

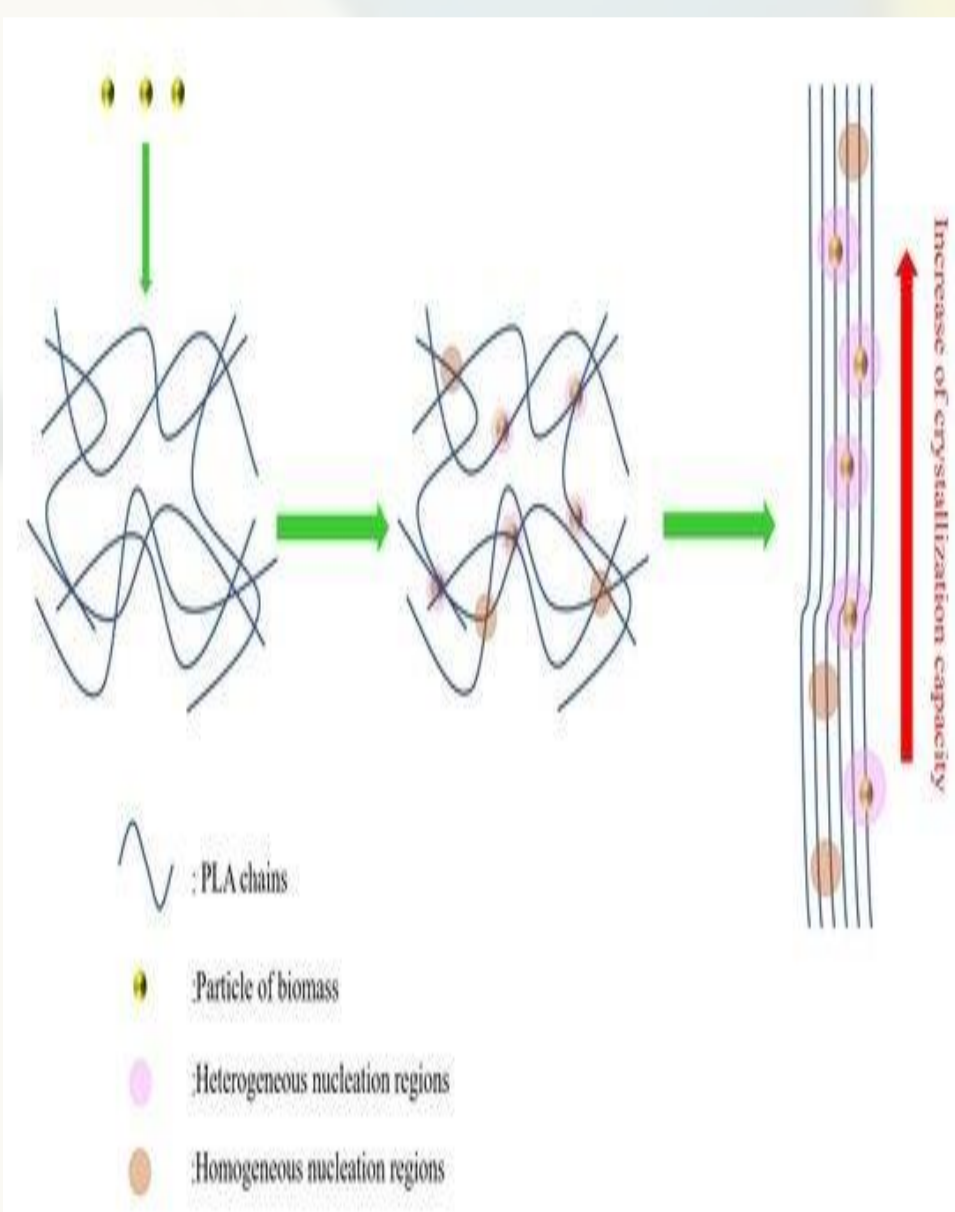
Giriş:

Vücudumuz binlerce çeşit protein içerir. Proteinler, bağışıklık sistemimizin temel bileşenleri ve bizi hasta edebilecek virüslerin parçaları da dahil olmak üzere hayatımızın her alanında yer alır. Bir ilaç aldığımızda, vücuttaki belirli bir proteine bağlanır. Bu süreç proteinin işlevini değiştirir ve eğer düzgün çalışırsa bizi iyileştirir. Birçok hastalıkta, hastalık durumunu tetikleyebilecek proteinler, biyolojik bir anahtar deliği gibi çok özel yerlere sığar ve bu hastalığı tedavi etmek için potansiyel bir ilacın proteini, bu anahtar deliğine uyacak şekilde tasarlanmalıdır. Anahtar ve anahtar deliğinin iyi oturması, daha az yan etki ile daha etkili bir ilaçla sonuçlanır. Bu uyumu elde etmek için, bilim adamlarının her iki proteinin yapısı hakkında ayrıntılı bilgiye ihtiyaçları vardır ve bir protein yapısını analiz etmenin en iyi yollarından biri onu kristal formda büyütme yöntemidir.

Bu posterde protein kristal büyümesinin fiziksel kimyasının çeşitli yönleri tartışılmaktadır. Proteinler, daha basit moleküller ve tuzlar için kapsamlı olarak araştırılan yöntemler kullanılarak sulu çözeltilerden kristalleştirilir. Proteinlerin tipik olarak oldukça geniş bir aralıktaki çözelti koşullarında kristaller oluşturabildiği görülmektedir. Bununla birlikte, büyük düzenli kristaller üretmek için gereken koşullar, toplam kristalizasyon parametre alanının daha küçük bir kısmını kaplar. Sıcaklık ve titreşim, kristal çekirdeklenmesini ve büyümesini kontrol etmede önemli faktörlerdir. Çözüm parametreleri kristal büyümesi sırasında değişir. Safsızlıkların konsantrasyonu artarken, kristaller büyüdükçe yığın protein konsantrasyonu azalır. Birçok kristalizasyon raporu, kristalin tekrarlanabilirliğini sağlamak için saf proteinlerin kullanılması ihtiyacını vurgulamaktadır. Tek bir deneysel parametredeki değişiklikler, bir kristalizasyon deneyinin çeşitli yönlerini aynı anda etkileyebilir. Parametrelerin etkileşimi, bireysel etkileri izole etmek için deney tasarlamayı zorlaştırır ve aynı şekilde deneysel sonuçların yorumlanmasını da karmaşık hale getirir. Burada Protein kristalizasyonunun 2 çeşit metoduna değinilecektir.

1. Metod : HETEROJEN ÇEKİRDEKLENME

Heterojen çekirdeklenme teorisi protein kristalizasyonunda önemli bir rol oynar. 1988'de, heterojen çekirdeklenme ilk olarak protein kristalizasyonu için çekirdeklenme yolu olarak rapor edildi. Heterojen çekirdeklenme, yüzey veya parçacık destekli çekirdeklenme olarak kabul edilebilmiştir. Bu süreçte, homojen çekirdeklenme elde etmek için aşırı doygunluk tipik olarak yeterli değildir. Bu teori, heterojen çekirdeklenme ajanlarının protein molekülleri ile etkileşime girdiğini ve daha sonra çekirdeklenme öncesi kümelerin oluşumuna elverişli olan daha yüksek bir lokal aktif protein konsantrasyonu ürettiğini öne sürülmüştür. Heterojen çekirdekletirici ajanlar bu kümeleri stabilize ve daha fazla büyümeyi teşvik etmiştir.



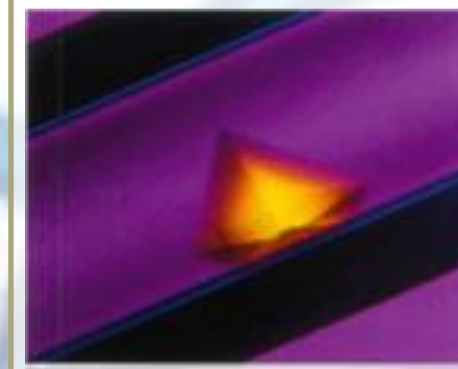
2. Metod : UZAYDA KRİSTALLEŞEN PROTEİNLER

Uluslararası Uzay İstasyonu, yirmi yıldan fazla bir süredir protein kristallerini büyütme ve incelemek için bir platform sağlandı. Mikro yerçekimi araştırmalarının ilk günlerinde, bilim adamları uzayda yetiştirilen protein kristallerinin Dünya'nın yerçekiminde yetiştirilenlerden daha düzgün ve daha büyük olduğunu keşfetmişlerdir. O zamandan beri, ilaç şirketleri ve akademik araştırmacılar, uzay istasyonunda yüzlerce protein kristali büyüme (PCG) deneyi gerçekleştirildi. Yörüngedeki laboratuvarda yürütülen açık ara en büyük tek deney kategorisiydi.



Protein Kristal Büyüme Deneyleri ile Yeni ve Daha İyi İlaçlar Yaratmak

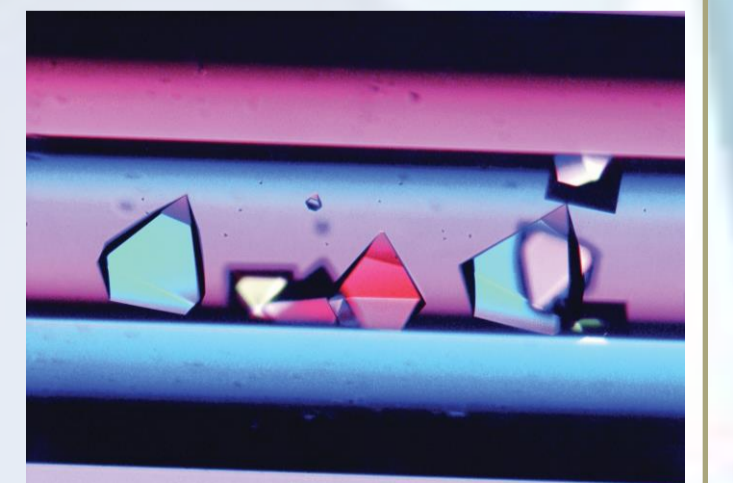
Uzay Mekiği ve Mir programları sırasında araştırmacılar, mikro yerçekiminde Dünya'dakinden daha yüksek kaliteli protein kristalleri üretebileceklerini keşfetmişlerdir. Yirmi yılı aşkın bir süredir, Uluslararası Uzay İstasyonu, araştırma amacıyla kristallerin yetiştirilmesi için bir platform olarak hizmet vermeye devam etmektedir. İlaç şirketleri ve akademik araştırmacılar, 2021 itibarıyla 500'den fazla protein kristal büyümesi (PCG) deneyi gerçekleştirdi bu, istasyonda gerçekleştirilen açık ara en büyük tek deney kategorisi olduğu düşünülmektedir. Protein yapısının X-ışını kırınımı ile belirlenmesi, bir protein kristalinden kırınım modelini gerektirir. Bir kristal X-ışınlarını ne kadar iyi kırarsa, bu yöntem proteinin yapısını o kadar doğru bir şekilde belirleyebilir. 2005 yılından bu yana, Devlet Uzay Şirketi ROSCOSMOS'un (ROSCOSMOS) kristalizatör programı, özellikle bu analiz için uygun tek protein kristalleri yaratıldı. Kristallerin mikro yerçekiminde büyütülmesi, kalitelerini önemli ölçüde artırır ve analiz sırasında daha fazla üç boyutlu çözünürlük sağlamaktadır.



E. coli timidin fosforilazın kristal yapısı gösterilmiştir. ROSCOSMOS

Birçok ülkeden PCG araştırması, şu anda tedavi edilemeyen bir genetik bozukluk olan Duchenne Musküler Distrofi (DMD) dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar için ilaçlar ve tedaviler oluşturma konusunda umut vaat etmiştir. Japonya Havacılık ve Uzay Araştırma Ajansı'nın (JAXA) DMD ile ilişkili proteinin kristal yapısı üzerine yaptığı bir çalışma, onu inhibe edebilecek bileşikler için ipuçları sağladı. Araştırma ekibi, ilacın DMD'nin ilerlemesini yarı yarıya yavaşlatabileceğini ve potansiyel olarak birçok hastanın ömrünü iki katına çıkarabileceğini tahmin edilmiştir.

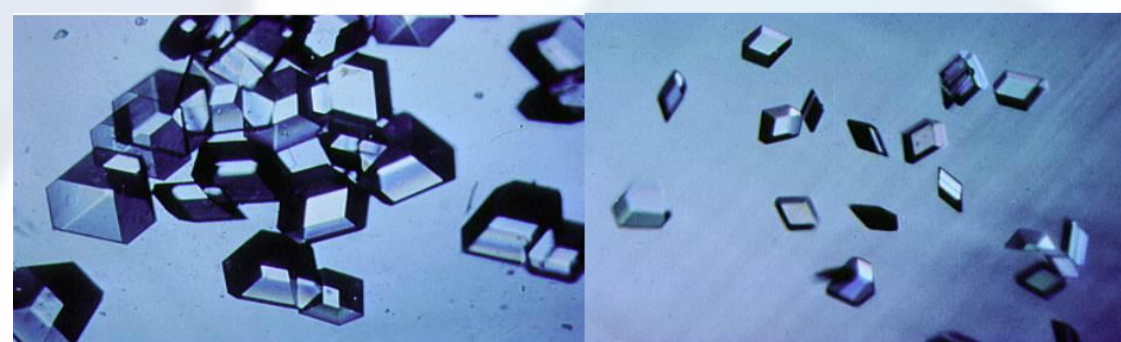
Tamamen yeni tedaviler yaratmanın yanı sıra, istasyondaki PCG araştırması, saklanması daha kolay ve daha uzun süre dayanan ilaçların formülasyonuna yol açıldı. Örneğin, oda sıcaklığında uzun süre stabil kalan formüller, soğutma ihtiyacını ortadan kaldırarak maliyeti düşürdüğünü ve dağıtımını basitleştirdiği bildirildi. Soğutulmuş ilaçlar zamanla bozulur ve bazen atılmaları gerekir, bu da maliyeti artırır ve hastalar için erişimi sınırlar. Uluslararası Uzay İstasyonu Ulusal Laboratuvarı, CASIS PCG 19 tarafından desteklenen bir araştırma, monoklonal antikor formülasyonunun stabilitesini incelendi. Monoklonal antikorlar, mikroplar veya insan veya hayvan hücreleri gibi canlı organizmalardan alınan büyük, karmaşık moleküllerden yapılan ilaçlardır. CASIS PCG 19, bozulmalarına yol açan süreçleri ortaya çıkarabilir ve nihayetinde onu yavaşlatmanın yollarını belirlemeye yardımcı olabilir.



Protein kristalleri, uzay istasyonunun Kibo Modülünde mikro yerçekiminde oluşur. JAXA

Doğal Kaynaklardan Elde Edilen Çekirdekletirici Ajanlar

Birçok rapor, proteinlerin kristal damlacıklarındaki toz ve lifler gibi kirlenmeler üzerinde çekirdeklenebileceğini göstermiştir. Saç, özellikle at kılı, keskin mikro yapısı ve üst üste binen kütüklü nedeniyle protein moleküllerini yakalamak için ideal bir seçim olan protein kristalizasyonunu desteklemek için de kullanılmıştır (ŞEKİL 1). Deneysel sonuçlar, at kılı Fab-D proteini de dahil olmak üzere üç proteinin kristalleşmesini etkili bir şekilde destekleyebileceğini göstermektedir. Ek olarak, insan saç, tipik olarak kristalleşmesi çok zor olan patates serin proteini inhibitörünün verimli kristalleşmesini de teşvik edebilmiştir. Thakur ve ark. 10 model protein için 9 doğal çekirdekletirici ajanı test etti ve kurutulmuş deniz yosunu tozunun protein kristalleşmesini etkili bir şekilde destekleyebileceğini göstermiştir. Ek olarak, selüloz ve hidroksiapatit tozu da bir çekirdeklenme etkisine sahiptir, ancak deniz yosunu kadar belirgin değildir. Bir başka ilginç olgu da, bu doğal çekirdekletirici ajanların, spesifik proteinlerin kristalleşmesini teşvik ederken diğer proteinlerin kristalleşmesini de engelleyebilmesidir. Doğal mineraller ayrıca protein kristalleşmesini de teşvik etmişlerdir. 1988'de McPherson ve Paul, kanavalin, konkanavalin B, sığır karaciğeri katalazı ve lizozim dahil olmak üzere dört model proteinin kristalizasyon deneylerini yapmak için çekirdekletirici ajanlar olarak 15 farklı mineral kullanıldı. Minerallerin protein çekirdeklenmesini ve kristal büyümesini etkili bir şekilde destekleyebileceği gösterildi.



Şekil 1. Bir saç lifi üzerinde büyüyen patates serin-proteaz inhibitörü kristalleri. Ölçek çubuğu 100 mm'ye karşılık gelir.

Kaynakça:

<https://www.mdpi.com/2313-7673/8/1/68>
Crystallizing Proteins in Space Helping to Identify Potential Treatments for Diseases – NASA
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022283678902061?via%3Dihub>

Protein Kristali Büyüme Deneyleri ile Yeni ve Daha İyi İlaçlar Yaratmak – NASA
Protein kt rme Y ntemlerinin Kar la t r lmas (#464158)-615877.pdf