

6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz: Moleküler ve Kinetik Özellikleri

[6-Phosphogluconate Dehydrogenase: Molecular and Kinetic Properties]

Berivan Tandoğan⁽¹⁾
N. Nuray Ulusu⁽²⁾

- (1) Yüksek lisans öğrencisi, H.Ü.Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara
(2) Doç. Dr., H.Ü.Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Yazışma Adresi

[Correspondence Address]

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya
A.B.D. 06100 Sıhhiye/Ankara
Tel: +90-312-324 58 58
Fax: +90-312-310 05 88
E-mail: nnulusu@hacettepe.edu.tr

Kayıt tarihi 12.11.2003; kabul tarihi 20.12.2003
[Received 12.11.2003; accepted 20.12.2003]

ÖZET

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (6-PGD; E.C. 1.1.1.44) heksozmonofosfat yan yolu olarak da bilinen pentoz fosfat metabolik yolunun ikinci oksidatif basamağını katalizleyen önemli bir enzimdir. 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz eksikliği yaygın olarak görülen bir hastalık olmamakla birlikte, enzim eksikliğinde görülen ağır hemolitik vakalar seyrek de olsa rapor edilmiştir. Ancak, ökaryotik organizmalarda enzimi kodlayan gen bölgesindeki bir delesyonun öldürücü etkileri olabilir. 6-Fosfoglukonat fosfoglukoz izomerazın bir inhibitörüdür ve hücrede birikimi, glikoliz yolunu inhibe eder. Bu nedenle enzim anti-mikrobiyal kemoterapilerde hedef olarak kullanılabilir. Değişik kaynaklardan elde edilen 6-fosfoglukonat dehidrogenazın yapısı ve fonksiyonları hakkında daha fazla bilgiye ulaşmak, anti-mikrobiyal değer taşıyan inhibitörlerin ve çeşitli ilaçların geliştirilmesi bakımından bize yardımcı olacaktır.

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz redüktif biosentezler NADPH, nükleotid sentezine riboz-5-fosfat sağlaması bakımından birçok organizma için son derece önemlidir. Enzim mikroorganizma, bitki ve hayvan olmak üzere birçok canlıda bulunur. Molekül ağırlığı 80.000-120.000 Da arasında değişiklik gösterir ve molekül çoğunlukla homodimerik yapıya sahiptir.

Enzimin doğal substratı 6-fosfoglukonat olmakla birlikte, 2-deoksi-6-fosfoglukonatın oksidatif dekarboksilasyonunu da katalizler. Koenzim özgülüğü bakımından NAD⁺-bağımlı, NADP⁺-bağımlı ve non-spesifik olmak üzere üç tip 6-fosfoglukonat dehidrogenaz bulunur. Kinetik mekanizması, 'ordered (sequential)' kinetiğine uygundur ve NADP⁺, bağlanan ilk substrat; CO₂ salınan ilk ürün ve NADPH serbest kalan son üründür.

Anahtar Kelimeler: 6-fosfoglukonat dehidrogenaz, moleküler özellikler, saflaştırma, kinetik, inhibisyon.

ABSTRACT

6-Phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD; E.C. 1.1.1.44) is an important key enzyme which catalyzes the second oxidative step of the pentose phosphate pathway also called hexosemonophosphate shunt. Deficiency of 6-phosphogluconate dehydrogenase, is very rare and is not associated with hemolytic anemia. However, deletion of the gene encoding 6-phosphogluconate dehydrogenase may be lethal, because accumulation of 6-phosphogluconate causes a decrease in glycolysis due to its inhibitory effect on phosphoglucose isomerase. For this reason, 6-phosphogluconate dehydrogenase may be a potential target for anti-microbial chemotherapy. Understanding more about the structure and function of the enzyme from many sources, would assist developing antimicrobial inhibitors and several drugs.

6-Phosphogluconate dehydrogenase has a crucial role for many organisms due to supply of NADPH for reductive biosynthesis and ribose-5-phosphate for nucleotide synthesis. The enzyme is characterized from numerous animals, plants and microbial sources. In general, 6-phosphogluconate dehydrogenase is composed of two identical subunits and the estimated molecular weight of the enzyme has range from 80.000 to 120.000 Da.

The enzyme is specific to 6-phosphogluconate, but it also catalyzes the oxidative decarboxylation of 2-deoxy-6-phosphogluconate. With respect to the coenzyme specificity, there are three types of enzymes: NAD⁺-dependent, NADP⁺-dependent and non-specific. Kinetic mechanism of the enzyme is known to be 'ordered (sequential)', with NADP⁺ being the first substrate bound; CO₂ the first product released and NADPH the last product released.

Key Words: 6-phosphogluconate dehydrogenase, molecular properties, purification, kinetics, inhibition.

İÇİNDEKİLER

- I. GİRİŞ
- II. KLİNİK ÖNEMİ
- III. VARYANTLARI
- IV. YAPISAL ÖZELLİKLERİ
 1. Aminoasit Bileşimi
 2. Molekül Ağırlığı ve Altbirim yapısı
- V. SAFLAŞTIRILMASI
- VI. KATALİTİK ÖZELLİKLERİ
 1. Substrat ve Koenzim Özgüllüğü
 2. Optimum pH'sı
 3. Kinetik Mekanizması
 4. İnhibitörleri
- VII. SONUÇ
- VIII. KAYNAKLAR

I. GİRİŞ

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (6-PGD; E.C 1.1.1.44, 6-fosfo-D-glukonat-NADP⁺ oksidoredüktaz) pentoz fosfat metabolik yolunun ikinci oksidatif basamağını katalizler (1) ve tepkime sonucu D-ribuloz-5-fosfat, CO₂ ve NADPH oluşur (2). Mikroorganizma, bitki ve hayvan hücrelerinde bulunan enzim, pentoz fosfat yolunda üretilen NADPH' ların %50'sini sentezlemektedir (3).

Oksidatif ve non-oksidatif olmak üzere iki bölüme ayrılan pentoz fosfat yolu (Şekil 1), hücrede yağ asidi, kolesterol sentezi gibi birçok redüktif biyosentezde (4, 5), ksenobiotiklerin detoksifikasyonunda (6) ve oksidatif strese karşı geliştirilen savunma sistemlerinde indirgeyici güç olarak görev alan NADPH ve nükleotit sentezinde ihtiyaç duyulan riboz-5-fosfatların ana kaynağıdır (7).

Pentoz fosfat yolu, eritrositlerde, okside glutatyonun indirgenmesini katalizleyen glutatyon redüktaz için NADPH sağlayarak metemoglobin redüksiyonunu gerçekleştirmektedir (8). Sitokrom P-450 sistemi, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, 6-PGD'nin ürünü olan NADPH' yi indirgeyici güç olarak kullanmaktadır (6). Ayrıca 6-PGD sorbitol yolunun önemli bir enzimi

olan aldoz redüktaz için NADPH sağlaması bakımından da önemlidir (9).

Pentoz fosfat metabolik yolunun sitozolde oluşması, hücre için riboz-5-fosfat ve NADPH sağlayan bu metabolik yolun enerji üretiminden çok biyosentetik reaksiyonlardaki önemini ortaya koymaktadır (10).

II. KLİNİK ÖNEMİ

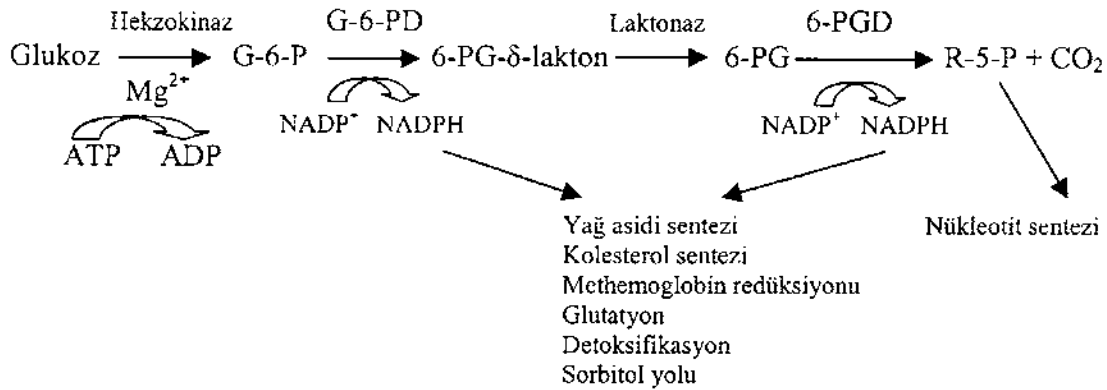
6-Fosfoglukonat dehidrogenazın defektif varyantları, ilk olarak 1964 yılında Brewer ve Dern (11) tarafından, siyah bir Amerikan ailesinde tanımlanmış ancak fertlerde hemolitik anemi saptanmamıştır. Enzim eksikliği sonucu oluşan kronik hemolitik anemi vakaları ise daha sonraki yıllarda rapor edilmiştir (12, 13). Biyokimyasal analizler 6-PGD eksikliğinin 'sessiz' PGD0 allelinden kaynaklandığını göstermektedir (14).

Pentoz fosfat yolunun ilk enzimi olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G-6-PD)'nin insan eritrositlerini *Plasmodium falciparum* enfeksiyonuna karşı koruduğu bilinmektedir (7). Aynı şekilde eritrosit 6-PGD-A'sı ve fosfoglukomutaz gibi enzimlerin değişik fenotiplerinin malaryaya karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (15).

Enzim eksikliği hücrede 6-fosfoglukonatın (6-PG) birikmesine, fosfoglukoz izomerazın ve glukoz metabolizmasının tümüyle inhibe olmasına bağlı olarak toksik etki yaratmaktadır. Bu nedenle kemoterapilerde hedef enzim olarak yararlanılabilir (7).

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz, G-6-PD ve malik enzim gibi NADPH üretiminden sorumlu enzimler ile hidroksimetilglutaril-CoA redüktazın gen ekspresyonunun artması, kolesterol sentezinin artmasına, dolayısıyla hiperkolesterolemiye neden olmaktadır. Hiperkolesteroleminin hem renal bozukluklara hem de arterosklerozise yol açtığı bilinmektedir (16).

Alzhemier hastalığında, inferior temporal korteks tabakasında, G-6-PD ve 6-PGD'nin belirgin artışı gözlenmiştir. Pentoz fosfat yolu enzimlerinin aktivitesindeki bu yükselme hücrede artan prooksidan aktivitesine cevap olarak meydana gelmektedir (17).



Şekil 1 Pentoz fosfat metabolik yolu (oksidatif faz)

III. VARYANTLARI

Yapılan genetik çalışmalar sonucunda 6-PGD' nin PGD-A, PGD-B, PGD-AB, PGD-C', PGD-AC' gibi çeşitli varyantlarının olduğu ortaya çıkarılmıştır (18). Enzimin PGD-A, PGD-B gibi ortak alellerine ek olarak daha sonraları 6-PGD-Lowell ve 6-PGD-Lombok adı verilen varyantları tanımlanmıştır (19, 20). 6-PGD-Singapur varyantı üzerinde yapılan çalışmada 6-PGD-A, 6-PGD-AC ve 6-PGD-C fenotiplerinin izoelektrik noktalarının pH 5.8-6.2 aralığında olduğu saptanmıştır (21).

IV. YAPISAL ÖZELLİKLERİ

1- Amino asit bileşimi:

6-Fosfoglukonat dehidrogenazın amino asit dizisi 20 farklı türde belirlenmiş; iki tür için ise kısmi amino asit dizisi ortaya çıkarılmıştır. Genellikle, enzimler arasındaki en önemli farklılık C-ucunda ortaya çıkar, koyun karaciğeri enzimi bu bölgede iyi korunmuş glisin-serin dizisi içerirken *Escherichia coli* ve *Trypanosoma brucei* den elde edilen enzimin C-ucunda bu diziler bulunmamaktadır (22).

Lactococcus lactis, *Trypanosoma* ve koyun karaciğeri 6-PGD' nin amino asit dizilimleri, substrat bağlanma bölgesinde bu üç tür için aynı olmasına rağmen, koenzim bağlanma bölgesinde farklılık gösterir. Tüm türlerde korunmuş olan Lys-183 substratın 3'-OH grubu ile, Arg-446 ise 6'-fosfat grubu ile ilişkilidir (23). Genel olarak arjinin (Arg-34), NADP⁺ nin 2'-fosfat grubu ile bağ yaparken, *Bacillus subtilis* 6-PGD' sinde tirozin bağlanmada rol oynamaktadır (24).

Enzimin aktif merkezinde yer alan histidin iyonizasyonu enzimin substrata, tirozinin iyonizasyonu ise koenzime bağlanmasını etkiler (25, 26). Yaşlanmayla birlikte hücrede artan oksidatif stres, özellikle liziner üzerinde çeşitli modifikasyonlara neden olarak enzimin aktivitesinde düşüş meydana getirir (27).

2- Molekül Ağırlığı ve Altbirim Yapısı:

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz, molekül ağırlığı 80.000-120.000 Da arasında değişiklik gösteren homodimerik bir proteindir (Tablo-I). Enzim başlıca büyük bir α -heliks

Tablo 1 Çeşitli türlere ait 6-PGD enziminin molekül ağırlığı ve altbirim yapısı

Enzim kaynağı	Molekül ağırlığı	Altbirim molekül ağırlığı ve yapısı	Kaynak
İnsan eritrositi	79000 Da	40000 Da, homodimer	(54)
Koyun karaciğeri	94000 Da	47000 Da, homodimer	(34)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	152000 Da	38000 Da, tetramer	(56)
Sıçan karaciğeri	102000 Da	52000Da, homodimer	(51)
<i>Drosophila melanogaster</i>	105000 Da	55000- 53000, dimer	(55)
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	120000 Da	52500 Da, homodimer	(36)

ile paralel ve antiparalel beta tabakalı yapıdan oluşur (28). Altbirimler fonksiyonel olarak asimetrik (29). Enzimin bir ünitesinde meydana gelecek konformasyonel değişimin, diğer ünitenin koenzime bağlanmasını engelleyerek, inaktif olmasını sağladığı gösterilmiştir (30).

V. SAFLAŞTIRILMASI

Enzim memeli dokusundan ilk olarak Villet ve Dalziel (31) tarafından koyun karaciğeri DEAE selüloz, CM-selüloz gibi iyon değiştirici kromatografiler ve amonyum sülfat çöktürmesi gibi yöntemler kullanılarak %20 verimle 600 kez saflaştırılmıştır. Daha sonra yapılan bir çalışmada, amonyum sülfat çöktürmesi yerine ultrafiltrasyon yöntemi kullanılarak aktivite kaybının minimuma indirilebileceği bildirilmiştir (32). 6-PGD DEAE-Sephadex, CM-Sephadex (33), hidroksiapatit ve NADP⁺-Sephadex (34), NADP⁺-Agaroz (35), Matriks Jel Red-A, (32) Procion Blue HE-GN ve PHE-Resource kolon kromatografileri (36) ile saflaştırılmıştır. G-6-PD ve 6-PGD' nin birlikte saflaştırılmasında ise 2,5-ADP-Sephadex 4B affinite ve DEAE-Sephadex Fast Flow iyon değiştirici kolonları kullanılmıştır. (37- 39). Bu iki enzim DEAE-Sephadex Fast Flow iyon değiştirici kolonundan tuz gradienti ile elüe edilmiştir (37).

Enzimin stabilitesini sağlamak için tüm saflaştırma basamakları +4 C° de yapılmakta ve tamponlara 1mM EDTA ve 1mM β -merkaptotanol, NADP⁺, fenilmetilsulfonil florür ilave edilmektedir (2, 32, 40).

VI. KATALİTİK ÖZELLİKLERİ

1-Substrat ve Koenzim Özgüllüğü:

6-Fosfoglukonat dehidrogenazın koenzim özgüllüğü, NAD⁺-spesifik, NADP⁺-spesifik ve non-spesifik olmak üzere üç farklı özellik gösterir (41). Bazı türlerin kullandıkları koenzimler Tablo-II' de sunulmuştur.

Enziminin doğal substratı 6-PG dir. Ayrıca NADP⁺-bağımlı insan eritrositi, kuzu karaciğeri, *Trypanosoma*

Tablo 2 6-PGD enziminin koenzim özgüllüğü

Enzim Kaynağı	NAD ⁺ -spesifik	NADP ⁺ -spesifik	Non-spesifik	Kaynak
<i>Gluconabacter suboxidans</i>			+	(57)
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	+			(58)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>			+	(59)
<i>Escherichia coli</i>		+		(61)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>		+		(56)
<i>Haemophilus influenzae</i>		+		(61)
Koyun karaciğeri		+		(2)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>		+		(60)

Tablo 3 Çeşitli türlere ait 6-PGD enziminin kinetik sabitleri

Enzim kaynağı	Km _{6-PG} (mM)	Km _{NADP⁺} (mM)	Km _{NAD⁺} (mM)	Ki _{NADPH} (μM)	Kaynak
Koyun karaciğeri	0.015	0.07			(3)
Siçan karaciğeri	0.071	0.013		0.02	(62)
Domuz karaciğeri	0.0135	0.0048			(2)
<i>Streptococcus faecalis</i>	0.024	0.015			(44)
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	0.071	0.043			(36)
<i>Candida boidinii</i>	0.011	0.013			(46)
Tavşan meme bezi	0.054	0.023			(34)
İnsan eritrositi	0.020	0.030		0.030	(54)
<i>Candida utilis</i>	0.054	0.020			(47)
Soya (izoenzim 1)	0.098	0.0030			(63)
Soya (izoenzim 2)	0.109	0.0036			(63)
Siçan böbrek korteksi	0.049	0.056		0.041	(62)
<i>Pseudomonas oleaverans</i>	0.0152		0.055		(64)
<i>Pseudomonas C.</i>	0.01	0.02	0.05		(65)
Boğa adrenal korteksi	0.035	0.018			(66)
<i>Bacillus stearotermophilus</i>	0.02	0.025			(60)

brucei ve *Candida utilis* 6-PGD'sinin substrat analogu olan 2-deoksi-6-fosfoglukonat ve 3-keto-6-fosfoglukonatı kullanabildiği gösterilmiştir (42, 43).

2- Optimum pH' sı:

Enzim pH 5.5-9.1 aralığında aktiftir. Bu aralığın dışında hızlı bir şekilde aktivitesini kaybetmektedir (2). Bazı türlerin optimum pH değerleri: *Streptococcus faecalis* enzimi, 7.5-8.0 (44); insan lökosit, 7.73 (45); *Corynebacterium glutamicum*, 8.0 (36); *Candida boidinii* için ise 8.0-8.5 arasındadır (46).

3-Kinetik Mekanizması:

1961 yılında *Candida utilis* ile yapılan çalışmada enzimin kinetik mekanizmasının random olduğu bildirilmiştir (47). Daha sonra yapılan kinetik çalışmalarda ise 6-PGD' nin katalizlediği oksidatif dekarboksilasyon tepkimesinin kinetik mekanizmasının 'Ordered-Bi-Ter' şeklinde olduğu, NADP⁺ nin bağlanan ilk substrat, NADPH' nin salınan son ürün, CO₂' nin ise ilk ürün olduğu gösterilmiştir (2). Enzimin kinetik sabitlerinin gösterdiği türlere göre farklılıklar Tablo III' de verilmiştir.

VIII. Kaynaklar

- Korber F., (1992), Nomenclature of 6-PGD, the reaction catalysed determines the systematic name, Eur J Clin Chem Clin Biochem, 30(1), 47-49.
- Toews, M.L., Kanji, M., Carper, W., (1976), 6-Phosphogluconate Dehydrogenase, J Biol Chem., 251 (22), 7127-7131.
- Dyson, J.E., D'Orazio, R., Hanson, W., (1973), Sheep Liver 6-

4-İnhibitörleri:

Enzimle yapılan ürün inhibisyonu çalışmalarında NADPH ve ribuloz-5-fosfatın etkisi araştırılmış ve NADPH'nın NADP⁺ bağlanmasını kompetitif, 6-PG bağlanmasını nonkompetitif olarak inhibe ettiği saptanmıştır. Ribuloz-5-fosfat ise hem 6-PG hem de NADP⁺ bağlanmasını nonkompetitif olarak inhibe etmektedir (46).

Koyun karaciğeri 6-PGD' sinin aktivitesinin fruktoz-1,6-bisfosfat ile inhibe olduğu ve bu inhibisyonun 6-PG' ye karşı kompetitif, NADP⁺ye karşı ise non-kompetitif olduğu belirtilmiştir (48). Okzaloasetat, okzalat, fruktoz-1-fosfat, fruktoz-6-fosfat, glukoz-6-fosfat (49) ve glukoz 1,6-bisfosfat (50) Pi, Ppi, sitrat ve sülfat enzimin inhibisyonuna neden olur (49). 2'-AMP hariç tüm nükleozit fosfatlar, 6-PG ve NADP⁺ bağlanmasını kompetitif olarak inhibe etmektedir. 2'-AMP ise NADP⁺ ye karşı kompetitif, 6-PG' ye karşı ise nonkompetitif olarak inhibisyon gösterir. 2'-AMP nin enzime bağlanma bölgesinin diğer nükleozitlerin bağlandığı bölgenin dışında bir yerden olduğu ileri sürülmüştür (49).

Birçok anyon 6-PG' yi kompetitif olarak inhibe etmektedir. Ancak, asetat inhibitör özelliği göstermez ve sodyum asetat diğer anyonların inhibisyonunu belirlemede sabit iyonik kuvvet oluşturmak amacıyla kullanılabilir (51).

Enzim düşük Mg²⁺ konsantrasyonlarında (0.01-0.04 M) aktive, yüksek konsantrasyonlarında ise inhibe olmaktadır (52). *Cryptococcus neoformans*' dan saflaştırılan enzim, diğer fungal dehidrogenazlar gibi, Zn²⁺ ile inhibe olmaktadır; Zn²⁺ substrata karşı kompetitif inhibitördür (53).

VII.SONUÇ

6-Fosfoglukonat dehidrogenaz canlı yaşamında çok önemli olan NADPH ve riboz-5-fosfat gibi moleküllerin sentezinden sorumludur ve enzimle ilgili bir bozuklukta, canlı için olumsuz olabilecek birçok durum ortaya çıkmaktadır. 6-PGD eksikliğinde hücrede 6-PG' nin birikimi glukoz metabolizmasını olumsuz yönde etkiler. Bu nedenle 6-PGD' nin kemoterapilerde hedef enzim olarak seçilebileceği çeşitli araştırmalarla öne sürülmüştür.

Yaşamsal öneminden dolayı 6-PGD' nin çeşitli türlerden saflaştırılması, yapısal ve kinetik özelliklerinin ortaya çıkarılması ile ilgili çalışmalar günümüzde de devam etmektedir

phosphate cycle in rat liver, *Biochem J* 138, 425-435.

6. Murray K.R., Mayes P.A., Granner K.D., Rodwell, W.V., (1993), *Harper's Biochemistry*, s.205, 23th edition, Prentice-Hall International Inc.

7. Barrett.P., (1997), The pentose phosphate pathway and parasitic protozoa, *Parasitol Today*, 13 (1), 11-16.

8. Siems, W.G., Sommerburg, O., Grune.T., (2000), Erythrocyte free radical and energy metabolism, *Clin Nephrol*, 53 (Suppl. 1), 9-17

9. Grunewald, R.W., Weber, I.I., Kinne-Saffran, E., (1993), Control of sorbitol metabolism in renal inner medulla of diabetic rats, *Biochim Biophys Acta*, 1225, 39-47.

10. Krebs, H.A., Eggleston, L.V., (1978), The regulation of the pentose phosphate cycle in rat liver, Weber, G. *Adv Enzyme Regul*, 12, 421-433. Pergamon Press Ltd, Oxford,

11. Brewer G.J, Dern R., (1964), A new inherited enzymatic deficiency of human erythrocytes: 6-phosphogluconate dehydrogenase deficiency, *Am J Hum Genet*, 16, 472-476.

12. Caprari,P., (2001), 6-PGD deficiency in an Italian family, *Ann Hematol*, 80, 41-44.

13. Corrons, V., Colomer D., Pujades A, Rovira A, Aymerich M, Merino A, (1996), Congenital 6-phosphogluconate dehydrogenase deficiency associated with chronic hemolytic anemia in a Spanish family, *Am J Hematol* 53, 221-227.

14. Ajmar, F., Lamedica, D., Garre, C., Ravazzolo, R., (1979), Partial deficiency of red cell 6-phosphogluconate dehydrogenase: a family study, *Hum Genet*, 52(3), 347-51.

15. Bayoumi, R.A, Bashir, A.H, Abdulhadi, H., (1986), Resistance to falciparum malaria among adults in Central Sudan, *Am J.Trop Med.Hyg*, 35 (1), 45-55.

16. Szolkiewicz, M., Sucajtyś.E., (2002), Increased rate of cholestrogenesis a possible cause of hypercholesterolemia in experimental chronic renal failure in rats, *Horm Metab Res*, 34, 234-237.

17. Palmer, A.M, (1999), The activity of the pentose phosphate pathway is increased in response to oxidative stress in Alzheimer's disease, *J Neural Transm*, 106, 317-328.

18. Kurosawa, Y. Tanaka, K., (1991), PGD variants in several wild pig populations of east Asia *Anim Genet*, 22(4), 357-60.

19. Nelson M.S., (1982), Biochemical and genetic characterization of the Lowell variant. A new phenotype of 6-PGD, *Hum Genet*, 62(4),333-6.

20. Sofro, A.S., Kirk, R.L., (1986), Genetics variants of 6-PGD in the Indonesian populations, *Hum Hered*, 36(2), 101-106.

21. Katsunori A., (1990), Analysis of 6-PGD İsozymes by polyacrilamide gel isoelectric focusing, *Electrophoresis*, 11, 509-510.

22. Dohnalek,J.C., Barret, M.A, Adams. M.J., (1998), A 2.8 Å Resolution structure of 6-PGD from the protozoan parasite *Trypanosoma brucei*, *J Mol Biol*, 282(3), 667-681.

23. Lei Z, Chooback L, Cook PF, (1999), Lysine 183 is the general base in the 6-phosphogluconate dehydrogenase-catalyzed, *Biochem*, 38 (35), Aug 31, 11231-11238.

24. Tetaud, E. Hanau, S, Barret, M.P., (1999), 6-phosphogluconate dehydrogenase from *Lactococcus lactis*, *Biochem J*, 338, 55-60.

25. Rippa, M., Picco, C., Signorini, M, Pontremoli,S. (1971), Evidence for a tyrosine residue at the triphosphopyridine nucleotide- binding site of 6-PGD, *Arch Biochem Biophys*, 147, 487-492.

26. Rippa, M. Pontremoli, S. Signorini, M., (1972), Evidences for the involvement of a histidine residue in the binding of the substrate to the 6-PGD, *Arch Biochem Biophys*, 150, 503-510.

27. Gordillo, E., Ayala, A., Bautista, J., Machado, N. (1989), Implication of lysine residues in the loss of enzymatic activity in rat liver 6-phosphogluconate dehydrogenase found in aging, *J Biol Chem*, 269(29), 17024-17028.

28. Adams, M.J., Gover S., Leaback, R., Philips, C., Somers, D.O., (1991), The structure of 6-PGD refined at 2.5 Å resolution, *Acta Crystallogr B*. Oct 1, 47 (Pt 5), 817-20.

29. Rippa,M., Hanau, S., Cervellati, C., Dallochio.F. (2000), 6-PGD: Structure symmetry and functional asymmetry, *Protein Pept Lett* 7(5), 341-348.

30. Hanau, S., Dallochio, F., Rippa, M., (1992), Subunits asymetry in the ternary complex of lamb liver 6-phosphogluconate dehydrogenase detected by a NADP analogue, *Biochim Biophys Acta* 1159, 262-266.

31. Villet, R.H., Dalziel, K., (1969), Purification and properties of 6-phosphogluconate dehydrogenase from sheep liver, *Biochem J*, 115, 636-643.

32. Carne, A., (1982), Purification by dye-ligand chromatography of an NADP-dependent enzyme, 6-phosphogluconate dehydrogenase from lamb's liver, *Anal Biochem* 121, 227-229

33. Silverberg, M., Dalziel, K. (1973), Crystalline 6-phosphogluconate dehydrogenase from sheep liver, *Eur J Biochem*, 38, 229-238.

34. Betts, S.A., Mayer, J.R. (1975), Purification and properties of 6-PGD from rabbit mammary gland, *Biochem J*, 151, 263-270.

35. Somers, D.O., Hajdu, J., Adams, M.J., (1991) A two step purification procedure for sheep liver 6-PGD, *Protein Expr Purif.*, Oct-Dec, 2 (5-6), 385-9.

36. Bianchi, D., Bertrand,O., (2001), Effect of gluconic acid as a secondary carbon source on non-growing L-lysine producers cells of *Corynebacterium glutamicum*. Purification and properties of 6-PGD, *Enzyme Microb Technol* 28, 754-759.

37. Ulusu, N.N, Kus MS, Acan NL, Tezcan EF. (1999), A rapid method for the purification of glucose-6-phosphate dehydrogenase from bovine lens. *Int J Biochem Cell Biol*. Jul;31(7):787-96.

38. Ulusu NN., Tandoğan B., Tezcan EF. (2003). Kinetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase from six-month-old lamb kidney cortex. 13th Balkan Biochemical Biophysical Days & Meeting on metabolic disorders. Published by the Turkish Biochemical Society Volume 28, Number 3 P272 Kuşadası, Turkey 12-15 October,

39. Tandoğan B., Ulusu NN. (2003) Glukoz-6-fosfat dehidrogenazın koyun böbrek korteksinden saflaştırılması. *Klinik Biyokimya Günleri Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği 1. Ulusal Kongresi P94 Kapadokya 1-4 Ekim.*

40. Pearse, B., Rosemeyer, M., (1974), Human 6-phosphogluconate dehydrogenase, *Eur J Biochem*, 42, 213-223.

41. Ohara, H., Uchida, K., Yahata, M., Kondo,H., (1996), NAD-specific 6-phosphogluconate dehydrogenase in lactic acid bacteria, *Biosci Biotech Biochem*, 60, 4, 692-693

42. Hanau, S., Rippa, M., Dallochio, F., (1992), NADPH activates a decarboxylation reaction catalysed by lamb liver 6-phosphogluconate dehydrogenase, *Biochim Biophys Acta*, 1122, 273-277.

43. Rippa, M., Giovannini, P.P., Barret, M.P., (1998), 6-PGD: the mechanism of action investigated by a comparison of the enzyme from different species, *Biochim Biophys Acta* 1429, 83-92.

44. Bridges B.R., Palumbo, M.P., (1975), Purification properties of an NADP-specific 6-phosphogluconate dehydrogenase from *Streptococcus faecalis* *J Biol Chem*, 250(15), 6093-6100.

45. Cottreau, D., Boivin, P., Kahn, A., Milani, A., (1975), Human granulocyte 6-PGD, *J Biochim*, 57, 325-335.

46. Kato, N., Sham, H., Wagner, F., (1979), Purification and properties of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase from a methanol-utilizing yeast, *Candida boidinii*. *Biochim Biophys Acta*, 566, 1-11.

47. Berdis J.A., Cook F., (1993), Overall kinetic mechanism of 6-PGD from *Candida utilis*, *Biochem*, 32, 2036-2040.

48. Dyson, J.E., D'Orazio, R., (1971), 6-phosphogluconate dehydrogenase from sheep liver, *Biochem Biophys Res Com*, 43(1), 183-188.

49. Dyson, J.E., D'Orazio,R., (1973) Sheep liver 6-phosphogluconate dehydrogenase, *J Biol Chem*, 248(15), 5428-5435.

50. Beitner, R., Nordenberg, J., (1979), Inhibition of 6-PGD by glucose 1,6-bisphosphate, *Biochim Biophys Acta*, 583, 266-269.

51. Proscal, D., Holten, D., (1972), Purification and properties of rat liver 6-phosphogluconate dehydrogenase. Activity at normal in vivo concentration of coenzyme, *Biochem*, 11(7), 1310-1314.

52. Veronese, M.F., Boccu, E., Fontana, A., (1974), Isolation and some properties of 6-PGD from *Bacillus stearothermophilus*, *Biochim Biophys Acta*, 334, 31-44.

53. Niehaus, W.G., Richardson, S.B, Wolz, R., (1996), Slow-binding inhibition of 6-phosphogluconate dehydrogenase by zinc ion, *Arch*

Biochem Biophys, 333(2), 333-337.

54. Pearse, B.M., Rosemeyer, M.A., (1975), 6-phosphogluconate dehydrogenase from human erythrocytes, *Methods Enzymol*, 41, 220-226.

55. Williamson, J.H., Krochko, D., Geer, B., (1980), 6-PGD from *Drosophila melanogaster* I. Purification and properties of the A isozyme, *Biochem Genet*, Feb, 18 (1-2), 87-101.

56. Tsai, C.S., Chen, Q., (1998), Purification and kinetic characterization of 6-PGD from *Schizosaccharomyces pombe*, *Biochem Cell Biol*, 76(4), 637-644.

57. Wood, W., (1982), 6-phosphogluconate dehydrogenase from gluconobacter suboxydans, *Methods Enzymol*, 89, 291-295, Academic Press.

58. Sosa-Saavedra F., Leon-Barrios M., Perez-Galdona R., (2001). Pentose phosphate pathway as the main route for hexose catabolism in *Bradyrhizobium* sp lacking Entner-Doudoroff pathway. A role for NAD(+)-dependent 6-phosphogluconate dehydrogenase (decarboxylating), *Soil Biol Biochem*, 33 (3), 339-343.

59. Stourmaras, C., Maurer, P., Kurz, G., (1983), 6-PGD from *Pseudomonas fluorescens* Properties and subunit structure, *Eur J Biochem*, Feb 1, 130(2), 391-6.

60. Veronese, F.M., Boccu, E., Fontana, A., (1976) Isolation and properties of 6-PGD from *E.coli*. Some comparisons with the

thermophilic enzyme from *Bacillus stearothermophilus*. *Biochem*, Sep 7, 15(18), 4026-33.

61. Yoon H., Anderson C.D., Anderson B.M., (1989), Kinetic studies of *Haemophilus influenzae* 6-phosphogluconate dehydrogenase, *Biochim Biophys Acta*, Jan 19; 994 (1): 75-80.

62. Corpas, F.J., Garcia-Salguero L., Barroso, J.B., Aranda, F., Lupianez, J.A., (1995), Kinetic properties of hexose-monophosphate dehydrogenase. II. Isolation and partial purification of 6-phosphogluconate dehydrogenase from rat liver and kidney cortex, *Mol Cell Biochem* Mar 23, 144(2), 97-104.

63. Hong, Z.Q., Les Copeland, (1992), Isoenzymes of 6-PGD from the host fraction of soybean nodules, *J Plant Physiol.*, 39, 313-319.

64. Sokolov, A.P., Luchin, S.V., Trotsenko, IuA., (1980), Purification and properties of G-6-PD and 6-PGD from *Pseudomonas oleaverans*, *Biokhim*, Aug, 45(8): 1371-8.

65. Ben-Bassat, A., Goldberg I., (1980), Purification and properties of G-6-PD (NADP+/NAD+) and 6-PGD (NADP+/NAD+) from methanol-grown *Pseudomonas C.*, *Biochim Biophys Acta*, Jan 11, 611(1), 1-10.

66. Senkevich, S.B., Martynchik, D.I., Vinogradov, V., (1989), Kinetic characteristics of 6-phosphogluconate dehydrogenase from bull adrenal cortex, *Ukr Biokhim Zh*, Sep-Oct; 61(5): 92-5.