



DERLEME/REVIEW

PROTEOM VE PROTEOM ANALİZLERİ Melike BOR¹, Filiz ÖZDEMİR¹

ÖZ

İnsan genomunun tanımlanması, modern çağın, en önemli dönüm noktalarından biridir. Bununla birlikte, genom analizlerinden elde edilen sonuçların yetersiz kalması nedeniyle, proteinlerde meydana gelen yapısal veya fonksiyonel modifikasyonların, tanımlanması ve araştırılması daha çok önem kazanmıştır. Bu derlemede, moleküler biyoloji, genetik ve biyoteknolojiye yeni bir bakış açısı getiren ‘genom sonrası döneme’ adını veren, proteom ve proteom analizlerinin ana hatlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Protein, Elektroforez, Kütle spektrometrisi, Proteom veri tabanları

PROTEOME AND PROTEOME ANALYSIS

ABSTRACT

Identification of human genome is one of the most important turning points of modern era. Nevertheless, descriptive studies and research on structural and functional modifications of proteins have gained more importance, because, results which were obtained from genomic analysis were not satisfactory in most cases. In this review we aimed to investigate basic terms of proteom and proteome analysis, which have given a new point of view to molecular biology, genetics and biotechnology and its name to ‘post genomic era’.

Key words: Protein, Electrophoresis, Mass spectrometry, Proteome data bases

1. GİRİŞ

Proteom, terimi ilk kez 1995 yılında Wilkins tarafından tanımlanmıştır. Bu tanıma göre, genomun çeşitli proteinleri ifade eden, eksprese olmuş bölümüne proteom adı verilir (Wilkins vd., 1995; 1999). Proteomun incelenmesi çalışmalarına proteom analizleri denir, bu analizler sadece hücredeki proteinleri değil, bu proteinlerin izoformlarını, modifikasyonlarını, diğer proteinler ile aralarındaki etkileşimleri ve yapısal farklılıkları araştırmaktadır (Tyers ve Mann, 2003). Başka bir şekilde ele alınırsa, proteom analizleri, genler tarafından ifade edilmiş, tüm proteinlerin fonksiyonlarını incelemektedir. Proteomun tanımlanması yaklaşık on yıllık bir geçmişe sahip olduğu halde, bilim adamlarının proteinlere ve fonksiyonlarına yönelik araştırmaları çok daha eski dönemlere dayanmaktadır (Tablo 1). Proteom analizleri genom dizi analizlerinden elde edilen bilgiler ile dokunun, hücrenin veya organelin sahip olduğu protein popülasyonu arasındaki bağlan-

tıyı kurar (Komatsu vd., 2003). Proteom analizlerinin zorluğu, hücrede protein sentezinin dinamik bir süreç olmasından kaynaklanmaktadır. Proteom statik değildir ve hücrenin genomu, çevrenin etkisi ve yaşı ile ilgili olarak değişim gösterir (Isaaq vd., 2002).

Proteom, genomdan farklı olarak zaman, yaş, durum ve dış faktörler gibi çeşitli etkenlere göre değişim gösterir. Bir başka biçimde ifade edilmesi gerekirse, hücrenin genom haritası sabit kalırken, proteom haritası değişkendir, bu nedenle incelenmeleri çok daha kompleks ve ileri teknoloji gerektiren bir süreçtir (Blackstock ve Weir, 1999). İnsan genomunun 2000 yılında tanımlanmasından sonra, araştırmalarda elde edilen bilgilerin nasıl kullanılabileceği sorusu ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmaların ana hedefi, insan sağlığının iyileştirilmesi, özellikle kalıtsal hastalıkların belirlenerek, özgün tedavi ilaçlarının geliştirilebilmesidir (Wilkins vd., 1995; 1999; Jain, 2003).

¹ Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı 35100 Bornova, İzmir.
Tel: 0 232 388 40 00 / 2433; Fax:0 232 388 10 36; E-posta: yilmaz@sci.ege.edu.tr

Tablo 1: Proteom Analizlerinin Tarihçesi (Telefoncu, 2002)

Yıl	Aşamalar
1860	F. Miescher hücre çekirdeğinde asidik ve bazik protein komponentlerini belirledi. Hatalı olarak bunların genetik materyali taşıdıklarına inanıldı
1912	J. J. Thomson'un kütle spektrometrisinin doğuşuna neden olan neonun iki izotopunu ayırması
1940	Beadle ve Tatum'un bir gen bir protein konsepti (bugün bir genin birden fazla proteini kodlayabildiği bilinmektedir)
1953	DNA ikili sarmal yapısının belirlenmesi (Watson-Crick)
1956	Kağıt ve iki yönlü nişasta jel elektroforezi ile proteinlerin ayrılması (Smithies ve Poulik)
1961	Gen ekspresyonunun modern konsepti, mRNA'nın bulunması, genetik kod ve protein sentezinin genetik regülasyonu teorisinin açıklanması
1967	Protein zincir dizi aydınlatılmasının otomasyonu (Edmann ve Begg)
1970	İzoelektrik odaklama ve gradient jel elektroforezi: iki yönlü teknik (Smithies ve Poulik)
1972	Protein veri bankası (Bernstein)
1975	İki yönlü jel elektroforez ile proteinlerin ayrılması (O'Farrell)
1981	2D-jel elektroforezinin farmakolojik ve toksikolojik çalışmalarda çekirdek metod olarak kullanılması (Anderson)
1986	Genomik kelimesinin ortaya atılması (Roderick)
1987	İlk proteom firmasının kurulması (Large Scale Biology Corporation)
1995	Proteomun tanımlanması (Wilkins)
1997	Proteom üzerine ilk kitabın yayınlanması (Wilkins vd.)
1999	İlk proteom kürsüsünün kurulması (Utrecht Üniversitesi, Hollanda, Prof. Dr. Ion Hamphery-Smith)
2000	İnsan genom sekansının tanımlanması
2000	<i>Mycoplasma genitalium</i> bakterisinin komple proteomunun yayınlanması
2001	HUPO (Human Proteome Organization) 'nun kuruluşu
2002	Kimyasal proteom analizlerinin ve kemoinformatik kavramlarının tanımlanması

Hücrede tüm yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilmesi için gerekli tüm bilgi, genlerde bulunmaktadır, bu bilgiden yararlanılarak asıl iş gören moleküller olan proteinler sentezlenir. İnsan genomu yapılan spekülasyonların aksine 120.000 değil, 30.000 ile 40.000 arasında gen içermektedir. Proteinlerin sayısını tahmin edecek olursak, translasyon sonrasındaki modifikasyonlar dikkate alındığında verilen gen sayısının yaklaşık 10-200 katı kadar protein kodlandığı düşünülmektedir (Ewing ve Green, 2000). Bir organizmanın genomu statik ve iyi tanımlanmış olmasına rağmen, proteom iç ve dış etkenler sonucu değişim göstermektedir. Örneğin, *E. coli* normal ortamının dışında yetiştirildiğinde, farklı bir proteoma sahip olur. Benzer şekilde memelilerin gelişimi sırasında hücreler farklı proteinleri ifade ederlerken, farklı dokulara özgü proteomlar oluşur.

Dinamik bir yapı olan hücre, yaşam döngüsü boyunca çok farklı protein konformasyonları içerir. DNA dizi analizlerinden elde edilen veriler kullanılarak, proteinlerin fonksiyonları hakkında yeterli bilgi sağlanamaz (Anderson vd., 2000; Gygi vd., 2000). Genom araştırmaları, yapısal genom analizleri ve fonksiyonel genom analizleri olmak üzere iki grup altında incelenebilir. Proteom analizleri, ikinci grup araştırmaların içinde yer almaktadır. Bu analizlerin ilk aşaması, proteinlerin iki boyutlu elektroforez ile ayrıl-

masıdır (2-D Elektroforez), proteinlerin kütle spektrometrisi (MS) ile tanımlanması, aminoasit dizi analizi ile karakterize edilmesi ve biyoinformatik veri tabanlarına aktararak elde edilen bilgilerin karşılaştırılması sonraki aşamalarıdır (Jain, 2003).

Fonksiyonel genom analizleri, canlı sistemlerin, çeşitli dönemlerinde ve hallerinde incelenerek karşılaştırılmaları açısından büyük önem taşımaktadır. Örneğin, hücrenin sağlıklı olduğu dönem ile enfeksiyon geçirdiği dönemin karşılaştırılması veya çeşitli stres koşullarına dayanıklı ve duyarlı bireylerin farklılıklarının belirlenmesine yönelik incelemeler protein düzeyinde yapıldığında daha anlamlı bilgiler içermektedir (Anderson vd., 2000; Dutt ve Lee, 2000). Böylece çok çeşitli hastalıklar, özel proteinlerin sentezlenmesi veya bu proteinlerde meydana gelen değişimler ile saptanabilir. Canlılarda istenilen karakterlerin ortaya çıkması, özel proteinlerin varlığı ve miktarlarındaki değişimler ile açıklanabilir. Farmasötik olarak aktif preparatlar proteinlerin miktarları üzerine etki edebilir (Pandey ve Mann, 2000).

Proteinler, büyük moleküllerdir ve bilinen yirmi amino asitin farklı kombinasyonlarda düzenlenmeleri ile çok sayıda farklı protein oluşur. Çok sayıda atomun, kendilerine özgü yerleşimleri, proteinlerin üç boyutlu özerk yapılarını meydana getirir (Barr, 2003).

Proteinler, sentezlendikten çok kısa bir süre sonra, kendilerine özgü, kompleks, üç boyutlu bir katlanma yaparlar. Bu özel şekilleri proteinlerin tüm fonksiyonları ve diğer moleküller ile etkileşimlerini ortaya koymaktadır. Bir tek gen, bu genin mRNA transkriptlerinin alternatif düzenlenmeleri veya alternatif başla-dur bölgeleri nedeni ile çok sayıda proteini kodlayabilir. Genomumuz tarafından kodlanan proteinlerin gerçekte fonksiyonel şekilleri çok daha kompleksdir. Fosforilasyon ve glikosilasyon gibi protein modifikasyonları ve hücrede ki yerleşimleri bu proteinlerin fonksiyonlarını belirler (Barr, 2003).

Protein sentezi, son derece kompleks, iyi çalışan ve hassas dengelerin söz konusu olduğu bir sistemdir. Biyokimyasal reaksiyonların katalizlenmesi (enzimler), sinyal molekülleri ve mesaj taşıyıcılar (nörotransmitterler), hücre bölünmesini düzenleyen kontrol elemanları, dokuların büyüme, gelişme faaliyetleri, oksijen taşınımı (hemoglobinin), bağışıklık ve savunma sistemleri (antikorlar), hücre membranındaki görevleri, proteinlerin fizyolojik yollarda üstlendikleri çok çeşitli ve hayati görevleri arasındadır (Jain, 2003).

Proteinlerde, meydana gelen çeşitli anormallikler, gen mutasyonları sonucunda veya translyasyon sonrası modifikasyonlar ile gerçekleşir. Bunun yanı sıra, her ne kadar protein sentezi genetik şifre ile bağlantılı olsa da, sentez miktarı, şekli ve ne zaman gerçekleşeceği özel regülasyon mekanizmaları tarafından denetlenir. Fosforilasyon, glikolizasyon ve metilasyon gibi translyasyon sonrası modifikasyonlar proteinlerin fonksiyonlarında meydana gelen değişiklikleri belirlerler (Haseltine, 1997). Bu açıdan incelendiğinde bir diğer önemli etkileşimde protein-protein arasında gerçekleşen etkileşimdir. Proteinlerin etkileşim bölgeleri epitom adını alır ve genellikle yedi ile otuz amino asitten meydana gelir. Bu etkileşimlere antijen-antikor; reseptör-ligand ve enzim-substrat etkileşimleri örnek verilebilir (Wilkins vd., 1996; Cantor ve Little, 1998).

Genel anlamda, DNA ve protein moleküllerini karşılaştırırsak, daha önce de vurguladığımız gibi, DNA statik, çoğaltılabilen (amplifikasyon) ve kompleks yapıda olmayan bir molekül iken, proteinler, dinamik, kopyalanamayan, karmaşık yapılardır. Ayrıca, proteinlere ait alfabe (yirmi adet modifiye olmamış amino asit ile, çok sayıda modifiye olmuş amino asit) DNA alfabesine (dört çeşit nükleotid) göre çok daha karmaşıktır (Hochstrasser, 1998). mRNA ile karşılaştırıldığında, proteinler fonksiyonel olarak varlık gösterirler, tanımlanmaları ve manipulasyonları daha zordur ve çok çeşitli bileşiklere hedef olabilirler (Hochstrasser, 1998).

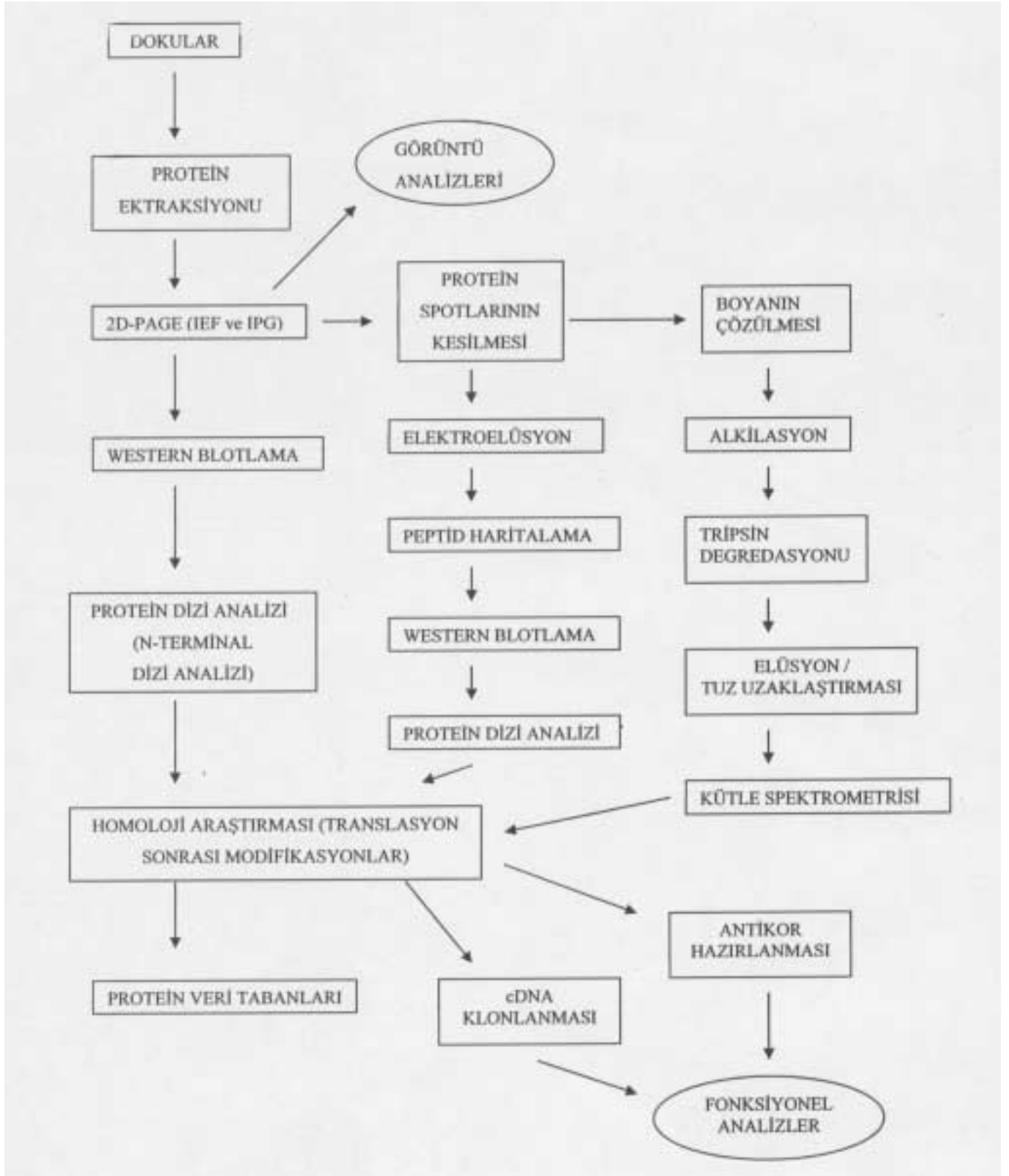
Proteom analizleri (Şekil 1), ifade edilen proteinlerin incelenmesi, hücre protein haritalarının çıkarılması, proteinler arası etkileşimlerin belirlenmesi ve protein komplekslerinin izole edilmesi ana başlıklarını içerir (Blackstock ve Weir, 1999). Daha detaylı olarak analiz aşamalarını incelersek; iki boyutlu poliakrilamid jel elektroforezi ile proteinlerin ayrılması, kütle spektrometrisi ve N-terminal dizi analizleri ile proteinlerin

tanımlanması, elde edilen bilgileri saklanması, uygulanabilirliğinin bilgisayar ortamında veri tabanları kullanılarak belirlenmesi çalışmalarını içerir (Oliver, 2002). Genom analizlerinde, DNA dizisi üzerinde, protein kodlama olasılığı yüksek olan bölgeler bilgisayar algoritmeleri kullanılarak tespit edilmiştir (open reading frames-ORFs). Bu yöntem ile incelenen maya veya bakteri genomlarının sadece üçte birinin protein kodlayan bölgeleri içerdiği, geri kalan kısmın bilinen herhangi bir proteini kodlamadığı saptanmıştır (Jain, 2003).

Bu anlamda genomun tanımlanmasının gen ifadesi için çok önemli bilgiler içermekle birlikte, hücre düzeyinde asıl fonksiyonel grup olan proteinler hakkında yeterli bilgiyi sağlamadığı görülmektedir. Örneğin, hastalıklar ile genler arasında ilişki kurulması klasik genom analizlerinin konusu içinde yer alırken, hastalık sırasında ortaya çıkan protein farklılıklarının ve değişen protein gruplarının tespit edilmesi proteom analizleri yaklaşımını ortaya koymaktadır (Haseltine, 1997; Tavernarakis, 2000). Genom analizleri ile proteom analizleri birbirleriyle korelasyonlu bir şekilde yapıldığında organizmaların, metabolik cevapları ve biyomoleküler etkileşimleri daha anlamlı olarak ifade edilecektir. Ayrıca, hücre yaşam döngüsünün ve bu döngüde meydana gelen çeşitli değişimlerin farklı açılardan daha detaylı olarak incelenmesi, hibridizasyon ve seri gen analizleri kullanılarak yapılan, transkriptom; Kızıl Ötesi (IR) Spektroskopisi, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR), Kütle Spektrometrisi tekniklerinden yararlanılan, metabolom analizleri ile gerçekleştirilmektedir (Oliver, 2002).

Proteom analizinin basamakları:

- 1) Örnek hazırlanması (Biyolojik materyallerden proteinlerin ekstrakte edilmesi)
- 2) 2D-elektroforez ile proteinlerin ayrılması
- 3) Ayrılan proteinlerin görüntülenmesi
- 4) Protein spotlarının hidroliz edilerek kütle spektrometrisi kullanılarak tanımlanması
- 5) Tüm protein dizisinin tanımlanması için veri tabanı incelemesi



Şekil 1: Proteom analizlerinin çeşitli aşamaları (Komatsu vd., 2003)

Proteinler ultrasantrifüj, iyon değiştirici kromatografi, izoelektrik odaklama, jel elektroforezi, afinite kromatografisi vb. bir çok yöntemle çeşitli özelliklerine göre ayrılırlar. Bir hücrede veya dokuda bulunan tüm proteinleri çözünür hale getirebilmek için tek bir kromatografik veya elektroforetik yöntem yeterli değildir. 2D-elektroforez gibi çok yönlü tekniklerin kullanılması, proteinlerin ayırımları sonrasında yapılacak olan dizi analizlerine de olanak sağlamaktadır (Klose ve Kobalz, 1995). O'Farrell (1975) tarafından ortaya konulan 2D-elektroforezde, örnekten izole edilen proteinler, ilk boyutta izoelektrik noktalarına göre, ikinci boyutta ise molekül ağırlıklarına göre ayrılırlar. Bu şekilde tek bir jelde çok sayıda proteinin gözlenmesi mümkün olmaktadır. Yüksek ayırma gücüne sahip iki boyutlu poliakrilamid jel elektroforezi çeşitli protein karışımlarını ayırmada çok yararlı bir yöntemdir (O'Farrell, 1975). Yüksek ayırma gücü sebebi ile bu yöntem, hücre düzeyinde çeşitli uyarıcılara tepki (cevap) olarak veya farklılaşma ve büyümenin sonucu olarak protein ifadelerinde meydana gelen değişimleri ortaya koyabilmektedir (Cellis ve Bravo, 1984). Hoving ve ark. tarafından (2000) geliştirilen yönteme göre, her biri 1-3 pH birimi içeren farklı immobilize pH gradientlerine (IPG) sahip şeritler birbiri ardına sıralanır ve yürütme işlemi sonrasında proteinler, tek tek SDS-poliakrilamid jellerine aktararak, molekül ağırlıklarına göre ayrılır. Ayırım sonrasında coomassie blue, gümüş ve özel fluoressans protein boyaları ile boyanan spotlar, görüntüleme sistemlerinde incelenirler. Otomatik jel görüntüleme ve bilgisayar kullanılarak analizler sayesinde 2-D elektroforez jelleri protein veri tabanlarının oluşturulmasında kullanılmaktadır (Cellis vd., 1989; Garrells ve Franz, 1989; Hirano, 1989).

En yaygın kullanılan protein ayırma yöntemi 2D elektroforezdir, yöntemin en önemli yönü güvenilir ve hızlı bir şekilde sağlıklı ve hastalıklı örnekleri karşılaştırma olanağı sağlamasıdır. Bununla birlikte 2D elektroforezde, özellikle düşük miktarlarda sentezlenen proteinlerin analizinde karşılaşılan güçlükler, örneklerin uygun kolonlar kullanılarak konsantre edilebildiği yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ve kapiler elektroforez (CE) sistemleri ile aşılmaya çalışılmaktadır. Fakat bu yöntemler 2D elektroforeze göre çok pahalı ve otomasyon gerektiren işlemlerdir (Isaac vd., 2002). İki boyutlu elektroforez ile ayrılan proteinlerin dizi analizlerinde, bu proteinlerin elektro-blotlama yöntemleri ile jel matriksinden proteinleri adsorblayan uygun poliviniliden diflorür (PVDF) veya polipropilen (PP) membranlara aktarımı ve diğer ileri tetkiklerin bu membranlarda yapılması da mümkündür (Mastsudaria, 1987).

Proteinler, peptid dizilerinin kütlelerinin karşılaştırılması (peptid haritalama), kütle spektrometrisinden (MS) elde edilen peptid dizi bilgisi, amino asit içeriklerinin tayini, molekül ağırlıklarının saptanması, kısmi amino asit dizi analizleri, DNA ve protein veri tabanlarından sağlanan bilgiler yardımıyla tanımlanırlar (Yates, 1998). Kütle analizleri için yaklaşık 5-20 pmol protein içeren spotlar, jelden kazınır ve bölgeye

özgü tripsin proteazlar ile parçalanarak triptik peptid setleri hazırlanır ve kütleleri MS kullanılarak karakterize edilir (Komatsu et al., 2003) ve eğer genom bilgisi mevcut ise bu analizler genomu tamamlamak için proteinin sistematik sınıflandırılmasını da sağlarlar (Yates, 1998). Bununla birlikte MS, izoformların, glikosilasyon ve fosforilasyon gibi ikincil protein modifikasyonlarının ve proteolizin analiz edilmesi için çok yararlı bir araçtır ve pikomolden-altomole kadar çok düşük protein miktarları incelenebilir (Wilkins, 1999).

Son yıllarda, *Matrix Assited Laser Desorption Ionization-Time of Flight* (MALDI-TOF MS), *Electrospray Ionization* (ESI), *Electrospray Ionization Time of Flight* (ESI-TOF), *Post Dource Decay Matrix Assited Laser Desorption Ionization* (PSD-MALDI), *Surface Enhanced Laser Desorption Ionization-Time of Flight* (SELDI-TOF) gibi çok gelişmiş ve modern kütle spektrometrisi kullanılmaktadır. Kütle analizlerinden elde edilen veriler, veri tabanlarındaki diğer bulgularla veya tahmini bulgularla karşılaştırılır (Zihnioğlu, 2002). Yukarıda adı geçen MS türlerinin farklılıkları, kullanılan matriks ve iyonlaşmanın modifikasyonlarına dayanmaktadır. MALDI-MS'de örnekler, uygulamadan önce proteinlerle etkileşime girecek, proton donörü içeren matrikslerle karıştırılırlar ve kristalloid bir yapı oluştururlar (Gygi ve Aebershold, 2000; Aebershold, 2001). Kristalloid yapılar lazer emisyonu için hedef oluştururlar ve kısa lazer pulsaları (2-5 nsec) ile uyarılan kristalloid, buharlaşırken, proteinler yüklü hale gelirler. TOF (iyon hareketine imkan sağlayan 1.5-2 m uzunluğunda tüp) analizöründen geçen iyonlara ait sinyaller dedektöre ulaşarak kaydedilir (Liebold-Wittmann, 2002). ESI-MS'lerde peptid karışımı yüksek voltaj altında (20-35 kV) ince kapiler bir borudan iyonik kaynağa püskürtülür, Yüksek elektrostatik yük akış frenlemelerine neden olur ve çeşitli yüklerde iyonlar oluşur, iyonlar analizörden dedektöre ulaştırılır (Aebershold, 2001; Liebold-Wittmann, 2002).

Proteom Analiz Veri Tabanı (web adresi: <http://www.ebi.ac.uk/proteome/>) Avrupa Biyoinformatik Enstitüsünde (EBI) bulunan sekans veri tabanı grubu tarafından 2000 yılında geliştirilmiştir. Bu veri tabanı tamamlanmış bakteri, archeae ve ökaryot genomlarında yararlanarak önerilen protein kodlayan dizilerle veri tabanındaki dizilerini istatistiksel karşılaştırma yöntemleri ile inceler. Proteom Analiz Veri Tabanı kullanılarak önceden tanımlanmış protein ve protein ailelerini içeren proteomların karşılaştırılmaları mümkündür (Pruess vd., 2003). Bu veri tabanına sürekli olarak yeni proteomlar eklenmektedir ve 2004 Mayıs ayı itibarıyla bu veri tabanında 171 adet proteom seti ve 153 adet proteom analizi verisi bulunmaktadır. Bu tip veri tabanlarına ihtiyaç ve talep giderek arttığı için konu ile ilgili çok çeşitli proje önerileri sunulmaktadır. Özellikle bu tip projeler Avrupa Birliği Projeleri kapsamında çok büyük bütçelerle desteklenmektedir.

Proteom Analiz Veri Tabanının yararlandığı kaynak veri tabanları:

- Protein ve proteom analizleri InterPro veri tabanı (proteomların istatistiksel analizlerine olanak sağlar) (Apweiler vd., 2001).
- Protein aileleri, domainler ve fonksiyonel bölgelere göre proteinleri otomatik olarak sınıflandıran CluSTR veri tabanı (genel istatistiksel verilere dayanarak proteinleri sınıflandırır, proteinlerin benzerlikleri ve belirli bir gruptaki proteinlerin oluşturduğu kümelerin özelliklerini içerir) (Kriventseva, 2001).
- Gen ontolojisi kapsamında hazırlanmış, gen ve gen ürünlerini ve bunların moleküler fonksiyonlarını, biyolojik bileşenlerini ve hücresel görevlerini tanımlayan GOSlim veri tabanı (fonksiyonel sınıflandırmaya göre proteomda, proteinlerin metabolizma, transkripsiyon vb. olaylardaki oransal rolleri saptanmaktadır) (Ashburner, 2000).
- SWISS-PROT ve TrEMBL veri tabanları
- RasMol
(<http://www.umass.edu/microbio/rasmol/>)
- Chime
(<http://www.umass.edu/microbio/chime/>)

Yukarıda adı geçen kaynak veri tabanlarının yanı sıra yapısal bilgi içeren veri tabanlarından da yararlanılmaktadır. Her proteomun protein dağılımı, uzunluğu ve amino asitlerin özellikleri grafiksel olarak verilir. Bu amaçla Homology Derived Secondary Structure of Proteins (HSSP) veri tabanı, Protein Data Bank (PDB) ve Proteinlerin yapısal sınıflandırılması (SCOP) veri tabanlarına bağlantılar içerir. Veri tabanında bulunan proteomların büyük bir bölümünün kromozom tabloları, gen listeleri, kodladıkları proteinler ve yararlı diğer web sayfalarına ait bağlantılar bulunmaktadır. Bunların yanı sıra yararlı diğer veri tabanları: World 2D PAGE (<http://expasy.hcuge.ch/>) (<http://expasy.hcuge.ch/ch2d/2d-index.html>); SWISS-2D PAGE; SWISS-PROT; PROSITE; SWISS-3DIMAGE, Prot-ID (www.proteomefactory.com), PROWL (<http://prowl.rockefeller.edu/>) olarak sıralanabilir.

Çeşitli organizmalarda yapılan proteom analizleri, canlıların yaşam döngülerinde bilinmeyen veya günümüze kadar edindiğimiz bilgiler ile tanımlamadığımız pek çok olgu hakkında bize bilgi verecektir. Bu bağlamda, bitkilerde yapılan proteom analizlerini inceleyecek olursak, bunlar, yeni genlerin tanımlanması, çeşitli organların proteomlarının tanımlanması (piriç sürgün proteomu), organel proteomlarının belirlenmesi, (kloroplastlarda lümen ve periferal tillakoid proteinleri), fizyolojik, genetik araştırmalar ve türler

arası karşılaştırmalar gibi ana başlıkları içermektedir (Rossignol, 2001).

Bitkilerde ilk çalışmalar, genom haritası tamamen çıkartılmış, *Arabidopsis thaliana* bitkisinde yapılmıştır. İzole edilen kloroplastlarda translasyon sonrası modifikasyonlar incelenerek, protein fosforilasyonları içeren çok sayıda fosfo protein tanımlanmıştır. Organ düzeyinde, çam yapraklarında (Costa vd., 1999); doku düzeyinde, çam ksileminde (Costa vd., 1999), sub-sellüler düzeyde, soya fasulyesi kök nodüllerindeki peribakteroid membranlara (Panter vd., 2000) ait proteom çalışmaları tamamlanmıştır. Protein-protein etkileşimlerine örnek olarak, *Sinapis alba* kloroplastları ile yapılan bir çalışmada izole edilen A ve B RNA polimerazlar incelenmiş, in vitro da fosforilasyon ile kontrol edilen alt birim etkileşimleri ile A-tipi kloroplast polimerazın, B-tipi polimeraza dönüştüğü gözlenmiştir (Pfannschmidt vd., 2000).

Ayrıca, jasmonik asit uygulanmış piriç fidelerinde, savunma mekanizmaları; mısır köklerinde oksijeniz koşullara tolerans mekanizmaları; *Cucurbita maxima*'da kaynak ve havuz organlarındaki floem farklılıklarının incelenmesi gibi çeşitli proteom analizleri yapılmıştır (Kehr vd., 1999). Bugüne kadar, deniz kıyısında yaşayan bir çam türünün (*Pinus pinaster*) yaprak ve ksilem proteomu (Plomion vd., 2000), *Arabidopsis*'in plazma membranı, endoplazmik retikulum ve mitokondri proteomu (Santoni vd., 1998; 2000), bezelye (*Pisum sativum*) kloroplastlarından izole edilen lümen ve periferal tillakoid proteinleri (Peltier vd., 2000; van Wijk 2000; 2001) ve mitokondriyal proteomu (Bardel vd., 2002), mısır (*Zea mays*) bitkisinde kloroplast proteomunun de-etiolasyondan sorumlu olan bölümü (Lonosky vd., 2004), çeşitli *Vitis* varietelerinin mezokarp proteomu (Sarry vd., 2004) gibi birçok bitki proteomu bilgisayar ortamında çeşitli veri tabanlarına aktarılmıştır.

2001 yılında, çok sayıda bilim adamı, iş adamı ve bürokratin bir araya gelerek kurduğu Human Proteome Organization (HUPO), tüm canlılarda, özellikle de insanda yürütülen proteom çalışmalarını izlemek, gruplar arasında işbirliğini sağlamak, ve yeni projeler üretmek görevlerini üstlenmiştir. Bu kuruluş, doku ve hücrelere özgü proteinlerin tanımlanması, protein-protein etkileşimlerinin belirlenmesi, veri tabanlarının oluşturulması ve patolojik olaylarda özel işaretleyicilerin saptanmasına yönelik araştırmalarla ilgilenmektedir. Bu alan gün geçtikçe artan bir hızda gelişmekte ve yürütülen projeler özel ve devlet bütçeli çok sayıda araştırma kuruluşunu, enstitüleri ve üniversiteleri bir araya getirmektedir. Sınırsız bir araştırma alanı olan proteom çalışmalarının, Türkiye'de de bir an önce yaygınlaşması ve çok disiplinli çalışma gruplarının en kısa sürede aktif hale gelmesi büyük önem taşımaktadır. Daha çok yeni bir araştırma alanı olan, proteom ve proteom analizleri konusunda ülkemizde, insan, hayvan ve bitkilerle yapılacak projelerin çok büyük katkıları sağlayacağına inanmaktayız.

KAYNAKÇA

- Aebersold R ve Goodlett D. R. (2001). Mass Spectrometry in Proteomics. *Chem. Rev.* 101, 269-295.
- Anderson N. L., Matheson A. D. ve Steiner S. (2000). Proteomics: Applications in basic and applied biology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11, 408-412.
- Apweiler R., Attwood T.K., Bairoch A., Bateman A., Birney E., Biswas M., Bucher P., Cerutti L., Corpet F. ve Croning M.D.R. (2001). The InterPro database, an integrated documentation resource for protein families, domains and functional sites. *Nucleic Acids Res.* 29, 44-48.
- Ashburner M. (2000). Gene ontology: Tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nature Genet.* 25, 25-29.
- Bardel J., Louwagie M., Jaquinod M., Jourdain A., Luche S., Rabilloud T, Macherel D., Garin J. ve Bourguignon J. (2002). A survey of plant mitochondrial proteome in relation to development. *Proteomics* 2, 880-898.
- Barr M. M. (2003). Supermodels. *Physiol. Genomics* 13, 15-24.
- Blackstock, W.P. ve Weir, M.P. (1999). Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. *TIBTECH* 17, 121-127.
- Cellis J. E. ve Bravo R. (1984). *Two dimensional electrophoresis of proteins methods and applications*. 487 s. Academic Press, New York.
- Cellis J. E., Razi G. P., Madsen P., Gasser B., Lauridsen J. B., Hansen K. P. B., Kwee S., Rasmussem H. H., Nielsen H. V., Cruger D., Basse B., Honore H., Moller O. ve Cellis A. (1989). Computerized comprehensive databases of cellular and secreted proteins from normal human embryonic lung MRC-5 fibroblasts: identification of transformation and/or proliferation sensitive proteins. *Electrophoresis* 10, 76-115.
- Cantor R. C. ve Little D. P. (1998). Massive attack on high-throughput biology. *Nat. Genet.* 20, 5-6.
- Costa, P., Pionneau C., Bauw G., Dubos C., Kremer A., Frigerio J. M. ve Plomion C. (1999). Separation and characterization of needle and xylem maritime pine proteins. *Electrophoresis* 20, 1098-1108.
- Dut M. J. ve Lee K. H. (2000). Proteomic analysis. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11, 176-179.
- Ewing B. ve Green P. (2000). Analysis of expressed sequence tags indicates 35,000 human genes. *Nat. Genet.* 25, 232-234.
- Garrels J. I. ve Franz B. R. (1989). Transformation sensitive and growth related changes of protein synthesis in REF52 cells. *J. Biol. Chem.* 264, 5229-5321.
- Gygi S. P., Rist B. ve Aebersold R. (2000). Measuring gene expression by quantitative proteome analysis. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11, 396-401.
- Haseltine W. A. (1997). Discovering genes for new medicines. *Sci. Am.* 276(3), 92-97.
- Hirano H. (1989). Microsequence analysis of winged bean seed proteins electroblotted from two - dimensional gel. *J. Protein. Chem.* 8, 115-130.
- Hochstrasser, M. (1998). There's the Rub: A novel ubiquitin-like modification linked to cell cycle regulation. *Genes Dev.*, 12, 901-907.
- Hoving, S., Vosol, H. ve Van Oostrum, J. (2000). Towards high performance two-dimensional gel electrophoresis using ultrazoom gels. *Electrophoresis* 21, 2617-2621.
- Isaaq H. J, Conrads T. P., Janini G. M ve Veenstra T. D. (2002). Methods for fractionation, separation and profiling of proteins and peptides. *Electrophoresis* 23, 3048-3061.
- Jain, K. K. (2003). *Proteomics Technologies*, Market and Companies, Jain Pharma Biotech Basel Switzerland, 460 s. Part I, 11-22.
- Kehr, J., Haebel, S., Blechschmidt-Schneider, S., Willmitzer, L., Steup, M. ve Fisahn, J. (1999). Analysis of phloem protein patterns from different organs of *Cucurbita maxima* Duch. By matrix-assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectroscopy combined with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Planta* 207, 612-619.
- Klose J. ve Kobalz U. (1995). Two dimensional electrophoresis of proteins: An updated protocol and implications for a functional analysis of the genome. *Electrophoresis* 16, 1034-1059.
- Komatsu S., Konishi H., Shen S. ve Yang G. (2003). Rice Proteomics-A step Toward Functional Analysis of The Rice Genome. *Molecular and Cellular Proteomics* 2, 1-10
- Kriventseva E. V., Fleischmann W., Zdobnov E. M. ve Apweiler R. (2001). CluSTR: a database of clusters of SWISS-PROT+TrEMBL proteins. *Nucleic Acids Res.* 29, 33-36.

- Liebold-Wittmann B. (2002). *Proteom Analizi: Metodlar ve Uygulamalar*. Protein ve Peptidlerin Kütle Spektrometrisi (Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu) Ed. Telefoncu A., Salnikow J., Zihnioğlu F., Kılınç A. s. 57-64.
- Lonosky P. M., Zhang X., Honavar V. G., Dobbs D. L., Fu A. ve Rodermel S. R. (2004). A proteomic analysis of maize chloroplast biogenesis. *Plant Physiol.* 134, 560-574.
- Mastsudaria P. (1987). Sequence from picomole quantities of proteins electroblotted onto polyvinylidene difluoride membranes. *J. Biol. Chem.* 262 (21), 10035-10038.
- O'Farrell P.H. (1975). High resolution of two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 250, 4007-4021.
- Oliver SG. (2002). Functional genomics: lessons from yeast. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357(1417), 17-23.
- Pandey, A. ve Mann, M. (2000). Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 405, 837-846.
- Panter, S., Thomson, R., de Bruxelles, G., Laver, D., Trevaskis, B. ve Udvardi, M. (2000). Identification with proteomics of novel proteins associated with peribacteroid membrane of soybean root nodules. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13, 325-333.
- Peltier J. B., Friso G., Kalume D. E., Roepstroff P., Nilsson F., Adamska I. ve van Wijk K. J. (2000). Proteomics of the chloroplast: systematic identification and targetting analysis of lumenal and peripheral thylakoid proteins. *Plant Cell* 12, 319-341.
- Pfannschmidt, T., Ogrzewalla, K., Baginsky, S., Sickmann, A., Meyer, H. E. ve Link, G. (2000). The multisubunit chloroplast RNA polymerase A from mustard (*Sinapis alba L.*): Integration of a prokaryotic core into a larger complex with organelle-specific functions. *Eur. J. Biochem.* 267, 253-261.
- Plomion, C., Pionneau, C., Brach, J., Costa, P. ve Bailerer, H. (2000). Compression wood-responsive proteins in developing xylem of maritime pine (*Pinus pinaster Ait.*). *Plant Physiol.* 123, 959-969.
- Pruess M., Fleischmann W., Kanapin A., Karavidopoulou Y., Kersey P., Kriventseva E., Mittard V., Mulder N., Phan I., Servant F. ve Apweiler R. (2003). Proteome analysis database: a tool for the in silico analysis of whole proteomes. *Nucleic Acids Research* 31 (1), 414-417.
- Rossignol, M. (2001). Analysis of the plant proteome. *Curr. Opp. in Biotechnol.* 12, 131-134.
- Santoni, V., Doumas, P., Rouquie, D., Mansion, M., Boutry, M., Degand, H., Dupree, P., Packman, L., Sherrier, J. ve Prime, T. (1998). Use of proteome strategy for tagging proteins present at the plasma membrane. *Plant J.* 16, 633-641.
- Santoni V, Kieffer S., Desclaux D., Masson F. ve Rabilloud T. (2000). Membrane proteomics: use of additive main effects with multiplicative interaction model to classify plasma membrane proteins according to their solubility and electrophoretic properties. *Electrophoresis* 21, 3329-3344.
- Sarry J. E., Sommerer N., Sauvage F. X., Bergoin A., Rossignol M., Albagnac G. ve Romieu C. (2004). Grape berry biochemistry revisited upon proteomic analysis of the mesocarp. *Proteomics* 4, 201-215.
- Tavernarakis, N., Wang, S.L., Dorovkov, M., Ryzanov, A. ve Driscoll, M. (2000). Heritable and inducible genetic interference by double-stranded RNA encoded by transgenes. *Nat. Genet.* 24, 180-183.
- Telefoncu A. (2002). *Protein Analizinden Proteom Analizine*. Proteom Analizi: Metodlar ve Uygulamalar (Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu) Ed. Telefoncu A., Salnikow J., Zihnioğlu F., Kılınç A. s. 1-6
- Tyers, M. ve Mann, M. (2003). From genomics to proteomics. *Nature* 422, 193-197.
- Van Wijk, K.J. (2000). Proteomics of the chloroplast; Experimentation and prediction. *Trends in Plant Science* 5, 420-425.
- Van Wijk, K.J. (2001). Update on plant proteomics. Challenges and Prospects of Plant Proteomics. *Plant Physiology* 126, 501-508.
- Wilkins, M. R. , Sanchez J. C., Gooley A. A., Appel R. D., Humphery-Smith I., Hochstrasser D. F. ve Williams K. L. (1995). Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by genome should be identified and how to do. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 13, 19-50.
- Wilkins, M.R., Sanchez, J.C., Williams, K.L. ve Hochstrasser D.F. (1996). Current challenges and future applications for protein maps and post-translational vector maps in proteome project. *Electrophoresis* 17, 830-838.
- Wilkins M. R., Gasteiger E., Gooley A.A., Herbert B.R., Molloy M.P., Binz P.A., Ou K., Sanchez J.C., Bairoch A., Williams K.L. ve Hochstrasser D.F.J. (1999). High throughput mass spectro-

metric discovery of protein post-translational modifications. *Mol. Biol.* 289, 645-657.

Yates J. R. (1998). III., Mass Spectrometry and the Age of Proteome. *J. Mass Spectrom.* 33, 1-19.

Zihnioğlu F. (2002). *Proteom Araştırmalarına Genel Bakış*. Proteom Analizi: Metodlar ve Uygulamalar (Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu) Ed. Telefoncu A., Salnikow J., Zihnioğlu F., Kılınç A., s. 7-19



Melike Bor, 1971 yılında Ankara'da doğdu. 1993 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 1996 yılında Yüksek Lisans, 2002 yılında da Doktora Öğrenimlerini Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde tamamladı.

1994 yılından bu yana Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.



Filiz Özdemir, 1958 yılında İzmir'de doğdu. 1979 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 1981 yılında Yüksek Lisans, 1993 yılında da Doktora Öğrenimlerini Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde tamamladı.

1996 yılında Doçent, 2003 yılında Profesör oldu, halen Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde Öğretim Üyesi olarak çalışmaktadır.