



TÜRK YE CUMHUR YET
MARMARA ÜN VERS TES
SA LİK B L MLER ENST TÜSÜ

**G PROTE N BETA/GAMA ALT B R M N N ÜÇÜNCÜL YAPISININ
HOMOLOJ (BENZE M) MODELLEMES İLE BEL RLENMES**

RUK YE MAC T
YÜKSEK L SANS TEZ

B YOF Z K ANAB L M DALI

DANI MAN
Yrd. Doç. Dr. Cevdet NACAR

STANBUL-2012



REPUBLIC OF TURKEY
MARMARA UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

**DETERMINING THE TERTIARY STRUCTURE OF BETA/GAMMA
SUBUNITS OF G PROTEIN USING HOMOLOGY MODELLING**

RUKIYE MACIT
MASTER THESIS

DEPARTMENT OF BIOPHYSICS

SUPERVISOR
Assist. Prof. Dr. Cevdet NACAR

ISTANBUL-2012

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Biyofizik

Tez Sahibi : Rukiye MACİT

Tez Başlığı : G Proteini Beta/Gama Alt Biriminin Üçüncül Yapısının Homoloji (Benzeşim) Modellemesi İle Belirlenmesi

Sınav Yeri : Biyofizik Anabilim Dalı

Sınav Tarihi : 10.02.2012

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans ~~Doktora Tezi~~ olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Yrd. Doç. Dr. Cevdet NACAR

Kurumu

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi

İmza



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Doç. Dr. Osman Ziya SAYHAN

Marmara Üniversitesi Eczacılık
Fakültesi

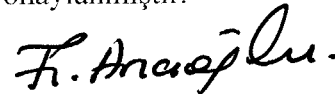


Yrd. Doç. Dr. Ayşe GARİP

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun .28/02/2012 tarih ve 68 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Müdür Vekili

BEYAN

Bu tez çalı masının kendi çalı mam oldu unu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün a amalarda etik dı ı davranı ımın olmadı ını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde etti imi, bu tez çalı masıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdi imi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldı ımı, yine bu tezin çalı lması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranı ımın olmadı ı beyan ederim.

Rukiye MAC T

I. ÖNSÖZ / TE EKKÜR

Her bitim yeni bir başlangıcın habercisi, her başlangıç yeni heyecanların... Bu çalışmanın başlangıcından bitimine kadar bir danışmandan daha özverili ve yardımsever olan, maddi manevi desteğiyle yol gösteren hocam Yrd. Doç. Dr. Cevdet NACAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Marmara Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı'na başladığımda karşılaştığım sıcak ortam, kurulan dostluklar, öğretilen bilgiler ve paylaşılan güzel dakikalar için tüm Biyofizik çalışanlarına ve öğrencilerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Beni; yüksek lisans eğitimim bitmesi için yönlendiren, takıldığım elimden tutup beni kaldıran sabırlı ve yardımsever aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın başlangıcından bugünkü anına kadar sevgi ve desteği benimle olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatına henüz başlayacak olan bebeğim; tez yazarken seni hiç üzmemek ve incitmek istemedim. Benimle olduğun için sana sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada Marmara Üniversitesi GEMHAM biriminin bilgisayar olanaklarında yararlandığımdır.

II. Ç NDEK LER

I. ÖNSÖZ / TE EKKÜR.....	iii
II. Ç NDEK LER.....	iv
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. G R VE AMAÇ.....	3
4. GENEL B LG LER	5
4.1. G Proteinlerinin Yapısal Özellikleri.....	6
4.2. Alfa Alt Birimi	9
4.3. Kompleksinin Yapısı.....	12
5. YÖNTEM	14
5.1. Benze im Modellemesi	14
5.2. NAMD	14
6. BULGU.....	15
6.1. Benze im Modellemesi	15
6.1.1. BETA/GAMMA alt birimlerinin modellenmesi	15
6.1.2. ALFA/BETA/GAMMA alt birimlerinin modellenmesi	21
6.2 NAMD	28
6.2.1. Beta/Gama Alt Birimi Modelinin Enerji Minimizasyonu.....	28
6.2.2. Alfa/Beta/Gama Alt Birimi Modelinin Enerji Minimizasyonu.....	29
7. TARTI MA VE SONUÇ	32
8. KAYNAKLAR	35
9. ÖZGEÇM	38

1. ÖZET

Bu alı mada, hücre içi sinyal iletiminde rol alan ve daha çok merkezi sinir sisteminde bulunan insan Go proteininin , ve altbirimlerinin yapısı benze im modellemesi ile modellendi. Elde edilen model daha sonra yapılması planlanan teorik yapı i lev çalı malarında kullanılacaktır.

Benze im modellemesi için MODELLER yazılımı kullanıldı. Kalıp dizileri olarak sıçan ve sı ır proteinlerinin birle iminden olu a kimerik protein dizisi (PDB ID: 3AH8) ve insan protein dizisi (PDB ID: 2QNS) kullanıldı. Elde edilen en iyi modelin enerjisi moleküler dinamik simülasyon yöntemi kullanılarak minimize edildi. Enerji minimizasyonu için NAMD yazılımı kullanıldı.

Elde edilen dimer ve heterotrimer üçüncül yapıların, X-ı mı kristalografisinden elde edilen benzer protein yapıları ile uyumlu oldu u görüldü.

Anahtar Kelimeler: G proteini, benze im modellemesi, moleküler dinamik simülasyon, NAMD, MODELLER.

2. SUMMARY

Determining the tertiary structure of beta/gamma subunits of G protein using homology modelling

In this study, tertiary structure of β , γ and α subunits of human G α protein which plays an important role in signal transduction and is found mostly in central nervous system was modelled by homology modelling. The tertiary structure obtained from modelling will be used for further studies on structure and function studies.

Homology modelling was done by MODELLER. Chimeric rat/bovine (PDB ID: 3AH8) and human protein (PDB ID: 2QNS) sequences were used as template sequences. Energy of the best model was minimized by molecular dynamic simulation using NAMD.

Tertiary structures of β dimer ve γ heterotrimer are highly consistent with the tertiary structures obtained by X-ray crystallography.

Key words: G protein, homology modelling, molecular dynamic simulation, NAMD, MODELLER.

3. G R VE AMAÇ

Dünyada teknoloji geli tikçe insanlar arası ileti im yolları da çe itlenmektedir. nşanın sosyal hayatındaki bu ileti im çe itlili i net olarak bilinirken biyolojik hücrelerin ileti im ekli ve çe itlili i ara tırma konusudur. Çok hücreli bir organizmanın en küçük yapıta ı olan hücrelerin ileti imi birçok açıdan önemlidir. Hücreler ık, koku, tat gibi çevresel uyarıcıları algılayabilmekte ve onlara tepki verebilmektedir. Sinyal iletiminin incelikleri bilindikçe hücrenin yapısı ve ihtiyacı daha iyi anla ılmaktadır.

Biyolojik mekanizmalarda sinyal iletimi hücreye bir aracı molekül tarafından mesaj gelmesi, mesajın alıcı molekül tarafından ilgili birime iletilmesi ve mesajın biçimine göre hücrenin cevap vermesi ekinde tanımlanabilir (Albert et al 2008).

Birçok biyolojik i levde görev alan ve memelilerdeki sinyal ileti proteinlerinin %30'unu oluşturan G proteinleri birçok hastalı ın do rudan nedeni veya etkenlerinden biri olmaktadır. Hücre zarının sitoplazmik yüzünde bulunan G proteinleri α , β ve γ alt birimlerinden oluşan heterotrimerik proteinlerdir. Enzim ve iyon kanalları gibi efektör moleküllerle etkile erek hücrel yanıtın olu umunda rol oynarlar. Go α altbirimi merkezi sinir sisteminde büyük oranda bulunmakta ve i levhi henüz tam olarak bilinmemektedir (Gutkins 1998).

Mesajı alan ve ilgili birime ileten reseptör molekülü sinyal iletiminde önemli görevler üstlenmektedir. Hücre yüzeyindeki reseptör ailesinin en geni üyesi olan G-protein kenetli reseptörler; GTP ve GDP ba ladıkları için G protein ismi verilen proteinlerle beraber sinyal iletiminde görev yaparlar. Binden fazla üyesi bulunan bu reseptör ailesi çok sayıda sinyal molekülüne yanıt verebilmektedir. G protenlerinin görme, koku, tat gibi duyularımızla alınan çevresel bilginin çevriminde görev aldı ı bilinmektedir. Hücrelerin bazı hormonlarla uyarılması sonucu hücrel yanıtın olu umunda i levleri vardır (Milligan and Kostenis 2006).

G proteinlerinin üçüncül yapısı kısmen belirlenmesine kararın yapının iyileştirilmesi gereken birçok noktası bulunmaktadır. $\beta\gamma$ altbirimlerini belirleme çalışmaları α altbirimine göre daha az sayıdadır. $\beta_1 - \gamma_2$ alt birimleri bu konuda en fazla çalışmaya yapılan ve kristal yapısı bilinen proteinlerdir.

Proteinlerin yapısı deneysel olarak X-ışını kristalografisi, nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi yöntemlerle belirlenmektedir. Bu yöntemler yıllarca süren çalışmalar, pahalı teknik alt yapı ve parasal kaynak gerektirmektedir. Ayrıca birçok proteinin çözünür olmaması bu yöntemlere sınırlılık getirmektedir. Buna karşın bilgisayar donanım ve bilimsel yazılımların olağanüstü gelişimi, deneysel yöntemlerdeki kısıtlamalarla sınırlanmamış olması teorik yöntemleri gittikçe yaygınlaştırmaktadır. Teorik yöntemler aynı zamanda deneysel yöntemleri bütünlemektedir. Bu nedenlerle, söz konusu çalışmada G proteini alfa/beta/gama altbirimlerinin üçüncül yapısının benzerim (homoloji) modellenmesi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen üçüncül yapı Go proteinlerine ilişkin teorik olarak yapılacak olan yapı/ilev çalışmalarında kullanılacaktır. Böylece Go proteininin i levlerinin, görev aldıkları biyolojik süreçlerinin belirlenmesine, ilgili birçok hastalığın mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlayacak çalışmalara veri sağlaması da amaçlanmaktadır.

4. GENEL B LG LER

Sinyal ileti sisteminde görev alan G proteinleri Martin Rodbell'in laboratuvarında 1960 yılında glukagon ba lanma deneyleri sırasında ke fedilmi tir. Guanin nükleotidi ba lamaları nedeniyle G proteinlerine bu isim verilmi tir. Adenilat siklaz enziminin etkinli i incelenirken G proteinin ATP'den daha fazla rol aldı ı anla ılmı ve G protein üzerine yapılan çalı malar hız kazanmı tır. Yapılan ara tırmalarda Mg^{+2} iyonunun G proteininin etkinli ini arttırdı ı kanıtlanmı tır (Birnbaumer 2007a). 1975 yılında Pfeufer ve Helmreich adenilat siklaz birle iminden GTP ba layan bir proteini ayırmayı ba arm ıldır (Noel, Hamm and Sigler 1993).

1977 yılında Ross ve Gilman adenilat siklazın hormonal uyarılmasında, GTP ba layan bir proteini safla tırarak karakterize etmi lerdir. O zaman N_s olarak adlandırılan bu protein daha sonraları G_s olarak adlandırılıp tanımlanan ilk G proteini olmu tur (Birnbaumer 2007b).

G proteinleri, her birinin birden fazla alttipi bulunan , ve isimli üç altbirimden olu maktadır ve bu nedenle heterotrimerik G proteini olarak isimlendirilmektedir. ve altbirimleri birbirlerine sıkıca ba lı bir dimer olup ancak güçlü deterjan çözücülerle ayrı tırılabilmektedir. , ve altbirimlerinin molekül a ırlıkları sırasıyla 39-52 kDa, 35-36 kDa ve 7-10 kDa arasında de i mektedir (Lambright, Noel, Hamm and Sigler 1994, Clapham and Neer 1997). imdiye kadar 16 çe it alttipi (G_s , G_{olf} , 3 çe it G_i , G_{gust} , G_z ve G_o), 5 çe it alttipi (% 82-92'si tanımlanmı G_{1-4} ve % 50'si tanımlanmı G_5) ve 12 çe it alttipi belirlenmi tir (Bourne 1997, Birnbaumer 2007a).

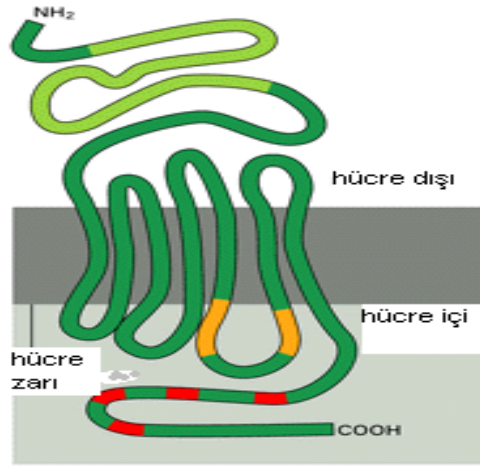
Hücre birçok i levini G protein kenetli reseptörler aracılı ı ile yapmaktadır. G proteinin eksik veya hatalı çalı ması birçok hastalı a sebep olmaktadır. Troid, çe itli tümör hastalıkları, büyüme bozuklukları bu hastalıklar arasındadır (Weinstein, Chen, Xie and Liu 2006). Kolera toksini G proteinleri ile ilgili en yaygın hastalık etkenidir.

Hipertansiyon, bo maca, damar tıkanıklıkları, kemik bozuklukları, Alzheimer, endokrin sistem hastalıkları ve gece körlü ü de bu hastalıklar arasında sayılabilir (Milligan and Kostenis 2006).

4.1. G Proteinlerinin Yapısal Özellikleri

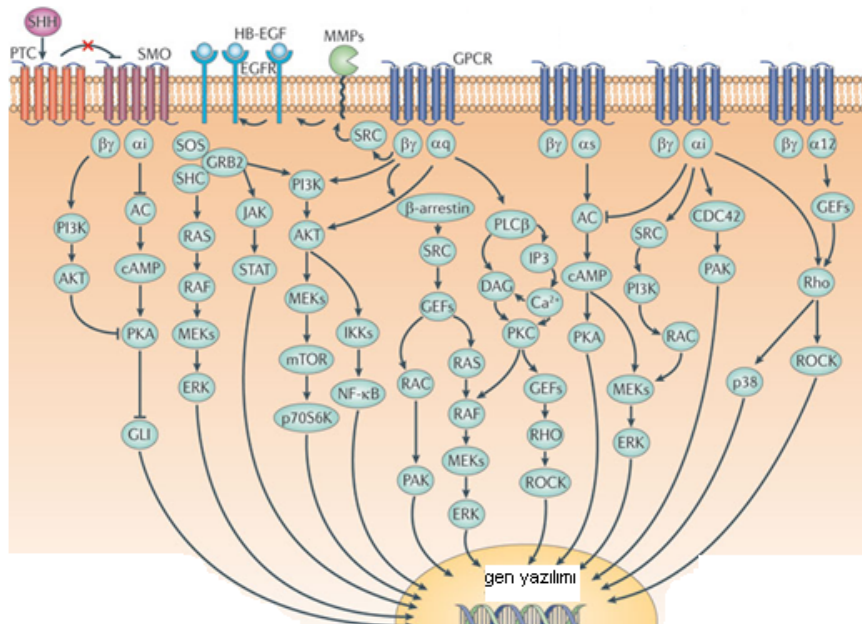
Membrana ba lı reseptörlerden hücre içi efektör enzimlere bilgi aktarımını sa layan G proteinleri GTP-ba layan bir , ve alt birimlerinden oluşur. ve alt birimleri dimeri halinde birbirlerine ba lı halde kalırlar. Her üç alt birim de fenilasyon adı verilen bir mekanizma aracılı ı ile üzerlerindeki bir aminoasit yan zincirine ba lanmış bir ya asiti ile membrana tutunurlar. G proteinlerinin membran iç yüzeyinde serbest bir eilde difüze oldu u sanılmaktadır. Bu da bir hücre içinde bulunan bir G protein popülasyonunun birden fazla reseptör ve efektör ile fazla seçici olamayan bir ili kiye girebilece ini öneren anahtar özelli inde bir durumdur (Albert et al 2008). Heterotrimerik guanin nükleotid ba layan proteinler sinyal iletiminde hücre içi ve hücre dı ı sistemler arasında kilit konumundadır (Oldham and Hamm 2006).

G proteinleri, hücre zarını 7 kez kat eden G-Proteini-Kenetli-Reseptörler (G-Protein-Coupled-Receptor) (GPCR) ile kenetli olarak çalışır. GPCR'ın karboksil grubu (C terminal bölgesi) hücre içinde kalır ve fosforillenme bu bölgede olur. Hücre dı ındaki amino ucu ise (N terminal bölgesi) ligand ba lanma bölgesini oluşturur (Noel, Hamm and Sigler 1993) (ekil 1). Hücre zarını kat eden her birim (TM) yaklaşık 20-27 aminoasit içerir. N terminal bölgesi 7-595 aminoasit, C terminal bölgesi 12-359 aminoasit, hücre içindeki ve hücre zarı dı ındaki halkalar da 5-230 amino asit içerir (Ji, Grossmann and Ji 1998).



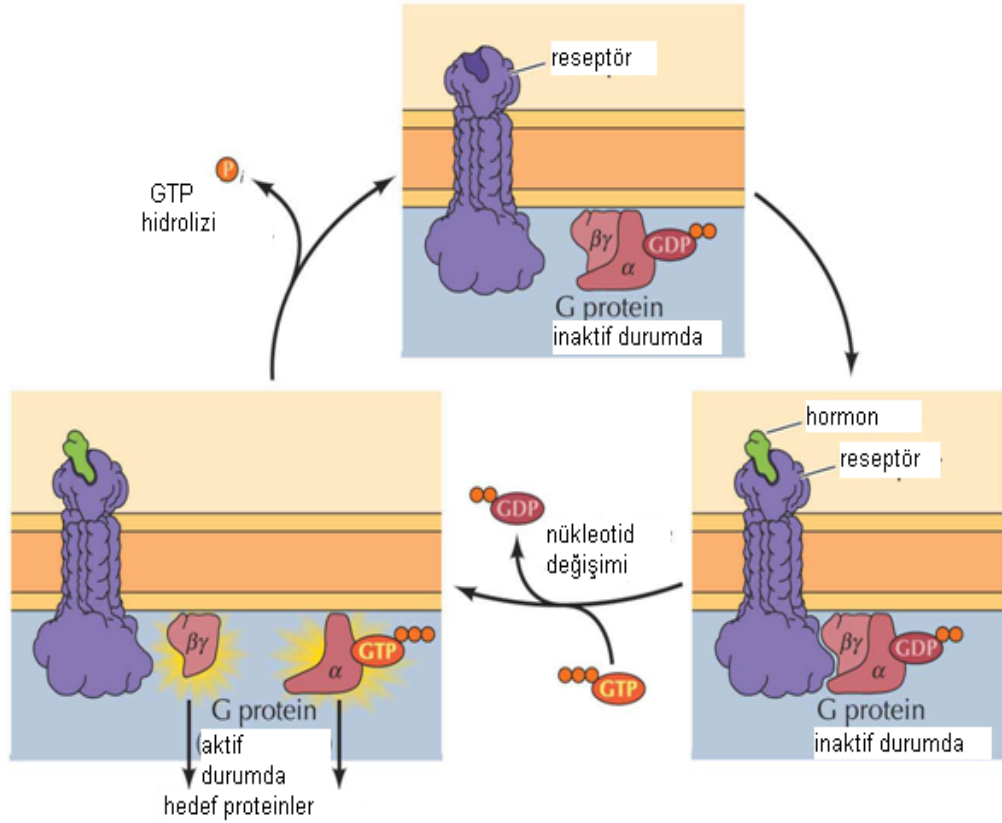
ekil 1: (Albert et al 2008) G proteini-kenetli reseptörün hücre içi, hücre dışı ve hücre zarındaki konumu

G proteini-kenetli reseptöre ligandın bağlanması reseptörün hücre zarı kısmında biçimsel değişime ve onun G proteinine bağlanmasına neden olur (Bourne, Sanders and McCormick 1991). Bu etkileşim G proteinini aktive eder. G protein ayrılarak sinyal hücre içi bileşenlere etkörler aracılığıyla iletir (Rens-Domiano and Hamm 1995). GPCR'ler çok sayıda fizyolojik olayda görev alırlar. Dolayısıyla da birçok hastalıkla ilişkileri vardır ve bu da onları çok sayıda ilacın hedefi haline getirmektedir. (ekil 2)



ekil 2: (Lappano and Maggiolini 2011) G Proteini Sinyal İletimi Yolları

Alfa alt birimi G proteininin aktivitesini düzenleyen guanin nukleotitlerini sağlar. Uyarılmamı durumda alfa altbirimine GDP ba lıdır (Rens-Domiano et al 1995, Albert et al 2008) (ekil 3). Hormon ba lanması reseptörde biçim de i ikli ine neden olur, reseptörün hücre içindeki bölümü G proteinle etkile erek GDP'nin serbest kalmasını ve GTP ba lanmasını sa lar. GTP ba lı alfa birimi beta ve gama dimerinden ayrılır; ayrılan her iki birim hücre içi hedeflere yönelir ve onları etkinle tirir. Alfa altbiriminin aktivitesi GTP'den fosfatın ayrılması ile son bulur. Böylece G proteini tekrar inaktif duruma geçer (Kaziro, Itoh, Kozasa, Nakafuku and Satoh 1991, Rens-Domiano and Hamm 1995). G proteinlerinin kristal yapıları çözümlendikçe aktif ve inaktif konformasyonu daha iyi anla ılmaktadır (Hamm 1998).



ekil 3: (Albert et al 2008) G protein çalı ma mekanizması

G proteinlerinin GTP hidroliz mekanizmalarının detayları farklı olabilir; fakat tüm G proteinlerinde guanin nukleotidleri tanıyan korunmu bölgeler vardır. G

proteinlerde ba lanma bölgeleri ve GTP hidrolizi ba latan anahtar katalitik domain bölgeler kar ılıklı olarak yer de i tirir. GTP' nin GDP'ye hidrolizlenmesi G proteini sinyal düzenleyici molekülü ile sa lanır. Aktif ve inaktif durumlar arasındaki geçi GTP'nin hidrolizlenme hızı ile sınırlandırılır. GTP'nin hidrolizlenmesi GTPaz aktifleyici proteinler (GAPs) veya efektör ba lanmasıyla hızlanır (Sprang 1997).

G protein alt birimi GTPaz aktivitesini uyaran G protein sinyalini düzenleyici proteinlere RGS (RGS1, RGS2,...) adı verilmektedir. RGS ailesinin hepsinde ortak olan bir bölge bulunmaktadır. Bu bölge alt birimine ba lanır ve GTPaz etkinli ini uyararak GTP hidroliz hızını düzenler. Normal olarak yava olan içsel GTP hidroliz hızı, bir RGS proteinin ba lanması ile artar ve böylece etkin G protein sinyal süresi azalır. Düzenleyici protein i levindeki herhangi bir bozulma sinyal süresinin artmasına neden olur. RGS proteinlerinin a ırı ekspresyonu, G protein kenetli reseptörler aracılı ıyla olu an sinyali bloke eder (Koelle 1997, Dohlman and Thorners 1997, Birnbaumer 2007a)

GTPaz aktivitesini düzenleyen RGS proteinleri birden fazla bölge içerebilir ve çok fonksiyonlu çalı ır. Örne in GGL bölgesi (benzeri) RGS6,7,9 ve 11' de bulunur; G 5' in i levsel bir dimeri gibi çalı ır (Birnbaumer 2007a).

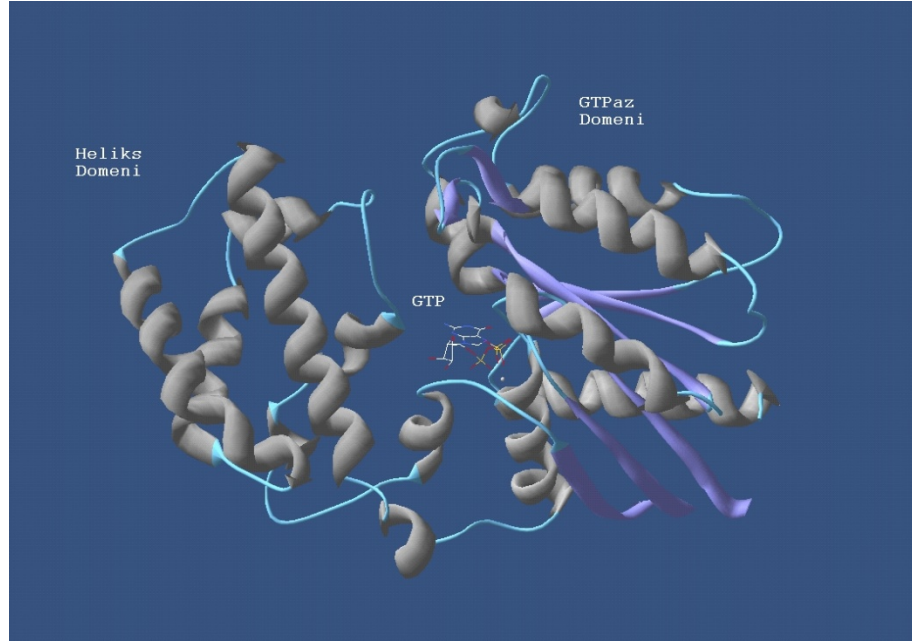
4.2. Alfa Alt Birimi

G protein alt birimi 39-52 kDa ırlı nda olup, GTPaz ve helikal isimli 2 ayrı bölgeden olu maktadır. Helikal bölge GTPaz bölgesine esnek bir e kilde ba lıdır. GTPaz bölgesi üzerinde guanin nükleotid, efektör ve reseptör ba lanma bölgeleri bulunur (Rens-Domiano and Hamm 1995). alt biriminin aminoasit dizileri arasında % 45-80 benzerlik vardır ve alt birimleri, dizisel benzerliklerine göre 4 sınıfa ayrılmaktadır: G_s, G_{i/o}, G_q, G₁₂. Her aileye ait G proteinlerinin dokulardaki da ılımı ve etkile ti i efektörü farklıdır (Tablo 1) (Milligan and Kostenis 2006).

GTPaz i levsel bölgesi, GTPaz süperailesinin tüm proteinlerinde (protein sentez faktörleri, ras proteinleri gibi) çok iyi korunmu bir üçüncül yapıya sahiptir (Kaziro et al 1991) (ekil 4).

İsim	Doku	Efektör
<u>α-Altbirimleri</u>		
$G\alpha_3$ ailesi		
$G\alpha_3$	Her yerde	AC (tüm tipleri) \uparrow
$G\alpha_{sXL}$	Nöroendokrin	AC \uparrow
$G\alpha_{olf}$	Koku epitelyumu, beyin	AC \uparrow
$G\alpha_{10}$ ailesi		
$G\alpha_{11}$	Oldukça yaygın	AC (tip I,III,V,VI,VIII,IV) \downarrow (Direkt düzenlenme)
$G\alpha_{12}$	Her yerde	$G\beta\gamma$ aracılığı ile diğer bazı efektörler düzenlenir.
$G\alpha_{13}$	Oldukça yaygın	Uyarılmış $G\alpha_{11,3}$ 'den serbestlenir.
$G\alpha_0$	Nöronal, nöroendokrin	VDCC \downarrow , GIRK \uparrow ($\beta\gamma$ aracılığı ile)
$G\alpha_z$	Nöronal, trombositler	AC (e.g., V,VI) \downarrow (direkt düzenlenir); Rap1GAP
$G\alpha_{gust}$	Tat hücreleri, saç hücreleri	PDE \uparrow ? ; ($G\beta\gamma$ aracılığı ile diğer efektörler ?)
$G\alpha_{t-r}$	Retinal çubuklar, tat hücreleri	PDE 6 (γ altbirim çubuk) \uparrow
$G\alpha_{t-c}$	Retinal koniler	PDE 6 (γ altbirim çubuk) \uparrow
$G\alpha_{q/11}$ ailesi		
$G\alpha_q$	Her yerde	PLC- β 1-4 \uparrow
$G\alpha_{11}$	Hemen hemen her yerde	PLC- β 1-4 \uparrow
$G\alpha_{14}$	Böbrek, karaciğer,	PLC- β 1-4 \uparrow
$G\alpha_{15/16}$	Hematopoietik hücreler	PLC- β 1-4 \uparrow
$G\alpha_{12/13}$ ailesi		
$G\alpha_{12}$	Her yerde	PDZ-RhoGEF/LARG, Btk, Gap1m, cadherin
$G\alpha_{13}$	Her yerde	p115RhoGEF, PDZ-RhoGEF/LARG, radixin

Tablo 1 : Alfa alt birimlerin 4 sınıfı.



ekil 4: Alfa alt birimi. Alfa alt birimi heliks ve GTPaz olmak üzere iki domenden oluşur.

alt birimi birçok proteinde korunmuş bölge olarak yer alır. Bu bölgeler GTP bağlanmanın ve GTP hidrolizinin temel yapısını düzenler (Kaziro et al 1991).

alt birimi GTPaz bölgesinde yapısal açıdan homolog olan G1, G2, G3, G4 ve G5 olmak üzere beş farklı korunmuş bölge vardır. G1 bölgesi sadece GTP bağlayan proteinlerde değil birçok nükleotid trifosfat kullanan enzimlerde de benzerdir. Ortak motif G-X-X-X-X-G-K-S/T'dir. Bu bölge muhtemelen hidroliz sürecinde doğrudan yer almaktadır. Bu bölge ras21 ile benzerlik gösterir. E bölgesi olarak da bilinen G2 bölgesi; Ras proteininin 32-42 aminoasit bölgesini oluşturur ve efektör (E) olarak isimlendirilir. Ortak motif X-X-X-T-X-X-X'tir. G3 bölgesi Ras proteininde GTP sürecinde de bulunur. D-X-X-G-Q motifi yüksek korunan ortak motiftir. G4 bölgesi GTP'nin guanin zinciri ile doğrudan etkileşime girer. N-K-X-D motifi tüm GTP bağlayan proteinlerde korunmuştur. G5 anahtar bölgesinin tüm GTPazlar için belirli bir motifi bulunmamaktadır. 6-tabaka ve 5-sarmal arasındaki bir halkadır (Sprang 1997) (Tablo 2).

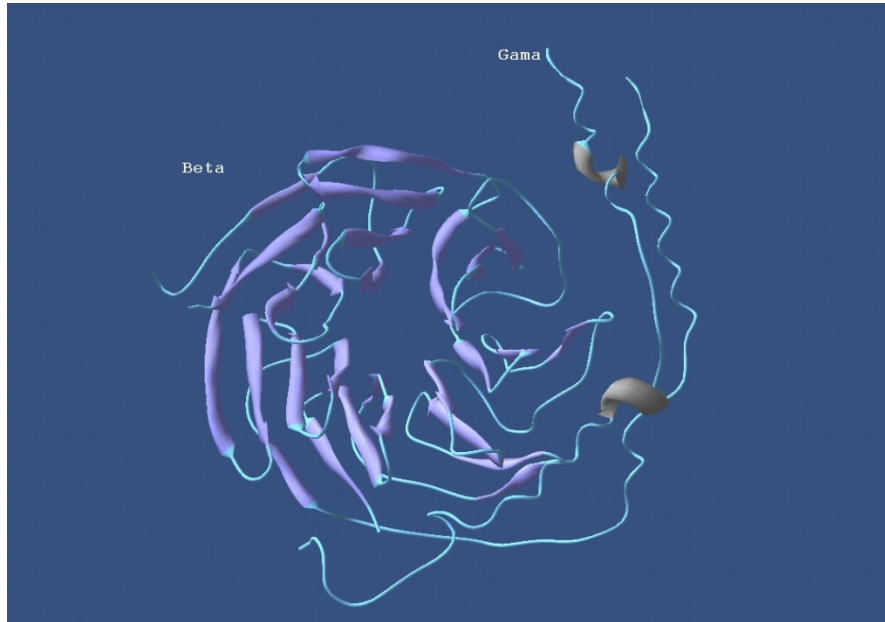
Protein	G-1	G-2	G-3	G-4	G-5
H Ras	10 GAGGVGKS	32 YPDTIED	55 I LD TAGQE	114 VGNKCD	142 YIETS AK
H Rap-1A	10 GSGGVGKS	32 YDPTIED	55 I LD TAGTE	114 VGNKCD	140 FLGSS AK
H Ran	17 GDGGTGKS	40 YVATLGV	63 NWD TAGQE	120 CGNKVD	146 YIETS AK
H ARF-1A	24 GLGAAGKT	45 TIPTIGF	65 VWDVGGQD	124 FANKQD	155 IQATCAT
Ec EF-Tu	18 GHVDHGKT	58 RGI TINT	79 HVDGPGHA	133 FLNKCD	169 IVRGSAL
Tr EF-G	19 AHIDAGKT	61 RGI TITA	81 I IDTPGHV	135 FANKMD	258 VFLGSAL
B G _{50r}	47 GAGESGKS	201 RVL TSGI	221 MFDVGGQR	290 FLNKQD	361 PHFTCAV
B G _{10r}	40 GAGESGKS	178 RVKTTGI	198 LFDVGGQR	267 FLNKKD	321 THFTCAT
B G _{15r}	36 GAGESGKS	174 RVKTTGI	194 MFDVGGQR	263 FLNKKD	317 SHMTCAT
B G _{20r}	40 GAGESGKS	179 RVKTTGI	199 MFDVGGQR	268 FLNKKD	321 CHMTCAT
H G _{25r}	40 GTSNSGKS	179 RDMTTGI	199 MVDVGGQR	268 FLNKKD	322 SHFTCAT
M G _{30r}	40 GTGESGKS	177 RVPTTGI	197 MVDVGGQR	266 FLNKKD	320 SHFTCAT

Tablo 2 : (Sprang 1997) Ras proteini ve alt birimindeki korunmuş bölgeler. (H: İnsan, B: Sıçan, M: Sığan, Ec: E.Coli, Tr: Termofil)

Sinyal iletiminde yapısı ilk belirlenen proteinlerden Ras proteini (Birnbaumer 2007b); alt biriminin GTPaz bölgesiyle yüksek benzerlik göstermektedir. Guanin bağlama bölgesi, Mg⁺² tutunma yeri ve korunmuş bazı bölgeler ortaktır (Sprang 1997).

4.3. Kompleksinin Yapısı

β -altbirimi 7 kanatlı bir pervaneye benzeyen bir yapıya sahiptir. Her bir pervane 40 adet WD (triptofan-aspartat) tekrarı içermektedir. Ayrıca β -altbirimi 20 amino asitlik bir heliks de içermektedir (Milligan and Kostenis, 2006; Clapham and Neer, 1997). $\beta_1\gamma_1$ dimerinin kristal yapısı gama-altbiriminin β -altbirimi ile N-terminal halka ve γ -altbiriminin birçok amino asidi üzerinden etkiletiğini göstermiştir (Sondek ve ark. 1996). β_1 - β_4 büyük ölçüde homolog olmasına karşın β_5 görece daha az homologdur. Bu da β_5 'in farklı bir ilevinin olabileceğini düşündürmektedir. Diğerlerinin aksine farklı γ -altbirimleri ile etkileşim yapabilen β_5 aynı zamanda γ -altbirimine benzeyen domen içeren RGS protein ailesinin üyeleriyle de etkileşime girebilmektedir (Milligan and Kostenis, 2006). γ -altbirimi tek bir heliksten oluşan oldukça basit bir yapıya sahiptir (Şekil 5).



Şekil 5: Beta/Gama dimeri. Beta alt birimi yedi kanatlı bir pervaneyi andırmaktadır.

Yaklaşık 80 bölgeden oluşan 12 birleminin üç boyutlu yapısı bir toroidal yüzeye gömülmüştür. Pervane şeklindeki yapısı diğer proteinlerde de gözlenen bir motiftir (Sprang 1997).

alt birimi alt biriminin etkileşimini azaltır. Bazı araştırmalar alt biriminin, G β hariç, cDNA ekspresyonu sırasında mirostillendiğini ve bunun ile etkileşiminin artırılmasında önemli rol oynadığını göstermektedir. alt birimi kovalent olmayan mekanizmalarla sıkıca etkileşir ve membran bağlanması ve alt biriminin proteolitik süreçlerinden önce hücrel olarak protein birleştirmeleri ortaya çıkar (Kazirot et al 1991).

; pheromone-stimulated MAP kinaz yolunun aktivatörüdür. N-terminal bölgesinin Ste5 proteinine bağlandığı da biliniyor (Hamm He, 1998). dimeri, G - GDP'deki hidrofobik cebe bağlanır. GTP, G'ya bağlanarak hidrofobik cebi ortadan kaldırır ve G'nin G kompleksine olan ilgini azaltır (Lambright et al 1994).

<u>β Altbirimleri</u>		}	AC tip 1 ↓ AC tip II,IV,VII ↑ PLC- β ($\beta_3 > \beta_2 > \beta_1$) ↑ GIRK1-4 (Kir3.1-3.4) ↑ kinazlar (GIRK 2 ve 3) ↑ PI-3-K, β , γ ↑ T tip VDCC (Ca $_v$ 3.2) ↓ (G β_2 , γ_2) N-,P/Q-,R-tip VDCC (Ca $_v$ 2.1-2.3) ↓
β_1	Retinal çubuklar		
β_2	Oldukça yaygın		
β_3	Retinal koniler		
β_4	Oldukça yaygın		
β_5	Esas olarak beyin		
<u>γ Altbirimleri</u>		}	
γ_1, γ_{10d}	Retinal çubuklar, beyin		
$\gamma_{14}, \gamma_{conc}$	Retinal koniler, beyin		
γ_2, γ_6	Yaygın		
γ_3	Beyin, kan		
γ_4	Beyin ve diğer dokular		
γ_5	Yaygın		
γ_7	Yaygın		
γ_8, γ_9	Koku/vomer nazal epitelyum		
γ_{10}	Yaygın		
γ_{11}	Yaygın		
γ_{12}	Yaygın		
γ_{13}	Beyin, tat tomurukları		

AC, adenilat siklaz; PDE fosfodiesteraz; PLC, fosfolipaz C; GIRK, G proteini ile düzenlenen dışarı düzeltilmiş potasyum kanalı; VDCC, voltaj-bağımlı Ca $^{2+}$ kanalı; PI-3-K, fosfoinositol 3-kinaz; GRK, G proteini ile düzenlenen kinaz; RhoGEF, Rho guanin nükleotit değiş-tokuş faktörü

Tablo 3: Beta ve Gama alt birimlerinin insan vücudundaki dağılımı.

5. YÖNTEM

Bu çalışmada protein yapı tayini için benzeşim modellemesi kullanıldı. Benzeşim modellemesi için MODELLER (Sali and Blundell 1993) yazılımının 9v8 ve NAMD (Phillips et al 2005) yazılımının 2.7 sürümü ile çalışıldı. Yazılım için gerekli parametreler Python programlama dili ile yazılan girdi dosyaları hazırlandı.

5.1. Benzeşim Modellemesi

Çalışmada kalıp dizi olarak 2QNS (Johnston et al. 2008) ve 3AH8 (Nishimura et al. 2010) protein dizileri kullanıldı. 2QNS ve 3AH8 proteinlerinin kristal yapılarının çözünürlükleri sırasıyla 3.0 Å ve 2.9 Å'dür. İlk aşamada hedef olarak BETA/GAMMA dimeri; ikinci aşamada hedef olarak ALFA/BETA/GAMMA heterodimeri ile çalışıldı. BETA/GAMMA dimeri için hedef dizi olarak insan G proteinindeki 3 alt birimi ile 1 alt birimleri kullanıldı. ALFA/BETA/GAMMA heterodimeri için hedef dizi olarak insan G proteinindeki Go alt birimi, 3 alt birimi ve 1 alt birimleri kullanıldı.

α , β ve altbirimlerinin kalıp dizilerinin hedef dizilere eşdeşlik (identity) oranları sırasıyla % 50, % 80 ve % 27 iken benzerlik (similarity) oranları sırasıyla % 70, % 91 ve % 45'dir. Eşdeşlik ve benzerlik hesaplamaları için PAM250 matrisi kullanılmaktadır (Hall TA, 1999).

5.2. NAMD

Enerji minimizasyonu 300 K'de, 2 femtosaniye adım aralığı ile 500.000 adımda toplam 1 nanosaniye için gerçekleştirildi.

6. BULGU

6.1. Benze im Modellemesi

Benze im modellemesi 4 a ama içerir. İlk iki a amada kalıp dizilerin belirlenmesi ve seçilmesi i lemleri yapılır. Bu çalı mada hedef dizilerle yüksek benzerli i bulunan 2QNS ve 3AH8 protein dizileri kalıp olarak kullanıldı. Kalıp diziler ile hedef diziler belirli oldu u için modellemeye 3. a ama olan hizalama a amasıyla ba landı. Dördüncü a amada model olu turuldu.

6.1.1. BETA/GAMMA alt birimlerinin modellenmesi

Modelin olu turulması için kalıp dizi ile hedef dizinin amino asit dizilerinin hizalanması gerekmektedir. Bu i lemi yapmak için "hizala.py" girdi dosyası kullanıldı. Önce 2QNS proteini ile beta alt birimi daha sonra gamma alt birimi ayrı ayrı hizalandı.

Beta alt birimi için hizala.py

```
from modeller import *
env = environ()
aln = alignment(env)
mdl=model(env, file='2qns', model_segment=('FIRST:B','LAST:B'))
aln.append_model(mdl,align_codes='2qnsB', atom_files='2qns.pdb')
aln.append(file='Human_GNB-3.ali', align_codes='Human_GNB-3')
aln.align2d()
aln.write(file='Human_GNB-3-2qnsB.ali', alignment_format='PIR')
aln.write(file='Human_GN3-3-2qnsB.pap', alignment_format='PAP')
```

```

gamma alt birimi için "hizala.py";
from modeller import *
env = environ()
aln = alignment(env)
mdl= model(env, file='2qns', model_segment=('FIRST:B','LAST:B'))
aln.append_model(mdl,align_codes='2qnsB', atom_files='2qns.pdb')
aln.append(file='Human_GNB-1.ali', align_codes='Human_GNB-1')
aln.align2d()
aln.write(file='Human_GNB-1-2qnsB.ali', alignment_format='PIR')
aln.write(file='Human_GNB-1-2qnsB.pap', alignment_format='PAP')

```

Her iki hizalama i leminin çıktıları sırasıyla Human_GNB-3-2qnsA.pap ve Human_GNB-1-2qnsB.pap dosyaları ile görüntülendi.

Human_GNB-3-2qnsA.pap

```

aln.pos      10      20      30      40      50      60
2qnsA      -----LRQEAEQLKNQIRDARKACADATLSQITNNIDPVGRIQMRTRRTLGRHLAKIYAMHWGT
Human_GNB-3 MGEMEQLRQEAEQLKKQIADARKACADVTLAELVSGLEVVGRRVQMRTRRTLGRHLAKIYAMHWAT
_consrvd      ***** ** ***** **          *** *****

aln.pos      70      80      90      100     110     120     130
2qnsA      DSRLLVASASQDGKLIWDSYTTNKVHAIPLRSSWVMTCAYPAGNYVACGGLDNICSIYNL---K
Human_GNB-3 DSKLLVSASQDGKLIWDSYTTNKVHAIPLRSSWVMTCAYPAGNFVACGGLDNMCSIYNLKSRE
_consrvd      ** *****

aln.pos      140     150     160     170     180     190
2qnsA      GNVVRSRELAGHTGYLSCCRFLDDNQIVTSSGDTTCALWDIETGQQTTFGTGDMVMSLSLAPD
Human_GNB-3 GNVKVSRELSAHTGYLSCCRFLDDNNIVTSSGDTTCALWDIETGQQKTVFVGHGTGDCMSLAVSPD
_consrvd      *** *****

aln.pos      200     210     220     230     240     250     260
2qnsA      TRLFVSGACDASAKLWDVREGMCRQFTFTGHESDINAICFFPNGNAFATGSDDATCRLFDLADQE
Human_GNB-3 FNLFISGACDASAKLWDVREGTCRQFTFTGHESDINAICFFPNGEAICTGSDDASCRLFDLADQE
_consrvd      ** *****

aln.pos      270     280     290     300     310     320
2qnsA      LMTYSHDNIICGITSVSFSKSGRLLLAGYDDFNCNVWDALKADRAGVLAGHDNRVSLGVTDDGM
Human_GNB-3 LICFSHESIICGITSVAFSLSGRLLFAGYDDFNCNVWDSMKSERVIGLSGHDNRVSLGVTADGM
_consrvd      * ** ***** ** *****

aln.pos      330     340
2qnsA      AVATGSWDSFLKIWN
Human_GNB-3 AVATGSWDSFLKIWN
_consrvd      *****

```

Human_GNG-1-2qnsB.pap;

```
_aln.pos          10          20          30          40          50          60
2qnsB             -----AQARKL---VEQLKMEANIDRIKVSAAAADLMAYCEAHAKEDPLLPVPAENPFR
Human_GNG-1      MPVINIEDLTEKDCLKMEVDQLKKEVTLERMLVSKCCEVRDYVEERSGEDPLVKGIPEDKNPFK
_consrvd                **  *  ***  *   *  ***          *  *   ****   *   ***
_aln.pos          70
2qnsB             -----
Human_GNG-1      ELKGGCVIS
_consrvd
```

Çıkan hizalama sonuçları model yapımında kullanmak için hepsi tek girdi dosyasında birle tirmek gerekmektedir. Her iki dosya BETA2-GAMMA1.ali girdi dosyasında birle tirildi ve model.py girdi dosyası ile 20 model olu turuldu.

BETA2-GAMMA1.ali

```
>P1;2qns
structureX:2qns.pdb::A::B::::
-----LRQEAQQLKNQIRDARKACADATLSQITNNIDPVGRIQMRTRRTLGRHLAKIYAMHWGTDSSRLVLSASQ
DGKLIWDSYTTNKVHAIPLRSSWVMTCAIYAPSGNYVACGGLDNICSIYNL---KGNVRSRELAGHTGYLSCCR
FLDDNQIVTSSGDTTCALWDIETGQQTTTFTGHTGDVMSLSLAPDTRLFVSGACDASAKLWDVREGMCRQFTTGH
ESDINAICFFPNGNFATGSDDATCRLFDLRADQELMTYSHDNIICGITSVSVFSKSGRLLLAGYDDFNCNVWDAL
KADRAGVLAGHDNRVSLGVTDDGMAVATGSWDSFLKIWN
/
-----AQARKL---VEQLKMEANIDRIKVSAAAADLMAYCEAHAKEDPLLPVPAENPFR-----*
>P1;BETA2-GAMMA1
sequence:BETA2-GAMMA1::::::::::
MGEMEQLRQEAQQLKKQIADARKACADVTLAELVSGLEVGRVQMRTRRTLGRHLAKIYAMHWATDSKLLVLSASQ
DGKLIWDSYTTNKVHAIPLRSSWVMTCAIYAPSGNFVACGGLDNMCSIYNLKSREGNVKVSRELSAHTGYLSCCR
FLDDNNIVTSSGDTTCALWDIETGQQKTVFVGHGDCMSLAVSPDFNLFISGACDASAKLWDVREGTCRQFTTGH
ESDINAICFFPNGEAICTGSDDASCRLFDLRADQELICFSHESIICGITSVAFSLSGRLLFAGYDDFNCNVWDSM
KSERVGIILSGHDNRVSLGVTADGMAVATGSWDSFLKIWN
/
MPVINIEDLTEKDCLKMEVDQLKKEVTLERMLVSKCCEVRDYVEERSGEDPLVKGIPEDKNPFKELKGGCVIS*
```

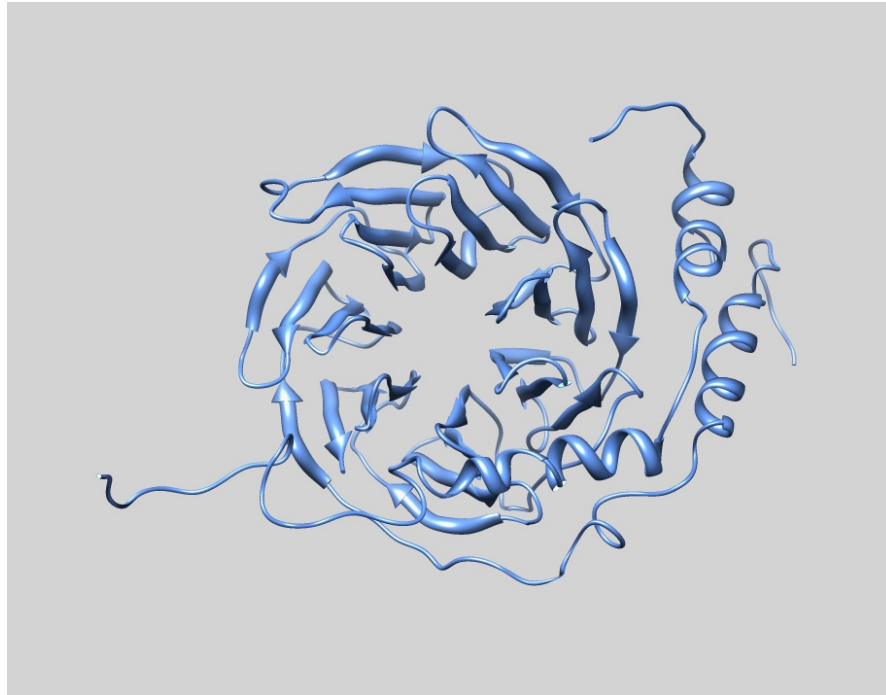
Model.py

```
from modeller import *
from modeller.automodel import *
env = environ()
a = automodel(env, alnfile='BETA2-GAMMA1.ali',
              knowns='2qns', sequence='BETA2-GAMMA1',
              assess_methods=(assess.DOPE, assess.GA341))
a.starting_model = 1
a.ending_model = 20
a.make()
```

20 model arasından “dope score” de eri en yüksek olan BETA2-GAMMA1.B99990018.pdb modeli seçildi (ekil 6). Elde edilen modelin Beta/Gama’nın genel topolojisine sahip oldu u görüldü (ekil 7). Seçilen modelin de erlendirilmesi model_de erlendir.py girdi dosyası ile yapıldı. Kalıp dizinin de erlendirilmesi kalıp_de erlendir.py girdi dosyası ile yapıldı.

```
>> Summary of successfully produced models:
-----
Filename                               molpdf      DOPE score      GA341 score
-----
BETA2-GAMMA1.B99990001.pdb             4964.64746     -41432.25000    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990002.pdb             4889.14844     -41952.42578    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990003.pdb             4770.18066     -42533.26563    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990004.pdb             5025.77100     -42213.48438    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990005.pdb             4854.46875     -42334.86328    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990006.pdb             4784.81494     -42228.85547    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990007.pdb             4956.42725     -42666.03516    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990008.pdb             4942.84668     -41715.27344    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990009.pdb             4922.79541     -42454.75000    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990010.pdb             4995.46387     -42063.46094    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990011.pdb             4936.79150     -41788.47656    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990012.pdb             4927.53906     -42316.60547    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990013.pdb             4906.75293     -41979.88281    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990014.pdb             4831.97656     -42525.27344    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990015.pdb             4880.29395     -41712.32422    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990016.pdb             4840.74805     -41727.17578    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990017.pdb             4868.08105     -41610.54297    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990018.pdb             5163.94971     -41409.43359    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990019.pdb             4927.12256     -41696.18750    1.00000
BETA2-GAMMA1.B99990020.pdb             4960.84863     -42478.76172    1.00000
```

ekil 6.: 20 modelin ekran çıktı listesi



ekil 7. Beta/Gama alt birimi modeli.

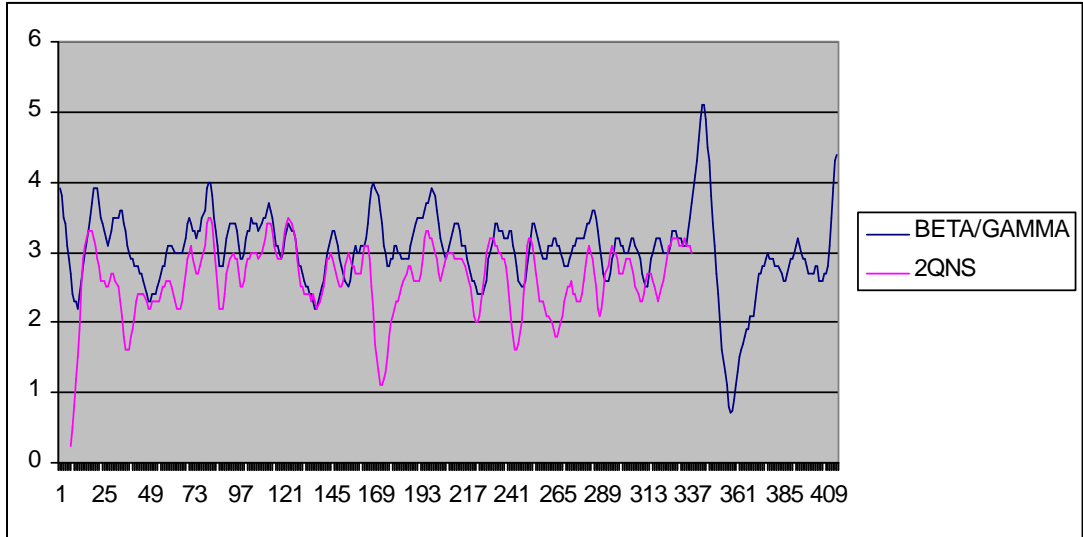
```
model_de_erlendir.py  
from modeller import *  
from modeller.scripts import complete_pdb  
log.verbose() # request verbose output  
env = environ()  
env.libs.topology.read(file='$(LIB)/top_heav.lib')  
env.libs.parameters.read(file='$(LIB)/par.lib')  
mdl = complete_pdb(env, 'BETA2-GAMMA1.B99990018.pdb')  
s = selection(mdl)  
s.assess_dope(output='ENERGY_PROFILE NO_REPORT', file='BETA2-  
GAMMA1.profile',  
normalize_profile=True, smoothing_window=15)
```

```

kalip_de_erlendir.py
from modeller import *
from modeller.scripts import complete_pdb
log.verbose()
env = environ()
env.libs.topology.read(file='$(LIB)/top_heav.lib')
env.libs.parameters.read(file='$(LIB)/par.lib')
env.io.atom_files_directory = './:../atom_files'
mdl = complete_pdb(env, '2QNS.pdb', model_segment=('FIRST:A',
'LAST:A'))
s = selection(mdl)
s.assess_dope(output='ENERGY_PROFILE NO_REPORT',
file='2QNS.profile', normalize_profile=True, smoothing_window=15)

```

Model ve kalıp dizilerinin de erlendirme ıktıları .profil uzantılı dosyalara yazıldı. Bu dosyaların içindeki potansiyel enerji de erleri kullanılarak kalıp dizi ile modellenen dizinin DOPE potansiyel grafi i çizildi (Grafik 1).



Grafik 1 : 2QNS dizisi ile BETA/GAMMA alt biriminin dope potansiyel grafi i

6.1.2. ALFA/BETA/GAMMA alt birimlerinin modellenmesi

ALFA/BETA/GAMMA alt birimleri ile 3AH8 dizisinin modellenmesi BETA/GAMMA ile 2QNS dizileri için yapılan işlemlere benzer olarak yapıldı. Öncelikle üç alt birim ile 3AH8 dizisi hizala.py girdi dosyaları ile ayrı ayrı hizalandı.

```
Human_GoA ile 3AH8 dizileri için hizala.py
from modeller import *
env = environ()
aln = alignment(env)
mdl = model(env, file='3AH8',
model_segment=('FIRST:A','LAST:A'))
aln.append_model(mdl, align_codes='3AH8A',
atom_files='3AH8.pdb')
aln.append(file='Human_GoA.ali', align_codes='Human_GoA')
aln.align2d()
aln.write(file='Human_GoA-3AH8.ali', alignment_format='PIR')
aln.write(file='Human_GoA-3AH8.pap', alignment_format='PAP')
```

```
Human_GNB-3 ile 3AH8 dizileri için hizala.py
from modeller import *
env = environ()
aln = alignment(env)
mdl = model(env, file='3AH8',
model_segment=('FIRST:A','LAST:A'))
aln.append_model(mdl, align_codes='3AH8A',
atom_files='3AH8.pdb')
aln.append(file='Human_GNB-3.ali', align_codes='Human_GNB-3')
aln.align2d()
aln.write(file='Human_GNB-3-3AH8.ali', alignment_format='PIR')
aln.write(file='Human_GNB-3-3AH8.pap', alignment_format='PAP')
```

Human_GNG-1 ile 3AH8 dizileri için hizala.py

```
from modeller import *
env = environ()
aln = alignment(env)
mdl = model(env, file='3AH8',
model_segment=('FIRST:A','LAST:A'))
aln.append_model(mdl, align_codes='3AH8A',
atom_files='3AH8.pdb')
aln.append(file='Human_GNG-1.ali', align_codes='Human_GNG-1')
aln.align2d()
aln.write(file='Human_GNG-1-3AH8.ali', alignment_format='PIR')
aln.write(file='Human_GNG-1-3AH8.pap', alignment_format='PAP')
```

Hizalama i leminin çıktı dosyaları ; 'Human_GoA-3AH8.pap' , 'Human_GNB-3-3AH8.pap' ve 'Human_GNG-1-3AH8.pap' ALPHAO-BETA2-GAMMA1.ali girdi dosyasında birle tirildi.

Human_GoA-3AH8.pap

```
_aln.pos      10      20      30      40      50      60
3AH8A      -----AEDKAAVERSKMIDRNLRDGEDRSRRELKLLLLGTGESGKSTFIKQMRIIHGSGYSDDKR
Human_GoA  MGCTLSAEERAALERGAIEKNLKEDGISAAKDVKLLLLGAGESGKSTIVKQMKIIHEDGFSGEDVK
_consrvd      **  * * * * *  **  ***      *****  *****  ***  ***  * * **
_aln.pos      70      80      90      100     110     120     130
3AH8A      GFTKLVYQNIPTAMQAMIRAMDTLKIPIKYEHKKAHAQLVREVD--VEKVSFENPYVDAIKSLWND
Human_GoA  QYKPVVYSNTIQSLAAIVRAMDTLGIIEYGDKERKADAKMVCVVSRRMEDTEPFSAELLSAMMRLWGD
_consrvd      ** *      *  ***** * *      ** * * * * *  *  *      *  ** *
_aln.pos      140     150     160     170     180     190     200
3AH8A      PGIQECYDRRREYQLSDSTKYLLNDLDRVADPSYLPQTQDVLVRVPTTGIIEYPDFLQSVIFRMVD
Human_GoA  SGIQECFNRSREYQLNDSAKYYLDSLDRIGAADYQPLEQDILRTRVKTGTGIVETHFTFKNLHFRLFD
_consrvd      ***** * ***** ** ***** ***      * * ** * * * * * * * * * * ** *
_aln.pos      210     220     230     240     250     260
3AH8A      VGGQRSERRKWIHCFENVTSIMFLVALSEYDQVLVESDNENRMEESKALFRTIITYPWFQNSSVILF
Human_GoA  VGGQRSERKKWIHCFEETAIIFCVALSQYDQVLHEDETTNRMHESLMLFDSICNNKFFIDTSIILF
_consrvd      ***** ***** ** * * ***** ***** *      *** ** ** *      *  * ***
_aln.po      270     280     290     300     310     320     330
3AH8A      LNKKDLLEEKIMYSHLVDYFPEYDGPQRDAQAAREFILKMFVDLNPDSKIIYSHFTCATDTENIRF
Human_GoA  LNKKDLFGEKIKKSPLTICFPEYTGPN-TYEDAAAYIQAFESKNRSPNKEIYCHMTCATDTNNIQV
_consrvd      ***** *** * * ***** **      *  * * * *      * * * * ***** **
_aln.pos      340     350
3AH8A      VFAAVKDTIILQLNLK-----
Human_GoA  VFDAVTDIIIANNLRGCGLY
_consrvd      ** * * * * **
```

Human_GNB-3-3AH8.pap

```
_aln.pos          10          20          30          40          50          60
3AH8B      -----AEQLKNQIRDARKACADATLSQITNNIDPVGRIQMRTRRTLRGHLAKIYAMHWGT
Human_GNB-3  MGEMEQLRQEAQLKKQIADARKACADVTLAELVSGLEVVGRRVQMRTRRTLRLGHLAKIYAMHWAT
_consrvd          ***** ** ***** **          *** ***** *
_aln.pos          70          80          90          100         110         120         130
3AH8B      DSRLLVASASQDGKLIWDSYTTNKVHAIPLRSSWVMTCAYAPSGNYVACGGLDNICSIYNLKTRE
Human_GNB-3  DSKLLVSASQDGKLIWDSYTTNKVHAIPLRSSWVMTCAYAPSGNFVACGGLDNMCSIYNLKSRE
_consrvd      ** ***** ***** ***** ***** ***** **
_aln.pos          140         150         160         170         180         190
3AH8B      GNVRVSRELAGHTGYLSCCRFLDDNQIVTSSGDTTCALWDIETGQQTTTFTGHTGDVMSLSLAPD
Human_GNB-3  GNVKVSRELSAHTGYLSCCRFLDDNNIVTSSGDTTCALWDIETGQQKTVFVGHGTGDCMSLAVSPD
_consrvd      *** ***** ***** ***** ***** * * ***** **
_aln.pos          200         210         220         230         240         250         260
3AH8B      TRLFVSGACDASAKLWDVREGMCRQFTTGHESDINAICFFPNGNFATGSDDATCRLFDLRADQE
Human_GNB-3  FNLFISGACDASAKLWDVREGTCRQFTTGHESDINAICFFPNGEAICTGSDDASCRLFDLRADQE
_consrvd      ** ***** ***** ***** * ***** *****
_aln.pos          270         280         290         300         310         320
3AH8B      LMTYSHDNIICGITSVSFSKSGRLLLAGYDDFNCNVWDALKADRAGVLGHGHDNRVSLGVTDDGM
Human_GNB-3  LICFSHESIICGITSVAFSLSGRLLFAGYDDFNCNVWDSMKSERVIGLGHGHDNRVSLGVTADGM
_consrvd      * ** ***** ** ***** ***** * * * ***** **
_aln.pos          330         340
3AH8B      AVATGSWDSFLKIWN
Human_GNB-3  AVATGSWDSFLKIWN
_consrvd      *****
```

Human_GNG-1-3AH8.pap

```
_aln.pos          10          20          30          40          50          60
3AH8G      -----QARKL---VEQLKMEANIDRIKVSAAAADLMAYCEAHAKEDPLLTVPASENP--
Human_GNG-1  MPVINIEDLTEKDKLKMEVDQLKKEVTLERMLVSKCCEEVDRDYVEERSGEDPLVKGIPEDKNPFK
_consrvd          ** * * * * * * * * * * * * * * * * *
_aln.pos          70
3AH8G      -----
Human_GNG-1  ELKGGCVIS
_consrvd
```

ALPHAO-BETA2-GAMMA1.ali

>P1;3AH8

structureX:3AH8:13:A:67:G::::

-----AEDKAAVERSKMIDRNLREDGERSRRELKLLLLGTGESGKSTFIKQMRIIHGSGYSDEDKRGFTKLVYQ
NIFTAMQAMIRAMDTLKIPYKYEHKHAHAQLVREVD--VEKVSAFENPYVDAIKSLWNDPGIQECYDRRREYQLS
DSTKYYLNDLDRVADPSYLPQTQDVLVRVPTGTGIIYPPFDLQSVIFRMVDVGGQRSEKRWIHC FENVTSIMFL
VALSEYDQVLVESD NENRMEESKALFRITIIYPPWFQNSSVILFLNKKDLLEEKIMYSHLVDYFPEYDGPQRDAQA
AREFILKMFVDLNPDSKIIYSHFTCATDTENIRFVFAAVKDTILQLNLK-----

/

-----AEQLKNQIRDARKACADATLSQITNNIDPVGRIQMRTRRTLGRHLAKIYAMHWGTD S RLLVSASQ
DGKLIWDSYTTNKVHAIP LRS SWMT CAYAPSGNVVACGGLDNICSIYNLKTREGNVRVSREL AGHTGYLSCCR
FLDDNQIVTSSGDTTCALWDIETGQQTTTFTGHTGDVMSLSLAPDTRLFVSGACDASAKLWDVREGMCRQTFTGH
ESDINAICFFPNGNAFATGSDDATCRLFDLRADQELMTYSHDNIICGITSVSFSKSGRLLLAGYDDFN CNVWDAL
KADRAGVLGHDRVSVCLGVTDDGMAVATGSWDSFLKIWN

/

-----QARKL---VEQLKMEANIDRIKVSAAAADLMAYCEAHAKEDPLLTPVPASENP-----*

>P1;ALPHAO-BETA2-GAMMA1

sequence:ALPHAO-BETA2-GAMMA1: : : : 0.00: 0.00

MGCTLSAEERAALERGKAIEKNLKEDGISAAKDVKLLLLGAGESGKSTIVKQMKIIHEDGFSGEDVKYKPVVYS
NTIQSLAAIVRAMDTLGIEYGDKERKADAKMVC DVVSRMEDTEPFS AELLSAMMRLWGD SGIQECFNRSREYQLN
DSAKYYLDSLDRIGAADYQPLEQDILRTRVKTGTGIVETHFTFKNLHFRLFDVGGQRSEKRWIHC FEEVTAIIFC
VALSGYDQVLHEDETTNRMHESLMLFDSICNNKFFIDTSIILFLNKKDLFGEKIKKSPLTICFPEYTGPN-TYED
AAAYIQAQFESKNRSPNKEIYCHMTCATDTNNIQVVFDAVTDIIANNLRGCGLY

/

MGEMEQLRQEAQKQIADARKACADVTLAELVSGLEVVGRVQMRTRRTLGRHLAKIYAMHWATDSKLLVSASQ
DGKLIWDSYTTNKVHAIP LRS SWMT CAYAPSGNVVACGGLDNMCS IYNLKSREGNVKVSRELSAHTGYLSCCR
FLDDNNIVTSSGDTTCALWDIETGQQKTVFVGHTGDCMSLAVSPDFNLFISGACDASAKLWDVREGTCRQTFTGH
ESDINAICFFPNGEAICTGSDDASCRLFDLRADQELICFSHESIICGITSVAFSLSGRLLFAGYDDFN CNVWDSM
KSERVGILSGHDRVSVCLGVTADGMAVATGSWDSFLKIWN

/

MPVINIEDLTEKDKLMEVDQLKKEVTLERMLVSKCCEVRDYVEERSGEDPLVKGIPEDKNPFKELKGGCVIS*

ALPHAO-BETA2-GAMMA1.ali ve 3AH8 dizileri için model.py girdi dosyası ile 50 model olu turuldu.

```

model.py
from modeller import *
from modeller.automodel import *

env = environ()
a = automodel(env, alnfile='ALPHAO-BETA2-GAMMA1.ali',
              knowns='3AH8', sequence='ALPHAO-BETA2-GAMMA1',
              assess_methods=(assess.DOPE, assess.GA341))

a.starting_model = 1
a.ending_model = 50
a.make()

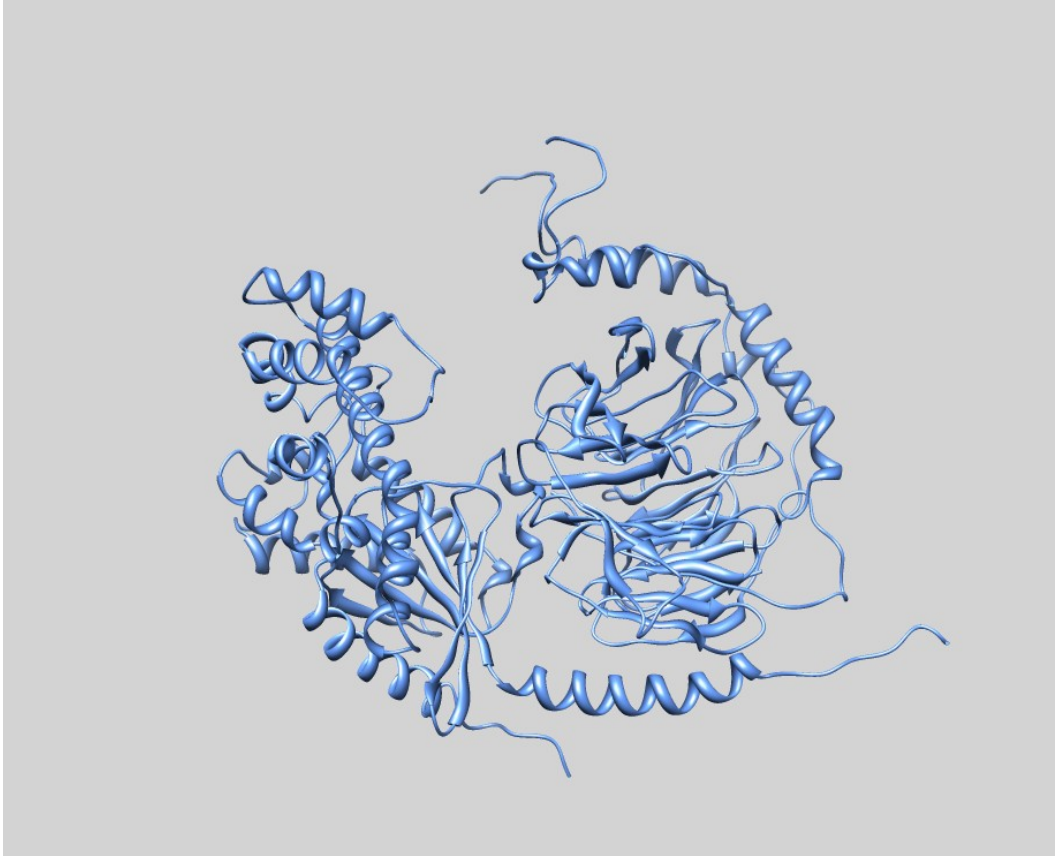
```

Olu turulan 50 model içinden 50. Model de erlendirme için seçildi (ekil 8).

Filename	molpdf	DOPE score	GA341 score
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990001.pdb	5008.56982	-83201.70313	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990002.pdb	5042.49512	-83019.95313	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990003.pdb	4910.43896	-83569.82031	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990004.pdb	5133.68408	-83195.27344	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990005.pdb	4957.78467	-83793.70313	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990006.pdb	4940.58789	-83715.05469	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990007.pdb	5125.35986	-83454.25781	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990008.pdb	5094.00244	-83412.53906	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990009.pdb	4962.77344	-84196.00781	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990010.pdb	5077.26123	-83207.70313	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990011.pdb	4959.87256	-83877.46875	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990012.pdb	4763.10010	-83419.97656	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990013.pdb	4854.69092	-83367.31250	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990014.pdb	5114.64453	-83927.37500	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990015.pdb	5000.09375	-83500.60156	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990016.pdb	5207.79980	-83929.53125	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990017.pdb	4900.05127	-83626.17188	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990018.pdb	5009.57422	-83274.48438	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990019.pdb	4849.91797	-83434.81250	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990020.pdb	5401.85205	-83329.24219	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990021.pdb	4995.34473	-83672.80469	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990022.pdb	5305.25439	-83743.53906	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990023.pdb	4866.84814	-83372.08594	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990024.pdb	5098.33398	-83831.35938	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990025.pdb	4663.34619	-83394.67969	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990026.pdb	4925.79102	-83125.33594	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990027.pdb	4920.63574	-84254.36719	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990028.pdb	5243.83789	-83579.68750	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990029.pdb	5102.02100	-83263.96094	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990030.pdb	5113.39502	-83365.96875	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990031.pdb	5236.26318	-83137.19531	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990032.pdb	4867.02051	-84388.48438	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990033.pdb	5012.58740	-83266.34375	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990034.pdb	5229.61377	-83667.99219	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990035.pdb	5205.83691	-83382.54688	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990036.pdb	5054.41895	-84076.83594	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990037.pdb	5203.41699	-83584.00000	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990038.pdb	5119.92480	-84307.10156	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990039.pdb	5257.79346	-83910.91406	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990040.pdb	5156.36279	-83276.45313	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990041.pdb	5023.69092	-83260.32031	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990042.pdb	5167.97852	-83753.27344	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990043.pdb	5132.15479	-83375.60938	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990044.pdb	5069.47998	-84108.19531	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990045.pdb	5170.72363	-84139.89063	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990046.pdb	5044.37793	-83472.35938	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990047.pdb	5260.58447	-83641.35938	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990048.pdb	5092.29834	-83411.16406	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990049.pdb	5016.91553	-83449.16406	1.00000
ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990050.pdb	4909.79785	-82035.17188	1.00000

ekil 8.: 50 modelin ekran çıktı listesi

Elde edilen modelin Beta/Gama'nın genel topolojisine sahip oldu u görüldü (ekil 9). Modelin de erlendirilmesi model_de erlendir.py girdi dosyası ile yapıldı. Çıkan sonuçlar 3AH8 dizisinin kalıp_de erlendir.py girdi dosyası ile yapılan de erlendirme sonucu ile kar ıla tırıldı ve grafi i çizildi (Grafik 2).



ekil 9. Alfa/Beta/Gama alt birimi modeli.


```

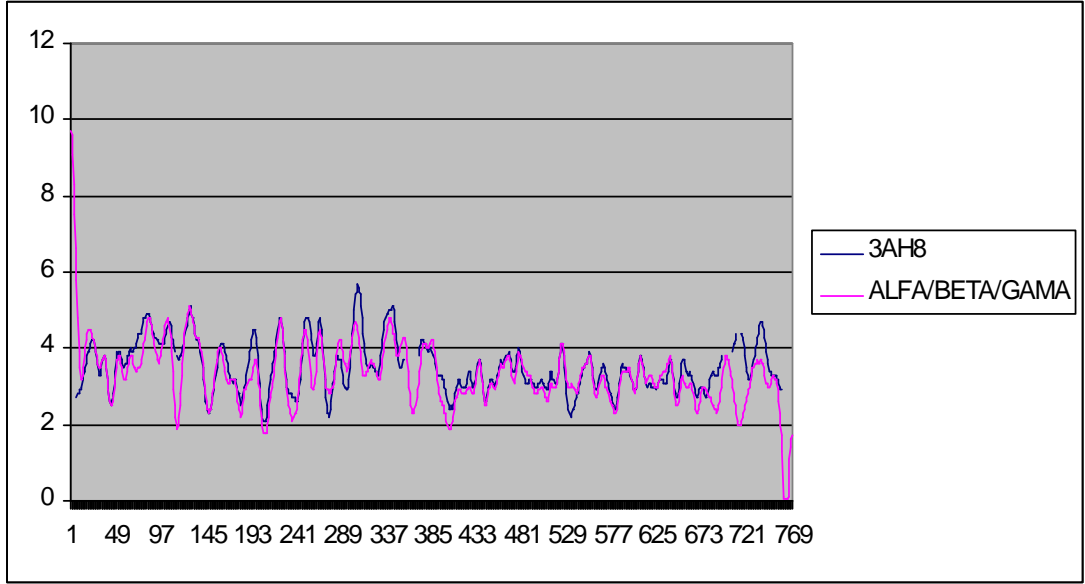
model_de erlendir.py
from modeller import *
from modeller.scripts import complete_pdb
log.verbose()
env = environ()
env.libs.topology.read(file='${LIB}/top_heav.lib')
env.libs.parameters.read(file='${LIB}/par.lib')
mdl = complete_pdb(env, 'ALPHAO-BETA2-GAMMA1.B99990050.pdb')
s = selection(mdl)
s.assess_dope(output='ENERGY_PROFILE NO_REPORT', file='ALFAO-
BETA2-GAMMA1.profile', normalize_profile=True, smoothing_window=15)

```

```

kalip_de erlendir.py
from modeller import *
from modeller.scripts import complete_pdb
log.verbose()
env = environ()
env.libs.topology.read(file='${LIB}/top_heav.lib')
env.libs.parameters.read(file='${LIB}/par.lib')
env.io.atom_files_directory = './:../atom_files'
mdl = complete_pdb(env, '3AH8-2.pdb', model_segment=('FIRST:A',
'LAST:A'))
s = selection(mdl)
s.assess_dope(output='ENERGY_PROFILE NO_REPORT', file='3AH8-
2.profile', normalize_profile=True, smoothing_window=15)

```



Grafik 2: 3AH8 dizisi ile ALFA/BETA/GAMMA alt birimlerinin dope potansiyel grafi i

6.2 NAMD

Elde edilen modellerin enerji minimizasyonu için önce NAMD yazılımı için gerekli girdi dosyaları olu turulup uygun formata dönü türüldü. Ardından moleküler dinamik simülasyonu 300 K'de 2 nanosaniye adım aralı ıyla 500.000 adımda 1 nanosaniye için gerçekte tirildi.

6.2.1. Beta/Gama Alt Birimi Modelinin Enerji Minimizasyonu

NAMD için gerekli girdi dosyaları Gobg.pgn beti i ile olu turuldu.

```

Gobg.pgn
package          require psfgen
topology          top_all22_prot.inp
pdbalias         residues HIS HSE
pdbalias         atom ILE CD1 CD
segment U        {pdb Gobg.pdb}
coordpdb         Gobg.pdb U
guesscoord
writepdb         modelbg.pdb
writepsf         modelbg.psf

```

Gobg.conf beti i ile NAMD'ye uygun parametreler verilerek enerji minimizasyonu gerçekle tirildi.

Gobg.conf

```
coordinates      C:/NAMD/modelbg.pdb
set temperature  300
paraTypeXplor    off
paraTypeCharmm   on

outputname       modelbg_min
binaryoutput     no
timestep         2
stepspercycle    10
structure        C:/NAMD/modelbg.psf
cutoff           12
exclude          scaled1-4
1-4scaling       1
parameters       ./par_all22_prot.inp
temperature      $temperature
switching        on
switchdist       10

minimize         500000
```

6.2.2. Alfa/Beta/Gama Alt Birimi Modelinin Enerji Minimizasyonu

NAMD için gerekli girdi dosyaları Goabg.pgn beti i ile olu turuldu.

Goabg.pgn

```
package          require psfgen
topology         top_all22_prot.inp
pdbalias         residues HIS HSE
pdbalias         atom ILE CD1 CD
segment U        {pdb Goabg.pdb}
coordpdb         Goabg.pdb U
guesscoord
writepdb         modelabg.pdb
writepsf         modelabg.psf
```

```

CA. Yönetici: Komut İstemi - namd2 abg.conf
Warning: Low global exclusion count, possible error!
Warning: This warning is not unusual during minimization.
Warning: Increasing pairlistdist or cutoff may avoid this.
ENERGY:      146      1954887.5587      20381.2614      2364.8676      1034.0875
             -11221.6523      35804.0857      0.0000      0.0000      0.0000
             2003250.2086      0.0000      2003250.2086      2003250.2086      0.0000

LINE MINIMIZER BRACKET: DX 1.12974e-006 1.01676e-005 DU -1276.27 2.28112e+006 DU
DX -3.34581e+009 2.78234e+009 3.55332e+010
The last position output (seq=146) takes 0.000 seconds, 52.793 MB of memory in use
Warning: Low global exclusion count, possible error!
Warning: This warning is not unusual during minimization.
Warning: Increasing pairlistdist or cutoff may avoid this.
ENERGY:      147      1957546.4968      20219.7741      2364.3487      1034.1566
             -11220.4193      32944.2909      0.0000      0.0000      0.0000
             2002888.6478      0.0000      2002888.6478      2002888.6478      0.0000

LINE MINIMIZER BRACKET: DX 7.27988e-007 4.01747e-007 DU -1637.83 361.561 DUDX -3
.34581e+009 -6.46959e+008 2.78234e+009
The last position output (seq=147) takes 0.000 seconds, 52.793 MB of memory in use
Warning: Low global exclusion count, possible error!
Warning: This warning is not unusual during minimization.
Warning: Increasing pairlistdist or cutoff may avoid this.
ENERGY:      148      1956987.8241      20253.4290      2364.4595      1034.1381
             -11220.6787      33438.0754      0.0000      0.0000      0.0000
             2002857.2474      0.0000      2002857.2474      2002857.2474      0.0000

LINE MINIMIZER BRACKET: DX 8.40097e-008 3.17738e-007 DU -31.4004 392.961 DUDX -6
.46959e+008 -8.85631e+007 2.78234e+009
LINE MINIMIZER REDUCING GRADIENT FROM 3.09621e+010 TO 3.09621e+007
The last position output (seq=148) takes 0.001 seconds, 52.793 MB of memory in use

```

ekil 10. Moleküler dinamik simülasyonun enerji minimizasyonu ekran çıktısı

Goabg.conf beti i ile NAMD'ye uygun parametreler verilerek enerji minimizasyonu gerçekleştirildi.

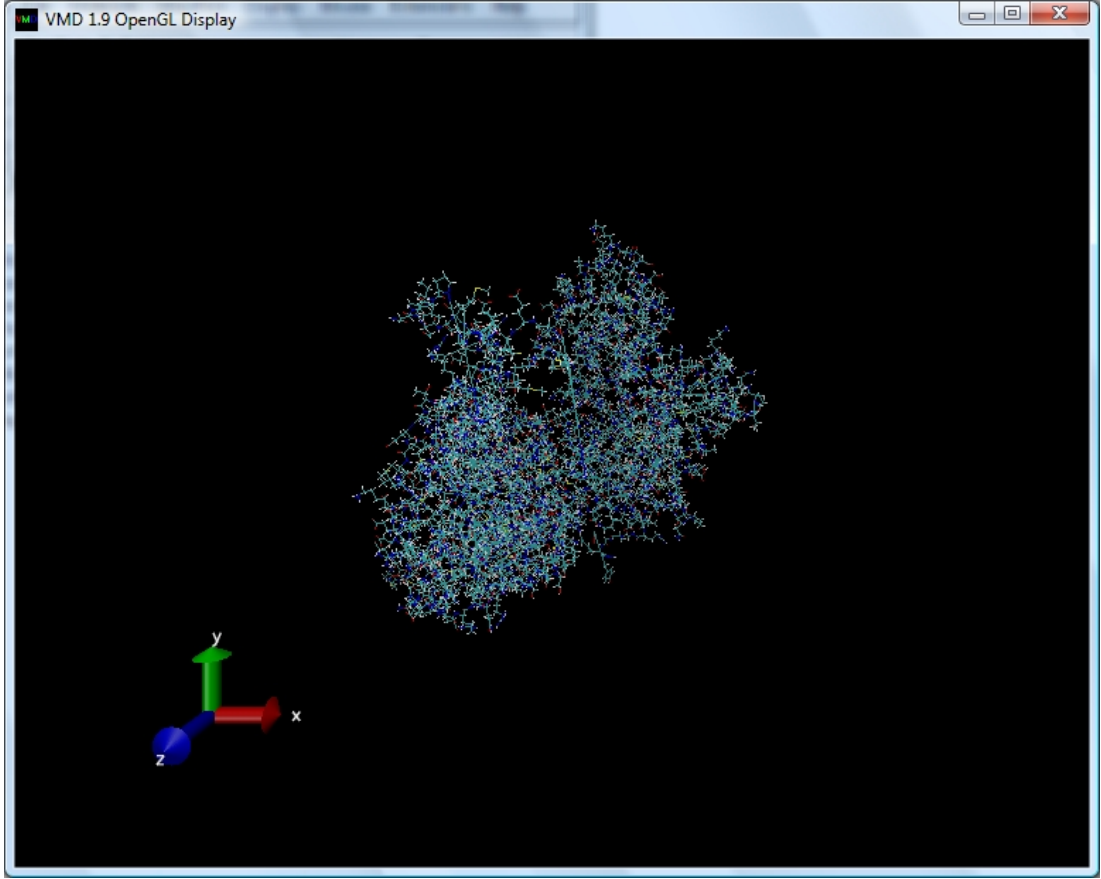
```

Gobg.conf
coordinates      C:/NAMD/modelabg.pdb
set temperature  300
paraTypeXplor   off
paraTypeCharmm  on

outputname      modelabg_min
binaryoutput    no
timestep        2
stepspercycle   10
structure       C:/NAMD-2/modelabg.psf
cutoff          12
exclude         scaled1-4
1-4scaling      1
parameters      ./par_all122_prot.inp
temperature     $temperature
switching       on
switchdist      10

minimize        500000

```



ekil 11. Moleküler dinamik simülasyonun enerji minimizasyonu için çıktısı

7. TARTI MA VE SONUÇ

Protein yapı/i lev çalı maları deneysel yöntemlerin teknik yetersizlikleri ve büyük miktarda zaman ve maddi olanak gereksinimleri nedeniyle teorik yöntemlerle de yürütölmektedir. Bilgisayar donanımındaki hızlı geli im teorik yöntemlere olan ilgiyi gittikçe arttırmakta, bu yöntemlerle elde edilen verilerin en az deneysel yöntemlerden elde edilen veriler kadar güvenilir olmasını sa lamaktadır. Bu çalı mada, insan Go proteininin üçüncül yapısı, daha ileri protein-protein ve protein-efektör etkile imlerinin DOCKING gibi teorik yöntemlerle belirlenmesinde kullanılmak üzere, benze im modellemesi ve moleküler dinamik simülasyon yöntemleriyle belirlenmi tir.

nsan Go proteininin üçüncül yapısı X-1 ını kristallografisi yöntemiyle belirlenmesine kar ın (Slep et al. 2008, PDB ID: 3C7K), deneysel yöntemlerle belirlenen yapıların eksiklikleri nedeniyle aynı üçüncül yapıyı teorik yöntemlerle de belirleme gere ini duyduk. X-1 ını kristallografi tekni i en yaygın yöntem olmasına kar ın, sadece kristalle ebilen proteinlere uygundur. Oysa suda çözünemeyen membran proteinlerini kristalle tirmek mümkün de ildir. Bunun yanında kristal yapı proteinin içinde bulundu u do al, fizyolojik bir yapı olmadı ından, atomik koordinatlar hakkında ciddi farklılıklara neden olabilmektedir. Oysa yapı/i lev çalı malarında koordinatların çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Alternatif olarak kullanılan nükleer manyetik rezonans (NMR) yönteminde protein sulu ortamda bulundu undan bu sorun a ılmaktadır. Ancak, NMR ile sadece 30 kDa altında moleköl a ırlı ına sahip proteinler çalı ılabilmektedir. Ayrıca NMR'ın çözünlü ü X-1 ını kristallografiden her zaman daha kötüdür.

X-1 ını kristallografisinden elde edilen insan Go proteininin üçüncül yapısının yapı/i lev çalı malarında kullanmak istemememizi dört ana nedeni bulunmaktadır. Birincisi, daha serbest hareket edebilen amino asitlerin kristal olu umunu engellemesi nedeniyle proteinin yapısından 28 amino asit çıkarıldıktan sonra proteinin kristalle tirilmesidir. Bu nedenle yapıda eksik amino asitler bulunmaktadır.

Bu durumda yapı/i lev çalı malarında bu amino asitlere denk dü ebilecek etkile imler gözden kaçabilecektir.

kincisi, kristallin 2.90 Å olan çözünürlü ü görece kötüdür. Ba uzunlukları 2 Å civarında oldu undan, etkile im çalı maları için kullanılacak yapının çözünürlü ünün de 2 Å civarında olması tercih edilir.

Üçüncüsü, X-1 ını kristallografisinden elde edilen yapılar aslında deney verileriyle en iyi uyumu sa layan modellerdir. Bu nedenle de bu yapının tamamen gerçe i yansıttı ı söylenemez. Keza, bu yapılar WHAT IF gibi yazılımlarla de erlendirildi inde çok sayıda anormal ba uzunlu u ve açısı içerd i görülmektedir. Bu tür yapıların kalitesi serbest R de eri (Free R Value) denilen bir parametre ile belirlenmektedir. yi bir model için Serbest R de erinin 0.2'den küçük ve çözünürlü ün % 10'nundan dü ük olması gerekmektedir. Oysa söz konusu proteinin serbest R de eri 0.311'dir. Bu nedenle elde edilen yapının deneysel verilerle çok iyi uyu madı ı, atomik koordinatların çok güvenilir olmadı ı anla ılmaktadır.

Dördüncüsü, X-1 ını kristallografisinden elde edilen yapıyı olu turan atomların serbestlik derecelerini gösteren B faktörünün (temperature factor) birçok atom beklenenden çok büyük olmasıdır. Bu de erin 50-60'dan fazla olması, söz konusu atomların atomik koordinatlarının büyük belirsizlikler içerd ini ve di er atomlarla olan etkile imleri hakkında anlamlı bir çıkarım yapılamayaca ını gösterir.

Tüm bunlar göz önüne alındı ında teorik olarak elde edilen üçüncül yapının protein-protein ve protein-efektör etkile imlerinde kullanılmasının uygun oldu u görülmektedir. Özellikle hedef ve kalıp dizilerinin benzerli inin yüksek oldu u durumlarda, çok sayıda adımdan olu an (~ 10.000.000 adım) moleküler dinamik simülasyonlar oldukça güvenilir atomik koordinatların elde edilmesini sa lamaktadır. Bu nedenle bu tez çalı ması kapsamında yüksek dizisel benzerlik içeren bir kalıp kullanılarak modelleme yapıldı ve model moleküler dinamik

simülasyon kullanılarak iyile tirildi. Böylece protein-protein ve protein-efektör çalı malarında kullanılmak üzere insan Go proteinin tersiyer yapısı elde edildi.

8. KAYNAKLAR

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, Wilson J, Hunt T.(2008). *Molecular Biology of the Cell*. In: Mechanizm of the cell communication. Garland Publishing, New York, 5ed, p879-964.
2. Birnbaumer L.(2007a). Expansion of signal transduction by G protein. The second 15 years or so: From 3 to 16 subunits plus dimers. *Biochimica et Biophysica Acta*,1768(4): 772-793.
3. Birnbaumer L.(2007b). The discovery of signal transduction by G proteins. A personal account and an overview of the initial findings and contributions that led to our present understanding. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1768(4): 756-771.
4. Bourne HR, Sanders DA, McCormick F.(1991). The GTPase superfamily: Conserved structure and molecular mechanism. *Nature*, 348: 117-127.
5. Bourne HR.(1997). Current opinion in cell biology. In: How receptors talk to trimeric G proteins. *Current Biology*, San Francisco, p134-142.
6. Clapham DE, Neer EJ.(1997). G protein subunits. *Annual Review of Pharmacology & Toxicology*, 37: 167-203.
7. Dohlman HG, Thorner J. (1997). RGS proteins and signaling by heterotrimeric G proteins. *The journal of biological chemistry*, 272 (7): 3871-3874.
8. Gutkind JS.(1998). The pathways connecting G protein-coupled receptors to the nucleus through divergent mitogen-activated protein kinase cascades. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(4): 1839-1842.
9. Hall TA. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.
10. Hamm HE.(1998). The many face of G protein signalling. *The journal of biological chemistry*, 273(2): 669-972.
11. Ji HT, Grossmann SM, Ji I.(1998). G protein-coupled receptor. *The journal of biological chemistry*, 273(28): 17299-17302.

12. Johnston CA, Kimple AJ, Giguère PM, Siderovski DP. (2008). Structure of the parathyroid hormone receptor C terminus bound to the G-protein dimer G β 1 γ 2. *Structure*, Jul;16(7):1086-94.
13. Kaziro Y, Itoh H, Kozasa T, Nakafuku M, Satoh T.(1991).Structure and function of signal-transducing GTP-binding proteins. *Annual Review of Biochemistry*, 60: 349-400.
14. Koelle MR. (1997). A new family of G protein regulators-theRGS proteins. *Curr Opin Cell Biology*, 9 (2): 143-147.
15. Lambright DG, Noel JP, Hamm HE, Sigler BP.(1994). Structural determinants for activation of the α -subunit of a heterotrimeric G protein. *Nature*, 369:621-628.
16. Lappano R, Maggiolini M.(2011). G protein-coupled receptors: Novel targets for drug discovery in cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10: 47-60
17. Milligan G, Kostenis E.(2006). Heterotrimeric G-proteins: A short history. *British Journal of Pharmacology*, 147: S46-S55.
18. Nishimura A, Kitano K, Takasaki J, Taniguchi M, Mizuno N, Tago K, Hakoshima T, Itoh H.(2010). Structural basis for the specific inhibition of heterotrimeric Gq protein by a small molecule. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 107: 13666-13671
19. Noel J, Hamm HE, Sigler PA.(1993). The 2.2Å crystal structure of transducin- α complexed with GTP S. *Nature*, 366: 654-663.
20. Oldham WM, Hamm HE.(2006). Structural basis of function in heterotrimeric G proteins.*Quarterly Reviews of Biophysics*,50: 15-38
21. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. Oct; 25(13):1605-12.
22. Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, Chipot C, Skeel RD, Kale L and Schulten K.(2005) Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, 26: 1781-1802.

23. Rens-Domiano S, Hamm HE.(1995). Structural and functional relationships of heterotrimeric G-proteins. *FASEB Journal*, 9: 1059-1066.
24. Sali A and Blundell TL.(1993). Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *J. Mol. Biol.*, 234: 779-815.
25. Simms J, Hall NE, Lam PHC, Miller JL, Christopoulos A, Abagyan R, Sexton PM.(2009). *G protein-coupled receptor in drug discovery*. In: Homology modelling of GPCRs. Ed: Leifert WR, Humana Press, New Jersey, p97-113.
26. Slep KC, Kercher MA, Wieland T, Chen CK, Simon MI, Sigler PB.(2008). Molecular architecture of Gα₁₆ and the structural basis for RGS16-mediated deactivation. *Proc.Natl.Acad.Sci.Usa*, 105: 6243-6248
27. Sondek J, Böhm A, Lambright DG, Hamm HE, Sigler PB.(1996). Crystal structure of a G-protein beta gamma dimer at 2.1 Å resolution. *Nature*, 379, 369–374.
28. Sprang SR.(1997). G protein mechanisms: Insights from structural analysis. *Annual Review of Biochemistry*, 66: 639-678.
29. Weinstein LS, Chen M, Xie T, Liu J.(2006). Genetic diseases associated with heterotrimeric G proteins. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(5): 260-267.

Bu tez çalışmasında sunulan ekil 6, 8, 10 ve 11, IrfanView v4.20 yazılımı kullanılarak, ekil 4, 5, 7 ve 9, Chimera (Pettersen EF ve ark. 2004) yazılımı kullanılarak, Grafik 1 ve 2, Microsoft Office Professional Plus 2010 (Ürün Kimliği: 02260-018-0000106-48100, Marmara Üniversitesi Rektörlüğü) yazılımı kullanılarak elde edildi.

9. ÖZGEÇM

Kişisel Bilgiler

Adı	Rukiye	Soyadı	MAC T
Doğum Yeri	Manisa	Doğum Tarihi	02.11.1985
Uyruğu	Türk	TC Kimlik No	17399574814
E-mail	rukiyekrgul@gmail.com	Tel	505 811 09 58

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi	2009
Lise	Saruhanlı Anadolu Lisesi	2003

Deneyimi (Sondan geçmişi de doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1. Sekreter	Karmet Ltd. ti	1998-2004
2. Kütüphane Görevlisi	Yıldız Teknik Üniversitesi	2006-2007
3. Öğretmen	Bacılar Lisesi	2009

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	iyi	iyi	iyi
Almanca	orta	zayıf	orta

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
51								

	Sayısal	Eğitimsel	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office Programları	Çok iyi
C++, C, Root, Phyton, Modeller	Orta