

## Lizozomal Organel: Maya Vakuollerinin Fonksiyonları

Mehlika Benli<sup>1</sup>, Nazife Yiğit<sup>2</sup>

### Maya Vakuollerinin Fonksiyonları ve Lizozoma Benzerliği

Bir maya hücresinde en fazla dikkat çeken organel vakuoldür. Maya vakuolleri hücrel fizyolojide önemli roller üstlenmişlerdir. Hücre proteinazları buralarda mevzilenmiştir. Maya vakuolleri, diğer mantar hücrelerinde olduğu gibi küresel şekilli multivesiküler yapıda ve farklı büyüklüklerde. Genç vakuoller polyanyonik karakterli, metalofilik matrikse sahip, yaşlı vakuoller ise elektrondan arınmış halde ve farklı matriks yoğunluğundadır (1).

Yeni oluşan maya hücresinde ana hücreye oranla daha az sayıda ve daha küçük yapılı vakuoller mevcuttur. Genç hücreye vakuol parçaları tomurcuklanma sırasında ana hücreden, yavru hücreye geçmektedir.

Maya vakuolleri ile yapılan çalışmalar, özellikle endozomal vakuollerin oluşması, hücre içinde ve hücreler arasında taşınması; vakuol fonksiyonlarının yanı sıra pek çok fizyolojik ve moleküller konuya da ışık tutmuştur. Maya vakuollerinin morfolojileri ve fonksiyonları en çok *Saccharomyces cerevisiae* mayası üzerinde yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur.

*S. cerevisia* mayası ile yapılan çalışmalarda, endozomal fonksiyonları Pep 12p proteininin düzenlediği, vakuolar hidrolazlar ve Karboksipeptidaz Y (CPY) gibi proteinlerin prevakuolar kompartmanlar (PVC) yolu ile hücre sitoplazmasından vakuolar lümene taşındığı saptanmıştır (2). Vakuoller bu şekilde hidrolitik enzimlere sahip olmakta ve optimal faaliyetlerini pH 4.6'da gerçekleştirmektedir.

Mayalarda bulunan V-ATPaz enzimi bütün ökaryotik organizmalarda bulunan V-tipi ATPaz ailesine aittir. *S. cerevisia*'da incelenen V-ATPaz, golgi kompleksi ve endozomlarda olduğu gibi vakuol membranlarında da lokalize olmuştur. ATP hidrolizi ile açığa çıkan protonun taşınması, bu organelin asidifikasyonu sağlanmaktadır (3).

Maya vakuollerine altı yol ile materyal girişi sağlanmaktadır.

1. Bir endositoz olayı olan, hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla mikropinositoz yolu ile,

<sup>1</sup> Dr., Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Beşevler Ankara. Yazışmadan sorumlu yazarın e-posta adresi: [benli@science.ankara.edu.tr](mailto:benli@science.ankara.edu.tr)

<sup>2</sup> Dr., Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Yahşihan Kırıkkale

2. Sitoplazma içindeki oligomerize precursor amino peptidaz I (prAPI) gibi proteinlerin çift zarlı vesiküller halinde taşınması ile,
3. Otofaji yolu ile çift zarlı otofagozomların vakuole birleşmesi ile,
4. Üreme ve salgılama aşamalarında maya tomurcukları içine vesiküller halinde hücre içi taşıma sistemi ile,
5. Yeni sentezlenen proteinler, golgi kompleksinde olgunlaşarak depo granülleri (endozomlar) şeklinde,
6. En kısa materyal geçişi ise golgi kompleksinden doğrudan vakuole taşıma şeklinde gerçekleşmektedir ( 4).

Mayalardaki vakuollerin memeli hücrelerdeki karşılığı lizozomlardır. Lizozomlar golgi kompleksinde salgı granülleri şeklinde teşekkül etmektedir. Olgunlaşan salgı granülleri endozomal yol ile vakuol içine taşınmaktadır. Endoplazmik retikulumda sentezlenen ve golgide paketlenerek depo granülleri şeklinde bulunan primer lizozomlar heterofagozomal veya otofagozomal vakuol ile birleşerek sekonder lizozomları oluşturmaktadır. Bu şekilde vakuoller içine alınan maddeler hidrolitik enzimler sayesinde sindirilirler. Sindirilemeyen artık maddeler bir hücreli canlılarda, artık madde taşıyan vakuollerin hücre zarı ile birleşmesi (füzyonu) ile dış ortama bırakılır. Yüksek organizasyonlu canlılarda metabolik artıklar çoğunlukla difüzyon yolu ile uzaklaştırılmaktadır. Dışarı atılamayacak kadar büyük olan artık maddeler ise hücre içinde kristalize edilerek depolanmaktadır. Bu kristalize yapıların çoğalması hücreyi yaşlanmaya ve daha sonra ölüme götürmektedir (5).

Ökaryotik hücrelerdeki lizozomlar gibi *S. cerevisia* vakuollerine membran parçaları ve proteinler, endozomlar içinde vakuoller ile taşınır. Endozom-vakuol zarlarının birleşmesi (füzyonu) sonucu sindirilecek materyal vakuol içine alınmış olur. Endozom ile vakuol arasındaki füzyonu  $Ca^{2+}$  / Kalmodulin ve Proteinofosfataz 1 düzenlemektedir. Bu esnada plazma reseptör proteinleri görev yapmakta ve ATP hidroliz edilmektedir. Vakuol içine alınan substratlar hidrolitik enzimlerle hidrolize edilerek, daha önce kullanılan ve yeniden kazanılan proteinler olarak Pre-Vakuollar Kompartman (PVC) yolu ile endositik olarak tekrar golgi komplekslerine taşınırlar. Bilinen yol ile golgiye basit proteinler olarak gelir burada sitoplazmanın sahip olduğu protein dizilerine göre dizilir, olgunlaştırılarak yeni proteinler olarak ayrılırlar (6).

Organel membran füzyonları, membranda bulunan veya hücrede yer alan protein ve lipidlerin füzyon metabolizmasını katalizlemesi ile gerçekleşir. Her füzyon olayında integral membran proteinleri olan SNAP reseptör proteini olarak adlandırılan proteinler (SNAREs) tarafından gerçekleşmektedir. Bunların fonksiyonları sitoplazmik alanların birleştirilmesidir. SNARE proteinlerinin cis veya trans uçlarından membrana bağlanması ile füzyon gerçekleşir. Bu esnada ATP hidrolize edilmektedir (7). Bu işlemde doğrudan SNARE proteinleri iş yaptığı gibi Rab / Ypt ailesine ait proteinleri de dolaylı olarak iş görmektedir (8, 9,10).

Maya vakuolünün pH ve iyon dengesinde önemli rol oynadığı aynı zamanda iyon depo kompartmanı olarak görev yaptığı bilinmektedir. Asidik organellerdir ve ATPaz (V- ATP az) taşırlar. Depo görevi gören vakuoller hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun dengelenmesinde önemli rol oynarlar. Vakuolar kalsiyum taşınmasında iş gören iki gen PMC1 ve VCX1 / HUM1 açıklanmıştır. PMC1 geni Kalsiyum-ATPaz genleri ile homologdur ve kalsiyum konsantrasyonunun yüksek

olduğu ortamlarda gelişme için gereklidir. Vakuollerde  $Ca^{+2} / H^{+}$  değişiminde düşük afiniteli kalsiyum taşınmasında Vex1p / Hum1p yüksek kapasiteye sahiptir (11).

Vakuoller aynı zamanda fosfat ve polifosfat depolarlar. Özellikle polifosfatın, kalsiyum konsantrasyonunun ayarlanmasında önemli rolü vardır. Polifosfatın hidrolize olması sonucunda protonlar açığa çıkmakta bu şekilde pH dengesinin düzenlenmesi de sağlanmaktadır (11).

Bazı amino asitler maya vakuollerinde yüksek konsantrasyonlarda biriktirmektedir. Örneğin, 10 mM arjinin içeren sentetik besiyerinde maya vakuollerinde arjinin birikimi söz konusudur (11).

Vakuoller, organellerin oluşumunda enzim ve substratları vesiküller şeklinde taşıyarak büyük görev üstlenir. Bilindiği gibi *S.cerevisia* 'nın vesikül taşıma işlemi aydınlığa kavuşmuş ve birçok proteinin bu yolla taşındığı ortaya konulmuştur. Bunlardan bir tanesi Pep 3 (Ups 18)'dir ve mutant vakuolde vakuolün morfolojisi ve fonksiyonu üzerinde etkilidir. Filamentli funguslar olan *Aspergillus nidulans* 'da Pep 3'e homolog dig A geni klonlanmıştır. Bu gen bölünme sırasında nükleer materyalin kutuplara göç etmesinde etkilidir. Bu Dig A proteini 108,3 kDa ağırlığında ve 122 amino asit dizisine sahiptir. Dig A *Schizosaccharomyces pombe* 'den elde edilen bir protein ile %25, İnsandan elde edilen bir protein ile %23, *Drosophila melanogaster* koyu turuncu gen ürünü ile %21 ve *S.cerevisia* Pep 3 (Vsp 18) ile %18 oranında benzerlik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada *Aspergillus nidulans* stoplazması içine mutant digA yerleştirilmiş, mitokondriler ile çekirdek materyalinin kümeleştiği, hücre iskeleti polimerizasyonunda da aksamaların olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak hücre bölünmesinde çekirdeğin kutuplara çekilmesi, organellerin hücre içinde uygun yerlere yerleşmesi ve sitoskelet stabilitesi vakuollerin fonksiyonları arasındadır (12).

## **Maya Hücrelerinde Vakuol Aracılığı ile Proteinlerin Yeniden Kazanılması**

Maya vakuollerinin önemli görevlerinden biri de kullanılmış biyolojik makromolekülleri yeniden işleyip kullanılabilir hale getirmesidir. Vakuollar hidrolizasyon sonucunda yıkıma uğrayan substrat proteinleri hücre tarafından tekrar kazanılmaktadır. Fakat lipidlerin bu organeller içinde yeniden kazanılması hakkında henüz pek az şey bilinmektedir (13).

Mayalarda otofaji sitoplazmadan vakuole hedeflenme işlemi ile örtüşmektedir. Bu işlemde maya sitoplazmasında sentezlenen aminopeptidaz I (API) vakuolar lümenine taşınmaktadır. Öncü molekül aminopeptidaz I sentezi ile birlikte otofajik moleküler komponentler çalışır ve hidrolize edilecek substrat çift zarla çevrilir. Sitoplazmik vakuol füzyonu ile substrat vakuol lümeni içine alınır. Spesifik lizise uğrayarak yıkım işlemi tamamlanır (13).

Glukoz yokluğunda maya hücreleri glukoz ikmali yapar ve glukoneogenik enzimleri kullanırlar. Bu olayda kilit enzim fruktoz-1,6-bifosfaz (FBPase)'dir. Sitozolde hedef belirlenerek maya vakuollerinde ayrıştırılır. İmmüno elektron mikroskop çalışmaları göstermiştir ki; FBPase vakuoller tarafından otofajik işlem ile alınmaktadır. Açlıktan ölme konumunda olan maya yine otofajik işlem ile hücre organellerini, membran parçalarını ve peroksizomları vakuol içine alarak sindirir. Plazma membranında

bulunan galaktoz taşıyıcı protein (Gal2p) endositik yol ile vakuol membranına taşınır. Sonuç olarak ayrıştırılan glukoz reseptör aracılığı ile endositik yolu kullanarak yeniden yapılır (14).

*S. cerevisiae* maya vakuollerinin kimyasal analizlerinde, vakuollerin belirli substratları hidroliz eden endo ve ekzo proteinleri ihtiva ettikleri gözlenmiştir. Bunlardan başka besin yokluğu çeken hücrede vakuoller hücre total proteininin %85'ini yıkıma uğratma yeteneğindedir. Bu şekilde 24 saat içinde hücresel proteinlerin %40'ı vakuoller içinde tekrar yapılandırılır. Hücre hayatının dengeli bir şekilde yürümesi için gerekli olan non spesifik proteinler organel içinde bulunması sağlanır (11).

Yüksek organizasyonlu canlılarda da benzer durum söz konusudur. Patolojik durumlarda veya açlık gibi bazı özel fizyolojik şartlarda lizozomlarla, otofaji ile hücrenin kendisine ait parçaları hidrolize edilmektedir. Bu olay aynı zamanda metamorfozda da kullanılan fizyolojik bir olaydır. Aç bırakılan karaciğer hücrelerinde sayısız otofagozom teşekkül etmektedir. Lizozomlara en tipik ve en bol olarak beyaz kan hücrelerinde rastlanmaktadır (5, 15)

Maya hücrelerinde, otofaji, açlık esnasında hücre canlılığının sürdürülmesi için temel teşkil eder. Var olan biyolojik materyal ayrıştırılarak canlılığın devamı için minimum düzeyde temel besin ve protein sağlanır. Son yıllarda bu olayın hücresel düzenlemede önemli rol oynadığı anlaşılmıştır. Hücrede bulunan kısa ömürlü veya anormal proteinler seçici olarak otofajik yol ile ortadan kaldırılmaktadır. Çeşitli açlık durumları, büyüme ve hücre farklılaşması gibi durumlarda, hücre uyarılarak otofaji yapmaktadır (16)

Araştırmacıların birçoğu çeşitli hücre tipi kanser oluşumları ve insan hastalıkları ile otofaji seviyeleri arasında bir ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir. Örneğin: Apg6p / Vps30p memelilerdeki beclin 1'e homologdur ve otofajide görev yapmaktadır. apg6 geni hasarlı veya eksik olan hücrelerde otofajide aksamalar görülmüştür. Beclin 1 memeli hücrelerinde gelişen tümörigenezisi inhibe etmektedir. Belcin genindeki mutasyonlar karsinoma hücrelerinde otofajiyi azaltmaktadır. Çarpıcı bir şekilde belcin ve mayalarda bunun karşılığı olan Apg6 proteininin etki mekanizmaları mayalardan memelilere kadar oldukça iyi korunmuştur (11, 16). Diğer yandan otofaji, Huntington ve Parkinson gibi nörolojik insan hastalıklarda önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle mayalarda bu mekanizmaların aydınlatılması hastalıklarının tedavisinde yeni açılımlar sağlayacaktır.

Bütün bu çalışmalar göstermektedir ki, maya hücrelerinde vakuoller hiçte azımsanmayacak fonksiyonlar üstlenerek, birçok mekanizmanın işleyişinde büyük roller almaktadır. Mayalar baz alınarak hücre işleyiş mekanizmalarının aydınlatılması bilime büyük katkılar sağlayacaktır. Üretiminin ve analizlerin kolay olması ayrıca ökaryotik bir canlı olması nedeni ile araştırma bulgularının diğer yüksek organizasyonlu canlılarda da, hatta memeli hücrelerinde de uygulanabilirliği mayalar üzerinde durulmasına neden olmuştur. Bu konu ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir.

## Kaynaklar

1. Vorisek, J. 2000. Functional Morphology of the Secretory Pathway Organelles in Yeast. *Microscopy Research and Technique*, 51: 530-546.
2. Gerrard, S.R., Levi, B.P., Stevens T.H. 2000. Pep 12p is a Multifunctional Yeast Syntaxin that Controls Entry of Biosynthetic and Retrograde Traffic into the Prevacuolar Compartment. *Traffic*, 1(3) 259- 269.
3. Graham, L.A., Flannery, A.R., Stevens, T.H 2003. Structure and Assembly of the Yeast V-ATPase. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 35(4) 301-12.
4. Mullins, C., Bonifacino, J.,S. 2001. Molecular Machinery for Lysosome Biogenesis. *Biyoessays* 23(4) 333-343.
5. Karol, S., Ayvalı, C., Suludere, Z. 2000. *Hücre Biyolojisi*. Öğün Matbaacılık ISBN975-95520-1-9.
6. Munn, A.,L. 2000. The Yeast Endocytic Membrane Transport System. *Microscopy Reserch and Technique*, 51: 547-562.
7. Powell, B., Graham, L.A., Stevens, T.H. 2000. Molecular Characterization of the Yeast Vacuolar H<sup>+</sup> -ATPase proton pore. *J. Biol. Chem.*, 275(31) 23654- 23660.
8. Price, A., Seals, D., Wickner, W., Ungermann, C. 2000. The Dociing Stage of Yeast Vacuole Fusion Requires the Transfer of Proteins from a cis-SNARE Complex to a Rab/Ypt Protein. *The Journal of Cell Biology*, 148(6) 1231-1238.
9. Gerrard, S.R., Mecklem, A.B., Stevens, T.H. 2000. The Yeast Endosomal t-SNARE, Pep12p, Functions in the Absence of its Transmembrane Domain. *Traffic*, 1(1) 45-55.
10. Kweon, Y., Rothe, A., Conibear, E., Stevens, T.H. 2003. Ykt6p is a Multifunctional Yeast R-SNARE that is Required for Multiple Membrane Transport Pathways to the Vacuole. *Mol. Biol. Cell*, 14(5) 1868-1881.
11. Thumm, M. 2000. Structure and Fancion of the Yeast Vacuole and Its Role in Autophagy. *Microscopy Reserch and Technique* 51: 563-572.
12. Geissenhoner, A., Sievers, N., Brock, M., Fischer, R. 2001. *Aspergillus nidilans* Dig A, a Potential Homolog of *Saccharomyces cerevisiae* Pep 3(Vps 18), is Required for Nuclear Migration, Mitochondrial Morphology and Polarized Growth Source. *Molecular Genetics & Genomics*, 266(4) 672-685.
13. Teter, S.A., Eggerton, K.P., Scott, S.V., Kim, J., Fischer, A.M., Klionsky, D.J. 2001. Degradation of Lipid Vesicles in the Yeast Vacuole Requires Function of Cvt17, a Putative Lipase. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(1) 2083-2087.
14. Chiang, H-L., Schekman, R., Hamamoto, S. 1996. Selective Uptake of Cytosolic, Peroxisomal and Plasma Membrane Proteins by the Yeast Lysosome. *Journal Biological Chemistry*, 271: 9934-9941.
15. Klionsky,D.,J.,Mart-2004. <http://www.google.com.tr/search?q=cache:DfQXb1TqS4oJ:www.lifesciences.umich.edu/institute/labs/klionsky/research.html+yeast,+vacuole,+function&hl=tr&ie=UTF-8&inlang=tr>
16. Abeliovich, H., Klionsky, D.,J. 2001. Autophagy in Yeast: Mechanistic Insights and Phyological Function. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(3) 463-479.