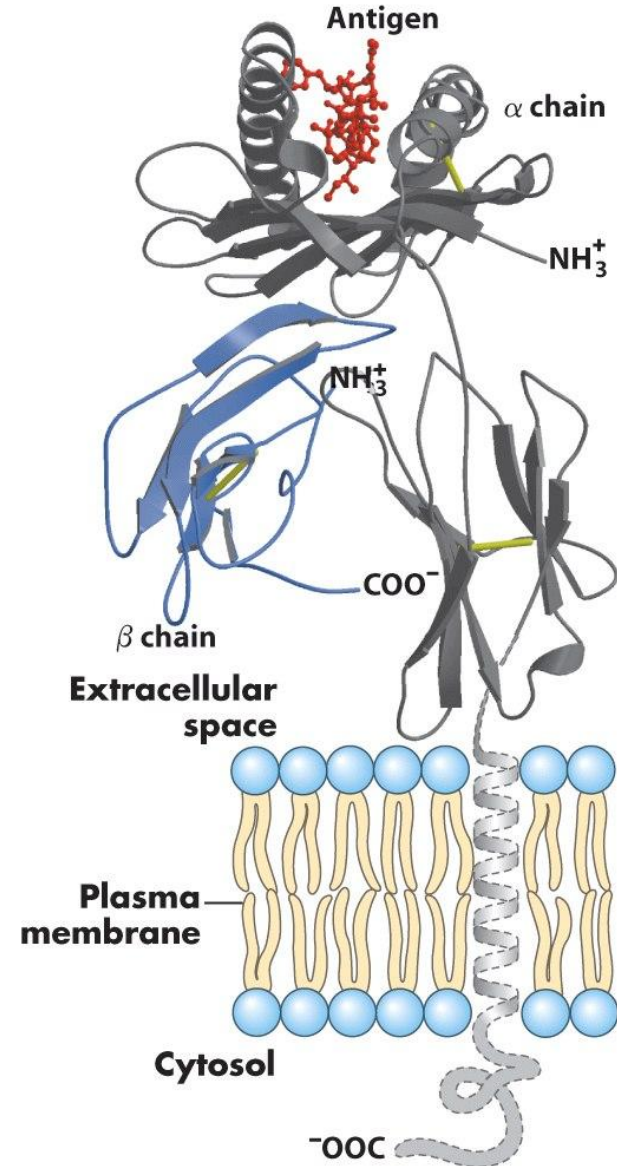
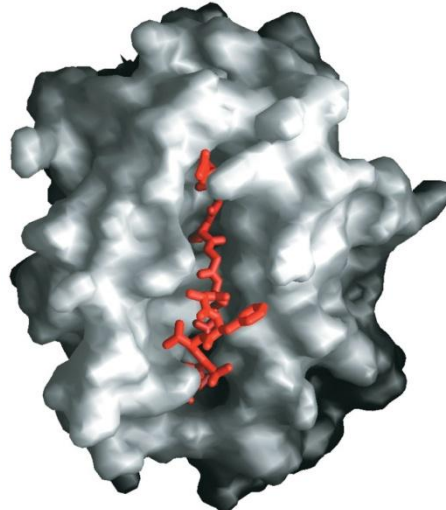
- İmmün sistem patojenleri kendi-kendi değil şeklinde ayırtetmeli ve ortadan kaldırmalı
- MHC proteinleri –major histocompatibility kompleks- hücre içindeki sindirilmiş proteinlerin peptit parçalarını bağlar ve hücre dış yüzeyine çıkarır
- Viral enfeksiyona uğramış bir hücre düşünelim
 - Bu sırada viral proteinlerde hücrede sindirilir ve ortaya çıkarılır
 - MHC proteinleri tarafından ortaya çıkarılan yabancı proteinlerin peptit parçaları immün sistemin kendinden olmayan olarak tanıdığı antijenlerdir.
 - Başkasının tuğlasını kullanan hücre yüzeyindeki peptitler benden değilsinin işaretini vermekte
 - T hücre reseptörleri bu parçaları bağlar ve immün cevap ilerler (ölüm vey amplifikasyon)



- Birincide beta sabit alpha değişken AA sekansı
- İkinci MHC tipinde her iki ikincil yapıda değişken ve N terminusa yakın

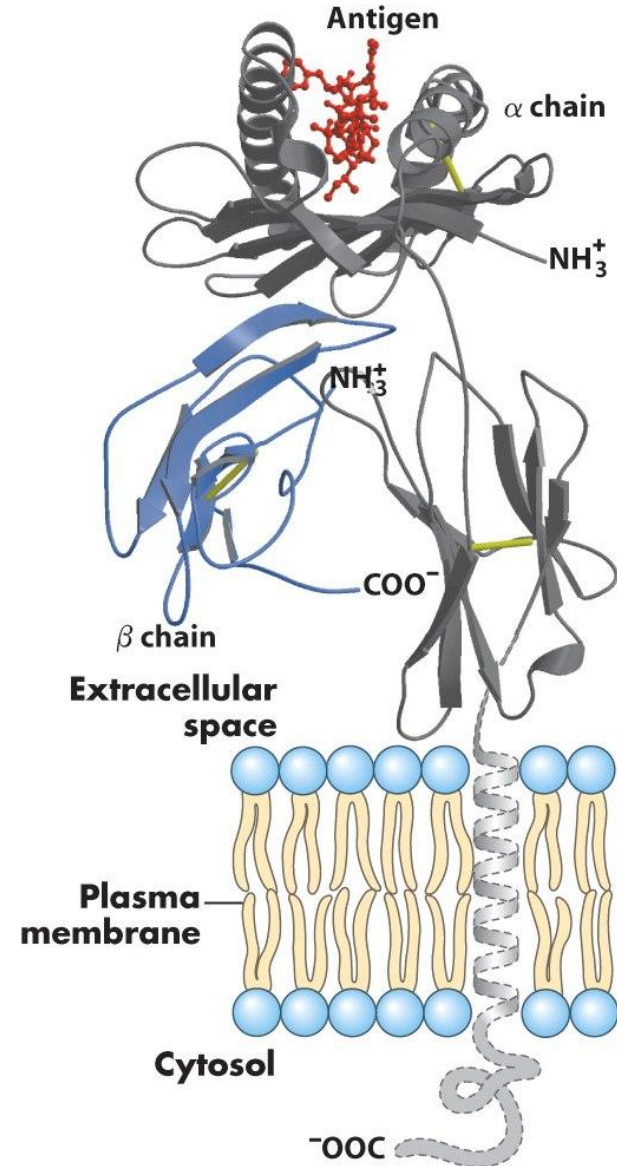
İMMÜN SİSTEM –MHC Proteinleri

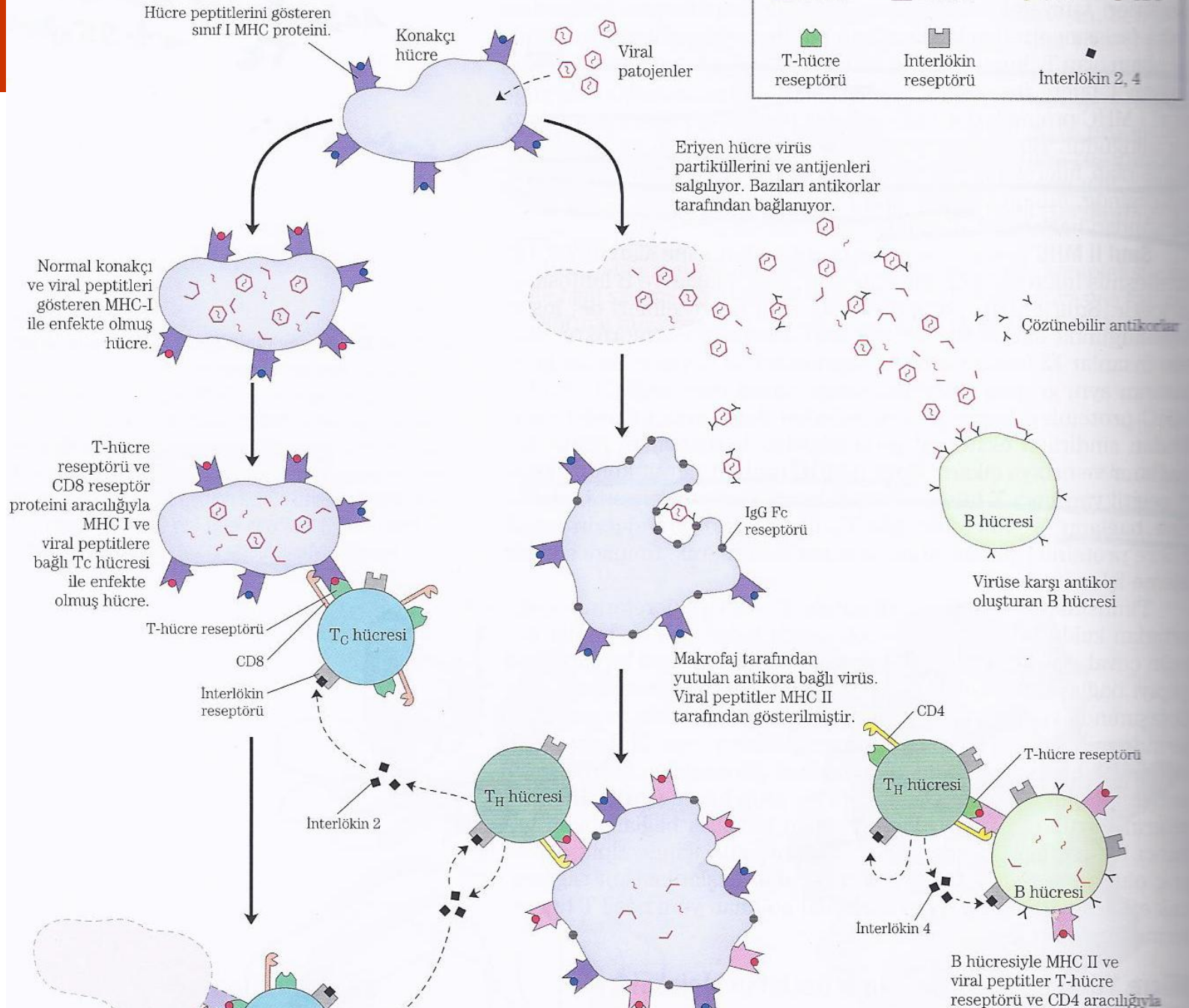
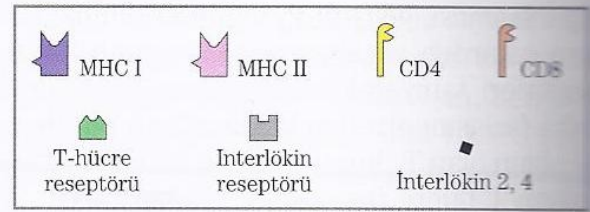
- Sınıf I MHC proteinleri bütün omurgalıların hücre yüzeyinde bulunur
- Patojen originli peptit komplekleri ve MHC-1 proteinleri hücrel immün sistemindeki Tc hücrelerinin T-hücre reseptörlerinin tanıyıcı hedefleridir
- HIV kaynaklı bir peptit molekülü MHC-1 tarafında hücre yüzeyine taşınarak antijenik etki oluşturur ve bu kısım T-hücre reseptörleriyle etkileşir



İMMÜN SİSTEM –MHC Proteinleri

- Timüste Tc hücreler olgunlaşırken kendi peptitlerini kendinden olmayandan ayırayamayanlar ölür!
- Hücrelerin % 5i gelişir ve bunlar kendi peptitlerine bağlanmayan reseptörlere sahip Tc hücrelerdir
- Bu sayede parazit ve virüs ile enfekte olan hücreler hücre reseptörlerince tanınıp yok edilir
- Organ transplantasyonunda yabancı sınıf I MHC proteinleri de Tc lerce tanınıp doku reddine yol açar
 - Yine başkasının tuğlası
 - Kompleks bir mekanizma, yakın akrabalar çoğu kez okey
- Sınıf II MHC proteinlerin peptit kompleksleri çeşitli yardımcı T hücrelerinin T-hücre reseptörlerinin hedefidir. Sinyalizasyon başlatıcı etkileşim



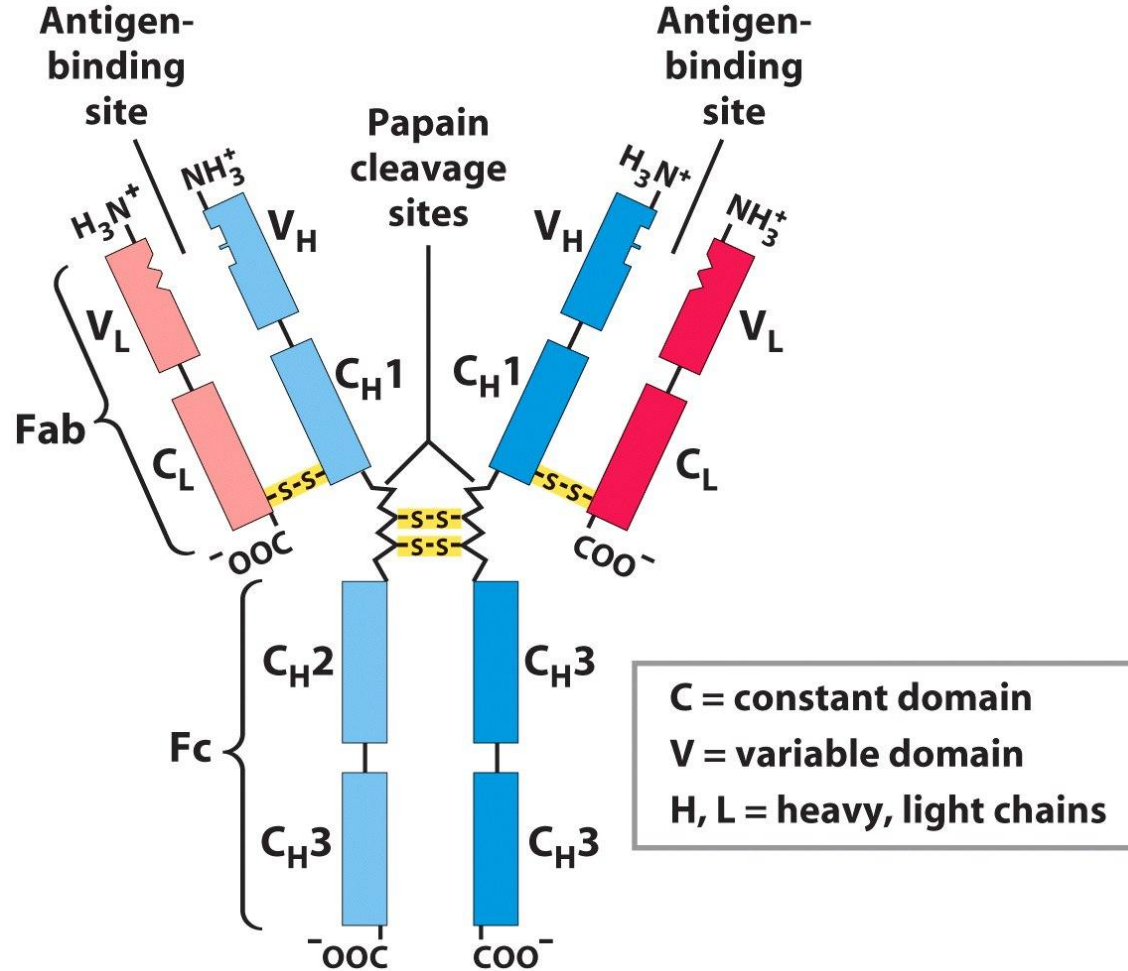


İMMÜN CEVAP

- Bütün Tc ya da B hücreler değil, yalnızca interlökin reseptör üretenler (antijeni tanıyanlar) çoğalıyor, sinyalizasyon ile seçimli çoğalma
- HIV de hedef T_H hücreleri
Sinyalizasyon kesilmesiyle asker üretimi otomatik yavaşlar
- Antijen tükendiğinde çoğu immün hücre ölür, küçük bir kısım uyarılmış B ve T hücreleri yaşatılır
- Bunlar bellek hücreleridir ve tekrar karşılaşıldığı zaman patojene daha hızlı cevap verilir

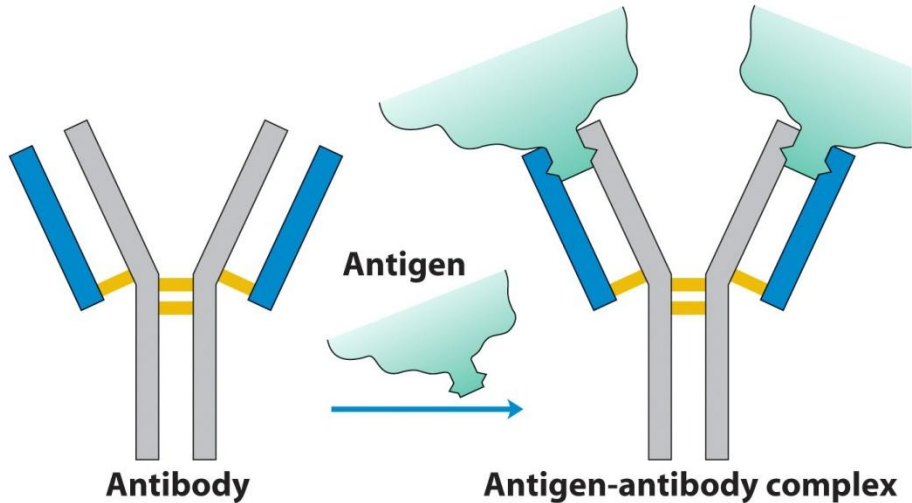
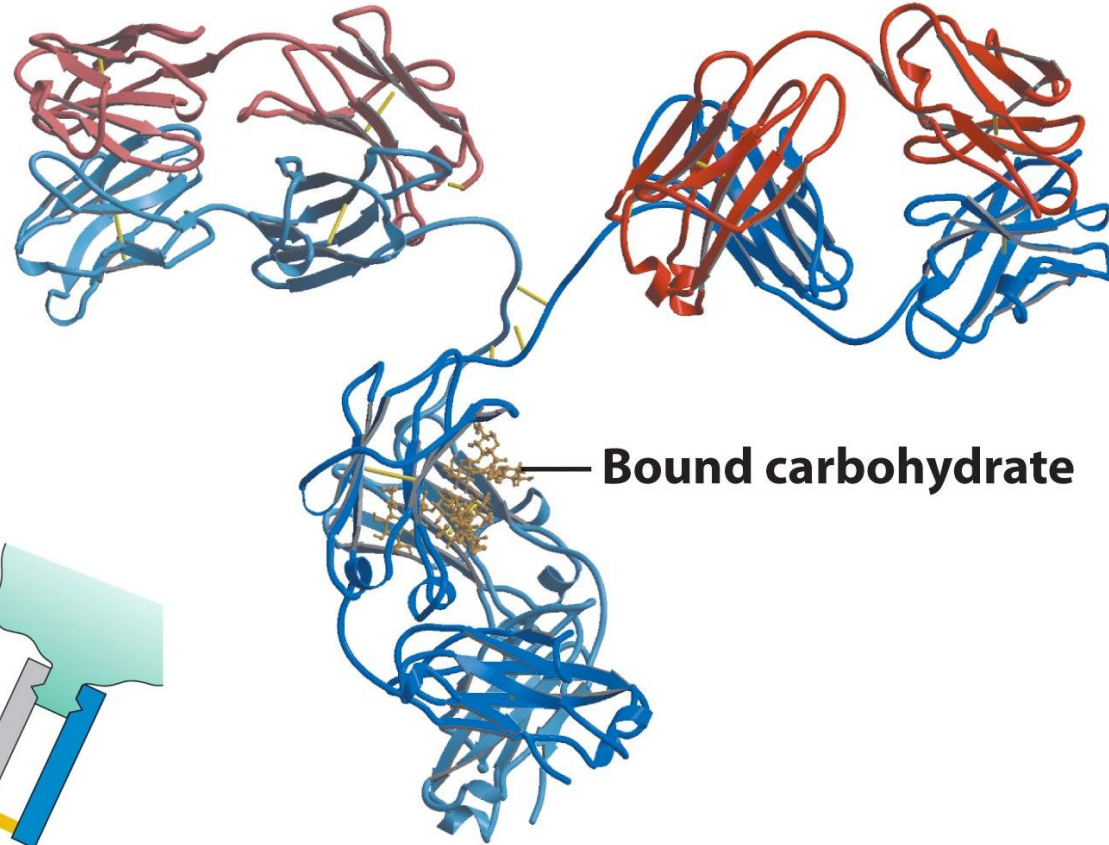
İMMÜNOGLOBULİN G (IgG)

- Antikorların ana sınıfıdır
- B lenfositlerce salgılanan çözünebilir proteinlerdir
- Patojenin direkt kendisiyle ya da Onla ilintili bir serbest peptitle etkileşir.
- 4 ppz, ikisi ağır, ikisi hafif!
- Disüflitlerle bağlı
- Y şeklinde bir ağaç
- Ağacın kökü Fc kısım
- Antijen tanıyıcı bölge ise Fab
- Sabit ve değişken yapılar
 - Farklı IgG türleri
- Bir hafif ve bir ağır zincirin değişken bölgeleri iki eş antijen bağlanma bölgesi oluşturur



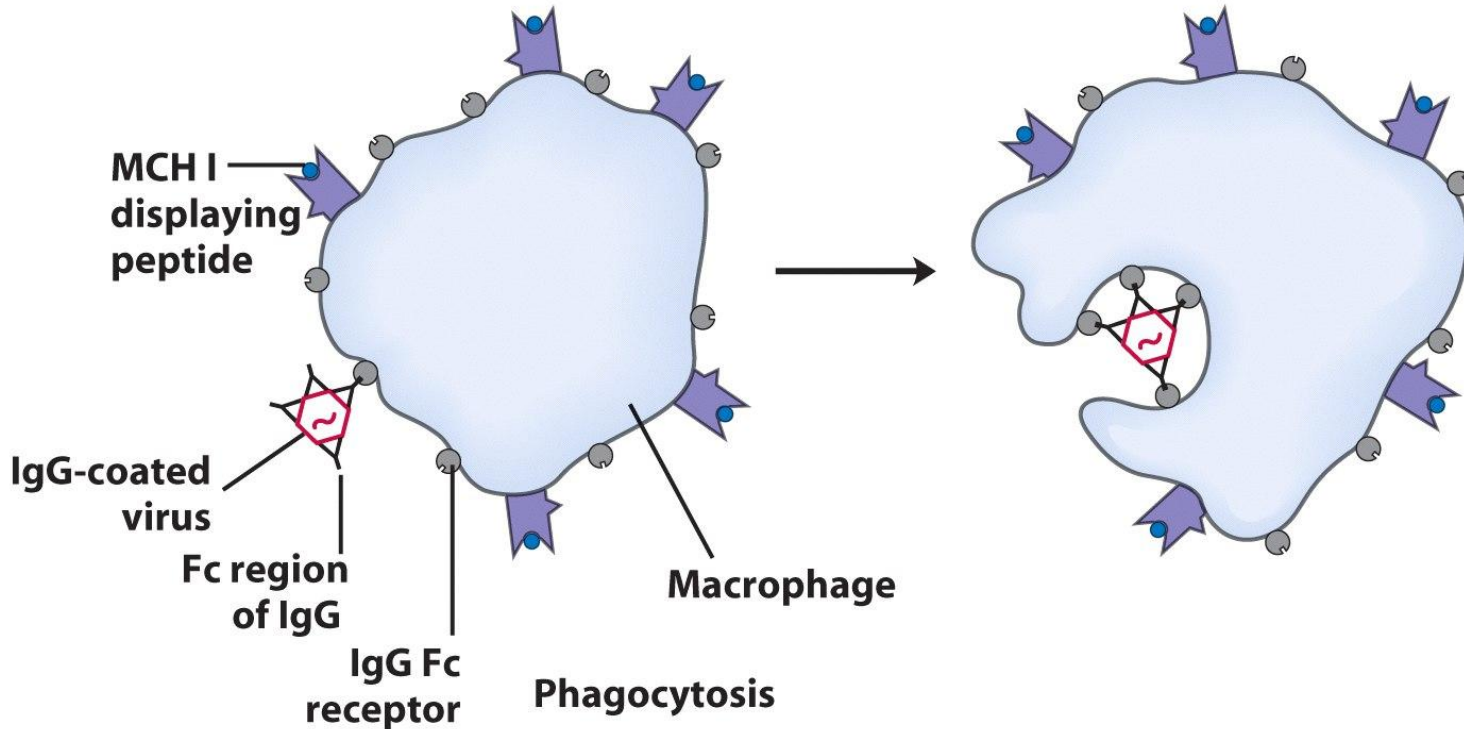
İMMÜNOGLOBULİN G (IgG)

- İlk kristallendirilmiş IgG yapısı
- Esneklik işlev için kaçınılmaz
- Mavi ve kırmızı?
- Maviler iki adet ağır zinciri
- Kırmızılar iki adet hafif zinciri



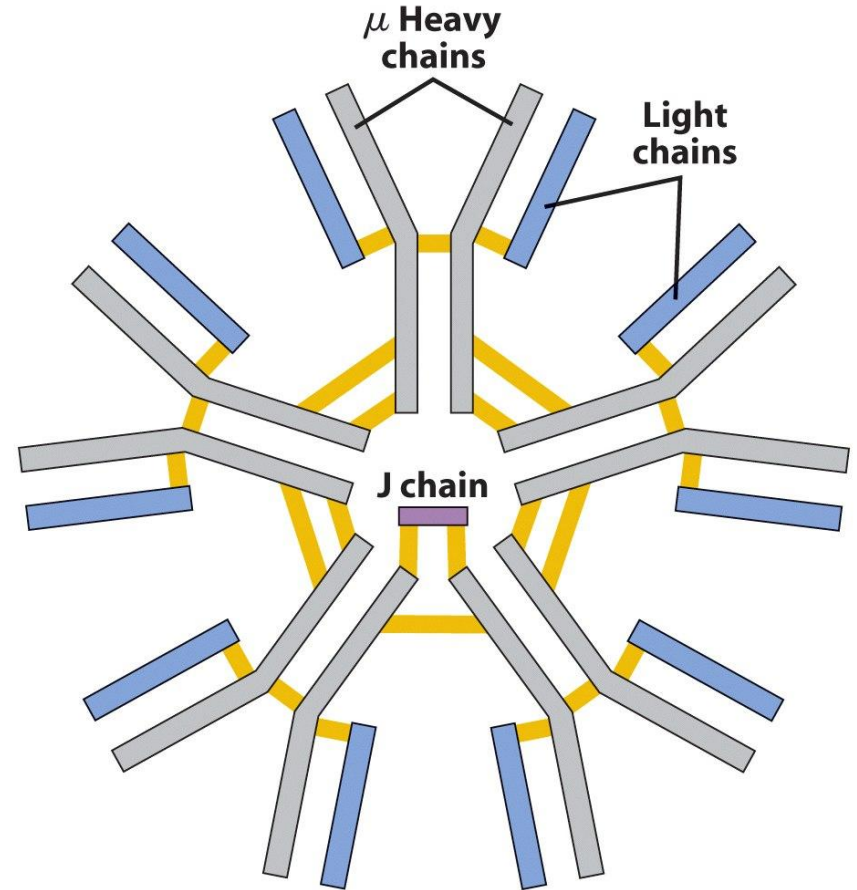
IgG

- Organizmada süren immünyetede etkin o yüzden kanda en bol bulunan Ig türüdür
- Saldıran bir virüs veya bakteri IgG ye bağlandığında makrofajları aktifleştirir!
- Makrofajların hücre yüzeyindeki başka reseptörler IgGnin Fc bölgesini tanırlar ve bu Fc bölge IgG den IgG ye?
- Bu reseptörler bir antikor-patojen kompleksine bağlandığında makrofaj fagositozla kompleksi yok eder

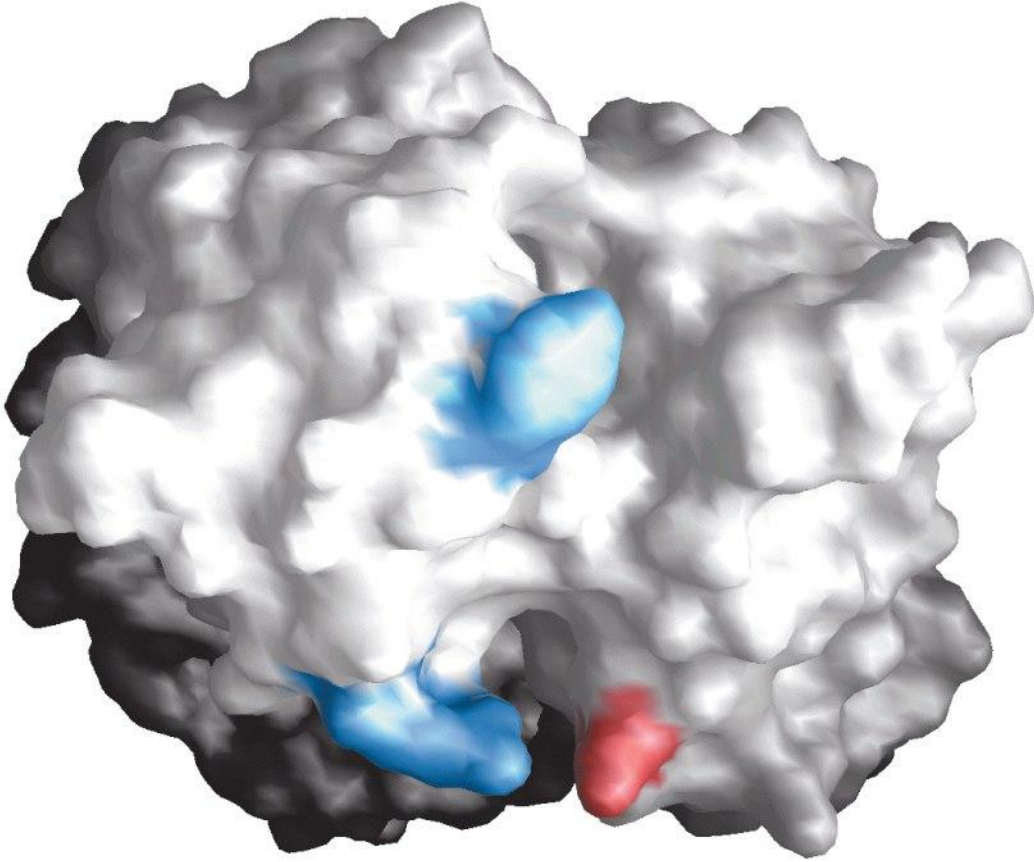


İMMÜNOGLOBULİNLER

- 5 farklı sınıf Ig mevcut ve karakteristik ağır zincirleri var
- IgM pentamerik yapıda bulunabilir ve B lenfositlerce üretilen ilk antikordur
- Kaç bağlanma bölgesi?
- Yoğun disülfid bağları
- Merkezdeki J ppz stabilite
- IgE allergen reaksiyonlarda etkin antikor
- Polen benzeri maddeleri antijen olarak görüp vücut tepkisini başlatır



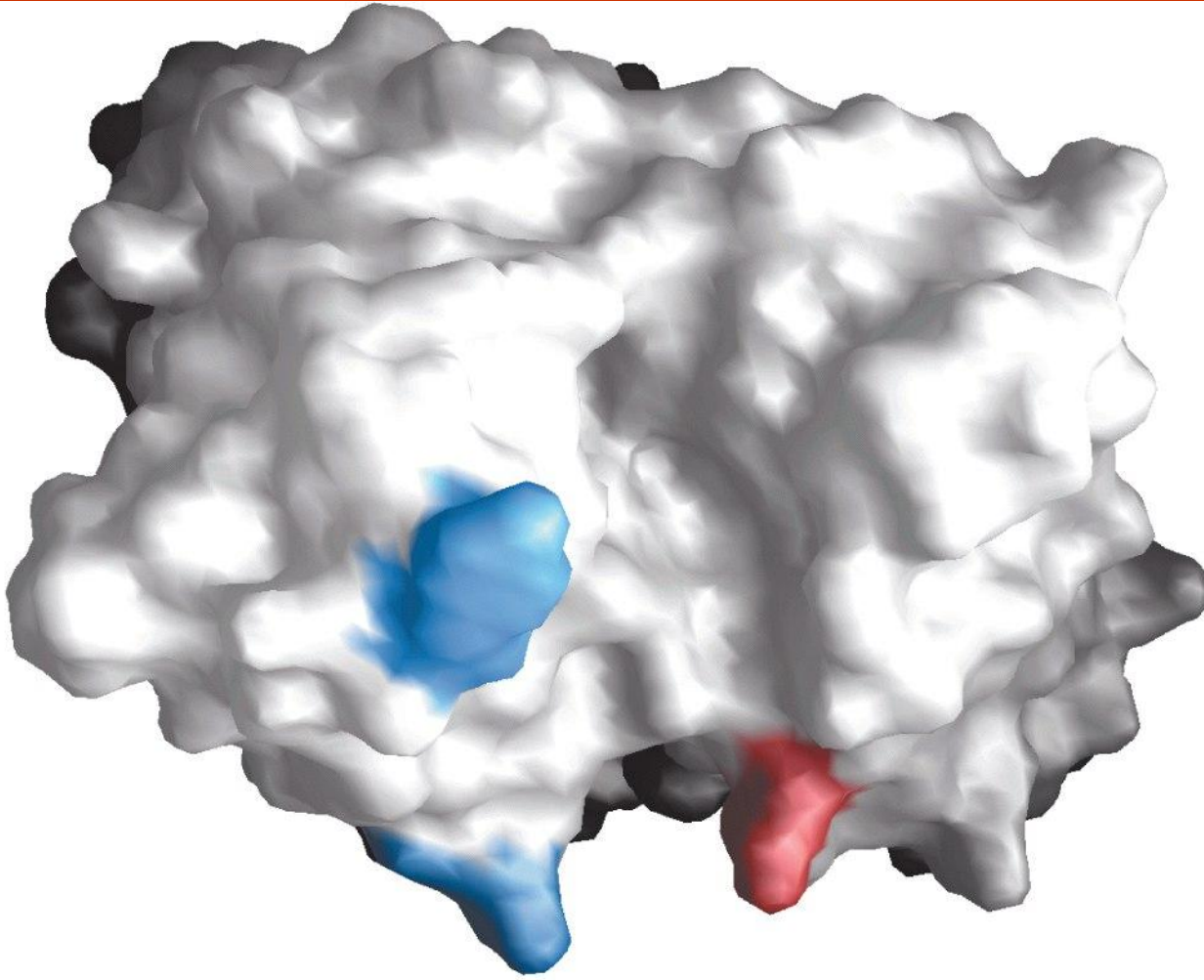
İMMÜNOGLOBULİNLER-ÖZGÜLLÜK, UYARIŞMIŞ UYUM



**Conformation
with no antigen
bound**

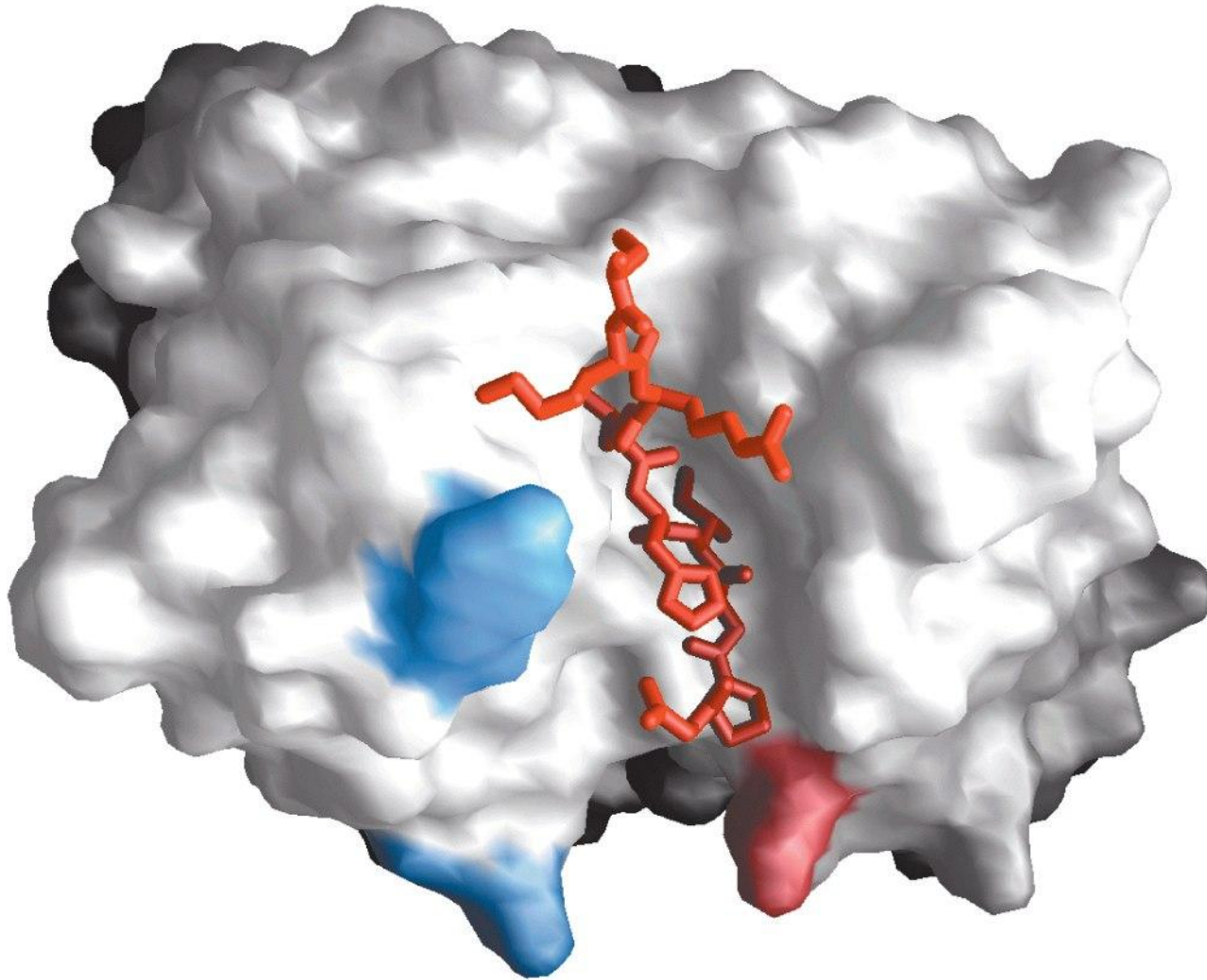
- Ligantın proteine bağlanması, proteinin konformasyonel değişiklikler geçirmesini tetikleyebilir. Buna P-L arasında uyarılmış uyum denir.

İMMÜNOGLOBULİNLER-ÖZGÜLLÜK, UYARIŞMIŞ UYUM



**Antigen
bound
(hidden)**

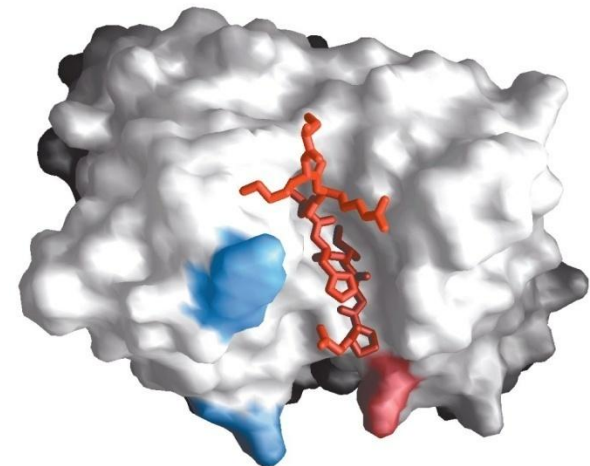
İMMÜNOGLOBULİNLER-ÖZGÜLLÜK, UYARIŞMIŞ UYUM



**Antigen
bound
(shown)**

İMMÜNOGLOBULİNLER-ÖZGÜLLÜK, UYARIŞMIŞ UYUM

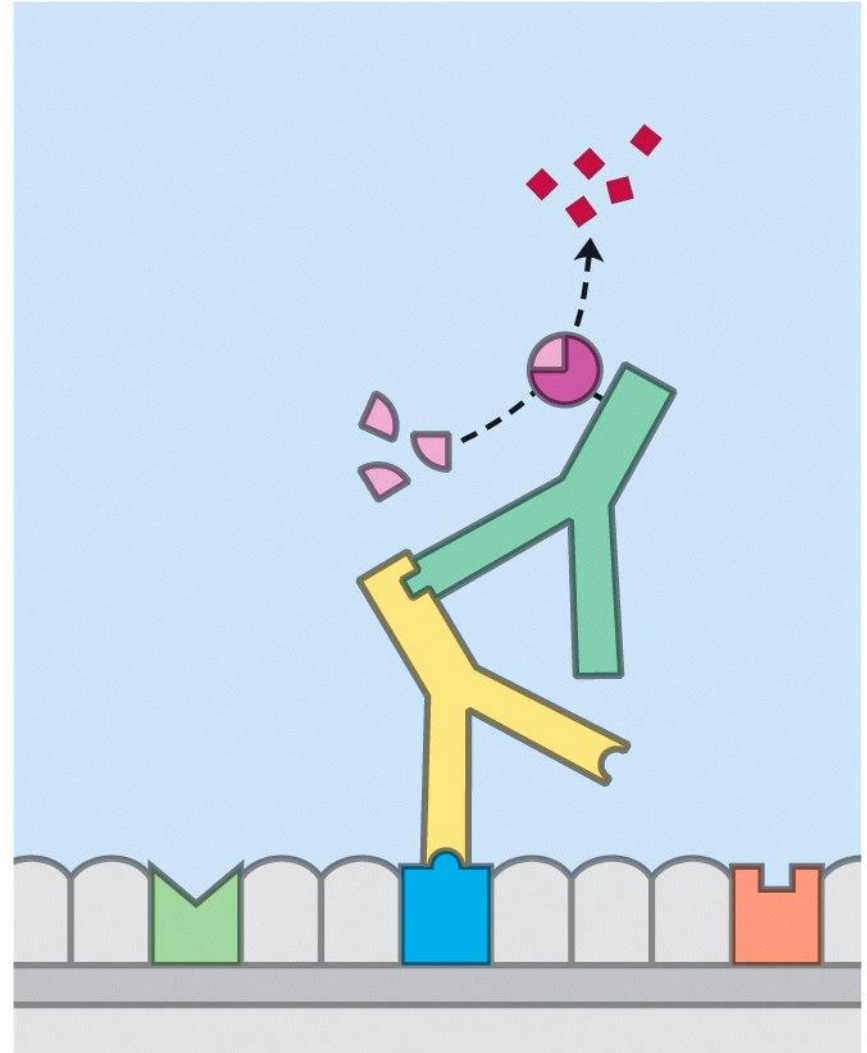
- Hidrofobik, iyonik, H-bağları ve VDW kuvvetleri çok kararlı bir P-L etkileşimine
Ve de son derece yüksek bağlanma sabitlerine yol açmaktadır
- Tipik K_d değerleri nM seviyesindedir
- Poliklonal antikor, bir antijenin değişik epitoplarına bağlanan antikorlar topluluğu
- Monoklonal antikor, bir antijenin aynı epitopuna bağlı antikorlar topluluğu
- Ör K_d 'si 5×10^{-8} M olan bir antijen antikor etkileşiminde olası bağlanma bölgelerinin % 80'ini dolduran ligant konsantrasyonu nedir?
- 2×10^{-7} M, başka etkileşimlere göre çok çok düşük konsantrasyonlarda çoğu bağlanma bölgesi dolmakta



**Antigen
bound
(shown)**

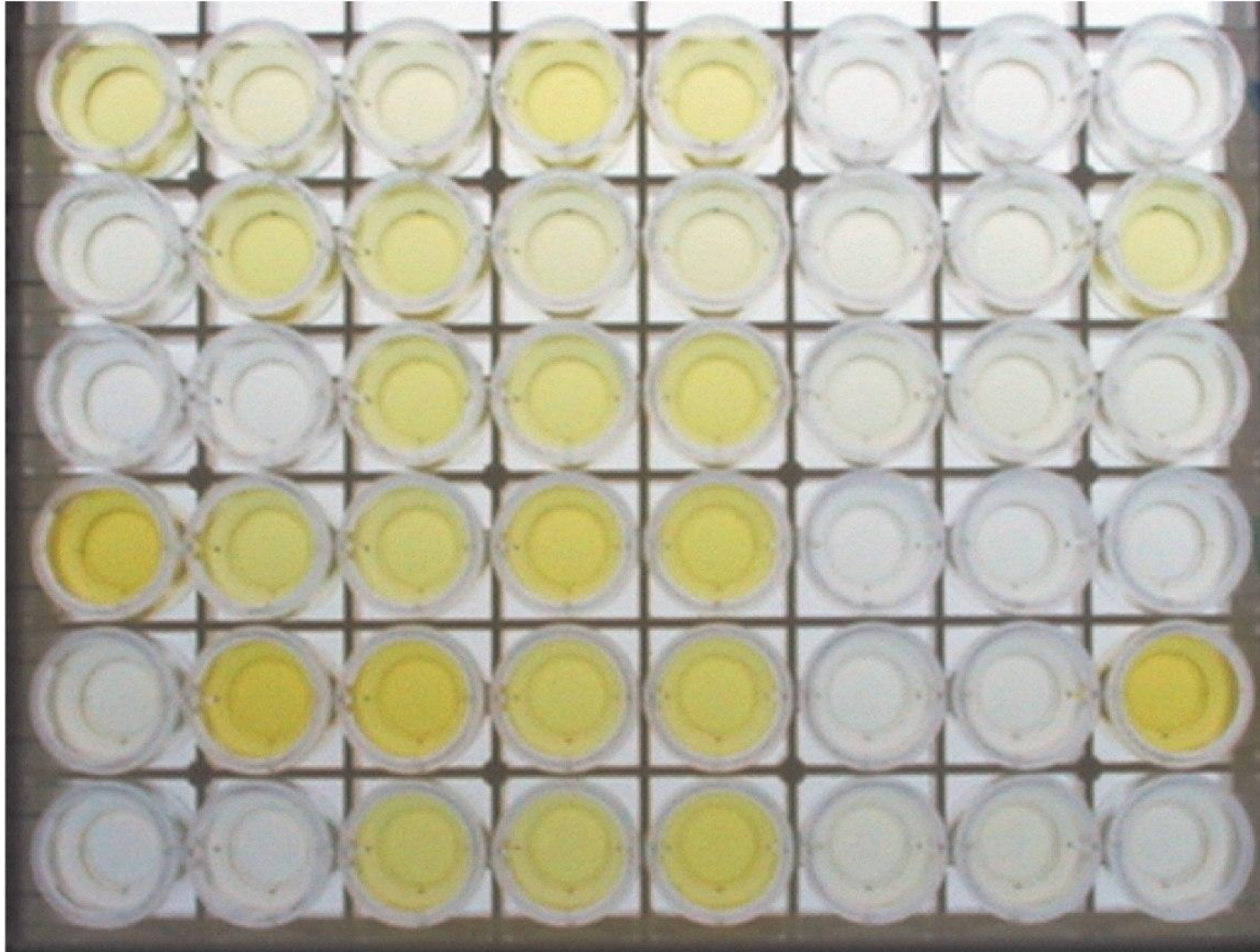
ELISA – ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY

- ① Coat surface with sample (antigens).   
- ② Block unoccupied sites with nonspecific protein. 
- ③ Incubate with primary antibody against specific antigen. 
- ④ Incubate with antibody-enzyme complex that binds primary antibody. 
- ⑤ Add substrate. 
- ⑥ Formation of colored product indicates presence of specific antigen. 



Kanser belirteci proteinlerin belirlenmesinde kullanılır

ELİSA –ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY



ELISA

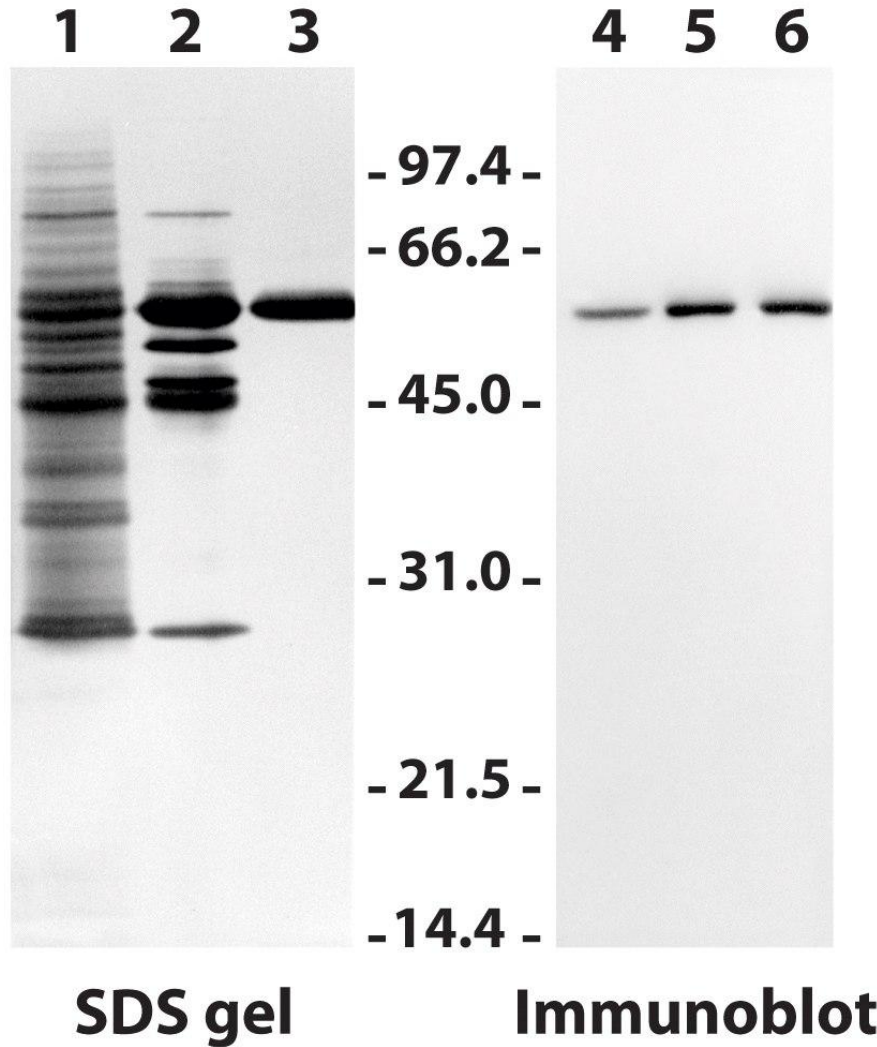
En renkli kuyucuk
neyi belirtir?

HSV virüs antijeniyle
kaplanmış
kuyucuklar

Virüse karşı en çok
antikor üreten
hastada en renkli
kuyucuk

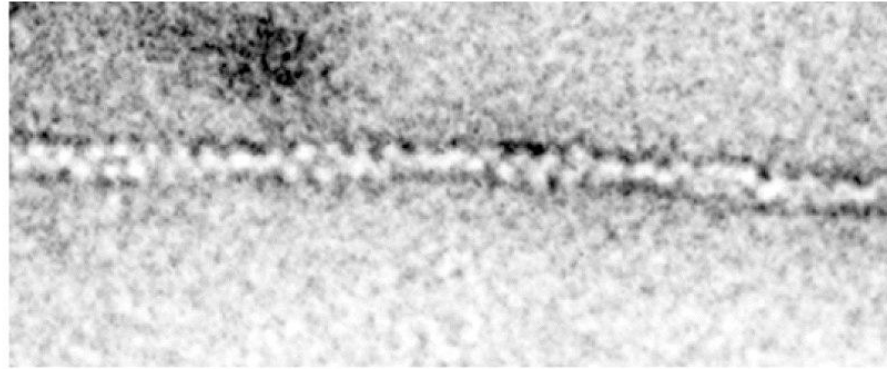
Kuyucuk anti PSA ile
modifiye edilmiş
olsa idi, bu sefer
kanında en çok PSA
Prostat spesifik
antijen içeren hasta
en renkli kuyuya
sahip

İmmünblot



- Protein kinazın saflaştırılması
- Her aşamada yabancı proteinler kolon kromatografisi ile uzaklaştırılmakta
- İkinci durumda cassein mavisini yerine proteinler birincil antikor, enzim bağlı ikincil antikor ve substratla muamele edilir
- Sadece aranan proteini içeren bantta renkli çökelti

DİĞER PROTEİN-PROTEİN ETKİLEŞİMLERİ



36 nm

(b) F-actin

**G-actin
subunits**

DİĞER PROTEİN-PROTEİN ETKİLEŞİMLERİ

