

# Heterotrimerik G Proteinleri

## [Heterotrimeric G Proteins]

<sup>1</sup>Bahire Küçükaya,  
<sup>2</sup>Beki Kan

<sup>1</sup>Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Feyzullah cad. No: 39 81530 Maltepe-İstanbul.

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Tıbbiye cad. No: 49 34668 Haydarpaşa-İstanbul.

**Yazışma Adresi**  
[Correspondence Address]

Bahire KÜÇÜKKAYA

Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Feyzullah cad. No: 39 81530 Maltepe-İstanbul.  
Tel: 0 216 370 96 15  
Faks: 0 216 442 69 06  
bahire2002@yahoo.com

Kayıt tarihi : 22 Ocak 2007, kabul tarihi: 29 Mart 2007  
[Received: 22 January 2007, Accepted: 29 March 2007]

### ÖZET

G proteinleri olarak bilinen heterotrimerik G proteinleri, bakterilerden memelilere kadar korunmuş büyük GTPaz ailesinin üyelerindedir. G proteinleri plazma zarındaki hücre yüzeyi reseptörleri ile efektörleri ile kenetlenerek hücrel sinyal iletiliminde önemli roller üstlenirler. G proteinleri GTP'nin bağlandığı ve hidrolizlendiği bir  $\alpha$ -altbirimi ile bir  $\beta\gamma$ -kompleksinden oluşmaktadır. Bugüne kadar 20 farklı  $\alpha$ -altbirimi, 5  $\beta$ -altbirimi ve 14  $\gamma$ -alttipi tanımlanmıştır. G protein heterotrimerleri,  $\alpha$ -altbirimlerinin birincil dizilimlerine göre sınıflandırılır ve 4 aileye ayrılırlar. G proteinleri inaktif (sessiz) durumdayken, GDP bağlı  $\alpha$  altbirimi ile  $\beta\gamma$  altbirimleri birbirlerine sıkıca bağlı bir heterotrimerdir. Reseptör aktivasyonu, GDP'nin GTP ile yer değiştirmesini uyarır ve hemen arkasından  $\beta\gamma$  altbirimleri,  $\alpha$ -altbiriminden ayrılır.  $\alpha$ GTP ve  $\beta\gamma$  kompleksinin herikiside özgün efektörler ile etkileşir ve düzenler. G protein  $\alpha$ - ve  $\beta\gamma$  altbirimleri fosforillenme, miristoillenme palmitoillenme ve prenillenme gibi translyasyon sonrası uyarlamalarla düzenlenir. G protein  $\alpha$ - ve  $\beta\gamma$  altbirimleri çeşitli efektörlerin aktivitelerini düzenler. G proteinleri duysal algılama, nöronal etkinlik ve hormonal düzenleme gibi pekçok hücrel yanıtın oluşumuna aracılık eder. Son zamanlarda, GPCR'lerin ve G proteinlerinin hücre büyümesi, farklılaşması ve hücrel transformasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Heterotrimerik G proteinleri, G proteinleri, hücrel sinyal iletilisi

### ABSTRACT

Heterotrimeric G proteins, commonly known as G proteins are members of the large GTPase superfamily that are conserved from bacteria to mammals. G proteins play an essential role in cellular signaling by coupling many cell surface receptors to effectors on the plasma membrane. G proteins are composed of an  $\alpha$ -subunit that binds and hydrolyzes GTP and a  $\beta\gamma$ -subunit complex. To date over 20 different  $\alpha$  subunits, 5  $\beta$  subunits and 14  $\gamma$  subtypes have been defined. Classification of G protein heterotrimers are based on the primary sequences of their  $\alpha$ -subunits, resulting in four main families. In its inactive state, each G protein is a heterotrimer in which the GDP bound  $\alpha$  chain is tightly associated with the  $\beta\gamma$  subunits. Receptor activation promotes the replacement of GDP by GTP and the consequent dissociation of  $\alpha$  from  $\beta\gamma$ . Both  $\alpha$ GTP and the  $\beta\gamma$  complex interact with and regulate specific effectors. Activation is then terminated by the intrinsic GTPase activity of the  $\alpha$  chain, which returns the protein to its inactive state. G proteins are regulated by posttranslational modifications including phosphorylation, myristoylation, palmitoylation, and prenylation of  $\alpha$ - and  $\beta\gamma$ - subunits. G protein  $\alpha$ - and  $\beta\gamma$ - subunits regulate the activities of diverse effectors. G proteins mediate a wide variety of cellular responses, including sensory perception, neuronal activity and hormonal regulation. Recent reports indicate that GPCRs and G proteins are also involved in the regulation of cell growth, differentiation and cellular transformation.

**Key Words:** Heterotrimeric G proteins, G proteins, cellular signaling

# İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	40
1.1. G protein Kenetli Reseptör (GPCR)'ler.....	40
1.2. G Proteinlerinin Sınıflandırılması .....	41
1.3. G Proteinlerinin Yapısal Özellikleri .....	43
1.4. G protein Etkinliğinin Düzenlenmesinde Moleküler Mekanizmalar .....	43
1.5. G Protein İşlevinin Kovalent Uyarlamalar ile Düzenlenmesi .....	44
1.5.1. Fosforillenme .....	44
1.5.2. Lipit Uyarlamaları .....	44
1.5.3. ADP Ribozillenme .....	44
1.6. G Proteinleri ile Düzenlenen Eftörler .....	45
1.6.1. Adenilat Siklaz .....	45
1.6.2. Fosfolipaz C $\beta$ .....	45
1.6.3. cGMP Fosfodiesteraz .....	45
1.6.4. Fosfoinositit 3-kinaz.....	45
1.6.5. Fosfolipaz A <sub>2</sub> .....	45
1.6.6. İyon kanalları.....	45
A. Ca <sup>2+</sup> Kanalları.....	46
B. Na <sup>+</sup> Kanalları .....	46
C. Cl <sup>-</sup> Kanalları.....	46
D. GIRK (G protein-Gated inwardly rectifying K <sup>+</sup> ) Kanalı.....	46
1.7. Hücre Büyümesi, Farklılaşması ve Transformasyon .....	46
1.7.1. G $\alpha_{q/11}$ Mutantları.....	46
1.7.2. G $\alpha_s$ Mutantları .....	46
1.7.3. G $\alpha_{12}$ Mutantları .....	47
1.7.4. G $\alpha_{12/13}$ Mutantları .....	47
2. SONUÇ.....	47
3. KAYNAKLAR .....	47

## 1. GİRİŞ

Hücrelerin tümü transmembran sinyal sistemlerine sahiptir ve bu sistemler; hormonlar, nörotransmitterler veya duysal uyarılar gibi hücre dışı sinyaller sayesinde çevreden bilgi alırlar. Bu temel işlem hücrelerin birbirleri ile iletişim kurmasını sağlar. Transmembran sinyal sistemlerinin tümü temel olarak, reseptör ve eftör olmak üzere iki bileşenden oluşur. Reseptör hücre dışı uyarıları tanır, eftör ise ilgili reseptör denetiminde hücre içi sinyal oluşturabilir (1).

Hücre dışı sinyallerin, hücre içine girişi genel olarak hidrofobik moleküllerin hücre zarından difüzyonu ile, iyon kanalları aracılığı ile, G protein kenetli reseptörler aracılığı ile ve enzim aktivitesine sahip reseptörler aracılığı ile olmak üzere dört farklı yoldan gerçekleşir. Hücre zarının sitoplazmik yüzüne yerleşik olarak bulunan heterotrimerik G proteinleri (Guanin Nükleotit Bağlayan Proteinler) küçük monomerik GTP bağlayan proteinleri de içine alan geniş GTPaz üst ailesinin üyesidirler.  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  altbirimlerinden oluşan G proteinleri binden fazla hücre yüzey reseptörü ile kenetlenerek, enzim ve iyon kanalı gibi pekçok eftör üzerinden sinyal iletimine aracılık ederler. Heterotrimerik G proteinleri

aracılığıyla gerçekleşen olaylar dizisi, duysal algılama, nöronal etkinlik, hormonal etkinlik, hücre büyümesi ve farklılaşması gibi çeşitli sistemlerin düzenlenmesi ile sonuçlanır (1). Transmembran sinyal sistemlerinin moleküler düzenlenmesi oldukça karmaşıktır ve bu nedenle, bazı önemli sinyal moleküllerinin ve G proteinlerinin tarihsel keşfinden bahsetmek yararlı olacaktır.

1957 yılında Sutherland ve Rall (2,3) adenilat siklazın epinefrin, glukagon ve NaF ile uyarıldığını ve ürününün cAMP olduğunu saptamışlardı, ancak G proteinleri ve hormon reseptörlerinin varlığı bilinmiyordu. Bundan 10 yıl sonra hormona duyarlı adenilat siklazın düzenleyici altbirimindeki özgün bir bölge ile hormon ligandının allosterik etkileşiminin, katalitik birimin aktivitesini düzenlediği ortaya çıkarıldı. 1960'ların sonunda Birnbaumer ve Rodbell (4) yağ hücresi adenilat siklazında yaptıkları çalışmalarda, adenilat siklaz enziminin çeşitli hormon reseptörleri tarafından uyarıldığı ve bu reseptörlerin katalizörlerinden farklı oldukları sonucuna varmışlardır. Birkaç yıl sonra Orly ve Schramm (5) reseptör ve adenilat siklazın birbirlerinden bağımsız olduğunu göstermişlerdir. 1981'de Shorr ve arkadaşları (6)  $\beta$  adrenerjik reseptörünü saflaştırmışlar ve hücre zarını yedi kez kat eden ilk G protein reseptörünü karakterize etmişlerdir. Kısa bir süre sonra Rodbell ve Birnbaumer (7) GTP'nin adenilat siklaz enziminin hormonal uyarısındaki rolünü tanımlamışlardır. Pfeuffer ve Helmreich (8) adenilat siklaz kompleksinden GTP bağlayan bir proteini ayırmışlar, 1977'de Ross ve Gilman (9) ise hormona duysız adenilat siklaz sistemine 40 kDa'luk GTP bağlayan bir proteini, GTP varlığında ekleyerek uyarımın yeniden oluştuğunu bildirmişlerdir. O zaman N<sub>s</sub> olarak adlandırılan ve şimdi G $\alpha_s$  olarak bilinen bu protein yine Gilman ve arkadaşları tarafından saflaştırılarak karakterize edilmiştir. 1994 yılında Gilman ve Rodbell (10) o zamana kadar G proteinleri ile ilgili çalışmalarından dolayı Tıp ve Fizyoloji alanında Nobel ödülünü kazanmışlardır.

### 1.1. G protein kenetli reseptör (GPCR)'ler

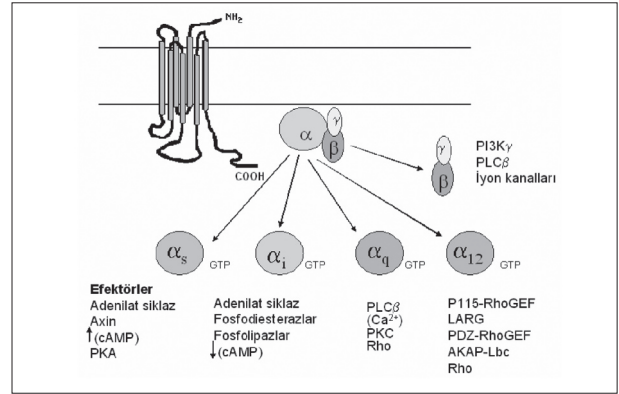
Klasik G protein kenetli reseptörler (G protein coupled receptor-GPCR) ailesi heptahelikal veya serpentin reseptörler olarak adlandırılır. Son zamanlarda kullanılan bu isimleri, G protein-kenetli reseptörlerin hücre zarını yedi kez kat eden ve hücre dışına bakan bir N ucu ile hücre içine bakan bir C-ucuna sahip olduğunu ifade etmektedir. Bununla birlikte son birkaç yıldır, heptahelikal veya serpentin olmayan bir grup reseptör veya proteinin, biyolojik etkilerinin bir kısmını heterotrimerik G proteinlerinin aracılığı ile gerçekleştirdikleri belirlenmiştir (11). Bu reseptörler, hücre dışı bir ligand bağlama bölgesi, bir transmembran bölge (domain) ve bir sitozolik bölgeye sahip, hücre zarını bir kez kat eden ve protein tirozin kinaz etkinliğine sahip proteinlerdir ve klasik olmayan GPCR'ler olarak tanımlanmaktadır (11). Epidermal büyüme faktörü

(EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), insülin, insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF) reseptörleri bu ailedendir (12,13). Klasik GPCR'ler lipitler, biyojenik aminler, peptitler, proteinler, nükleotitler, koku veya ışık gibi farklı tipteki pekçok uyarandan etkilenebilir ve guanin nükleotitlerini bağlayan heterotrimerik G proteinleri ile kenetlenerek enzim ve/veya iyon kanalları dahil olmak üzere çeşitli efektörlerin etkinliğini düzenlerler. Salgı hızının kontrolü, kas kasılması ve metabolik işlemler gibi kısa dönemli etkiler ve büyüme ile farklılaşma gibi uzun dönemli etkiler GPCR'ler tarafından düzenlenir. Klasik GPCR'lerin 1000'den fazla üyesi olduğu bilinmektedir ve yapısal farklılıklarına göre üç aileye ayrılmaktadırlar (14). Bu aileler içinde en geniş ve en çok çalışılanı, rodopsin/ $\beta$ -adrenerjik reseptör benzeri reseptörleri kapsayan A ailesidir. A ailesinin üyelerinin hepsinde korunmuş olan kalıntı Asp-Arg-Tyr motifindeki arjinindir. A reseptör ailesinin büyük bir bölümünde, ikinci ve üçüncü hücre dışı ilmikleri (ECL2 ve 3) bağlayan bir disülfid köprüsü bulunmaktadır; ayrıca karboksil ucunda palmitoyillenmiş bir sistein kalıntısı dördüncü hücre içi ilmiği oluşturabilmektedir. B reseptör ailesinin üyeleri, disülfid köprü ağı oluşturduğu düşünülen, birçok sisteinin yer aldığı uzun bir amino ucu ile tanımlanmıştır. B ailesinde A ailesine benzer, ECL2 ve 3'ü bağlayan bir disülfid köprüsü bulunmakla birlikte, palmitoyillenme bölgesi eksiktir. B reseptör ailesi çeşitli peptit, hormon ve nöropeptitleri bağlar. C ailesi üyeleri 500-600 amino asitten oluşmuş, olağandışı uzunlukta bir amino ucu ile tanımlanmaktadır. Metatropik glutamat reseptörler, GABA reseptörleri ve kalsiyum reseptörleri gibi üyeleri olan C ailesi, ECL-2 ve 3'te yerleşik sisteinler dışında A ve B reseptör aile üyeleri ile ortak amino asitler içermezler (15).

## 1.2. G proteinlerinin sınıflandırılması

G-protein-aracılı sinyal sistemlerinin çeşitliliğinin temelinde, G proteinlerinin modüler yapısı ve birçok alt tiplerin varlığı yatar. Bugüne değin 20  $\alpha$ , 5 $\beta$  ve 13 $\gamma$  altbirimi tanımlanmıştır (16). G  $\alpha$ -altbirimleri molekül ağırlıkları 39-52 kDa arasında değişmektedir.  $\alpha$ -altbirimleri guanin nükleotit bağlama bölgesi ile doğal GTPaz etkinliğinden sorumlu bölgeyi içerir ve ayrıca, G proteinlerinin reseptör ve efektör ile etkileşimlerinin özgüllüğünü belirler.  $\beta$ -altbirimlerinin molekül ağırlığı 35-39 kDa,  $\gamma$ -altbirimlerinin molekül ağırlığı ise 7-8 kDa arasında değişmektedir (17, 18).

G proteinlerinin özgüllüğünü tanımlayan  $\alpha$ -altbirimleri amino asit dizilerinin benzerliğine göre  $G_{\alpha_s}$ ,  $G_{\alpha_{i/o}}$ ,  $G_{\alpha_{q/11}}$  ve  $G_{\alpha_{12/13}}$  olmak üzere dört aileye ayrılmıştır (Tablo 1) (Şekil 1) (1,16,19). Şimdiye kadar 16 genin ürünü olan 20  $\alpha$ -altbirimi tanımlanmıştır. Dokuların hepsinde bulunan adenilat siklaz sistemi ve retinal çubuk dış segmentlerinde bulunan cGMP fosfodiesteraz yolları, G protein-reseptör ve G protein-efektör etkileşimlerinin anlaşılmasında model olarak kullanılmıştır (10,20).



**Şekil 1.** G proteinlerinin özgüllüğünü tanımlayan  $\alpha$ -altbirimleri amino asit dizilerinin benzerliğine göre  $G_{\alpha_s}$ ,  $G_{\alpha_{i/o}}$ ,  $G_{\alpha_{q/11}}$  ve  $G_{\alpha_{12/13}}$  olmak üzere dört aileye ayrılmıştır ve etkileştikleri efektör moleküllerde farklılıklar bulunmaktadır (19).

Hormon ve koku reseptörleri,  $G_{\alpha_s}$  ailesinin ( $G_{\alpha_s}$  ve  $G_{\alpha_{olf}}$ ) üyeleri ile etkileşerek adenilat siklazı uyarır ve cAMP sentez hızını artırır. Tek bir öncül mRNA'nın kırılması ile molekül ağırlıkları 44.2 kDa ile 45.7 kDa arasında değişen dört farklı  $G_{\alpha_s}$  polipeptidi sentezlenir; ancak, bu polipeptitler sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jellerinde 45 kDa ağırlığında  $G_{\alpha_{s-s}}$  (kısa) ve 52 kDa ağırlığında  $G_{\alpha_{s-l}}$  (uzun) olmak üzere iki bant olarak göç ederler. Şimdiye kadar adenilat siklazın 8 izoformu olduğu gösterilmiştir ve bunların hepsi de  $G_{\alpha_s}$  ile uyarılır. Bunlara ek olarak  $G_{\alpha_s}$  iskelet kasındaki dihidropiridine duyarlı voltaj-kapılı Ca<sup>2+</sup> kanallarını uyarır ve kardiyak Na<sup>+</sup> kanallarının baskılanmasına yol açar (21,22). Koku alma epitelyumunda bulunan ve koku reseptörleri ile bağlantılı  $G_{\alpha_{olf}}$  (olfactory) proteini adenilat siklazın kokuya özgü formu ile etkileşir.

$G_{\alpha_{i/o}}$  ailesinin üyelerinden olan  $G_{\alpha_i}$ , adenilat siklazın baskılanması ile cAMP derişiminde azalmaya neden olan G proteindir ve  $G_{\alpha_{11}}$ ,  $G_{\alpha_{12}}$ ,  $G_{\alpha_{13}}$  olmak üzere üç tipi bulunmaktadır.  $G_{\alpha_{i/o}}$  ailesinden olan  $G_{\alpha_o}$  beyin zar proteinlerinin % 1-2'sini oluşturur ve daha çok nöronal konilerde bulunur.  $G_{\alpha_o}$ 'nun etkisini esas olarak  $\beta\gamma$ -kompleksi ile yaptığı düşünülmektedir fakat efektörleri direkt olarak düzenleyip düzenlemediği bilinmemektedir (1).  $G_{\alpha_z}$  proteini sinir sistemi ve trombositler gibi çeşitli dokularda bulunmaktadır.  $G_{\alpha_{i/o}}$  ailesinin  $G_{\alpha_z}$  dışındaki tüm üyeleri boğmaca (pertussis) toksini ile ADP ribozillenir.  $G_{\alpha_z}$  proteini,  $G_{\alpha_i}$  ile bazı benzer fonksiyonel özelliklere sahiptir fakat özellikle Rap1GAP ve bazı RGS proteinleri ile etkileşimleri gösterilmiştir (23). Bu ailenin üyelerinden olan gustducin ve transdusinler duyuusal fonksiyonlar ile ilişkilidir (24,25). Fotoreseptör çubuk hücrelerinin dış segmentinde bulunan rodopsin ışık ile uyarılır ve transdusin 1 ( $G_{\alpha_{tr}}$ )'i aktive eder. Uyarılmış  $G_{\alpha_{tr}}$  cGMP-özgün fosfodiesterazı uyararak cGMP'nin sitoplazmik derişiminde azalmaya yol açar. Retinal konilerde bulunan G proteini ise transdusin 2 ( $G_{\alpha_{tr-c}}$ ) olarak isimlendirilir.  $G_{\alpha_{tr-c}}$  koni opsinleri ile bağlantılıdır ve farklı bir fosfodiesterazı aktive eder. Transdusine benzer bir başka G proteini sadece tat alma tomurcuklarında eksprese edilir ve "gustducin"  $G_{\alpha_{gust}}$

**Tablo 1.** Heterotrimerik G proteinleri

İsim	Doku	Efektör
<b><math>\alpha</math>-Altbirimleri</b>		
<b><math>G\alpha_s</math> ailesi</b>		
$G\alpha_s$	Her yerde	AC (tüm tipleri) $\uparrow$
$G\alpha_{sXL}$	Nöroendokrin	AC $\uparrow$
$G\alpha_{olf}$	Koku epitelyumu, beyin	AC $\uparrow$
<b><math>G\alpha_{i/o}</math> ailesi</b>		
$G\alpha_{i1}$	Oldukça yaygın	AC (tip I,III,V,VI,VIII,IV) $\downarrow$ (Direkt düzenlenme)
$G\alpha_{i2}$	Her yerde	$G\beta\gamma$ aracılığı ile diğer bazı efektörler düzenlenir.
$G\alpha_{i3}$	Oldukça yaygın	Uyarılmış $G\alpha_{i1-3}$ 'den serbestlenir.
$G\alpha_o$	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 ?)
$G\alpha_{1-r}$	Retinal çubuklar, tat hücreleri	PDE 6 ( $\gamma$ altbirim çubuk) $\uparrow$
$G\alpha_{1-c}$	Retinal koniler	PDE 6 ( $\gamma$ altbirim çubuk) $\uparrow$
<b><math>G\alpha_{q/11}</math> ailesi</b>		
$G\alpha_q$	Her yerde	PLC- $\beta$ 1-4 $\uparrow$
$G\alpha_{11}$	Hemen hemen her yerde	PLC- $\beta$ 1-4 $\uparrow$
$G\alpha_{14}$	Böbrek, karaciğer,	PLC- $\beta$ 1-4 $\uparrow$
$G\alpha_{15/16}$	Hematopoietik hücreler	PLC- $\beta$ 1-4 $\uparrow$
<b><math>G\alpha_{12/13}</math> ailesi</b>		
$G\alpha_{12}$	Her yerde	PDZ-RhoGEF/LARG, Btk, Gap1m, cadherin
$G\alpha_{13}$	Her yerde	p115RhoGEF, PDZ-RhoGEF/LARG, radixin
<b><math>\beta</math> Altbirimleri</b>		
$\beta_1$	Retinal çubuklar	AC tip 1 $\downarrow$ AC tip II,IV,VII $\uparrow$ PLC- $\beta$ ( $\beta_3 > \beta_2 > \beta_1$ ) $\uparrow$ GIRK1-4 (Kir3.1-3.4) $\uparrow$ kinazlar (GIRK 2 ve 3) $\uparrow$ PI-3-K, $\beta$ , $\gamma$ $\uparrow$ T tip VDCC (Ca <sub>v</sub> 3.2) $\downarrow$ ( $G\beta_2\gamma_2$ ) N-,P/Q-,R-tip VDCC (Ca <sub>v</sub> 2.1-2.3) $\downarrow$
$\beta_2$	Oldukça yaygın	
$\beta_3$	Retinal koniler	
$\beta_4$	Oldukça yaygın	
$\beta_5$	Esas olarak beyin	
<b><math>\gamma</math> Altbirimleri</b>		
$\gamma_1, \gamma_{rod}$	Retinal çubuklar, beyin	AC tip 1 $\downarrow$ AC tip II,IV,VII $\uparrow$ PLC- $\beta$ ( $\beta_3 > \beta_2 > \beta_1$ ) $\uparrow$ GIRK1-4 (Kir3.1-3.4) $\uparrow$ kinazlar (GIRK 2 ve 3) $\uparrow$ PI-3-K, $\beta$ , $\gamma$ $\uparrow$ T tip VDCC (Ca <sub>v</sub> 3.2) $\downarrow$ ( $G\beta_2\gamma_2$ ) N-,P/Q-,R-tip VDCC (Ca <sub>v</sub> 2.1-2.3) $\downarrow$
$\gamma_{14}, \gamma_{conc}$	Retinal koniler, beyin	
$\gamma_2, \gamma_6$	Yaygın	
$\gamma_3$	Beyin, kan	
$\gamma_4$	Beyin ve diğer dokular	
$\gamma_5$	Yaygın	
$\gamma_7$	Yaygın	
$\gamma_8, \gamma_9$	Koku/vomeronal epitelyum	
$\gamma_{10}$	Yaygın	
$\gamma_{11}$	Yaygın	
$\gamma_{12}$	Yaygın	
$\gamma_{13}$	Beyin, tat tomurcukları	

AC, adenilat siklaz; PDE fosfodiesteraz; PLC, fosfolipaz C; GIRK, G proteini ile düzenlenen dışarı düzeltilmiş potasyum kanalı; VDCC, voltaj-bağımlı Ca<sup>2+</sup> kanalı; PI-3-K, fofoinositol 3-kinaz; GRK, G proteini ile düzenlenen kinaz; RhoGEF, Rho guanin nükleotit değiş-tokuş faktörü (1).

olarak anılır.  $G_{\alpha_{\text{gust}}}$  ile transdusinin amino asit dizileri % 80 benzerlik göstermektedir (17,20).

Birçok hormon, nörotransmitter ve büyüme faktörünün etkileri fosfoinositide özgün fosfolipaz C'yi uyarma yetenekleri ile açıklanır. Fosfolipaz C, zar lipidi fosfatidilinositol 4,5-bifosfat [ $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_2$ ]’in hidrolizini katalizler ve inositol 1,4,5-trifosfat [ $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ ] ile diaçilgliserol gibi ikincil ulakların oluşumuna yol açar (17). Bu yolların düzenleyicisi olan  $G_{\alpha_{q/11}}$  ailesinin üyeleri  $G_{\alpha_{11}}$ ,  $G_{\alpha_q}$ ,  $G_{\alpha_{14}}$ ,  $G_{\alpha_{15}}$ , ve  $G_{\alpha_{16}}$ ’dır.  $G_{\alpha_q}$  ve  $G_{\alpha_{11}}$  bir karışım olarak sığır beyni ile sıçan karaciğerinden ve bunlara benzer bir protein hindi eritrositlerinden saflaştırılmıştır (26-28).  $G_{\alpha_{q/11}}$  ailesinin üyeleri, boğmaca ve kolera toksini ile ADP ribozillenmez.  $G_{\alpha_q}$  ve  $G_{\alpha_{11}}$  pek çok dokuda bulunur fakat  $G_{\alpha_{q/11}}$  ailesinden olan  $G_{\alpha_{15}}$  ve  $G_{\alpha_{16}}$  bilindiği kadarıyla daha çok hematopoietik hücrelerde bulunur (18).  $G_{\alpha_q}$  ile  $G_{\alpha_{11}}$ ’in amino asit dizileri % 88’lik bir benzerlik gösterirken,  $G_{\alpha_{14}}$  ve  $G_{\alpha_{16}}$  proteinleri ile  $G_{\alpha_q}$  arasında % 55-60 benzerlik vardır (17).

$G_{\alpha_{12}}$  ve  $G_{\alpha_{13}}$  proteinleri pek çok yerde bulunur.  $G_{\alpha_{12}}$  ve  $G_{\alpha_{13}}$  proteinlerinin fonksiyonları henüz açıklığa kavuşmamıştır fakat bu proteinlerin aktive mutantları ile yapılan çalışmalar, fosfolipaz A<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> değiş-tokuş proteini veya c-jun NH<sub>2</sub>-terminal kinaz gibi efektörleri uyarak çeşitli sinyal yollarını indükledikleri gösterilmiştir (1,29-31).

### 1.3. G proteinlerinin yapısal özellikleri

$G_{\alpha}$ -GTP $\gamma$ S,  $G_{\alpha}$ -GDP,  $G_{\alpha}$ -AlF<sub>4</sub><sup>-</sup> ile  $G_{\alpha_{11}}$ -GTP $\gamma$ S,  $G_{\alpha_{11}}$ -GDP ve  $G_{\alpha}$ -AlF<sub>4</sub><sup>-</sup>’nin kristal yapılarının çözülmesi ile G protein  $\alpha$ -altbirimlerinin yapılarına dair pek çok bilgi elde edilmiştir (32-36).  $\alpha$ -altbirimi temel olarak iki işlevsel bölgeden oluşur: GTPaz ailesine üye tüm proteinlerde gözlenen, GTP’nin bağlanmasına ve hidrolizine yarayan ortak bir GTPaz bölgesi ve GTP’yi proteinin göbeğine gömen, heterotrimerik G proteinlerine özgü  $\alpha$ -sarmal bölgesi. GTPaz bölgesi, altı uzun  $\beta$ -şeridi çevreleyen beş  $\alpha$ -sarmaldan oluşmuştur. Bu bölge tüm GTPaz’larda nükleotit bağlanmasını sağlayan korunmuş bölgeleri içerir. Bunlar, GTP-bağlama (GXGXXGKS), Mg<sup>2+</sup>-bağlama (DXXG) ve guanin halka bağlama (NKXD) motifleridir. GTPaz bölgesinde reseptörlerin, efektör moleküllerinin ve  $\beta\gamma$ -kompleksinin bağlanma bölgeleri bulunur.  $\alpha$ -altbiriminin ikinci bölgesi tamamıyla bir  $\alpha$ -sarmal yapıdadır ve işlevi bilinmemektedir fakat bu bölgenin guanin nükleotidini kendisi ile GTPaz bölgesi arasına gömen bir “kapak” oluşturduğu düşünülmektedir (37).

G  $\beta$ -altbirimi N-ucundaki yaklaşık 20 amino asit içeren  $\alpha$ -sarmal yapısında bir bölge ile yedi kez tekrarlanan WD-40 (trp, asp, WD) motifinin oluşturduğu pervane şeklindeki bir bölgeden oluşmaktadır (38). G $\gamma$  ve G $\beta$ -altbirimleri N uçlarından paralel bir büklümlü büklüm yapı oluşturarak etkileşirler ve yalnızca denatüre edici koşullarda birbirlerinden ayrılan bir dimer oluştururlar.  $\beta\gamma$ -kompleksi,  $\alpha$ -altbiriminin reseptöre ilginliğinin

(afinite) artırılmasında ve doğrudan yada G protein  $\alpha$ -altbirimi ile birlikte çeşitli efektörlerin düzenlenmesinde görev yapar (39).  $\beta\gamma$  dimeri,  $G_{\alpha}$ -GDP’deki hidrofobik cebe bağlanır. GTP,  $G_{\alpha}$ ’ya bağlanarak hidrofobik cebi ortadan kaldırır ve  $G_{\alpha}$ ’nın G $\beta\gamma$  kompleksine olan ilginliğini azaltır (33).  $\beta\gamma$  kompleksinin ayrıca G protein kenetli reseptör kinazların hücre zarına alınmasına yol açtığı düşünülmektedir.

### 1.4. G protein etkinliğinin düzenlenmesinde moleküler mekanizmalar

G proteinleri inaktif (sessiz) durumdayken  $\alpha$ -altbirimi,  $\beta\gamma$ -kompleksi ve GDP birbirine bağlıdır (Şekil 2) (38). GDP-bağlı dinlenme durumunda heterotrimerik yapıda bulunan G proteini hücre dışı reseptörle yada hücre içi efektör sistemleri ile etkileşim halinde değildir. Bir sinyal molekülünün G protein kenetli reseptöre bağlanmasıyla reseptör uyarılır. Uyarılan reseptör,  $\alpha$ -altbiriminin guanin nükleotit bağlama bölgesinden GDP’nin serbestlenmesine ve yerine GTP’nin bağlanmasına yol açar. GTP’nin bağlanması, G proteininde yapısal değişikliğe neden olur ve GTP-bağlı  $\alpha$ -altbirimi, uyarılmış reseptörden ve  $\beta\gamma$  dimerinden ayrılır. Sonra, hem  $\alpha$ -altbirimi hem de  $\beta\gamma$ -kompleksi iyon kanalları ya da enzimler gibi efektörlerin aktivitesini düzenler.

G protein  $\alpha$  altbirimi GTPaz aktivitesine sahiptir ve  $\alpha$  altbirimine bağlı GTP’yi GDP ve inorganik fosfata (Pi) hidrolizler. Oldukça yavaş seyreden GTP hidrolizi, efektör- $\alpha$  altbirim kompleksinin ayrılmasına neden olur ve düzenleyici sinyal sonlanır. GDP-bağlı  $\alpha$ -altbirimi ile  $\beta\gamma$ - altbirimleri bir araya gelerek inaktif G proteinini oluştururlar ve uyarılmış reseptör varlığında yeni bir döngüye girebilirler. G proteinlerinin uyarılmasında hız belirleyici aşama, nükleotit bağlama cebinden GDP’nin serbestlenmesidir. GDP, heterotrimerik G proteininden  $G_{\alpha}$ -altbirimi tipine göre değişen bir hızda kendiliğinden salıverilir. Örneğin,  $G_{\alpha_0}$ ’dan GDP’nin serbestlenmesi için  $k_{\text{off}}$  0.19 dak<sup>-1</sup> iken,  $G_{\alpha_{12}}$  için  $k_{\text{off}}$  0.072 dak<sup>-1</sup>’dir (38, 40). G  $\alpha$ -altbirimlerinin uyarılmamış hali ise G $\beta\gamma$ -kompleksinin bağlanması ile kontrol edilir. Örneğin, Mg<sup>2+</sup> yokluğunda G $\beta\gamma$  kompleksinin,  $G_{\alpha_0}$ ’nın GDP’ye ilginliğini yaklaşık 300 kez artırdığı gösterilmiştir. G proteinin reseptör ile uyarılması sonucu, GDP’nin salıverilmesi büyük ölçüde kolaylaşır (20).

G protein  $\alpha$ -altbiriminin GTPaz aktivitesini düzenleyen proteinlere RGS (Regulators of G protein signaling proteins; G protein sinyalini düzenleyici proteinler) adı verilmektedir. RGS ailesinin 30’dan fazla üyesi olduğu ve hepsinde ortak olan RGS bölgesinin bulunduğu bilinmektedir. Bu bölge  $\alpha$ -altbirimine bağlanır ve GTPaz’ı uyarak GTP hidroliz hızını düzenler. Normal olarak yavaş olan içsel GTP hidrolizi, bir RGS proteinin bağlanması ile artar ve RGS’ler böylece etkin G protein sinyal süresini azaltarak negatif sinyal düzenleyicileri olarak görev yaparlar. RGS protein ekspresyonunda ve işlevinde herhangi bir bozulma, sinyal süresinin

artmasına neden olur (41-43). RGS'lerin G protein aracılı sinyal kinetiğini düzenlemenin yanısıra sinyal iletiminin özgünlüğünü etkiledikleri ve bazı durumlarda efektör işlevini üstlenebildikleri düşünülmektedir.

## 1.5. G protein işlevinin kovalent uyarlamalar (modifications) ile düzenlenmesi

### 1.5.1. Fosforillenme

G protein sinyal iletim şelaleleri (cascades) G proteinlerinin  $\alpha$ - veya  $\beta\gamma$ - altbirimlerinde çeviri sonrası gerçekleşen fosforillenme ve/veya açillenme gibi uyarlamalarla da düzenlenir. Örneğin,  $G\alpha_i$  aile üyelerinde,  $G\alpha$ -altbirimlerinin protein kinaz C ile fosforillenmeleri, sinyal iletimini baskılar (44-47). GDP-bağlı  $G\alpha_z$ 'nin protein kinaz C tarafından fosforillenmesi, heterotrimer oluşumunu engeller ve RGSZ1'in GAP etkinliğini durdurur (48,49).  $G\alpha_i$  ve  $G\alpha_s$ 'in GDP bağlı formları da kinazların substratlarıdır ve  $G\alpha_{12}$ 'nin fosforillenmesi  $G\beta\gamma$  ile etkileşimini engeller (50-52).  $G\beta$  ve  $G\gamma$  altbirimlerinin fosforillendiğine dair de çalışmalar vardır (53,54). Özetle; fosforillenme  $G\alpha$  ve  $G\beta\gamma$  aracılı sinyal iletimini ayırıştırmakla kalmaz, belli  $G\beta\gamma$  efektörlerinin seçici olarak modüle edilmesini de düzenler (38).

### 1.5.2. Lipit uyarlamaları

Proteinler, hücre zarlarına yönelimleri sırasında, özgün lipitler tarafından eş zamanlı veya çeviri sonrası değişimlere uğrarlar. Bu hücresel işlemlere lipitlenme adı verilir (Tablo 2) (55). Lipit modifikasyonlarının, özellikle transmembran sinyal sistemlerindeki sinyal moleküllerinin işlevlerinde önemli rolleri olduğu bilinmektedir. G proteinlerinin  $\alpha$ -altbirimlerinde palmitoyillenme ve/veya miristoyillenme ve  $\gamma$ -altbirimlerinde prenillenme olduğu gösterilmiştir fakat  $\beta$ -altbirimlerinde herhangi bir lipit modifikasyonu bildirilmemiştir. Miristoyillenme, (N-miristoyillenme)  $\alpha$ -altbirimindeki başlangıç metioninin, metionin amino-peptidaz enzimi ile uzaklaştırılmasından sonra N-ucunun ikinci pozisyonundaki Gly kalıntısına 14

karbonlu doymuş yağ asidi olan bir miristatın çevrimle eş-zamanlı ve geri dönüşümsüz olarak eklenmesiyle gerçekleşir (56). Miristat proteine kararlı bir amit bağı ile bağlanır. Bu nedenle miristoyillenme geri dönüşümsüz bir modifikasyondur. Miristoyillenme sadece  $G\alpha_i$  ailesinin  $\alpha$ -altbirimlerinde olur.


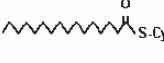
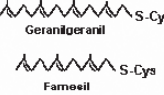
Şimdiye kadar incelenen tüm G protein  $\alpha$ - altbirimlerinden  $G\alpha_i$  hariç hepsi 16 karbonlu doymuş yağ asidi, palmitat içerir. Palmitoyillenme,  $\alpha$ -altbiriminin N-ucuna yakın sistein kalıntısı ile palmitatın tiyoester bağı ile geri dönüşümlü bağlanması sonucu oluşur (56).

G protein  $\gamma$ -altbirimleri, 20 karbonlu izoprenoid geranilgeranil veya retina özü  $\gamma_1$ , 15 karbonlu izoprenoid farnesil tarafından kovalent olarak değişime uğrar. Prenillenen proteinlerde, geranilgeranil veya farnesil yapısı  $\gamma$ 'nın C-ucundaki "CAAX" kutusundaki sistein kalıntısına kalımlı bir tiyoester bağı ile tutunur. Prenillenme sonrası CAAX-COOH bölgesinin en sonundaki üç amino asit proteolitik olarak kırılır ve yeni oluşan C-ucu karboksil metillenir (57). İzoprenillenmenin, farnesillenme mi yoksa geranilgeranillenme mi olacağı X'e bağımlı olarak gerçekleşir. CAAX motifindeki X bir Ser, Met, Gln veya Ala ise proteinde farnesillenme, eğer Leu var ise geranilgeranillenme olur (58). G protein  $\gamma$ -altbirimlerinde izoprenillenme engellenirse  $\beta\gamma$ - kompleksi, ne lipit zarı ve  $\alpha$  altbirimi ile etkileşir ne de efektör moleküllerine sinyal iletilir. (59,60). Lipit modifikasyonları aynı zamanda protein-protein etkileşimlerini düzenler. Örneğin,  $G\alpha$ 'nın N-miristoyillenmesi  $G\beta\gamma$  ve efektör etkileşimlerini düzenler;  $G\alpha_s$ 'in palmitoyillenmesi ise  $G\beta\gamma$ ' ya ilginliğini artırır.

### 1.5.3. ADP ribozillenme

G protein  $\alpha$ -altbirimlerinin bazılarında kolera toksini (*Vibrio cholera*: CTX) ve/veya boğmaca toksini (pertussis toksini: PTX) ile ADP ribozillenme bölgesi bulunur. Bu bakteri toksinlerinin birçoğu  $NAD^{+}$ 'nin ADP riboz grubunu, bazı G proteinlerine özgün olarak aktarılmasını katalizleyen etkinliklere sahiptir (61). Kolera toksini,  $NAD$ 'nin ADP riboz grubunun,  $G\alpha_{s, olf, t, gust}$   $\alpha$ - altbirimlerinin ortalarına yakın arginin ( $G\alpha_{s, Arg201}$ ) kalıntısına aktarılmasını katalizler (62).  $G\alpha_s$ 'in CTX ile ADP ribozillenmesi, GTP hidrolizini engeller ve böylelikle adenilat siklaz geriye dönüşümsüz olarak uyarılır ve cAMP düzeyi artar, bağırsaktaki epitel hücrelerinin foksiyonunu değiştirir ve aşırı su kaybı olur. Boğmaca toksininin (PTX)  $G\alpha_{i, o, t, gust}$  proteinleri üzerinde ADP ribozillediği bölge  $\alpha$ - altbiriminin karboksil ucundan dört amino asit uzaklıktaki sisteindir (63,64). G proteinin PTX ile ADP ribozillenmesi sonucu olarak,  $G\alpha_{i, o, t, gust}$  proteinleri ile özgün reseptörleri etkileşemez. GDP/GTP değiş-tokuşu, GTPaz etkinlikleri ve adenilat siklazın baskılanması gibi fiziksel özellikler G proteinlerinin boğmaca toksinince ADP ribozillenmesi ile değişmemektedir. ADP ribozillenmeyen  $G\alpha_{q/11}$  ve  $G\alpha_{12/13}$  ile  $G\alpha_i$  ailesinden olan  $G\alpha_z$ ' de sistein kalıntısı bulunmamaktadır (61).

**Tablo 2.** G proteinlerinde lipit yapıları ve hücre zarına tutunum kalıntıları

Lipit	Yapı	proteinler	bölgesi
N-Miristol		Trimerik G proteinleri ( $\alpha$ ) NRTK	$NH_2$ -ucu
S-Palmitol		Trimerik G proteinleri ( $\alpha$ ) GPKR Ras	İnternal
S-Prenil		Trimerik G proteinleri ( $\gamma$ ) Küçük G proteinleri Retinal GRK	COOH-ucu

NRTKs: non-reseptör tirozin kinazlar (RTKs: Hücre zarını yedi kez kat eden büyüme faktörü reseptörleri), GPKR: G proteinleri ile kenetlenen reseptörler, GRK: özgün reseptör kinaz (55).

## 1.6. G Proteinleri ile düzenlenen efektörler

G proteinleri ile düzenlenen efektör moleküllerinin klonlanması ile dokuya özgü ekspresyon profillerinde bir efektörün birkaç izoformu olduğu ve bu izoformların G protein  $\alpha$ -altbirimleri ve/veya  $\beta\gamma$ -altbirimleri tarafından farklı biçimde düzenlendikleri ortaya çıkmıştır. G protein  $\alpha$ .GTP ve  $\beta\gamma$ -altbirimlerinin doğrudan etkileştiği efektör proteinler; retinal cGMP fosfodiesteraz, adenilat siklazlar, fosfolipazlar, fosfolipit kinaz ve iyon kanallarıdır (1).

### 1.6.1. Adenilat siklaz

Tüm hücrelerde bulunan adenilat siklazlar, ATP'nin hücre içi ikinci haberci cAMP'ye dönüşümünü katalizleyen enzimlerdir. Adenilat siklazın şimdiye kadar farklı işlevsel özelliklere sahip dokuz izoformu tanımlanmıştır (59, 65, 66). Memeli adenilat siklaz izoformları yaygın olarak eksprese olurlar. Ancak, tip I ve II esas olarak nöronlarda, tip III ise yalnızca koku epitelinde bulunur (66). Her bir adenilat siklaz enziminin düzenlenmesi, oldukça şaşırtıcı bir değişkenlik gösterir. Tüm izoformlar  $G\alpha_s$  tarafından uyarılır.  $G\alpha_s$  proteinin aktivasyonu adenilat siklazı uyarır ve cAMP derişiminin artmasına yol açar. Artan cAMP derişimi PKA'yı aktive eder. PKA'nın katalitik altbirimleri çekirdeğe doğru hareket ederek CREB gen düzenleyici proteinini fosforiller ve böylece gen transkripsiyonunun uyarılmasıyla hücreyel yanıt oluşur. G protein  $\beta\gamma$ -altbirimleri adenilat siklaz tip I'i baskımlarken tip II ve tip IV izoformları  $G\beta\gamma$  tarafından uyarılır. Tip II ve tip IV'ün uyarıcı düzenlenmesi  $G\alpha_s$ 'in varlığına da bağımlıdır. Adenilat siklaz tip II'nin uyarılması için  $G\alpha_s$  ile kıyaslandığında  $\beta\gamma$ 'nın oldukça yüksek derişimlerine gereksinim vardır (67,68). Bu nedenle bu altbirimlerin, yüksek düzeylerde eksprese edilen  $G\alpha_{i/o}$  ailesinin üyelerinden sağlandığı düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar,  $G\alpha_i$ 'nin üç tipinin de tip V ve tip VI adenilat siklaz enzimlerinin baskılanmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Tip I adenilat siklaz seçici olarak  $G\alpha_o$  tarafından baskılanırken tip I ve tip V adenilat siklazlar  $G\alpha_z$  tarafından baskılanabilir (65, 67, 69).

Hücre içi  $Ca^{2+}$  adenilat siklaz aktivitesini düzenleyen en önemli düzenleyicidir. Adenilat siklaz tip I ile tip VIII ve daha az olmak üzere tip III,  $Ca^{2+}$ /kalmodulin ile uyarılır. Diğer izoenzimler  $Ca^{2+}$ 'a oldukça duyarsızdır. Adenilat siklaz izoformlarının farklı düzenlenmeleri, bu enzimlerin G protein aracılı sinyal yollarında bütünleştirici olarak görev yapabildiklerini düşündürmektedir.

### 1.6.2. Fosfolipaz C $\beta$

Memeli sistemlerdeki fosfolipaz C enzimleri,  $-\beta$ ,  $-\gamma$  ve  $-\delta$  olmak üzere üç aileden oluşur ve herbirinin çeşitli izoenzimleri vardır (70). Hormonların, nörotransmitterlerin ve büyüme faktörlerinin birçoğu G protein kenetli reseptörler aracılığı ile fosfolipaz C'yi uyarır. Fosfolipaz C, fosfotidil-4,5-bifosfat'ın hidrolizini

katalizleyerek, inositol-1,4,5-trifosfat ile diaçilgliserol ikinci ulaklarının oluşumuna yol açar. G proteinleri ile düzenlenen PLC  $\beta$  ailesinin en azından dört izoformu (PLC  $\beta$ 1-4) vardır (71). Adenilat siklazların düzenlenmesinde olduğu gibi, her birinin G proteinleri ile özgül etkileşim biçimleri vardır. Fosfolipaz C (PLC)'nin G protein aracılı düzenlenmesinde en azından iki farklı mekanizma vardır ve bu mekanizmalar boğmaca toksini inhibisyonuna duyarlılıklarına göre ayırt edilir. PLC  $\beta$  izoformlarının hepsi G proteinlerinden boğmaca toksinine duyarsız  $G\alpha_{q/11}$  ailesinin üyeleri ile uyarılabilir. PLC  $\beta$ 'nin boğmaca toksinine duyarlı düzenlenmesinin  $G\alpha_{i/o}$  ailesinin boğmaca toksine duyarlı üyelerinin  $\beta\gamma$ -altbirimleri aracılığı ile gerçekleştiği düşünülmektedir (72).

### 1.6.3. cGMP Fosfodiesteraz

cGMP fosfodiesteraz (PDE) omurgalıların çubuk fotoreseptör hücrelerinin görsel uyarılmasında merkezi rol oynar. Fotopigment rodopsinin bir fotonu soğurması ile PDE uyarılarak, cGMP hidrolizlenir. Ardından, cGMP-kapılı katyon kanallarının kapanmasıyla hücre zarı hiperpolarize olur (73). Retinal  $G\alpha_t$  proteini PDE'nin rodopsin tarafından düzenlenmesine aracılık eder.

### 1.6.4. Fosfoinositit 3-kinaz

Fosfoinositit (PI) 3-kinazlar ATP-bağımlı enzimler ailesindedir ve myo-inositol-içeren fosfolipitlerden, fosfotidilinositol (PI), fosfotidilinositol 4-fosfat ve  $PIP_2$ 'nin sırasıyla fosfotidilinositol 3-fosfat, fosfotidilinositol 3,4-bifosfat ve fosfoinositol 3,4,5-trifosfat'a fosforillenmesini katalizler. Birçok memeli hücresi PI-3 kinaz aktivitesine sahiptir ve heterotrimerik G proteinlerinin  $\beta\gamma$ -altbirimleri ile uyarılır. Memeli hücrelerinin birçoğu heterotrimerik G proteinlerinin  $\beta\gamma$ -altbirimleri ile uyarılabilen PI-3 kinaz aktivitesine sahiptir (66).

### 1.6.5. Fosfolipaz $A_2$

Fosfolipaz  $A_2$  ( $PLA_2$ ) prostanooidlerin sentezindeki hız sınırlayıcı aşama olan, plazma zarı lipitlerinden araşidonik asitin salınmasını katalizler (74). Bu enzimler, düşük-molekül-ağırlıklı salgılanan türler ve yüksek-molekül-ağırlıklı sitozolik enzimler olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Bu iki enzim sınıfının düzenlenmesi karmaşıktır. Enzimin her iki tipinin de agonist ile uyarılan araşidonat metabolizmasında önemli rolleri bulunmaktadır (74). G protein  $\beta\gamma$ -altbirimlerinin, retinal  $PLA_2$  aktivitesini uyardığı gösterilmiştir (75).

### 1.6.6. İyon kanalları

G proteinlerinin  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  ve  $Na^{+}$  seçici iyon kanallarının açılıp-kapanmasında ve modülasyonunda önemli rolleri vardır. Kalp  $K^+$  kanalları gibi örneklerde iyon kanallarının G proteinlerince doğrudan düzenlenmesi çok olası olsa da, iyon kanal etkinliğinin ölçümlerindeki teknik zorlukları nedeniyle ikinci ulaklar gibi dolaylı mekanizmaları göz ardı etmek zordur (76,77).

## A. $Ca^{2+}$ kanalları

G proteinleri birçok  $Ca^{2+}$  kanalını düzenler.  $Ca^{2+}$  kanalları fonksiyonel olarak L-, N-, T- ve P-tipi olarak sınıflandırılmaktadır. Nöronlardaki w-conotoxin'e duyarlı L- ve N-tipi  $Ca^{2+}$  kanalları ile kalpteki L-tipi dihidropiridine-duyarlı  $Ca^{2+}$  kanalı, G proteinleri ile düzenlenir (78, 79). Voltaja bağımlı  $Ca^{2+}$  kanallarının G protein-kenetli reseptörler tarafından inhibisyonu ilk kez civciv dorsal kök gangliyon preparasyonlarında ve hemen bunun arkasından pek çok hücre soyunda bildirilmiştir (80). Ayrıca bazı çalışmalar, opioid ve katekolamin reseptörleri ile kenetlenen  $G\alpha_o$ 'nun  $Ca^{2+}$  kanallarının inhibisyonunda rolü olabileceğini düşündürmektedir (81).

## B. $Na^+$ kanalları

Kalp hücrelerinin  $\beta$  adrenerejik uyarılmasında, hızlı  $Na^+$  akımı baskılanmakta ve bu  $Na^+$  akımının baskılanmasında  $G\alpha_s$ 'in doğrudan bir rolü olduğu düşünülmektedir (82). Böbrek epitel hücre soyundaki amilorid'e duyarlı  $Na^+$  kanalının boğmaca-toksinine duyarlı mekanizma ile uyardığı tanımlanmıştır. Bazı çalışmalar  $G\alpha_{i3}$ 'ün  $Na^+$  kanalı aktivasyonunda rolü olduğunu vurgulamaktadır (83). Bu kanalın düzenlenmesinde dolaylı mekanizmaların da rolü olduğu düşünülmektedir.

## C. $Cl^-$ kanalları

Kalp ve epitel hücrelerdeki  $Cl^-$  kanallarının uyarılmasının G protein-bağımlı olarak gerçekleştiği bildirilmiştir. Hava yolu epitel hücrelerindeki kistik fibroz transmembran iletken düzenleyici (CFTR) kanalın, boğmaca toksinine-duyarlı G proteinleri ile baskılanabileceği kanıtlanmıştır. Henüz tanımlanmamış bir kalp  $Cl^-$  kanalının  $G\alpha_s$  ile doğrudan düzenlendiği gösterilmiştir ancak ikinci ulaklara bağımlı mekanizmalar da göz ardı edilmemektedir (84).

## D. **GIRK (G protein-Gated inwardly rectifying $K^+$ ) kanalı**

GIRK (G protein-kapılı içe doğru düzeltilmiş  $K^+$ ) kanalları, kalpte, merkezi ve periferel sinir sistemlerinde ve endokrin dokularda bulunurlar ve yavaş baskılayıcı postsinaptik sinyal ile hormon salgılanmasını, boğmaca toksinine-duyarlı GPCR'ler aracılığı ile kontrol ederler (85). GIRK kanallarının uyarılması, boğmaca toksinine duyarlı G protein ( $G\alpha_{i/o}$  ve  $G\alpha_{q/11}$ )'inden serbestlenen  $\beta\gamma$  dimerinin doğrudan kanala bağlanmasıyla gerçekleşir (86). Merkezi sinir sisteminde hipokampusdaki GIRK kanalları, postsinaptik uca  $K^+$  iletkenliğini artırarak inhibitör nörotransmitter geçişine aracılık eder. Otonom sinir sistemindeki GIRK kanalları ise vagus siniri aracılığıyla parasempatik sistem tarafından düzenlenmesiyle ilişkilidir.

## 1.7. Hücre büyümesi, farklılaşması ve transformasyon

Son yıllarda GPCR'lerin ve heterotrimerik G proteinlerinin hücre büyümesi ve farklılaşmasının düzenlenme-

sinde ve bazı G proteinlerinin hücresel transformasyonunun indüklenmesinde önemli rollerinin olduğu ortaya konmuştur (87,88). Pek çok G protein  $\alpha$ -altbirimi, bazı koşullar altında hücreleri transforme etme yeteneğine sahiptir (89,90).

### 1.7.1. $G\alpha_{q/11}$ mutantları

$G\alpha_{q/11}$ 'nin transforme olmuş mutantları, insan tümörlerinde bulunamamıştır fakat  $G\alpha_q$  Q209L veya  $G\alpha_{11}$  Q209L aktif formlarının kullanıldığı hücre soylarında aktif  $G\alpha_{q/11}$ 'in düşük ekspresyon düzeylerinde fibroblastların transformasyonuna, aktif  $G\alpha_{q/11}$ 'in yüksek ekspresyon düzeylerinde ise büyümenin baskılanmasına ve apopto- zise neden olduğu gösterilmiştir (89,91). Ayrıca, çeşitli  $G\alpha_{q/11}$  kenetli reseptörlerin oldukça yüksek transformasyon aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir. 5-HT<sub>2C</sub> reseptörü ile M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> ve M<sub>3</sub> muskarinik reseptörlerin, agonist varlığında fibroblastları transforme etme yeteneğine sahip oldukları gösterilmiştir (92,93). Gastrin-serbestleyen peptitler, galanin, nöromedin B, vazopresin gibi nöropeptitlere özgü  $G\alpha_{q/11}$  kenetli reseptörlerin küçük hücre akciğer kanser proliferasyonunun, otokrin ve parakrin uyarısı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (94). Bu çalışmalar, ligand varlığında  $G\alpha_{q/11}$  kenetli reseptörlerin tümörjenik olabileceğini düşündürmektedir. In-vitro deneyler, aktif  $G\alpha_{q/11}$  kenetli reseptörlerin mitogenez ve tümör oluşumunu artırabileceğini göstermektedir (95).

### 1.7.2. $G\alpha_s$ mutantları

G protein kenetli reseptörler ve G protein  $\alpha$ - altbirimleri mutasyonlara uğrayarak hastalığa neden olabilir.  $G\alpha_s$  proteinin  $\alpha$ - altbirimindeki GTPaz bölgesinde oluşan somatik mutasyonların sonucu olarak,  $G\alpha_s$  geni bir onkogene dönüşür ve bu onkogene gsp adı verilmektedir. Aynı zamanda ADP-ribozillenme bölgesi olan, GTPaz bölgesindeki Arg201 yerine sistein (R201C) veya histidin (R201H) yada Gln 227 yerine arginin (Q227R) veya lösin (Q227L) kalıntıları ile yer değiştirir (96). gsp mutasyonları,  $G\alpha_s$ 'in GTPaz aktivitesini inhibe eder ve adenilat siklaz aktivitesini sürekli uyararak cAMP düzeyini ve protein kinaz A (PKA) aktivasyonunu artırır. PKA, cAMP duyarlı element binding protein, CREB'in çekirdeğe translokasyonunu uyarır ve cAMP-duyarlı gen transkripsiyonu aktive olur.

$G\alpha_s$  mutantlarına karşı oluşan hücresel yanıtlar, hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Bazı hücrelerde cAMP' deki bir artış ve PKA'nın sürekli aktivasyonu ile Raf kinaz inhibe olabilir ve hücrelerin transformasyonunu engeller (97). Buna karşın, çeşitli nöronal ve nöroendokrin hücrelerde  $G\alpha_s$ -aracılı cAMP oluşumu hücre büyümesini aktive eder (98,99).  $G\alpha_s$ 'in transforme etme yeteneği,  $G\alpha_s$ -aracılı cAMP oluşumu ile ERK'in uyarılması yada baskılanması arasındaki hücreye-özümlü bağlantı ile ilişkilidir. cAMP/PKA-bağımlı ERK düzenlenmesinden bazı kinazların sorumlu olduğu bilinmektedir ancak cAMP'in proliferatif etkisi tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (100).



GH-salgılayan hipofiz adenomların % 40'ında, tiroid hiperfonksiyon adenomların % 30'unda gsp mutasyonunun bulunduğu gösterilmiştir (101-103). Bu mutasyon aynı zamanda adrenokortikal ve paratiroid adenomlarda daha az sıklıkla bulunmaktadır. McCune-Albright sendromunda, normal ve anormal hücrelerin bir mozayikliğini oluşturan fetal gelişme esnasında görülür (104). Psödo-hipoparatiroidizmin bir şeklinde, mutasyona uğramış bir  $G\alpha_s$  paratiroid hormona yanıtız kalır ve sonuçta dolaşımdaki paratiroid hormon azalmaksızın hipoparatiroidizm belirtileri oluşur (105).

### 1.7.3. $G\alpha_{12}$ mutantları

Adenilat siklazın baskılanmasından sorumlu  $G\alpha_{12}$  proteinin mutantına gip2 onkogeni adı verilmektedir. gip2 onkogeninin hücrel olaylardaki onkogenik etkisi tam olarak bilinmemektedir ve hücre tipine bağlı olarak değişmektedir.  $G\alpha_{12}$  proteinin  $\alpha$ -altbirimindeki Arg179'un His ile yer değiştirmesiyle oluşan gip2 onkogeni böbrek üstü ve over tümörlerinde gösterilmiştir (106). Aktif  $G\alpha_{12}$  fibroblast hücre soylarında, hücre transformasyonuna neden olmaktadır fakat etkisi tam olarak anlaşılammıştır (107).

### 1.7.4. $G\alpha_{12/13}$ mutantları

Yumuşak doku sarkomada bulunan  $G\alpha_{12}$  onkogenine gep adı verilmektedir (108).  $G\alpha_{12}$  ve  $G\alpha_{13}$  aktif mutantlarının etkin transformasyon yeteneği çeşitli sistemlerde gösterilmiştir (109-113).  $G\alpha_{12}$  ve  $G\alpha_{13}$ 'ün insan tümörlerinde mutantları bulunmaz iken, çeşitli insan kanserlerinde her ikisinin de artan düzeylerde eksprese oldukları tespit edilmiştir (114).

## 2. SONUÇ

Bu derlemede, memeli heterotrimerik G proteinlerinin yapısal ve işlevsel özellikleri ile G proteinlerinin hücre büyümesi, farklılaşması ve transformasyonundaki rollerini özetledik. G protein-aracılı sinyal sistemi nöronal iletim, hormon salınımı, bağışıklık yanıtları, kas kasılması ve kan basıncının düzenlenmesi gibi memeli organizmasındaki pek çok işlevin gerçekleşmesinde görev yapmaktadır. G protein-aracılı sinyal sisteminin moleküler, hücrel ve sistemik düzeyde nasıl çalıştığına anlaşılmasında genetik, genomik ve proteomik yaklaşımlar ile yapılan çalışmaların devamına ihtiyaç vardır. İlgili sinyal, sinyal moleküllerinin tanımlanması ve işlevlerinin belirlenmesi G proteinleri ile ilişkili sinyal yollarının tam olarak anlaşılmasına temel oluşturacak; böylelikle bu çok yönlü sinyal sistemine yönelik ilaçlar geliştirilebilecektir.

## 3. Kaynaklar

- [1] Wettschreck N, Offermans S. (2005) Mammalian G Proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev.* 85 (4): 1159-1204.
- [2] Berthet J, Rall TW, Sutherland EW. (1957) The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. IV. Effect of epinephrine and glucagon on the reactivation of phosphorylase in liver homogenates. *J Biol Chem.* 224 (1): 463-475.
- [3] Sutherland EW, Rall TW. (1958) Fractionation and characterization of cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J Biol Chem.* 232 (2): 1077-1091.
- [4] Birnbaumer L, Rodbell M. (1969) Adenylyl cyclase in fat cells. II. Hormone receptors. *J Biol Chem.* 244 (13): 3477-3482.
- [5] Orly J, Schramm M. (1976) Coupling of catecholamine receptor from one cell with adenylyl cyclase from another cell by cell fusion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 73 (12): 4410-4414.
- [6] Shorr RGL, Lefkowitz RJ, Caron MG. (1981) Purification of the  $\beta$ -adrenergic receptor. Identification of the hormone-binding subunit. *J Biol Chem.* 256 (11): 5820-5826.
- [7] Rodbell M, Birnbaumer L, Pohl SL, Krans HJM. (1971) The glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanyl nucleotides in glucagon action. *J Biol Chem.* 246 (6): 1877-1882.
- [8] Pfeuffer T, Helmreich EJM. (1975) Activation of pigeon erythrocyte membrane adenylyl cyclase by guanyl nucleotide analogues and separation of nucleotide-binding protein. *J Biol Chem.* 250 (3): 867-876.
- [9] Ross EM, Gilman AG. (1977) Resolution of some components of adenylyl cyclase necessary for catalytic activity. *J Biol Chem.* 252 (20): 6966-6969.
- [10] Vaughan M. (1998) Signaling by heterotrimeric G proteins mini-review Series. *J Biol Chem.* 273, (2): 667-668.
- [11] Patel TB. (2004) Single transmembrane spanning heterotrimeric G Protein-coupled receptors and their signaling cascades. *Pharmacol Rev.* 56 (3): 371-385.
- [12] Schlessinger J, Ulrich A. (1992) Growth factor signaling by receptor tyrosine kinases. *Neuron.* 9 (3): 383-391.
- [13] Schlessinger J. (2000) Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell.* 103 (2): 211-225.
- [14] Kolakowski LF Jr. (1994) GCRDb: a G-protein-coupled receptor database. *Receptors Channels.* 2 (1): 1-7.
- [15] Gether U. (2000) Uncovering molecular mechanisms involved in activation of G protein-coupled receptors. *Endocr Rev.* 21 (1): 90-113.
- [16] Landry Y, Gies JP. (2002) Heterotrimeric G proteins control diverse pathways of transmembrane signaling, a base for drug discovery. *Mini Rev Med Chem.* 2 (4): 361-372.
- [17] Hepler JR, Gilman AG. (1992) G proteins. *Trends Biochem Sci.* 17 (10): 383-387.
- [18] Simon MI, Strathmann MP, Gautam N. (1991) Diversity of G proteins in signal transduction. *Science.* 252 (5007): 802-808.
- [19] Dorsam RT, Gutkind JS. (2007) G-protein coupled receptors and cancer. *Nat Rev Cancer.* 7 (2): 79- 94
- [20] Stryer L. (1986) Cyclic GMP cascade of vision. *Annu Rev Neurosci.* 9: 87-119.
- [21] Mattera R, Graziano MP, Yatani A, Zhou Z, Graf R, Codina J, Birnbaumer L, Gilman AG, Brown AM. (1989) Splice variants of the  $\alpha$  subunit of the G protein Gs activate both adenylyl cyclase and calcium channels. *Science.* 243 (4892): 804-807.
- [22] Schubert B, VanDongen AMJ, Kirsh GE, Brown AM. (1989)  $\beta$  adrenergic inhibition of cardiac sodium channels by dual G-protein pathways. *Science.* 245 (4917): 516-519.
- [23] Meng J, Casey PJ. (2004) Signaling through Gz. In: handbook of cell signaling, edited by Bradshaw RA and Dennis EA. Boston, MA: Academic, p.601-604.
- [24] Arshavsky VY, Lamb TD, Pugh EN Jr. (2002) G proteins and phototransduction. *Annu Rev Physiol.* 64: 153-187.

- [25] Gilbertson TA, Damak S, Margolskee RF. (2000) The molecular physiology of taste transduction. *Curr Opin Neurobiol.* 10 (4): 519-527.
- [26] Pang, IH, Sternweis PC. (1990) Purification of unique alpha subunits of GTP-binding regulatory proteins (G proteins) by affinity chromatography with immobilized beta gamma subunits. *J Biol Chem.* 265 (30): 18707-18712.
- [27] Taylor SJ, Smith JA, Exton JH. (1990) Purification from bovine liver membranes of a guanine nucleotide-dependent activator of phosphoinositide-specific phospholipase C. Immunologic identification as a novel G-protein alpha subunit. *J Biol Chem.* 265 (28): 17150-17156.
- [28] Waldo GL, Boyer JL, Morris AJ, Harden TK. (1991) Purification of an AIF4-and G-protein beta gamma-subunit-regulated phospholipase C-activating protein. *J Biol Chem.* 266 (22): 14217-14225.
- [29] Dhanasekaran N and Dermott JM. (1996) Signaling by the G12 class of G proteins. *Cell Signal.* 8 (4): 235-245.
- [30] Hooley R, Yu CY, Symons M, Barber DL. (1996) G $\alpha$ 13 stimulates Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange through distinct Cdc42-dependent and RhoA-dependent pathways. *J Biol Chem.* 271 (11): 6152-6158.
- [31] Plonk SG, Park SK, Exton JH. (1998) The alpha-subunit of the heterotrimeric G protein G13 activates a phospholipase D isozyme by a pathway requiring Rho family GTPases. *J Biol Chem.* 273 (9): 4823-4826.
- [32] Noel JP, Hamm HE, Sigler PB. (1993) The 2.2° A crystal structure of transducin-alpha complexed with GTP $\gamma$ S. *Nature.* 366 (6456): 654-663.
- [33] Lambright DG, Noel JP, Hamm HE, Sigler PB. (1994) Structural determinants for activation of the  $\alpha$  subunit of heterotrimeric G protein. *Nature.* 369 (6482): 621-628.
- [34] Sondek J, Lambright DG, Noel JP, Hamm HE, Sigler PB. (1994) GTPase mechanism of G proteins from the 1.7-Å crystal structure of transducin  $\alpha$ .GDP.AIF<sup>4+</sup>. *Nature.* 372 (6503): 276-279.
- [35] Coleman DE, Berghuis AM, Lee E, Linder ME, Gilman AG, Sprang SR. (1994) Structure of active conformations of G<sub>int</sub> and the mechanism of GTP hydrolysis. *Science.* 269 (5177):1405-1412.
- [36] Tooze J, Branden C. (1999) Introduction to protein structure. Garland Publishing, Inc. USA, Ch. 13, s.251-281.
- [37] Hamm HE, Gilchrist A. (1996) Heterotrimeric G proteins. *Current Opinion in Cell Biology* 8: 189-196.
- [38] Theresa M, Vera C, Vanhauwe J, Thomas TO, Medkova M, Preininger A, Mazzoni MR, Hamm HE. (2003) Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev.* 24 (6): 765-81.
- [39] Lambright DG, Sondek J, Bohm A, Skiba NP, Hamm HE, Sigler PB. (1996) The 2.0° A crystal structure of a heterotrimeric G protein. *Nature.* 379 (6563): 311-319.
- [40] Denker BM, Boutin PM, Neer EJ. (1995) Interactions between the amino-and carboxyl-terminal regions of G $\alpha$  subunits:analysis of mutated G $\alpha$ o/G $\alpha$ i2 chimeras. *Biochemistry.* 34 (16): 5544-5553.
- [41] Koelle MR. (1997) A new family of G protein regulators-the RGS proteins. *Curr Opin Cell Biol.* 9 (2): 143-147.
- [42] Dohlman HG, Thorner J. (1997) RGS proteins and signaling by heterotrimeric G proteins. *J Biol Chem.* 272 (7): 3871-3874.
- [43] Hollinger S, Hepler JR. (2002) Cellular regulation of RGS proteins:modulators and integrators of G protein signaling. *Pharmacol Rev.* 54 (3): 527-559.
- [44] Bushfield M, Murphy GJ, Lavan BE, Parker PJ, Hrubby VJ,Milligan G, Houslay MD. (1990) Hormonal regulation of Gi2 $\alpha$ -subunit phosphorylation in intact hepatocytes. *Biochem J.* 268 (2): 449-457.
- [45] Strassheim D, Malbon CC. (1994) Phosphorylation of Gi $\alpha$ 2 attenuates inhibitory adenylyl cyclase in neuroblastoma/glioma hybrid (NG-108-15) cells. *J Biol Chem.* 269 (19): 14307-14313.
- [46] Murthy KS, Grider JR, Makhlof GM. (2000) Heterologous desensitization of response mediated by selective PKC-dependent phosphorylation of Gi-1 and Gi-2. *Am J Physiol Cell Physiol.* 279 (4): C925-C934.
- [47] Chen CA, Manning DR. (2001) Regulation of G proteins by covalent modification.*Oncogene.* 20 (13): 1643-1652.
- [48] Fields TA, Casey PJ. (1995) Phosphorylation of G $\alpha$ z by protein kinase C blocks interaction with the  $\beta\gamma$  complex. *J Biol Chem.* 270 (39): 23119-23125.
- [49] Glick JL, Meigs TE, Miron A, Casey PJ. (1998) RGSZ1, a G-selective regulator of G protein signaling whose action is sensitive to the phosphorylation state of G $\alpha$ z. *J Biol Chem.* 273 (40): 26008-26013.
- [50] Moyers JS, Linder ME, Shannon JD, Parsons SJ. (1995) Identification of the in vitro phosphorylation sites on G $\alpha$ s mediated by pp60c-src. *Biochem J.* 305 (Pt 2): 411-417.
- [51] Zick Y, Sagi-Eisenberg R, Pines M, Gierschik P, Spiegel AM. (1986) Multisite phosphorylation of the  $\alpha$  subunit of transducin by the insulin receptor kinase and protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci USA.* 83 (24): 9294-9297.
- [52] Kozasa T, Gilman AG. (1996) Protein kinase C phosphorylates G12 $\alpha$  and inhibits its interaction with G $\beta\gamma$ . *J Biol Chem.* 271 (21): 12562-12567.
- [53] Wieland T, Nurnberg B, Ulibarri I,Kaldenberg-Stasch S, Schultz G, Jacobs KH. (1993) Guanine nucleotide-specific phosphate transfer by guanine nucleotide-binding regulatory protein  $\beta$ -subunits. Characterization of the phosphorylated amino acid. *J Biol Chem.* 268 (24): 18111-18118.
- [54] Asano T, Morishita R, Ueda H, Asano M, Kato K. (1998) GTP-binding protein  $\gamma$ 12 subunit phosphorylation by protein kinase C. Identification of the phosphorylation site and factors involved in cultured cells and rat tissues in vivo. *Eur J Biochem.* 251 (1-2): 314-319.
- [55] Casey PJ. (1995) Protein lipidation in cell signaling. *Science.* 268 (2508): 221-225.
- [56] Wedegaertner PB, Wilson PT, Bourne HR. (1995) Lipid modifications of trimeric G proteins. *J Biol Chem.* 270 (2): 503-506.
- [57] Zang FL,Casey PJ. (1996) Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. *Annu Rev Biochem.* 65: 241-269.
- [58] Casey PJ. (1995) Mechanisms of protein prenylation and role in G protein function. *Biochem Soc Trans.* 23 (1): 161-166.
- [59] Morris AJ, Malbon CC. (1999) Physiological regulation of G protein-linked signaling. *Physiol Rev.* 79 (4): 1373-1430.
- [60] Boyer JL, Graber SG, Waldo GL, Harden TK, Garrison JC. (1994) Selective activation of phospholipase C by recombinant G-protein  $\alpha$ - and  $\beta\gamma$ -subunits. *J Biol Chem.* 269 (4): 2814-2819.
- [61] Fields TA, Casey PJ. (1997) Signaling functions and biochemical properties of pertussis toxin-resistant G proteins. *Biochem J.* 321 (Pt 3): 561-571.
- [62] Serventi IM, Moss J, Vaughan M. (1992) Enhancement of cholera toxin-catalyzed ADP-ribosylation by guanine nucleotide-binding proteins. *Curr Top Microbiol Immunol.* 175: 43-67.
- [63] Murayama T, Ui M. (1983) Loss of the inhibitory function of the guanine nucleotide regulatory component of adenylyl cyclase due to its ADP ribosylation by islet-activating protein, pertussis toxin, in adipocyte membranes. *J Biol Chem.* 258 (5): 3319-26.
- [64] Ui M, Katada T, Murayama T, Kurose H, Yajima M, Tamura M,

- Nakamura T, Nogimori K. (1984) Islet-activating protein, pertussis toxin: a specific uncoupler of receptor-mediated inhibition of adenylate cyclase. *Adv Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res.* 17: 145-51.
- [65] Taussig R, Gilman A G. (1995) Mammalian membrane-bound adenylyl cyclases. *J Biol Chem.* 270 (1): 1-4.
- [66] Iyengar, R. (1993) Molecular and functional diversity of mammalian  $G_s$ -stimulated adenylyl cyclases. *FASEB J.* 7 (9): 768-775.
- [67] Taussig R, Iniguez-Lluhi JA, Gilman AG. (1993) Inhibition of adenylyl cyclase by  $G_{\alpha}$ . *Science.* 261 (5118): 218-221.
- [68] Taussig R, Quarumby LM, Gilman AG. (1993) Regulation of purified type I and type II adenylyl cyclases by G protein  $\beta\gamma$  subunits. *J Biol Chem.* 268 (1): 9-12.
- [69] Offermans S, Simon M I. (1996) Organization of transmembrane signaling by heterotrimeric G proteins. *Cancer Surv.* 27: 177-198.
- [70] Rhee SG, Choi KD. (1992) Multiple forms of phospholipase C isozymes and their activation mechanisms. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res.* 26: 35-61.
- [71] Rhee SG, Choi KD. (1992) Regulation of inositol phospholipid-specific phospholipase C isozymes. *J Biol Chem.* 267 (18): 12393-12396.
- [72] Camps M, Carozzi A, Schee A, Parker P, Gierschik P. (1992) Isoenzyme-selective stimulation of phospholipase C- $\beta_2$  by G protein  $\beta\gamma$  subunits. *Nature.* 360 (6405): 684-686.
- [73] Hamm HE. (1991) Molecular interactions between the photoreceptor G protein and rhodopsin. *Cell Mol Neurobiol.* 11 (6): 563-578.
- [74] Dennis EA. (1997) The growing phospholipase A2 superfamily of signal transduction enzymes. *Trends Biochem Sci.* 22 (1): 1-2.
- [75] Jelsema C L, Axelrod J. (1987) Stimulation of phospholipase A2 activity in bovine rod outer segments by the  $\beta\gamma$  subunits of transducin and its inhibition by the  $\alpha$  subunit. *Proc Natl Acad Sci USA.* 84 (11): 3623-3627.
- [76] Brown AM, Birnbaumer L. (1988) Direct G protein gating of ion channels. *Am J Physiol.* 254 (3Pt 2): H401-H410.
- [77] Clapham DE. (1994) Direct G protein activation of ion channels? *Annu Rev Neurosci.* 17: 441-464.
- [78] Clapham DE. (1990) Arachidonic acid and its metabolites in the regulation of G protein-gated  $K^+$  channels in atrial myocytes. *Biochem. Pharmacol.* 39 (5): 813-815.
- [79] Yang J, Tsien RW. (1993) Enhancement of N- and L-type calcium channel currents by protein kinase C in frog sympathetic neurons. *Neuron.* 10 (2): 127-136.
- [80] Marchetti C, Robello M. (1989) Guanosine-5'-O- (3-thiotriphosphate) modifies kinetics of voltage-dependent calcium current in chick sensory neurons. *Biophys J.* 56 (6): 1267-1272.
- [81] Taussig R, Sanchez S, Rifo M, Gilman AG, Belardetti F. (1992) Inhibition of the omega-conotoxin-sensitive calcium current by distinct G proteins. *Neuron.* 8 (4): 799-809.
- [82] Schubert B, Vandongen AM, Kirsch GE, Brown A M. (1989)  $\beta$  adrenergic inhibition of cardiac sodium channels by dual G protein pathways. *Science.* 245 (4917): 516-519.
- [83] Ling BN, Kemendy AE, Kokko KE, Hinton CF, Marunkaka Y, Eaton DC. (1990) Regulation of the amiloride-blockable sodium channel from epithelial tissue. *Mol Cell Biochem.* 99 (2): 141-150.
- [84] Fargon F, McNaughton PA, Sepulveda F V. (1990) Possible involvement of GTP-binding proteins in the deactivation of an inwardly rectifying  $K^+$  current in enterocytes isolated from guinea-pig small intestine. *Plügers Arch.* 417 (2): 240-242.
- [85] Sadjia R, Alagem N, Reuveny E. (2003) Gating of GIRK channels: details of an intricate, membrane-delimited signaling complex. *Neuron.* 39 (1): 9-12.
- [86] Stanfield PR, Nakajima S, Nakajima Y. (2002) Constitutively active and G-protein coupled inward rectifier  $K^+$  channels: Kir2.0 and Kir3.0. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 145: 47-179.
- [87] Malbon CC. (1997) Heterotrimeric G-proteins and development. *Biochem Pharmacol.* 53 (1): 1-4.
- [88] Küçükkaya B, Arslan DÖ, Kan B. (2006) Role of G proteins and ERK activation in hemin-induced erythroid differentiation of K562 cells. *Life Sci.* 78 (11): 1217-1224.
- [89] Dhanasekaran N, Tsim ST, Dermott JM, Onesine D. (1998) Regulation of cell proliferation by G proteins. *Oncogene.* 17 (11): 1383-1394.
- [90] Gudermann T, Grosse R, Schultz G. (2000) Contribution of receptor/G protein signaling to cell growth and transformation. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 361 (4): 345-362.
- [91] Kalinec G, Nazarali AJ, Hermouet S, Xu N, Gutkind JS. (1992) Mutated alpha subunit of the Gq protein induces malignant transformation in NIH 3T3 cells. *Mol Cell Biol.* 12 (10): 4687-4693.
- [92] Gutkind JS, Novotny EA, Brann MR, Robbins KC. (1991) Muscarinic acetylcholine receptor subtypes as agonist-dependent oncogenes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 88 (11): 4703-4707.
- [93] Julius D, Livelli TJ, Jessel TM, Axel R. (1989) Ectopic expression of the serotonin 1c receptor and triggering of malignant transformation. *Science.* 244 (4908): 1057-1062.
- [94] Heasley LE. (2001) Autocrine and paracrine signaling through neuropeptide receptors in human cancer *Oncogene.* 20 (13): 1563-1569.
- [95] Allen LF, Lefkowitz RJ, Caron MG, Cotecchia S. (1991) G protein coupled receptor genes as protooncogenes: constitutively activating mutation of the alpha 1B-adrenergic receptor enhances mitogenesis and tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 88 (24): 11354-11358.
- [96] Vallar L. (1996) Oncogenic role of heterotrimeric G proteins. *Cancer Surv.* 27: 325-338.
- [97] Chen J, Iyengar R. (1994) Suppression of Ras-induced transformation of NIH 3T3 cells by activated G alpha s. *Science.* 263 (5151): 1278-1281.
- [98] Erhardt P, Troppmair J, Rapp UR, Cooper GM. (1995) Differential regulation of Raf-1 and B-Raf and Ras-dependent activation of mitogen-activated protein kinase by cyclic AMP in PC12 cells. *Mol Cell Biol.* 15 (10): 5524-5530.
- [99] Rozengurt E. (1986) Early signals in the mitogenic response. *Science.* 234 (4773): 161-166.
- [100] Stork PJ, Schmitt JM. (2002) Crosstalk between cAMP and MAP kinase signaling in the regulation of cell proliferation. *Trends Cell Biol.* 12 (6): 258-262.
- [101] Farfel Z, Bourne HR, Iiri T. (1999) The expanding spectrum of G protein diseases. *N Engl J Med.* 340 (13): 1012-1020.
- [102] Kan B. (1998) G proteins in health and disease. *Marmara Medical Journal.* 12: 46-49.
- [103] Kan B, Esapa C, Sipahi T, Nacar C, Ozer F, Sayhan NB, Kaynar BY, Sarioglu AC, Harris PE. (2003) G protein mutations in pituitary tumors: a study on Turkish patients. *Pituitary.* 6 (2): 75-80.
- [104] Spiegel AM, Weinstein LS. (2004) Inherited diseases involving G proteins and G protein-coupled receptors. *Annu Rev Med.* 55: 27-39.
- [105] Lania A, Mantovani G, Spada A. (2001) G protein mutations in endocrine diseases. *Eur J Endocrinol.* 145 (5): 543-559.
- [106] Lyons J, Landis CA, Harsh G, Vallar L, Grunwald K, Feichtinger H, Duh QY, Clark OH, Kawasaki E, Bourne HR, McCormick

- F. (1990) Two G protein oncogenes in human endocrine tumors. *Science*. 249 (4969): 655-659.
- [107] Miller MJ, Rioux L, Prendergast GV, Cannon S, White MA, Meinkoth JL. (1998) Differential effects of protein kinase A on Ras effector pathways. *Mol Cell Biol*. 18 (7): 3718-3726.
- [108] Chan AM, Fleming TP, McGovern ES, Chedid M, Öiki T, Aaronson SA. (1993) Expression cDNA cloning of a transforming gene encoding the wild-type G alpha 12 gene product. *Mol Cell Biol*. 13 (2): 762-768.
- [109] Jiang M, Gold MS, Boulay G, Spicher K, Peyton M, Brabet P, Srinivasan Y, Rudolph U, Ellison G, Birnbaumer L. (1998) Multiple neurological abnormalities in mice deficient in the G protein Go. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95 (6): 3269-3274.
- [110] Vara Prasad MV, Shore SK, Dhanasekaran N. (1994) Activated mutant of Galpha 13 induces Egr-1, c-fos, and transformation in HIH 3T3 cells. *Oncogene*. 9 (8): 2425-2429.
- [111] Voyno-Yasenetskaya TA, Pace AM, Bourne HR. (1994) Mutant alpha subunits of G12 and G13 proteins induce neoplastic transformation of vRat-1 fibroblasts. *Oncogene*. 9 (9): 2559-2565.
- [112] Xu M, Moratalla R, Gold LH, Hirol N, Koob GF, Graybiel AM, Tonegawa S. (1994) Dopamine D1 receptor mutant mice are deficient in striatal expression of dynorphin and in dopamine-mediated behavioral responses. *Cell*. 79 (4): 729-742.
- [113] Xu N, Bradley L, Ambudkar I, Gutkind JS. (1993) A mutant alpha subunit of G12 potentiates the eicosanoid pathway and is highly oncogenic in HIH 3T3 cell. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90 (14): 6741-6745.
- [114] Gutkind JS. (1998) Cell growth control by G protein-coupled receptors from signal transduction to signal integration. *Oncogene*. 17 (11 Reviews): 1331-1342.