

## SİNYAL PEPTİDLER

F. Nur ERİŞ, Nuran YULUĞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

### ÖZET

Sentezlenen proteinlerin hedeflerine ulaştırılması konusunda ancak bazı temel basamaklar bilinmektedir. Tamamlanmamış proteinlerde, onları yönlendiren hedefleyici moleküller bulunmaktadır. Sinyal peptidler en önemli hedefleyici dizeler olup proteinleri hücre içi hücre içi doğru adreslerine götürürler. Salgılanan proteinler endoplazmik retikulum (ER) membranını sinyal peptidler eşliğinde geçerler ve sinyal peptidler sinyal peptidazlarca ER lumeninde sonlandırılırlar. Proteinlerin hücre içindeki yolculuğu henüz tam bilinmeyen, karmaşık bir konu olmaya devam etmektedir. Ancak son yıllarda çok sayıda proteinlerin sinyal peptidleri üzerinde çalışılıp moleküler analizleri tamamlanması nedeniyle proteinlerin hücre içinde hedefleniş konusunda birçok nokta da aydınlanmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Sinyal peptid, sinyal peptidaz, sinyal tanıma partikülü

### SUMMARY

The mechanics of protein targeting now known are only the basic steps of protein transport. Most secretory proteins contain a sorting signal that initiates transport across the membranes of the cell. A sequence of amino acids called the signal sequence on the newly made protein directs the ribosome to the "endoplasmic reticulum" ER membrane and causes the growing polypeptide to cross it. Signal sequences are not normally found on complete polypeptides made in cells, implying that the signal sequences are cleaved from the protein while it is still growing on the ribosome. The enzyme signal peptidase, which cleaves off the signal sequence, is localized to the ER lumen. In this case, the protein, with its attached signal sequence, is released into the cytosol. In recent years many signal peptides have been sequenced, purified, and characterized.

**Key words:** Signal peptide, signal peptidase, signal recognition particle.

Proteinlerin hücre içi trafiğinde sadece temel basamakları açıklayabilecek bilgilerimiz vardır. Daha translasyon tamamlanmadan proteinin son hedefe nasıl yönlendiği henüz kesin olarak bilinmemektedir. Proteinlere belirli aminoasit dizelerinin rehberlik ettiği gösterilmiştir. Hedefleyici dizelerden en iyi karakterize edilebilenler ökaryotlarda, endoplazmik retikuluma bağlı ribozomlarda sentezlenen salgılanan proteinlerin endoplazmik retikuluma doğru hedeflenen dizeleridir. Bu aminoasit dizelerine "sinyal peptid" denmektedir (1,2). Sinyal peptidlerin anlaşılması için bilgilerimizi bazı başlıklar altında sunabiliriz:

### Proteinlerin Hedeflerine Yönelmesi

İlk olarak 1960'lerde George Palade protein sentezi sırasında endoplazmik retikuluma bağlı ribozomlarda bir takım şekansların sentezlendiğini göstermiştir (3). Proteinlerin sentezleri, yapıları, biyolojik aktivite kazanmaları ve membran kuruluşu hipotezleriyle ilgili çalışmalarda sıklıkla sinyal peptidleri ile karşılaşılmıştır (4,5,6). İlk araştırmacılar enzimi salgılayan özel pankreas hücreleri üzerinde çalışmışlardır. Radyoaktivite ile işaretlenmiş proteinlerin her adımda hücre içi lokalizasyonu, otoradyografi ile gösterilmiştir (2). Ancak bunların fonksiyonları David Sabatini ve Günter

Blobel tarafından 1971'de ortaya konmuştur (2,4,7).

Rekombinant DNA teknolojisinin gelişmesinden sonra proteinlerin kendilerine uygun organellere yerleşmelerinin sinyal aracılığı olduğuna ait gözlemler artmıştır. Hedefleyici dizilerin aydınlatılmasında, proteinde özgün dizelerin hangisinin delesyona uğrayacağı ya da hangisinin ekleneceği gösterilmiştir. Bu konuda en çarpıcı bulgular, örneğin; X proteinini ucundaki bir aminoasit dizisinin Y proteinine geçirilmesi durumunda Y proteininin de X proteininin hedefine yönlendiğinin gözlenmesi ile ortaya konmuştur. Yine bazı proteinlerin membranlarının yerleşik proteinler olmaları için diğer bazı proteinleri hedefleyen sinyallerden yoksun kalmak zorunda oldukları gösterilmiştir (5,6,7). Hedeflenmenin son yönü, hücrede gereksinimi bitmiş olan proteinlerin selektif olarak degradasyona gitmesidir.

#### Diğer Hedefleyici Dizeler

Proteinlerde, başta "sinyal peptid" ve "sinyal patch" olmak üzere çok sayıda hedefleyici sinyal vardır. *Sinyal peptidler*, üzerinde en çok çalışılan hedefleyici dizilerdir. *Sinyal patch*, mannoz- 6- fosfat içerir ve proteinleri golgiden lizozoma yönlendirir. Diğer hedefleyici sinyal olan *KDEL* dizisi (Lys - Asp - Glu - Leu) ise ER lümenine doğrudur. KDEL dizisi proteinin karboksi terminal ucundadır. Normalde salgılanan proteinlerin karboksi uçlarına KDEL dizisi eklenmesi bu proteinlerin ER'da kalmalarına neden olmaktadır. Yine proteinlerin karboksi terminal ucunda KDEL dizisine benzeyen ancak iki lizin rezidü içeren ve *KKXX*

dizisi olarak bilinen başka bir hedefleyici sinyal daha vardır. *KKXX* sekanslarının golgi membranındaki reseptörlere bağlandığı ve daha sonra ER'a geriye doğru transporta olduğu düşünülmektedir. 70 rezidülik pozitif bölge içeren *N-terminal dize* ise mitokondriyi hedeflemektedir. Nükleusu hedefleyen *kısa-bazik amino asit dizeleri* de vardır. Araştırmacılar gün geçtikçe yeni hedefleyici dizelerin varlığını ortaya çıkarmaktadırlar (Tablo 1). Bütün bu sinyal dizeler proteinleri hücresel doğru adreslere götürürler (6,7,8).

Tablo 1. Proteinleri Spesifik Organellere Yönlendiren Dizeler

Hedefleyici Dize	Hedeflenen Organel
Sinyal Peptid	ER Membranı
Sinyal Patch (Mannoz-6-fosfat)	Lizozom
KDEL dizisi (C- terminal dize) (Lys-Asp-Glu-Leu)	ER lümeni
KKXX dizisi (C - terminal dize) (Lys:Lys- -)	Golgi aparatı
N- terminal dize (70 rezidülik pozitif bölge)	Mitokondria
Kısa, bazik aminoasit dizeleri	Nükleus
SKL - dizisi (C- terminal dize)	Peroksizom
KKPK	Nükleus proteinleri

#### Sinyal Peptidlerin Fonksiyonları

Salgılanacak proteinler genellikle inaktif şekilde sentez edilirler. Bunlar ancak parçalanma veya molekülden belli bir aminoasit grubunun çıkarılması ile aktif şekle dönebilirler (4,6). Proteinlerin doğal şekli olan alfa-heliks yapı, belli bir çevrede, termodinamik olarak en stabil olduğu

şekildir. Bu yapı, proteinlerde düzenli bir biçimlendirmeyi sürdüren yapısal stabil bir motiftir. Membran proteinlerinin membrana kat eden kısımları hidrofob aminoasitleri, yüksek alfa heliks ve beta kıvrımlı tabaka içermektedir (9,10,11).

Proteinler üç boyutlu yapı kazanmadan biyolojik aktivite göstermez ve fonksiyon yapamazlar. Bununla birlikte bazı proteinlerin aktivasyonu için daha ileri bir değişim gerekebilir. Ribozomlarda sentezlenen bu primer haldeki polipeptidlerin aktif hale geçmesi için sekonder, tersiyer, kuaterner yapılarını kazanmaları gerekir (6,11). Bunun sonunda da sinyal peptid ve sinyal tanıma proteinine (SRP) gerek vardır (10). Tüm sentezleri serbest poliribozomlarda meydana gelen proteinler (örneğin; sitozolik proteinler, plazma membranının iç yüzeyindeki ekstrinsek proteinler, nükleer DNA tarafından şifrelenmiş mitokondrial proteinler, peroksizomal proteinler gibi) söz konusu sinyal peptidlerden yoksundurlar (2,12).

Bir çok proteinin, ER ribozomlarında yapılıp yapılmadığı, salgılanıp salgılanmadığı, intrasellüler rolü gibi özellikler genetik olarak saptanmıştır. ER, proteinin katlandığı, subünitelerinin biraraya geldiği, disülfid bağlarının oluştuğu, glikolizasyonun başlangıcının gerçekleştiği ve glikolipid yapıların ilave olduğu yerdir. Sinyal

sekanslar sekrete edilen ve transmembran proteinlerinde bulunurlar. Bunlar polipeptidlerin sentezleri sırasında ribozomdan ER'a gitmelerine rehberlik ederler. protein sentezinin son döneminde ortaya çıkarlar (2,13). Translasyon tamamlanmadan da silinirler, olgun bir proteinde bulunmazlar. Özetle şöyle diyebiliriz; Bir proteinin salgılanabilmesi için, peptid zincirinin amino ucunda, büyük bir olasılıkla hidrofob olan bir sinyal sekans (presekans) içermelidir. Hidrofob aminoasitlerden oluşan bu parça oluşur oluşmaz ribozom serbest ER membranına bağlanır. Bu hidrofob kısım, ER çift membranı içine girer. Ardından polipeptid zincir oluşur. Hidrofob aminoasidin yerini hidrofil bir aminoasidin aldığı, değişikliğe uğramış sinyal dizeleri taşıyan mutant proteinler ER membranlarına dahil edilmezler. Özel bir peptidaz ile bu sinyal parçası silinir. Birçok salgılanan protein, kan plazma proteinleri, polipeptid hormonlar, antikorlar ve mukoproteinler bu şekilde oluşurlar (14,15,16). Böylece oluşan bu proteinlerin bir kısmı da enzim halinde veziküllerde birikerek hücre dışına salınır veya hücre içinde görev yaparlar (1,2,17).

#### **Sinyal Peptitlerin Ortak Özellikleri**

Sinyal peptidler, tamamlanmamış proteinlerde bulunurlar. Salgılanacak proteinlerin lider dizeleri olup sekretuar hücrelerde, ER'a bağlı ribozomlarda sentezlenirler .

Sinyal peptidlerinin sekans analizlerine bakacak olursak, bu dizilimler yaklaşık 12-35 aminoasit kalıntısı kapsar. Bunlar her zaman olmamakla birlikte amino terminalde lokalizedirler. Bilindiği gibi bütün peptid zincirleri bakterilerde N-formyl methionine, ökaryotlarda ise methionine ile başlamakta ve AUG başlangıç kodonu ile kodlanmaktadır. Merkezde 10-15 aminoasit kalıntısı uzunluğunda, hidrofobik bir aminoasit dizilimi bulunur. Karboksil gruplu uçta ise kırılma noktalarının bitişiğinde, kısmen polar ya da kısa yan zincirli amino asitler yoğunlaşmıştır. Hidrofobik dizilimin amino

gruplu ucu tarafında, bir veya daha fazla pozitif yüklü amino asit kalıntısı taşırlar. SRP ile bağlanma bölgesini muhtemelen bu hidrofobik rezidüer oluştururlar. Hidrofobik merkezin önünde ise bir yada daha fazla bazik kalıntılar yer alır (2,5,7). Bunlar daha sonra "durdurucu sinyal" (sinyal peptidaz) ile enzimatik bir şekilde karboksi terminal ucunda ayrılırlar. Kesilme noktasında sıklıkla bir "Ala" kalıntısı vardır (Şekil 1). Sinyal peptidler, protein sentezinin son basamaklarında ortaya çıkarlar. Translasyon tamamlanmadan silinirler. Olgun bir proteinde yokturlar.

										Hidrofobik merkez (10-15 noktası amino asit)		Kesilme			
<b>İç membran proteinleri</b>															
Faj fd. major	Met	Lys	Lys	Ser	Leu	Val	Leu	Lys	ala	.....	Phe	Ala	↓	Ala	Glu
İsif protein													↓		
Faj fd. minor						Met	Lys	Lys	Leu	.....	His	Ser	↓	Ala	Glu
İsif protein															
<b>Periplasmik proteinler</b>															
Alkali fosfataz			Met	Lys	Gln	Ser	Thr	Ile	Ala	.....	Lys	Ala	↓	Arg	Thr
Levin bağlayıcı-spesifik protein	Met	Lys	Ala	Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	.....	Met	Ala	↓	Asp	Asp
β-Laktamaz (pIIR 522)	Met	Ser	Ile	Gln	His	Phe	Arg	Val	Ala	.....	Phe	Ala	↓	His	Pro
<b>Dış membran proteinleri</b>															
Lipoprotein				Met	Lys	Ala	Thr	Lys	Leu	.....	Ala	Gly	↓	Cys	Ser
Tam β			Leu	Arg	Lys	Leu	Pro	Leu	Ala	.....	Met	Ala	↓	Val	Asp
Omp A	Met	Met	Ile	Thr	Met	Lys	Lys	Thr	Ala	.....	Gln	Ala	↓	Ala	Pro

Şekil 1: Bazı sekretuar proteinleri endoplazmik retikuluma yönlendiren sinyal dizileri (6).

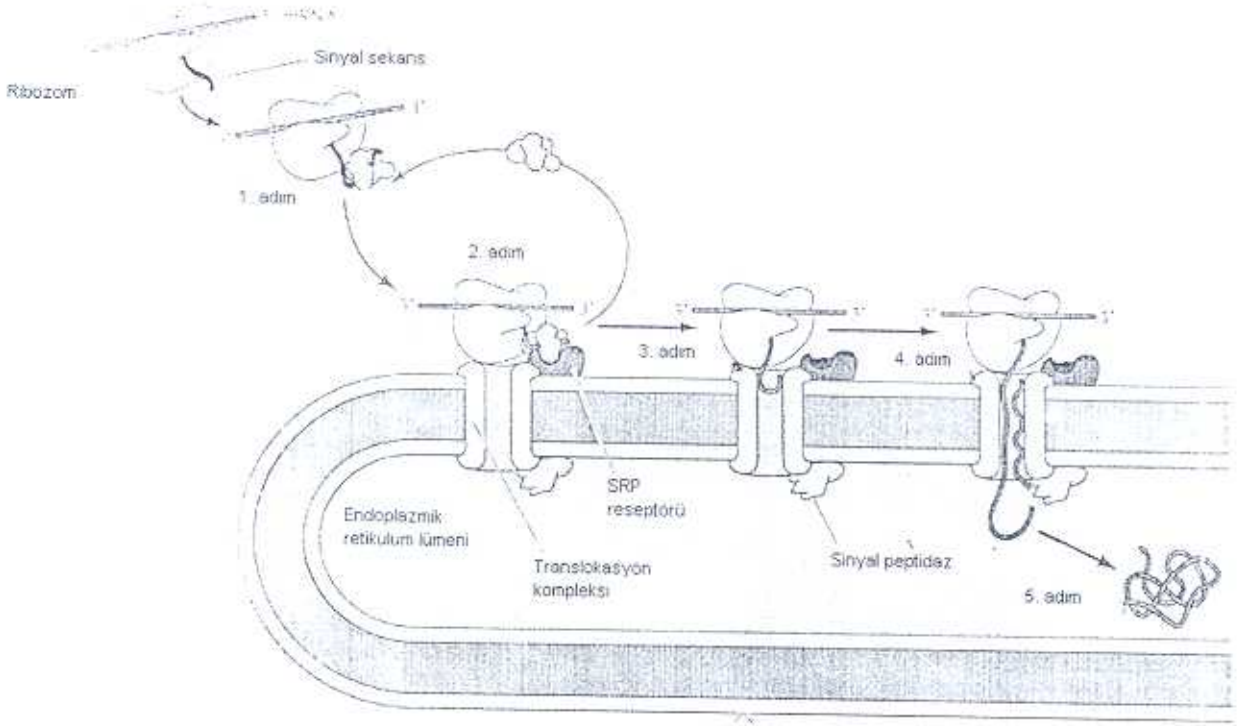
Hidrofobik merkezin sonunda, oklarla gösterilen kesilme yerlerinin hemen önünde polar ve kısa zincirli kalıntılar ve hidrofobik merkezin önünde koyu renkte gözüken bir veya daha fazla pozitif yüklü amino asit kalıntıları görülmektedir.

### Sentezlenen Proteinin Hücre İçinde Sinyal Peptidden Önceki ve Sonraki Kısa Yolculuğu

Gerek salgılanacak gerek plazma membranına entegre olacak gerekse de lizozomlara yerleşecek olan proteinlerde, genelde transport yolunun ilk basamakları aynıdır. Bunlar hücreleri terketmeden önce sırasıyla ER, Golgi aygıtı (GA) ve Plazma membran yolunu takip ederler. Aktif hale geçmek için sinyal peptid ve SRP(sinyal tanıma partikülü) ne gereksinimleri vardır. SRP, sitoplazmada bulunan ve sinyal peptidi tanıyarak onu ER'a yönlendiren bir proteindir (2,5,11). Altı polipeptid ve küçük sitoplazmik RNA (7SL RNA) içerir. SRP proteinin önemi ve hastalık patogenezi ile ilişkisinin çalışıldığı konulardan biri de Delta Hepatitidir. SRP ile HDV-RNA arasında sekans benzerliği gösterilmiştir. HDV-RNA\_RNA 7SL hibridlerinin oluşumu SRP'nin oluşumunun inhibisyonuna neden olup doğrudan sitotoksik etkiye yol açabileceği öne sürülmüştür (18,19). SRP ribozomda ilk sentezlenen sinyal peptidine tutunarak, ileri translasyonu inhibe eder ve protein sentezleyen ribozom kompleksini (SRP, ribozom ve uzayan polipeptid zinciri)

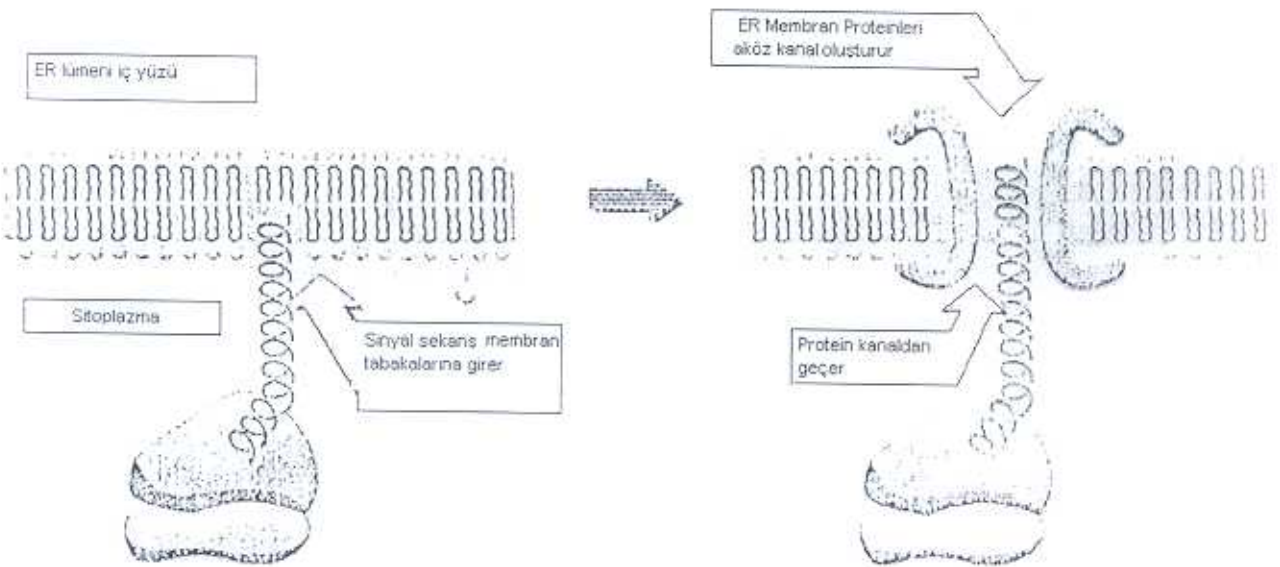
ER'a yönlendirerek oradaki SRP reseptörüne tutunmasını sağlar (Şekil 2). Bu bağlanma SRP' i hem ribozomdan hem de sinyal sekansdan uzaklaştırır. SRP' nin dislokasyonundan sonra protein sentezi kaldığı yerden devam eder. Ribozom ER membranına bağlı kalır. Bu bağlanmada enerji, GTP hidrolizinden ATP tarafından sağlanır. Sinyal sekans ise ER membranına yerleştirilen bir alfa heliks yapı oluşturup membran tabakaları arasında ilerler. Dolayısı ile uzayıp giden polipeptid zincirinin transferi engellenmiş olmaktadır (20).

ER'un diğer ökaryot hücre içi organellerinde olduğu gibi membran ve aköz kompartman olmak üzere iki kısmı vardır. Her iki kısmın da kendine özgün proteinleri vardır. Çalışmalar polipeptid zincirlerinin ER membranını transmembran proteinleri tarafından oluşturulan aköz kanallarla geçtiğini göstermiştir (Şekil 3). Bu kanalların sinyal sekanslarca açıldığı ve açık tutulma durumunun ribozomun aköz kanalın baş kısmına bağlanması ile korunduğu zannedilmektedir (7,21). Böylece büyüüp giden polipeptid zincirinin translasyonu devam ederken membranı geçmesi de sağlanmış olmaktadır.



Şekil 2: Sekretuar proteinlerin endoplazmik retikuluma yönlendirilmesi (7).

Sinyal sekans ribozom üzerinde görüldükten sonra SRP bağlanır. SRP bu komplekse ER membranına kadar eşlik eder. SRP ayrıldıktan sonra sinyal sekans ER membranına girer. Sinyal sekansın sinyal peptidaz tarafından kesilmesi polipeptidi ER lümeni içinde serbestleştirir.



Şekil 3: Polipeptid zincirinin sinyal peptid eşliğinde lipid membran tabakaları arasından geçmesi (22).

Sadece sinyal sekans lipid tabakanın hidrofobik çevresi ile etkileşime girmek durumundadır. Membrandan geçmekte olan proteinin geri kalan sekansları ER membran proteinleri tarafından oluşturulan aköz kanaldan geçerler.

Genetik ve biokimyasal çalışmalarca identifiye edilen Sec 61 kompleksi mayalarda ve memelilerde protein geçiren kanalların en major komponenti olup bu kompleks, ER membranındaki ribozoma bağlanır. Büyüyen polipeptid zinciri muhtemelen ribozomdan Sec61 membran kanalına transfer olur. Sec 61 kompleksi, polipeptid zincirinin membrandan geçmek üzere translokasyonuna yardım eder (7,23,24). Bu sırada polipeptide karbonhidratlar bağlanır ve polipeptid zincirler çeşitli şekilde kıvrılır, hidrojen ve disülfid bağları oluşturarak üç boyutlu yapılarını kazanırlar. Özellikle disülfid bağlarının oluşumu tersiyer yapıyı güçlendirir. Alfa-heliks yapı peptid bağları arasındaki hidrojen bağlarını en yüksek düzeyde stabil tutar. Uzayan polipeptidin amino asitlerin yan gruplarına karbonhidrat ve lipid eklenir. Üç boyutlu polipeptidin hidrofobik amino asit zincirleri, fosfolipid uçlarındaki yağ asitlerinin yan grup uçları ile etkileşir. ER aynı zamanda N-linked glikolizasyonun olduğu ve glikozilfosfatidilinozitol (GPI) yapıların ilave olduğu yerdir. Sentezlenen proteinler membran çift katlarını tamamen çaprazlayarak ER'a geçerler. Proteinin erken sentezlenen kısmı ER lümenine dahil oldukça, polipeptide karbohidrat eklenir. Buna *glikolizasyon* denir. Ribozomlar, protein sentezi sırasında ER'a bağlı kalırlar fakat protein tamamlan- dıkça sırası ile

karşıtları olan subünitelere ayrışır ve serbestleşirler (7,25).

Sinyal parçasının silinmesi özel bir peptidaz ile olmaktadır (24). Proteinler, hücre içi organellerde "selektif olarak" retansiyon sinyalleri ile kalabilmektedir. Öte yandan ER'dan GA'a, hücre yüzeyine geçiş, sinyal presekans olmadan da gerçekleşebilmektedir. Sinyalsiz yollardaki transport, klatrinsiz, non-selektif transport vezikülleri yoluyla, sinyalle yönlendirilen transport ise klatrin kaplı veziküllerle olur (5,7).

Proteinlerin olgunlaşım aktifleşmesi için ER ve GA'da geçen değişimler yeterli değildir. Bunların Golgi'den sonra sitozol ve hatta sitozol dışında ufak tefek değişimler geçirmeleri gerekir. Sitozolde bulunan bazı polipeptidlerin aktifleşebilmeleri için fosfor bağlarının koparılması veya fosfor bağlarının eklenmesi gerekir. Fosforilizasyon ve defosforilizasyon (reversible phosphorylation) yoluyla geniş çeşitlilikte hücrenel proteinlerin aktivasyonu kontrol altında tutulur.

Hücrelerin transformasyonları sırasındaki bazı modifikasyonları katalizleyen enzimler, proteinlerin terminal uçlarındaki sinyal peptidleri tanırlar. Bir proteinin bir yağ asidini alıp almayacağını etkileyen faktörlerden biri de sinyal peptidin enzim tarafından tanınmasıdır. Pek çok onkogen ürün, yağ asidi yoluyla membranlara bağlandıktan sonra transformasyon başlar. Kinaz enzi-

minin substratlarını en bol miktarda bulabilmesi için membrana bağlı olması gerekir. Ancak bundan sonra kinaz enzimi hücrenin transformasyonunu indükleyebilir (5,26).

Sentezlenen proteinler kısa ömürlüdür. Hızla amino asitlere kadar yıkılırlar, yeniden protein sentezi ile ilgili ihtiyaçları karşılarlar. Proteinlerin yıkılması enzimlerle düzenlenir. Yıkım için programlanmış olan proteinler, degradasyondan sorumlu proteolitik sistem tarafından tanınan sinyaller taşırlar. Böylece organizmada anormal protein birikimi önlenir.

#### **Bakteri ve Virüslerde Sinyal Peptid Benzeri Hedefleyici Dizeler**

Prokaryotik hücrelerde sitoplazmik organellerin olmamasına rağmen onların da proteinlerini hücre yüzeyinde taşımaları söz konusudur. Gram (+) bakterilerinin sekresyon proteinleri ekstrasellüler ortama gitmeleri için sinyal sekanslar kullanırlar. Gram (-) bakterilerin, N-terminalden kesilebilen sinyal peptidleri olan proteinleri dış membranlara, periplazmik aralığa, nadiren iç membranlara taşıdıkları E.coli hücrelerinde gösterilmiştir. Membran geçildikten sonra E.coli'nin transport proteinleri sinyal peptidazlarca kesilirler.

ER sinyal peptidleri ile bakteri eksport proteinlerinin sinyal dizeleri birbirine benzemektedir. Bakteri eksport proteinlerinde sinyal sekanslar daha az sayıda amino

asit taşırlar. Bunlar 1-5 rezidülük pozitif yüklü aminoterminal domain, 7-15 rezidülük santral hidrofobik segment ve 5-6 rezidülük karboksi terminal bölge içerirler.

Hepatit virüs proteinleri üzerinde hedefleyici dizeleri inceleyecek olursak; Hepatit B virüs genlerinden preC+C geni 1814-2450 nükleotid yerleşimli olup HBcAg ve HBeAg proteinlerini kodlarlar. Okuma işlemi pre-C başlangıç kodonundan başlarsa sonunda protein HBeAg olarak salınacaktır. Pre-C'den başlayan okuma sonunda p25 yapılıdır. Bu protein kendini endoplazmik retikulumla yönlendirecek olan sinyal peptid dizisine sahiptir. Sinyal sekansı hepatosit endoplazmik retikulumunda hücresel bir sinyal peptidaz aracılığı ile polipeptidten ayırır. İkinci başlangıç kodonundan (nükleotid 1901) C geninin translasyonu başladığında ise önce p23 sentez edilmiş olur. p23 sitoplazmada kalacak ve sonunda HBcAg proteini olarak karşımıza çıkacaktır (27,28). HDaG'ini inceleyecek olursak; karşımıza üç işlevsel bölge çıkar. Bunlardan ikinci bölge sinyal sekanstır ve HDaG'ini nükleusa yönlendirir. Uzun HDaG'inin C terminusunda kısa HDaG'inin den farklı olarak ilave bir yirmi aminoasitlik sekansı vardır ki bu virusun paketleme sinyali oluşturulması işlevini yapar (19,26).

HCV genomu üç strüktürel, altı tane de nonstrüktürel proteinden oluşmuştur.



Strüktürel proteinler N-terminal (5') bölgeden itibaren HCV poliprotein prekür sörlerinden türerler. Daha sonra konağa ait sinyal peptidaz aracılığı ile ayrıştırılırlar (19).

### Sinyal Peptidazlar

Tüm sinyal peptidler özgün sinyal peptidazlarca kesilirler. Bilinen bazı sinyal peptidazlar tablo II'de gösterilmektedir. Sinyal peptidazlar da sinyal peptidler kadar önemlidir. Çünkü yanlış sonlandırılmış proteinler fonksiyonel değildir. HIV-1 gp 120 proteininin sinyal sekansının alışılmışın dışında ayrıştırılmasının sonuçlarını araştırmacılar göstermiştir. Bu proteinin kalneksin ile ilişkisi, katlanması, hücre içi transportu

uygun olmayan sinyal peptidazın işe karışması ile bozulduğu gözlenmiştir (29).

Mitokondria matriksine ve kloroplast stromasına lokalize sinyal peptidazlar dışındakilerin hepsi yeni bir proteaz ailesine dahil gibi gözükmetedirler. Söz konusu proteaz ailesinin alışılmadık substrat spesifitesi, katalitik mekanizması gibi kendine has özellikleri vardır (24,30,31).

Lider peptidaz olarak tanımlanan lepB geni ile kodlanan, *sinyal peptidaz I*, lipoproteinler dışındaki proteinlerin dış membran, periplazmik aralık ve iç membrana yönlendirmelerini urdurur. Bunun monomer halde aktivitesi bulunur. *Sinyal peptidaz II* ise lipoproteinlerin sinyal peptidazıdır (Tablo II).

Tablo II: Bilinen Bazı Sinyal Peptidazlar

Membran Sistemi	Organizma	Tanım	Gen
Plasma membranı	E. coli	Sinyal peptidaz I (lider peptidaz)	Lep B
		Sinyal peptidaz II	Isp
ER	Tavuk	Sinyal peptidaz	Bilinmiyor
	Köpek	Sinyal peptidaz	Spc 18 Spc 21
	Maya	Sinyal peptidaz	Sec 21
Mitokondrial	Maya	$\alpha$ MPP	MAS 2
		$\beta$ MPP	MAS 1
		$\alpha$ MPP	MPP
		$\beta$ MPP	PEP
		$\alpha$ MPP	P55
		$\beta$ MPP	P52
Kloroplast	Bezelye	SPP	Bilinmiyor
	Bezelye	TPP	Bilinmiyor

Bakterilerin aksine ökaryotların ER sinyal peptidazları multimerik proteinlerdir. ER sinyal peptidazları olan 4 klasik proteaz grubu (serin, sistin, aspartik asid proteazları, metalloproteinazlar) inhibitörleri ile E.coli'nin sinyal sekansları inaktive olmazlar (24,32,33,34). Belirli aminoasitler farklı sinyal peptidazlarda kritik katalitik noktaları oluştururlar. Örneğin, serin 90 E. Coli sinyal paptidaz I'inde katalitik rezidü iken lizin 145 mitokondrial sinyal peptidazlarda kritik rezidüdür. Aynı proteaz ailelerinde katalitik rezidüler benzerdir. Üç ayrı mitokondrial sinyal peptidaz (MPP, MIP, Imp) purifiye edilmiştir. Henüz daha kodlayan genleri bilinmeyen iki ayrı kloroplast sinyal peptidazı da tanımlanmıştır (Tablo II). Farmakologlar çalışmalarında sinyal peptidaz I ile ilaç hedefi olarak ilgilenmişlerdir. Bu enzimin bakterinin yaşaması için temel gereksinimi olduğu belirlenmiş ve bu enzimi inhibe eden bir antibiotik geliştirmişlerdir.

1994'de Smith Kline Beecham Firması, 5S izomerlik penem esteri olarak E. coli sinyal peptidaz I'i inhibe eden sentetik bir terapötik madde elde etmişlerdir (24).

Sinyal peptidazlar üzerine çalışmaların ilerlemesi ile yeni proteaz ailelerinin ortaya çıkarılacağını ve katalitik mekanizmaların daha iyi anlaşılacağını bekleyebiliriz (35,36,37).

#### Sonuç

Sinyal hipotezi üzerindeki araştırmalar uzayan polipeptid zincirinin, amino terminal sinyal sekans ile ER membranı geçtiğini ve sonra bu sinyal sekansın mikrozomal proteazlarla kesildiğini göstermiştir. Sinyal hipotezi, proteinlerin hedefleri olan organellere yönelmeleri konusunda sadece bir basamak oluşturmaktadır. Bu konunun hücre biyolojisinin bütün alanlarında yapılan sayısız çalışmalar ile giderek çığ gibi büyüdüğü gözlenmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Alberts B, Bray D; *Molecular biology of the Cell*, Garland Publishing, Inc. New York and London; 409-420; 1991.
2. Simon SM and Blobel A; A protein conducting channel in the endoplasmik reticulum. *Cell* 65: 371-380; 1991.
3. Palade G; Intracellular aspect of the process of protein synthesis, *Science* 189: 347-358; 1975.
4. Elliot WH, Elliot DC; *Biochemistry and Molecular Biology*. Protein Synthesis, 306-310; 1996.
5. Güner G; Protein targeting, *Membran proteinleri*: 42-65; 1995.
6. Murray RK, Mayes, Peter A, Granner, Daryl K; Membranların yapı kuruluş ve Fonksiyonları, *Harper'in Biokimyası*, V. Bölüm, 43. Konu; 546-569; 1993.
7. Cooper G; *The Cell*, Protein sorting and Transport, 347-387; 1994.
8. Koolman J, Rohm KH; *Color Atlas of Biochemistry*, 210-217; Thieme Stuttgart-

- New York; 1996.
9. Brown JD; Signal sequences specify the targeting route to the endoplasmic reticulum membrane, *J Cell Biol.* 134:2 :269-278; 1996
  10. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM; *Principles of Biochemistry*, Worth Publishers, 761-771; 1993.
  11. Başaran A; *Tıbbi Biyoloji*, Protein Sentezi; 124-30; 1996.
  12. Abbas A, Lichman, A.; *Cellular and Molecular Immunology*, Signal peptides in Immunglobulins; 2-73; 1994.
  13. Darnell J, Lodish H; Baltimore, David; *Molecular Cell Biology*; 394-397, 422-426, 651-654, 710-758, 786, 802-803, 984; 1994.
  14. Wastfelt M, Stalhammar CM, Delisse AM; Identification of a family of a streptococcal surface proteins with extremely repetitive structure, *J. Biol Chem.*, 2:31, 18892-7; 1996.
  15. Deresiewicz RL, Flaxenburg J; Sequence of the toxic shock syndrome gene (tstH) borne by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with Kawasaki syndrome. *Infect-Immun.* 64:8, 3394-6; 1996.
  16. Persechini A, Gansz KJ; A role in enzyme activation for the N terminal leader sequence in calmodulin, *J Biol Chem*, 271:32, 19274-82; 1996. Rothman JE.; Mechanisms of intracellular protein transport, *Nature* 355; 409-415; 1994.
  17. Ryu W-S, Bayer M, Taylor J; Assembly of Hepatitis Delta Virus Particles, *J Virol*, 66:336; 1993.
  18. Cole SM, Gowans EJ; Direct evidence for cytotoxicity associated with expression of hepatitis delta virus antigen, *Hepatology*, 13:845; 1991.
  19. Wong EC, Woodford TA, Thomas ML; Transmembrane protein tyrosine phosphates, *Biomembranes*; 1995.
  20. Whiteheart SW and Kubalek EW; General members of the fusion apparatus, *Trends Cell Biol.* 5: 64-68; 1995.
  21. Lewin B; *Genes V*, Oxford University Press, 519-550; 1993.
  22. Adip CM, Gilbert M; Bacterial secretion of the Fab fragment of a mouse monoclonal IgM reacts with IgG variable regions, *Protein*, 8:9, 859-863; 1995.
  23. Dalbey RE, G. Von Heijne; Signal peptidases in procaryotes and eukaryotes- a new protease family, *Trends Biochem Sci.* 17:474-478; 1992.
  24. Schatz G, Dobberstein B; *Science*, Common Principles of protein translocation across membranes, 271, 1519-25; 1996.
  25. Fields BN, Knipe DM; *Fundamental Virology*, Viral Membranes, 63-83; 1991.
  26. Gerlich WH, Bruss V; Functions of Hepatitis B virus proteins and molecular targets of protective immunity, *Hepatitis B vaccines in Clinical Practice*, 41-82; 1993.
  27. Magnius I.O, Norder H; Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the Hepatitis B virus as reflected by sequenced variability of the S gene. *Intervirology*; 38:24; 1995.
  28. Francetic U, Kumamoto LA; *Escherichia coli* secB stimulates export without maintaining export competence of ribose binding protein signal sequence mutants, *J. Bacteriol*; 1/8 (20): 5954-9; 1996.
  29. Bergeron JJ; Effects of inefficient cleavage of the signal sequence of HIV-1 gp 120 on its association with calnexin, folding, and intracellular transport, *Proc-Nat-Acad-Sci* 93:18 9606-9611; 1996.
  30. Gorlich D, Mattaz, IW; Nucleocytoplasmic transport, *Science*, 271, 1513-18; 1996.
  31. Groettrup M, Soza A, Peptide antigen production by the proteasome: complexity provides

- efficiency, *Immunology Today*, Vol.17, No.9, 429-435;1996.
33. Gal S, Raikel NV ; Protein sorting in the endomembrane system of plant cells, *Curr Opin Cell Biol*, 5:4, 636-640;1993.
34. Dalbey RE, G-von Heijne; Signal peptidases in procaryotes and eucaryotes - a new prooteease family, *Trends Biochem Sci*, 17:474-478;1992.
35. Lively MO, Newsome AL; Eucaryote microsomal signal peptidase, *Methods Enzymol*;1994.
36. Van der Wal, Luirink J; Bacteriocin release proteins; mode of action, structure and biotechnological application, *FEMS-Microbiol-Rev*, 1:4, 381-399;1995.
37. Vízcaïno N, Cloeckaert A; Cloning, nucleotid sequence and expression of the *Brucella melitensis* omp31 gene coding for an immunogenic major outer membrane protein, *Infect-Immun*, 64:9, 3744-51;1996.