

Glikobiyoloji Güncel Moleküler Biyoloji

Sabire KARAÇALI

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 27.03.2002

Özet: Karbonhidrat kimyası, geçen yüzyılın sonunda karbonhidrat biyokimyasına ve giderek karbonhidrat biyolojisine veya glikobiyoloji'ye dönüşmüştür. Glikobiyoloji, yeni ve modern moleküler biyoloji araştırma alanıdır ve şekerlerin yapılarını, biosentezlerini ve biyolojik görevlerini araştırır. Monosakkaritlerin sayıları, bağlarının (α veya β) tipi, pozisyonları, bağlanma noktaları ve işlevsel grup farklılıkları mikroheterojeniteyi oluşturur. Böylece ince küçük yapısal farklarla çok sayıda glikoformlar meydana gelir. Her bir glikoform farklı bir biyolojik ligant olarak farklı görev yapar. Glikobiyolojide araştırmalar moleküler yapıların, glikozilasyon mekanizmalarının, biyolojik kontrol mekanizmalarının aydınlatılması, farklı hücre tiplerinin fenotipik özelliklerinin belirlenmesi ve ilişkili enzimlerin klonlanması üzerine yoğunlaşır. Glikobiyoloji temel araştırma, tıp bilimi ve modern biyoteknolojide artan öneme sahiptir.

Anahtar Sözcükler: Glikobiyoloji, kısa tarihçe, mikroheterojenite, yöntemler, gelecekteki önemi

Glycobiology Current Molecular Biology

Abstract: Carbohydrate chemistry evolved into carbohydrate biochemistry and gradually into the biology of carbohydrates, or glycobiology, at the end of the last century. Glycobiology is the new research area of modern molecular biology, and it investigates the structure, biosynthesis and biological functions of glycans. The numbers, linkage types (α or β), positions, binding points and functional group differences of monosaccharides create microheterogeneity. Thus, numerous glycoforms with precise structural differences occur. Each glycoform as a distinct biological ligand has a different function. Studies in glycobiology have concentrated on determining molecular structures and glycosylation mechanisms, investigating biological control mechanisms and the phenotypic characteristics of different cell types and on the cloning of related enzymes. Glycobiology is of increasing importance in fundamental research, medical science and modern biotechnology.

Key Words: Glycobiology, short history, microheterogeneity, methods, importance in the future

Giriş

Biyolojik olayları moleküller arası ilişkilerle açıklama çabalarından Moleküler Biyoloji bilim dalı gelişmiştir. Yeni buluşlar biyolojik olaylar hakkındaki bilgilerin yeniden gözden geçirilmesini gerektirmiştir. Hücre ve moleküllerin yapılarının organizasyonu ile işlevleri arasında bir ilişkinin bulunması gereği gittikçe daha açık şekilde ortaya konmuştur. Nitekim, nükleik asitler ve proteinlerin yapıları, biosentezleri ve görevleriyle ilgili olarak bakterilerden insana kadar bütün yaşam şekilleri için ortak olan mekanizmalar tanımlanmıştır. Bilim adamları karbonhidratların gerçekleştirdiği moleküler olayları ise yakın zamanda anlamaya başlamışlardır. Bu nedenle, karbonhidratların molekül, hücre, doku ve organizma düzeyinde; 1-Biyolojik çeşitlilikten sorumlu olduklarının, 2-Bilgi geçişiyle haber iletiminin herhangi bir

basamağında iş gördüklerinin, 3-Özel tanıma olaylarını idare ettiklerinin ve 4-Biyolojik olayların değişmesini sağladıklarının, kısaca temel biyolojik görevlerinin keşfedilmesi yeni gelişmelerdir.

Glikobiyoloji Nedir?

Biyolojik çeşitlilik ve bilgi iletiminde proteinler ve nükleik asitlerin oynadığı rol uzun zamandır bilinmektedir. Karbonhidratlara ise uzun süre sadece enerji sağlayan, yüksek molekül ağırlıklı destek veya koruyucu yapıları oluşturan ve besin depolayan, fakat hücrenin "ikinci sınıf vatandaşları" (1) olarak bakılmıştır. İyi saflaştırılmış proteinlerde bile bulunan az miktardaki şeker örneklerinin de teknik sınırlandırmalara dayandırılarak uzun süre, kalıntı oldukları düşünülmüştür. Bilim adamları proteinlerin ve nükleik asitlerin biyolojik

rollerine gösterdikleri ilginin aksine karbohidratların biyolojik rollerine uzun süre ilgisiz kalmışlardır. Bu nedenle moleküler biyolojinin gelişmesi sırasında şeker zincirleriyle (glikanlarla) ilgili yapılan çalışmalar, diğer yaşam moleküllerinin (proteinler ve nükleik asitlerin) gerisinde kalmıştır. Ancak ondokuzuncu yüzyılın ortasından başlayarak, yirminci yüzyılın başlarında Karbohidrat Kimyası, Karbohidrat Biyokimyası ve Karbohidrat Biyolojisi yani Glikobiyoloji çok belirgin ilgi odağı olmuştur. 1960'lı yıllar Karbohidrat Biyolojisi araştırmalarında bir dönüm noktası olmuş ve şekerlerin gerçekten diğer moleküllere bağlı yapısal kısımlar olduğu ortaya çıkmıştır. Diğer moleküllere bağlı şekerlerin oluşturduğu hibrit moleküller glikokonjugatlar olarak isimlendirilmiştir (2-4).

Glikokonjugatları oluşturan glikoproteinler, proteoglikanlar ve glikolipitlerde oligosakkarid yan zincirleri sırası ile polipeptit ve lipitlere kovalent bağlarla bağlanırlar. Glikozilfosfatidil içeren glikokonjugatlar, zar çıparlarında ise hücre zarının yapısında bir yandan bir proteini bir yandan da bir lipidi bağlayarak moleküler bir köprü gibi görev yaparlar.

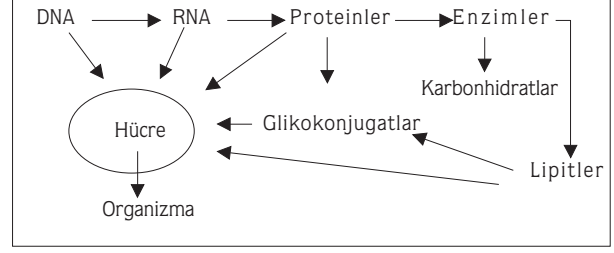
Glikobiyoloji, doğada yaygın şekilde bulunan şeker zincirlerinin yapılarını, biosentezlerini ve biyolojik görevlerini çalışın yeni araştırma alanının adıdır. Bu, karbohidrat kimyası ile glikan sentezi veya parçalanmasından sorumlu proteinlerin enzimolojisinden, şekerlerin görevlerine ve çeşitli tekniklerle çeşitli düzeylerde yapılan yönlendirme çalışmalarına kadar geniş bir alana yayılır. Bu alan; organik kimya, moleküler hücre biyolojisi ve fizyolojisi, moleküler genetik gibi disiplinlerin desteğiyle giderek gelişmektedir (5,6).

Moleküler biyolojide bilgi akış yönünün uzun zamandır DNA → RNA → Protein → Hücre şeklinde olduğu bilinir. Yeni bilgilerle bu akışın, şekerlerin rolleri de göz önüne alınarak aşağıdaki gibi değiştirilmesi önerilmektedir (Şekil 1) (6). Bilgilerimizin bu şekilde değişmesi yakın zamanda ortaya çıkan bir gelişmedir.

Glikobiyolojinin Tarihçesi

Glikobiyolojinin tarihçesinde kilometre taşı olan aşağıdaki çalışmalar, çeşitli kaynaklardan (7-9) derlenerek sıralanmıştır.

Ayrı bir biyolojik bileşik olarak ilk belirlenen glikoproteinler, musinlerdir (1835, Saussure). Ondokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında musinlerin bir çoğu



Şekil 1. Hücreye bilgi akış yolları (Varki ve ark., 1999'dan alınmıştır).

saf olarak ayrılmıştır. Eichwald 1865'de, musinlerin bir proteinin bütün özelliklerini ve belli şartlar altında bir şekerin özelliklerini taşıyan kısımlardan oluşan bileşikler olduğunu bildirmiştir. Musinlerin kırilangıç gibi yuva yapan bir kuşun tükürüğünde bulunduğu ve yuva harcı olarak rol oynadığı 1881'de Hoppe-Seyler tarafından bildirilmiştir. Hammarsten (1885, 1888) daha ileri net bir açıklamayla şekerlerin musin glikoproteinlerinin yapısal kısımları olduğunu göstermiştir. 1889'da ilk kondroitin sülfat izolasyonu Mörner tarafından yapılmıştır. Glikobiyolojinin gelişmesinde en önemli belirlemelerden biri sialik asidin saptanması ve tanımlanmasıdır. Bu, 1936'da submaksillar musininden (Blix tarafından) ve 1935-1939 yıllarında da sinir dokusu glikolipitlerinden (Klenk tarafından) sırasıyla sialik asit ve nöraminik asit adıyla elde edilmiştir. Glikoproteinleri anlamamıza doğru ilk önemli adım 1938'de Neuberger tarafından atılmıştır ve şekerlerin musinlerin dışındaki diğer proteinlerde de bağlı bulunduğu bildirilmiştir. Protein glikozilasyonunun biyolojide öneminin anlaşılması ve glikokonjugatlardaki protein ve lipitlere bağlı şeker yan zincirlerinin fizyolojik ve tıbbi anlamları, 1941 yıllarında belirlemeye başlamıştır. 1942 yılında *Influenza* virüsünün eritrosit aglutinasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Hirst tarafından). Bu, glikokonjugatların biyolojisine ilgiyi uyaran ilk gözlem olmuştur. Burnet ve grubu da (1947) benzer şekilde etki yapan *Vibrio cholerae*'nin kültüründe reseptör bozan enzim (reseptör destroying enzyme, RDE) olarak isimlendirilen bir enzimin varlığını bildirmişlerdir. Reseptör bozan enzim ile musinlerin aktivitesinin bozulması sırasında daima N-asetilnöraminik asit açığa çıktığından Gotschalk, daha sonra bu enzimi nöraminidaz olarak isimlendirmiştir (1949).

1954'de N-asetilnöraminik asidin izolasyonu başarılıdır (Klenk ve Faillard). Aynı yıl, seçici şekilde karbohidrat bağlayan proteinlerin (Lektinlerin) tanımı yapılmıştır (Boyd ve Shapleing). Ellili yılların sonunda

karbonhidrat zincirlerinin proteinlere kovalent bağlanması açıkça ortaya konmuştur (Muir, 1958). 1960'ların başlarında O-bağlı (Lindahl ve Rodén) ve N-bağlı (Neuberger ve Marshall) karbonhidrat bağları tanımlanmıştır. Bütün bu biriken bilgilerden sonra, birdenbire karbonhidratların her yerde bulunduğu görülmeye başlanmıştır. Lewis^a (Le^a) ve Lewis^b (Le^b) kan grubu belirleyicileri, kan hücrelerinin karbonhidrat yapılarına dayandırılmıştır (Kabat ve Morgan, 1968).

Bu tarihe kadar yapılan net buluşlara karşın, dönemin araştırmacılarının çoğu dikkatlerini yeni gelişmekte olan moleküler biyolojiye ve nükleik asitlere doğru çevirdiklerinden, karbonhidrat biyolojisine yeterli ilgi gösterilmemiştir. 1968'de Ashwell ve Morell, dönüm noktası anlamına gelen bir buluş yaparak karbonhidrat biyolojisine ilgiyi canlandırmışlardır. Araştırmacılar ⁶⁴Cu işaretli seruloplazmin kullanarak şeker zincirlerinde son uçta bulunan sialik asidi enzimatik olarak uzaklaştırmışlar ve bu sialik asit taşımayan formu laboratuvar tavşanlarına enjekte ettiklerinde, bu maddenin kanda dolaşım ömrünün kıaldığını ve işaretli seruloplazmin moleküllerinin ise karaciğerde biriktiğini ortaya koymuşlardır. Açıklamaya göre, sialik asidin altında yer alan galaktozu tanıyan karaciğer reseptörleri (asialoreseptörler) sialik asitsiz seruloplazmini kandan uzaklaştırmışlardır.

Serum glikoproteinlerindeki şeker zincirlerinin, molekülleri ve hücreleri kan dolaşımından uzaklaştırma zamanını belirleyen sinyallerden sorumlu olduğunun keşfi, araştırmacılar arasında büyük yankı uyandırmıştır. Artık daha önce düşünüldüğü gibi şekerlerin anlamsız ve kaba maddeler olmadıkları ortaya çıkmıştır. Şekerlerin anlaşılması güç fakat çok ince bir seçicilikle bilgi taşıyıcıları olarak iş gördüklerinin ayırt edilmesi, son yıllarda araştırmacıların dikkatlerini büyük ölçüde çekmektedir. 1960'ların sonuna doğru, normal hücrelerden farklı olarak, kanser hücrelerinin yüzeyinde glikokonjugat şeker zincirlerinin bulunduğunu işaret eden yayınlar görülmeye başlamıştır. Protein glikozilasyonunu kanserle ilişkilendiren en önemli gözlemlerden biri 1969'da ilk defa Robbins ve grubu tarafından yapılmıştır. Radyoaktif işaretlenmiş monosakkaritlerin varlığında kültürü yapılan kanser hücrelerinde normal hücrelerde bulunanlara göre çok daha büyük molekülü şeker zincirlerinin bulunduğu işaret edilmiştir. Farklı transformasyon yöntemleri ve çeşitli hücre tiplerini kullanan Warren ve Glick'in başarılı çalışmalarından (1970,1971,1972) sonra bu fenomen Warren-Glick

Fenomeni olarak anılmaya başlanmıştır. Fenomen basitçe kanser durumunda hücre yüzeyinde dallanmış oligosakkaritlerin sayısının çokluğunu ve oligosakkarit zincirlerinin dallanmasından sorumlu özel bir glikoziltransferaz enziminin (N-asetilglukozaminiltransferaz V) hiperaktivitesini ifade eder. Elde edilen bu bilgiler, glikoprotein biyosentezini düzenleyen anahtar enzimler olan glikoziltransferazlarla ilgili çalışmaları uyarmıştır. Bu enzimlerin, hücrelerin yüzey şeker profilinin kontrolünde kopya çıkışının düzenlenmesi ve kanser durumu için anlamları yakın zamanda keşfedilmeye başlanmıştır. 1970'lerin sonunda glikoziltransferaz enzimlerinin izolasyonuna başlanmıştır. İlk izolasyon kolon kromatografi yöntemiyle (Schwaezer ve Hill 1977; Hill 1978) gerçekleştirilmiştir. 1981'de Nunez ve Barker'in sentetik amaçlar için ilk glikoziltransferaz uygulamasını yapmaları kimyacılar ve biyologların bu enzimleri pratik olarak kullanabilmelerinin yolunu açmıştır. Daha sonra 1986'da üç grup -Shaper, Qasba ve Fukuda- tarafından β 1,4-galaktoziltransferaz cDNA'lar klonlanmıştır. Geçen süreç içinde, farklı türlerde bir çok glikoziltransferaz genleri ve cDNA'ları elde edilmiştir. Glikoziltransferaz genlerinin klonlanması sürüp giden glikobiyojoloji çalışmaları içinde temel önemde bir gelişmedir.

Glikobiyojide çeşitli özel alanlar için anahtar rolü oynayan birbirinden ayrı önemli buluşlar yapılmaktadır. Bunlardan birisi, glikoproteinlerin dağılışı ile ilgilidir. 1980'lerin ortalarına kadar glikokonjugatların yoğun şekilde hücrelerin dış yüzünde, hücre içi organellerin iç yüzünde ve salgı moleküllerinde bulunduğu kabul edilmişti. Bugün glikokonjugatlar, sadece hücre yüzeyinde değil artık hücrenin sitoplazması ve nukleusunda da gösterilmektedir (Hart ve grubu, 1984). Hücrenin bu bölgelerindeki glikozilasyonun, sitoskelet organizasyonunun devamlılığı ve kopya çıkışının düzenlenmesi gibi olaylarda rolleri vardır. Bir diğer önemli buluş, N-bağlı oligosakkaritlerin özellikle hormonal sinyallerin geçişini kontrol etmede oynadıkları rollerde yapılmıştır. 1985'de Calvo ve Ryan, insan korionik gonadotropin hormonunun N-glikozilasyonundaki değişikliğin hormonun davranışını etkilediğini ve agonistten antagoniste değiştirdiğini bildirmişlerdir. Son olarak glikojen molekülü 1855'de Bernard tarafından glukozun depo şekli olarak tanımlanmıştı. Glikojenin kovalent bağlı proteinler içerdiği, aslında bir glikoprotein olduğu yakın zamanda ortaya konmuştur. Bu bilginin elde edilmesi için 100 yılı aşan bir sürenin geçmesi gerekmektedir.

1980'lerin sonunda bilimsel dile bu yeni terminoloji girişi yapılmıştır. Glikobiyoloji konusunda çalışanlar kendiliğinden glikobiyolog olarak tanınmaya başlanmıştır.

Şekerlerin Görevi ve Mikroçeşitliliğin Önemi

Bir biyolojik sistemde şekerlerin biyosentezi ve yapıları ile görevleri arasında ilişkiler olmalıdır. Şekerlerin biyolojik rolleri çok değişkendir. Bu rol, gelişme, büyüme, farklılaşma olaylarında, önemsiz olandan çok önemli olana kadar geniş bir spektruma yayılır.

Şekerlerin en önemli görevleri moleküller ve hücreler arası tanıma olaylarında görülür (3,10-16). Moleküller arası tanıma olaylarının örnekleri, hücre içi trafikte lizozomal enzimlerin veya salgı proteinlerinin yönlendirilmesinde bulunur. Hücreler arası tanıma olaylarının çeşitli örnekleri; embriyonik, otoimmün-alloimmün ilişkiler ve metastazlarda olduğu gibi hücre-hücre tanınmasında, hücre matriks-tanınmasında, virüs, bakteri ve protozoa gibi zararlıların enfeksiyon ilişkilerinde, hücreler arası trafikte, enfeksiyon bölgelerine kan hücrelerinin göçünde bilinmektedir. Şekerlerin iyi bilinen bir diğer görevi, tanımayı engelleme veya maskeleyerek tanımlanmaktadır. Tanıma olaylarından sorumlu şeker reseptörleri bir diğer şekerle kapatılarak tanıma ilişkilerinin kurulması engellenir. Hücre yüzeylerinde özel tabaka oluşturma, koruyucu ve sağlama görevlerine ek olarak bazı metabolitlerin belli yerlerde depolanmasında da rol oynarlar. Hücre büyümesini, kopya çıkışının düzenlenmesini ve sitoskelet organizasyonunu, açma-kapama ve ayarlama şeklindeki işlevleri ile kontrol ederler. Hormonlar veya bilgi taşıyan diğer moleküllerin tanınması yoluyla sinyal iletimini gerçekleştirerek biyolojik olayların değişimini düzenlerler. Hücreler arası sosyal ilişkilerde moleküler hakemler gibi çalışırlar. Tüm bu görevler az sayıdaki (glukoz, galaktoz, mannoz, fukoz, N-asetilglukozamin, N-asetilgalaktozamin, glukuronik asit, iduronik asit ve ksiloz gibi) monomerik birimlerle gerçekleştirilir (6,17).

Doğadaki biyolojik farklılık ve şekerlerin gerçekleştirdiği özel biyolojik görevler monomerik birimlerin; 1-Sıralanma özellikleri, 2-Modifikasyonları ve 3-Glikozilasyon hızlarıyla ortaya çıkan mikroçeşitlilik ile açıklanmaktadır. Monomerik birimlerin sıralanma özellikleri; sayıları, dizileri, α - veya β - bağları, bağlanma pozisyonları ve dallanma özellikleriyle belirlenir. Monomerik birimlerin modifikasyonları; hidrosil gruplarının fosforilasyonu, sulfasyonu, metilasyonu, O-asetilasyonu ve yağ asidi bağlanmasıyla, amino gruplarının

N-asetillenmesi ve N-sulfatlanmasıyla ve karboksil gruplarının da laktonize olmasıyla ortaya çıkar. Glikozilasyon hızı, Golgi sahasında yer alan sırayla meydana gelen yarışmalı reaksiyonların hızıyla ilgilidir. Bir glikozilasyon yerinden-diğerine, bir proteinden-diğerine, bir hücreden - diğerine değişir. Yeni çalışmalarda mikroçeşitliliğin görevsel anlamları açıklanmaya çalışılmaktadır.

Glikoproteinlerin gösterdiği mikroçeşitliliği açıklamak için glikoform ve glikotip terimleri kullanılır (18). Glikoformlar, aynı dokudan elde edilmiş, aynı glikoproteine ait farklı oligosakkarit yan zincirlerini taşıyan farklı moleküllerdir. Her bir glikoform farklı fiziksel veya biyokimyasal özelliklere sahip oldukları için görevsel olarak da farklıdır. Böylece glikozilasyon profili değiştirilerek mikroçeşitlilik yoluyla hücreler, ilişkili genin ifadesini değiştirerek, bir glikoproteinin görevini kontrol edebilmektedirler. Glikotip terimi ise özel bir hücre tipinin bir tek glikozilasyon kapasitesini işaret eder. Bu, aynı organizmada farklı dokular arasında, erkek-dişi arasında ve türler arasında glikozilasyondaki değişikliği yansıtır. En iyi bilinen örnek; glikoprotein γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT)'in şeker zincirlerinde, karaciğerden mi yoksa böbrekten mi elde edildiğine bağlı olarak görülen farklılıktır. Böbrek örneklerinde γ -glutamyltranspeptidase yapısında- iki dallı oligosakkaritler bulunurken, karaciğer dokusu örneklerinde dallanmamış oligosakkaritler bulunur. Böylece farklı hücreler aynı proteinin glikozilasyonu için farklı yeteneklere sahip olmaktadır (8). Kısaca mikroçeşitlilik, bir farklılaştırma mekanizması gibi çalışır ve şekerlerin yapısında oluşan ince farklar biyolojik ligantlar olarak iş görür (6,19).

Glikobiyoloji Çalışmalarında Yöntemler

Glikobiyoloji alanında çalışmalar 1-Moleküler yapı belirlenmesi, 2-Glikozilasyon mekanizmasının kontrolü, 3-Miktar ve Fenotipik belirlemeler ve 4-Gen klonlanması konularına odaklanmıştır (5,6).

Glikokonjugatların moleküler yapıları çok hassas çeşitli kromatografik ve spektroskopik yöntemlerle belirlenir (9, 20-24). Çok pahalı ve özel aletler gerekir. Glikokonjugatların saflaştırılmaları sırasında çeşitli tipte kayıplar olur. Biyolojik olarak aktif bileşiklerin çoğunun iz miktarlarda bulunmaları, bu yöntemlerle çalışırken karşılaşılan en temel sorundur. Çünkü belirli bir kalıba göre sentezlenmediklerinden (25) miktarını artırmak için polimeraz zincir reaksiyonuna benzer bir yöntem yoktur.

Glikozilasyon mekanizmasını çalışmak için; enzimler (endoglikozidazlar ve ekzoglikozidazlar), lektinler, kimyasal modifikasyonlar veya kesmeler, metabolik radyoaktif işaretlemeler, glikozilasyon engelleyicileri, antikorlar, glikoziltransferazların moleküler klonlanması ve yaşayan hücrelerde glikozilasyon enzimleri yoluyla genetik değiştirmeler gibi yöntemler kullanılır. Son yıllarda kimyasal ve enzimatik yöntemler kullanarak şekerlerin yönlendirilmiş *in vitro* sentezi, glikozilasyon mekanizmasını açıklamak için önemli katkılar sağlamıştır. Ek olarak, kültürü yapılan hücrelerde genetik hasarlandırılmış mutant hücrelerle ve hücre matriks ilişkilerinde tanıma olayları çalışılmaktadır.

Miktar ve fenotipik belirlemeler için lektinlerin, şekerleri özel seçicilikle tanıyıp-bağlanması özelliğinden faydalanılır. Lektinler, monomerik birimleri, glikoprotein izolasyonunu ve miktar tayinlerini, kültür hücrelerinin fenotiplerini, özel bir hücre tipinin farklı görevsel ve metabolik safhalarını ve farklı hücre popülasyonunun fenotipik özelliklerini belirlemek için kullanılmaktadır (6,26,27).

Glikobiyojoloji alanında gen klonlanması çalışmaları, glikozilasyondan sorumlu enzimlerin (glikoziltransferaz ve glikozidaz) genlerinin klonlanmasıyla ilgilidir. Klonlama çalışmaları hem mutant enzimler oluşturarak glikozilasyon mekanizmasının anlaşılması ve hem de kimyasal sentez yoluyla yeni glikoprotein ilaçlarının geliştirilmesini amaçlayan biyoteknoloji için önemlidir.

Glikobiyojoloji çalışmalarında elektron mikroskobu (EM) birkaç noktada önemli katkılar sağlamaktadır. Farklı lektinlerin karbohidrat bağlama seçiciliğinden yararlanılarak, lektinlerle işaretleme ve enzim sindirimi ile izleme yöntemleri (22,28-30) yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bazı lektinlerin seçiciliği zayıfken, diğer bazıları bir tek şeker, onun bağını da seçecek kadar seçici davranmaktadırlar. Bu hassas seçiciliğinden yararlanarak, lektinler EM çalışmalarında oligosakkaritlerde monosakkarit bileşimi, sıra analizi ve bağlanma özelliği belirlemeleri için kullanılmaktadır. Kolloidal altın uygulamalarının (31) sağladığı görüntüleme kolaylığından faydalanmak için altın partikülleri bağlanmış lektinlerin kullanımı EM çalışmalarında yaygındır. Bugün hücrelerin bilinmezlerle dolu bir kara kutu gibi duran glikozilasyon makinesinin nasıl çalıştığını anlamak, glikozilasyonda yapısal değişmelerin biyolojik, fizyopatolojik sonuçlarını incelemek için lektinler çok değerli araçlardır. Hücresel tanıma olaylarının incelenmesinde; hücre yüzeylerinin

yoğun şeker örtüsü değişikliklerinin ve şeker reseptörlerinin gösterilmesinde (32) lektin işaretlemeleri güvenilir bilgiler sağlar. Ayrıca lektinler glikozilasyon mekanizmasının gerçekleştiği Endoplazmik Retikulum → Golgi → Plazmalemma yolundaki işlevsel bölmeleri ve sorumlu enzimleri göstermek için kullanılmaktadır.

Temel Araştırma, Tıp ve Biyoteknolojide Glikobiyojoloji

Glikobiyojoloji, temel araştırma ile tıp ve teknoloji gibi uygulamalı alanlarla ilişkili olarak çok çabuk gelişen bilim dallarından biridir. Biyoteknoloji, farmasötik ve laboratuvar malzemeleri sağlayan şirketler bu alana büyük yatırımlar yapmaktadırlar. Son 20 yılda araştırmalar patlama şeklinde artmıştır. Bunun iki nedeni vardır. Birincisi; hücrelerin çevreleriyle her türlü ilişkilerinin kurulmasında hücre farklılaşması, gelişmesi, ölümü, fizyopatolojisi ve kanser durumunda şekerlerin görevlerinin gittikçe daha iyi belirlenmesidir. İkincisi; glikobiyojolojinin tıptaki öneminden kaynaklanmaktadır. İlaçların yakın gelecekte rekombinant proteinlerden oluşacağı giderek daha iyi anlaşıldığından, glikoproteinlerdeki şekerlerin rollerini (sağlamlaştırma, proteazlar ve antikorların tanınmasından koruma, biyolojik etki değişimi, açma-kapama-ayarlar, yarı ömrün belirlenmesi ve bilgi iletimi gibi) anlamak için büyük atılımlar yapılmaktadır.

Glikobiyojoloji alanında çalışmaların artış gösterdiği dönem, lektinlerin tanınmasıyla uyumludur. Yüksek omurgalılarda lektin-karbohidrat ilişkilerinin örnekleri hücrelerin tutunmasında, reseptörlerin aktifleşmesinde, hücre farklılaşmasında, doku morfogenezisinde, sinirsel mimarinin düzenlenmesinde, moleküler sinyallerin okunmasında, sialik asidi uzaklaştırılmış (asialo-) glikoproteinlerin ve hücrelerin reseptörle idare edilen endositozisinde, yumurta-sperm bağlanmasında, immün sistemde hücreler arası ilişkilerde, hücresel proliferasyonun kontrolünde, nötrofillerin enfeksiyon yerlerine yönlendirilmesinde ve miyelin şekillenmesinde görülmektedir (6,26).

Molekül ve hücrelerde glikozilasyon değişmeleri embriyogeneziste hücre tutunmasında, reseptör aktifleşmesinde, hücre farklılaşması ve doku morfogenezisinde görülmektedir. Kansere değişmiş hücrelerdeki belirlemelere ek olarak çeşitli hastalıklarda da (aterosklerozis, diabetes mellitus, romatoid artrit, kistik fibrozis, nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarla çeşitli enfeksiyon hastlıkları) glikozilasyon değişmeleri

bildirilmiştir (6,33). Omurgasızlarda çeşitli doku glikokonjugatlarında farklı gelişme safhalarında da uç şeker sialik asidin miktarı ve tipleri ile değişimleri belirlenmektedir (23,34,35).

Glikobiyoloji, modern biyoteknolojide de gittikçe artan öneme sahiptir. Çünkü biyolojik aktif doğal moleküllerin çoğu glikokonjugatlarıdır. Şekerler bağlı oldukları moleküllerin sentezi, parçalanması, kararlılığı ve aktifleşmesinde çok önemli etkilere sahiptir (5,20). Biyolojik olarak aktif moleküllerin ilişkilerini hassas bir seçicilikle kurmaları için, şeker ligantlarının reseptörlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Şeker-reseptör ilişkilerinin ayrıntılarının bilinmesi, biyoteknoloji ve tıp gibi uygulamalı alanlarda moleküler düzeyde yaklaşımlarla üretim, koruma, tanı ve tedavi amaçlı

yöntemlerin geliştirilmesini sağlar. Bu nedenle Glikobiyoloji ve Karbonhidrat Kimyasının Modern Biyoteknolojideki önemi gittikçe artmaktadır. Tıpta tedavi edici düzenlemelerin (patojenlere ve toksinlere karşı engelleyicilerin, kanser, iltihaplanma ve doku nakli uygulamalarında immün sistemi baskılayan ilaçların) yapılması ve organizmada hedef hücrelere veya dokulara seçici şekilde şaşırmadan bağlanan ilaçların sentezlerinin başarılması hedeflenmektedir.

Bugün glikobiyoloji, moleküler düzeydeki bilimsel araştırmaların en son, iyi belirlenmiş ve hızla gelişmekte olan dalıdır. Glikopatoloji, Glikoimmünoloji ve Glikoteknoloji alt bölümleri geniş bir yelpazeye yayılmaktadır. Birbiriyle ilişkili bu alanlar GLİKOBİLİMLER (GLYCOSCIENCES) adı altında toplanmaktadır.

Kaynaklar

1. Sharon, N., Lis, H.: Carbohydrates in cell recognition. *Sci. Am.*, 1993; 268: 82-89.
2. Reuter, G., Kelm, S., Schauer, R.: Chemistry and biology of cell surface glycoconjugates. *Acta Histochemica*, 1988; Suppl. Band 36: 51-79.
3. Allen, H.J., Kisailus, E.C.: Glycoconjugates: Composition, Structure and Function. New York: Marcel Dekker Inc., 1992; pp 685.
4. Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M.: Principles of Biochemistry. New York: Worth Publishers, 1993; pp 1013.
5. Fukuda, M., Hindsgaul, O.: Molecular Glycobiology. Oxford: IRL Press, 1994; pp 261.
6. Varki, A., Cummings, R., Esko J., Freeze, H., Hart, G., Marth, J.: Essentials of Glycobiology. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999; pp 653.
7. Faillard, H.: The early history of sialic acids, in Proceedings of the Japanese-German Symposium on Sialic acids (Eds. Schauer R., Yamakawa T.), 1988; 6-18.
8. Bill, R.M., Revers, L., Wilson, I.B.H.: Protein Glycosylation. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998; pp 508.
9. Rao, V.S.R., Qasba, P.K., Balaji, P.V., Chandrasekaran, R.: Confirmation of Carbohydrates. Australia: Harwood Academic Publishers, 1998; pp 359.
10. Feizi, T.: Cell-cell adhesion and membrane glycosylation. *Curr. Opin. Struc. Biol.*, 1991; 1: 766-770.
11. Feizi, T.: Towards understanding roles of oligosaccharides as recognition structures. In Glyco- and Cell Biology. Biosynthesis, Transport and Function of Glycoconjugates (Eds. Wieland F. and ReutterW.) 44. Collogium-Mosbach 1993, Berlin: Springer-Verlag, 1994; 145-160.
12. Baenziger, J.U.: The biologic significance of glycoprotein hormone oligosaccharides. In Glyco- and Cell Biology. Biosynthesis, Transport and Function of Glycoconjugates (Eds. Wieland, F. and Reutter, W.) 44. Collogium-Mosbach 1993, Berlin: Springer-Verlag, 1994; 161-167.
13. Kelm, S., Schauer, R., Crocker, P.R.: The sialoadhesins -a family of sialic acid-dependent cellular recognition molecules within the immunoglobulin superfamily. *Glycoconjugate J.*, 1996; 13: 913-926.
14. Kelm, S., Schauer, R.: Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int. Rev. Cytol.*, 1997; 175: 137-240.
15. Schauer, R., Kamerling, J.P.: Chemistry, Biochemistry and Biology of Sialic Acids. In Glycoproteins II (Eds: Montreuil J., Vliegthart J.F.G., Schachter H.), Amsterdam: Elsevier, 1997; 243-402.
16. Varki, A.: Biological roles of oligosaccharides. In Tools for Glycobiology. Novato: Glyco Inc., 2001; 7.18-7.32.
17. Kobata, A.: Principles of glycobiology. In Tools for Glycobiology. Novato: Glyco Inc., 2001; 7.2-7.7.
18. Rademacher, T.W., Parekh, R.B., Dwek, R.A.: Glycobiology. *Ann. Rev. Biochem.* 1988; 57: 785-838.
19. Hart, G.W.: Glycosylation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1992; 4: 1017-1023.
20. Fukuda, M., Kobata, A.: Glycobiology: A Practical Approach. Oxford: IRL Press, 1993; pp 401.
21. Chaplin, M.F., Kennedy, J.F.: Carbohydrate Analysis: A Practical Approach. Oxford: IRL Press, 1994; pp 324.
22. Karaçalı, S., Kırmızıgül, S., Deveci, R., Deveci, Ö., Onat, T., Gürcü, B.: Presence of sialic acid in prothoracic glands of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *Tissue Cell*, 1997; 29: 315-321.

23. Karaçalı, S., Kırmızıgül, S., Deveci, R.: Sialic acids in developing testis of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *Invertebr. Reprod. Dev.*, 1999; 35: 225-229.
24. Townsen, R.R., Hotchkiss, J.R.: *Techniques in Glycobiology*. New York: Marcel Dekker Inc., 1997; pp 637.
25. Pierce, M., Turley, E.A., Roth, S.: Cell surface glycosyltransferase activities. *Int. Rev. Cytol.*, 1980; 65: 1-47.
26. Gabius, H.J., Gabius, S.: *Lectins and Glycobiology*. Tokyo: Springer-Verlag, 1993; pp 521.
27. Rhodes, J.M., Milton, J.D.: *Lectin Methods and Protocols: Methods in Molecular Medicine*. Totowa: Humana Press, 1998; pp 616.
28. Karaçalı, S., Deveci, R., Deveci, Ö.: Fine Structural Localization of Sialic Acid on the Cell Coat of Prothoracic Glands of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). 17th Conference of European Comparative Endocrinology, 1994; Abst. no. 264.
29. Karaçalı, S., Deveci, R., Deveci, Ö.: *Galleria mellonella* (Lepidoptera)'nın Protorasik Bezlerinde Glikozaminoglikanlar, Tübitak Projesi, TBAG-1181, 1994; pp 38.
30. Karaçalı, S., Deveci, R., Pehlivan, S., Özcan, A.: Adhesion of hemocytes to desialylated prothoracic glands of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) in larval stage. *Invertebr. Reprod. Dev.*, 2000; 37: 167-170.
31. Horisbarger, M.: Colloidal and its application in cell biology. *Int. Rev. Cytol.*, 1992; 136: 227-287.
32. Karaçalı, S., Deveci, R.: Protorasik Bezlerdeki Hemosit Reseptörünün Belirlenmesi, Tübitak Projesi, TBAG-AY/214, 2001; pp 16.
33. Brockhausen, I., Kuhns, W.: *Glycoproteins and Human Disease*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1997; pp 242.
34. Karaçalı, S., Deveci, Ö., Deveci, R., Onat, T., Gürcü, B.: Spectrophotometrical determination of sialic acid in several tissues of isolated and crowded *Locusta migratoria* (Orthoptera). *İst. Üniv. Fen Fak. Biyol. Derg.*, 1995; 58: 47-57.
35. Karaçalı, S., Deveci, R., Deveci, Ö., Onat, T., Gürcü, B.: Spectrophotometrical determination of sialic acid in the tissues of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *İst. Üniv. Fen Fak. Biyol. Derg.*, 1995; 58: 59-67.