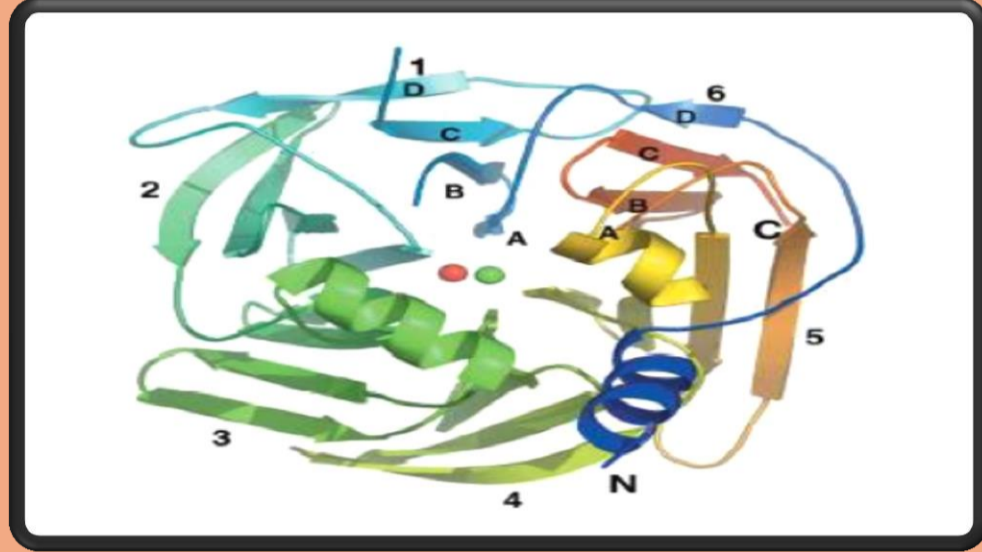


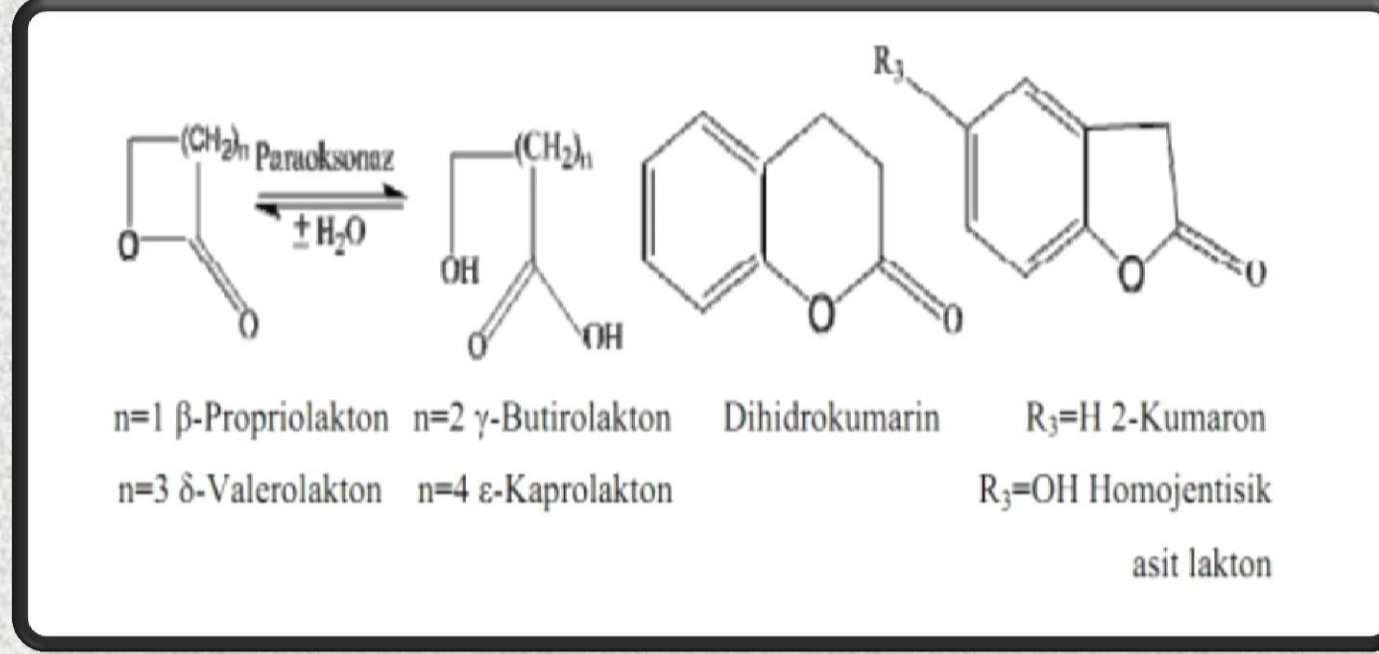
PON1 ENZİMİ

Paraoksonaz-1 (PON1) Enzimi: PON1 karaciğerde sentezlenen, 43-45 kilo-dalton moleküler ağırlıklı, 354 aminoasit içeren glikoprotein yapıda, Ca^{2+} bağımlı bir esteraz enzimidir (1,2). Paraoksonaz enzim aktivitesinin Ca^{2+} a bağımlı olma özelliği ile Co^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} kullanan diğer A esteraz tipi enzimlerden farklı olduğunu gösterir (3). PON1'in genetik yapısı, insanlar ve diğer populasyonlar arasında çok çeşitlilik gösterir.

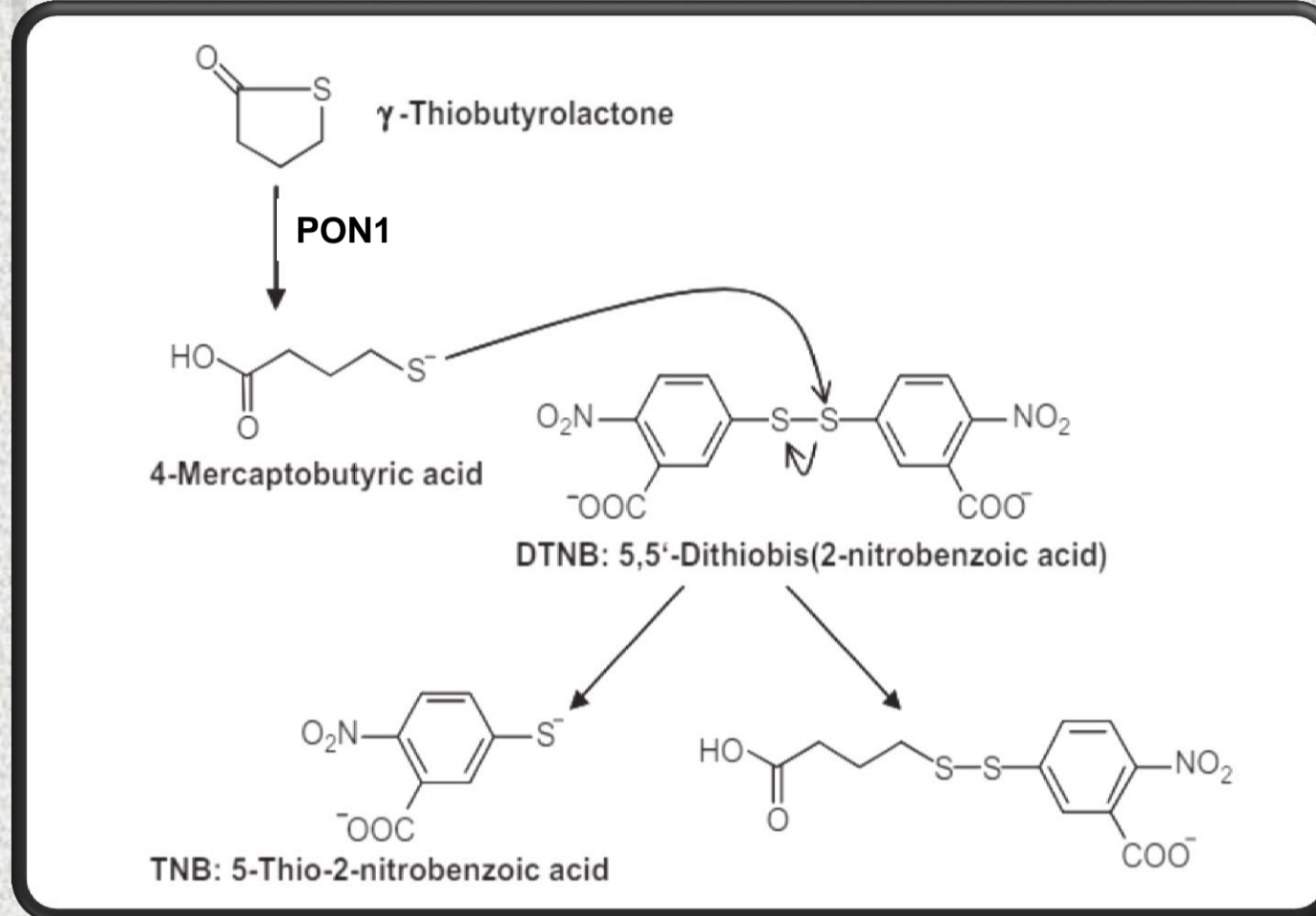
Serumda HDL'ye bağlı olarak bulunur. İzoelektrik noktası 5,1'dir. Molekül ağırlığının % 15,8'ini oluşturan üç karbonhidrat zinciri içerir. PON1'in yapısındaki amino asitler içinde substrat tanınması ve bağlanması için gerekli olan serbest sisteinlerden 284'teki serbest iken, 42. ve 352. pozisyondaki sisteinler arasında 1 tane disülfid bağı bulunur. Serbest sistein substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir [1].



Şekil 1. Paraoksonaz enziminin üç boyutlu yapısının görünümü.



Şekil 2. Lakton hidrolizi



Şekil 3. Gamma-tiyobutirolakton (TBL)'nin Hidrolizi

Katalizlediği Reaksiyonlar ve Substratları

Paraoksonaz enzimi geniş bir substrat çeşitliliği gösterebilmesine rağmen, fizyolojik substratı halen tam olarak belirlenmemiştir. Ancak arilesteraz, organofosfatlar ve laktonaz aktivitelerine sahip olduğu bulunmuştur.

İlk başlarda Paraoksonaz'ın yapısının ve substratlarıyla olan ilişkisinin belirlenebilmesi için yapı-aktivite analizi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu konuyla ilgili, Augustinson ve Ekedahl çift bağlı aromatik esterlerin paraoksonaz tarafından hidrolizlendiklerini göstermişlerdir. Bu reaksiyonda Paraoksonaz'ın substrat olarak kullanacağı esterlerin karbon-karbon çift bağının birbirine çok yakın olması gerektiği tespit edilmiştir. Lakton halkasını içeren substratların, bu yapının oluşturduğu halkasal uzaysal yapı sayesinde enzimin aktif bölgesine girip enzimle etkileşmesine ve hidrolizlenmelerine izin verir. Buna örnek olarak etil asetat Paraoksonaz ile hidrolizlenmezken, aynı sayıda atom ve ester yapısı gösteren γ -bütirolakton iyi hidrolizlenmektedir. Paraoksonaz'ın laktonaz aktivitesi için, 284. rezidüde bulunan serbest sistein aminoasiti oldukça önemlidir. Bu serbest sistein rezidüsünün, Paraoksonaz'ın LDL'nin okside olmasını önlemesinde de rol alması; Paraoksonaz'ın sahip olduğu laktonaz aktivitesinin LDL ve HDL fosfolipitlerinin yükseltgenmesine karşı koruduğu düşünülmektedir. Sorenson ve arkadaşları 284. pozisyonda bulunan serbest sistein rezidüsünün arilesteraz ve paraoksonaz aktivitesinde gerekli olmadığını göstermişlerdir [2].

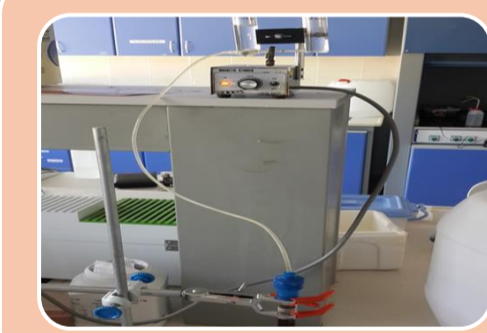
PON1 ENZİMİNİN HİDROFOBİK ETKİLEŞİM KROMATOĞRAFİSİ İLE SAFLAŞTIRILMASI

*Amonyum sülfat çöktürmesi kısmi saflaştırma gerçekleştirildi. Enzim daha sonra aşağıdaki gibi hidrofobik etkileşim kromatografisi ile saflaştırıldı.



1.adım

- Kısmi olarak saflaştırılan serumu hidrofobik jelin bulunduğu kolona tatbik ederiz.



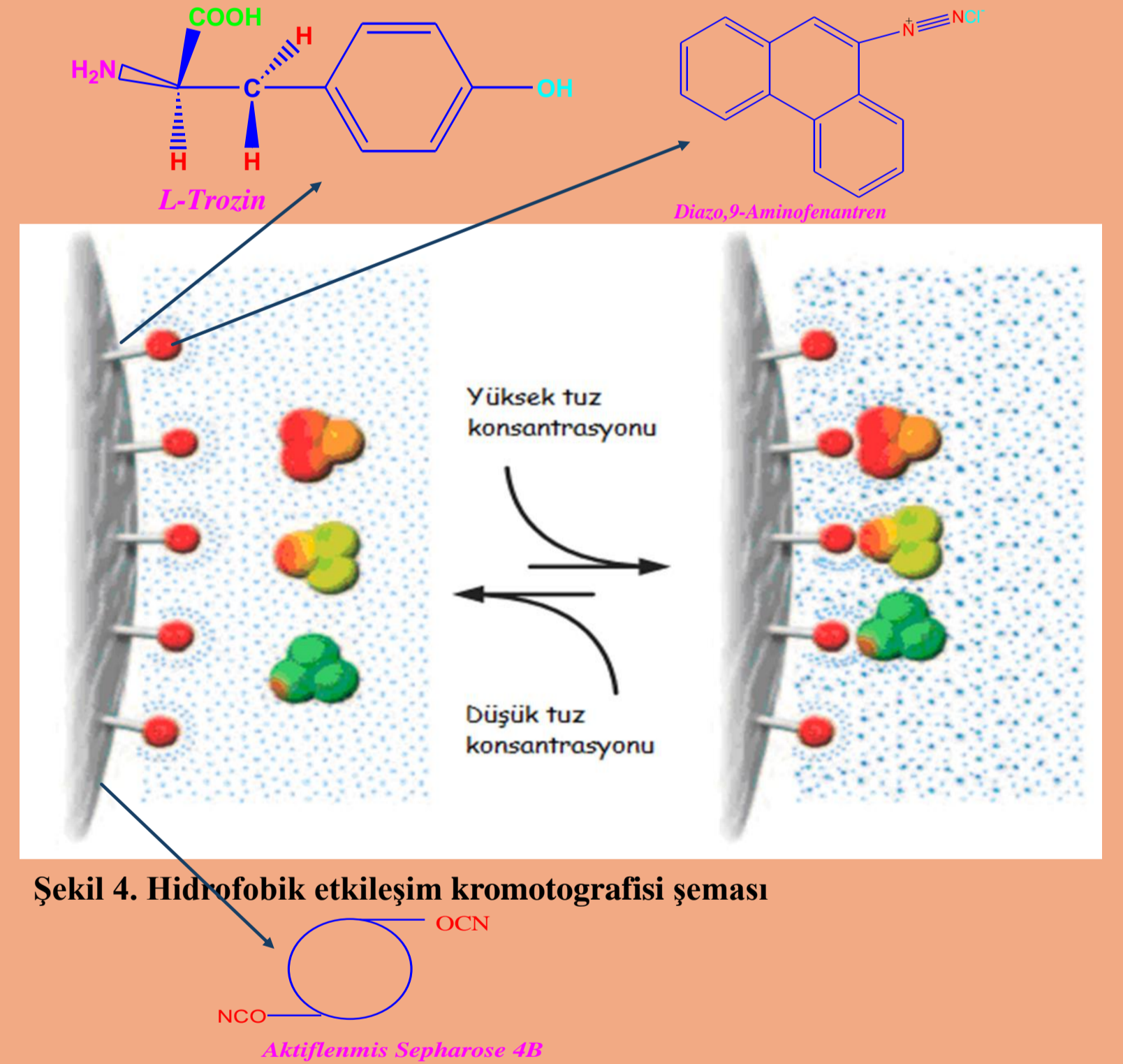
2.adım

- Daha sonra tuzlu ve tuzsuz tamponları gradient mikser yardımıyla kolona veririz.



3.adım

- Kolondaki proteinler hidrofobik karakterlerine göre fraksiyonlara ayrılır.



LAKTON AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

PON1 laktonaz aktivitesi, gamma-tiyobutirolakton (TBL) substratı kullanılarak ölçüldü ve serbest sülfhidril gruplarının birikimini spektrofotometrik olarak izlemek için Ellman'ın prosedürü kullanıldı. Reaksiyon, (50 mmol/L Tris, 1 mmol/L $CaCl_2$, 50 mmol/L NaCl, pH 8) tampon, 50 mmol/L DTNB ve 10.5 mmol/L TBL içeren 900 μ L karışıma 100 μ L enzim eklenmesiyle başlatılarak 412 nm'de ilk absorbans ölçüldü. Bir dakika sonra ikinci absorbans ölçülerek aradaki fark molar ekstinksiyon katsayısı $13.6 \times 10^3 L^{-1} mol^{-1} cm^{-1}$ ile çarpılarak enzim aktivitesi ölçüldü [3]. Enzim aktivitesi, yapılan deneyler sonunda ortalama olarak 8568 U/L olarak hesaplandı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

PON1 (Paraoxonase-1), insanlarda bulunan bir enzimdir ve çok çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir. En önemli fonksiyonlarından biri, organofosfatlar gibi toksik maddelerin parçalanmasında görev almaktır. Bununla birlikte, özellikle bakteriyel biyofilmlerin oluşumunu engellenmesinde PON1 enziminin aktivitesinin korunması oldukça önemlidir.

Laktonlar, bir halka yapısına sahip olan esterlerdir ve biyolojik sistemlerde çeşitli rol oynarlar. PON1, özellikle aril esterler ve laktonlar gibi hidrolizasyona uğrayabilen birçok substratı parçalayabilir. Bu lakton hidroliz aktivitesi, PON1'in lipid metabolizması üzerindeki etkileriyle ilgili önemli bir rol oynar.

Özellikle PON1'in lakton hidroliz aktivitesinin, kardiyovasküler hastalık riski üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Örneğin, HDL kolesterolün anti-aterojenik etkileri arasında laktonların hidrolizi ile ilişkili olabilecek antioksidan özelliklerin önemi vardır. PON1'in lakton hidroliz aktivitesindeki değişiklikler, kardiyovasküler hastalık riskini etkileyebilir ve bu nedenle bu aktivitenin düzeyi, klinik çalışmalarda bir belirteç olarak da kullanılabilir.

Sonuç olarak, PON1 enziminin lakton hidroliz aktivitesi, lipid metabolizması, bakteriyel biyofilm oluşumunun engellenmesi ve kardiyovasküler sağlık üzerinde önemli bir rol oynar. Bu aktivitenin moleküler düzeyde anlaşılması, kardiyovasküler hastalıkların patogenezinin anlaşılmasına ve potansiyel olarak yeni tedavi ve önlemlerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Kaynaklar

[1] Aşkın, U., Karataş, F., Türköz, Y., Aydın, S. Paraoksonaz-1 Enziminin Bazı Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi ve Ghrelin Hormonu ile İlişkisi. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2012;1:21-8.

[2] Çolak, Utku. İnsan serum paraoksonaz enziminin kitosan üzerine immobilizasyonu ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2011.

[3] Cervellati, C., Bonaccorsi, G., Trentini, A., Valacchi, G., Sanz, J. M., Squerzanti, M., ... Ricci, G. (2018). Paraoxonase, arylesterase and lactonase activities of paraoxonase-1 (PON1) in obese and severely obese women. SCANDINAVIAN JOURNAL OF CLINICAL AND LABORATORY INVESTIGATION, 78(1-2), 18-24. <https://doi.org/10.1080/0036513.2017.1405274>