

Bölüm 10

BİTKİ PROTEOMİĞİ: TEKNİKLER, ZORLUKLAR VE TÜRKİYE'DEKİ DURUM

Sertan ÇEVİK¹

Yirminci yüzyılın başlarına kadar daha çok makroskobik fenomenleri anlamayı amaçlayan biyoloji bilimi, özellikle son elli yılda, teknolojinin de gelişmesine paralel olarak, büyük sıçramalar yapmıştır ve kısa süre içerisinde makroskobik dünyadan mikroskobik, hatta nanoskobik dünyaya geçiş sağlanmıştır ⁽¹⁾. Bu hızlı gelişmelerle birlikte mevcut problemlerin çözümüne yönelik birçok yeni yöntem ve teknik geliştirilmiş ve bilim dünyasına tanıtılmıştır. Bu yeni yöntem ve teknikler içerisinde -omik bilimler tam anlamıyla bilim dünyasında çığır açmış ve geniş çapta kullanım potansiyeline ulaşmıştır. “Pek çok” anlamına gelen -omik terimi latince kökenli -ome ekinden türetilmiştir ve eklendiği kelimeye “bütünü ya da tümü” anlamını katmaktadır ⁽²⁾.

Bir organizmanın sahip olduğu genlerin tamamını ifade eden Genom terimi ilk kez Hans Winkler (1920) tarafından kullanılmış daha sonra ise Thomas Roderick (1986) tarafından bu tanım genomun haritalanması, sekanslanması ve karakterizasyonunun yapılması olarak geliştirilmiştir. Genomdan türevlendirilen Genomik ise bir canlıdaki genlerin yapı ve fonksiyonlarını modern tekniklerle araştıran bilim dalı olarak literatürdeki yerini almıştır ⁽³⁾. Genomik biliminin gelişmesiyle birlikte canlıların gen sekanslarının çıkartılması mümkün hale gelmiş ve günümüze değin insan dâhil pek çok canlının genomu sekanslanmıştır.

Genomun sekanslanabilmesi bilim insanlarında büyük heyecan yaratmıştır, ancak özellikle insan genomunun sekanslanmasından sonra sadece sekans bilgisinin mekanizmanın anlaşılmasına yeterli katkıyı sağlayamadığı görülmüştür. Bunun üzerine transkriptomiks ve proteomiks dallarına olan ilgi artmış ve bu ilgi aynı ivmeyle artmaya devam etmektedir.

İlk kez 1994 yılında Sienna toplantısında Avustralyalı bilim insanı Marc Wilkins tarafından önerilen proteom terimi; bir organizmanın genomu tarafından kodlanan proteinlerin tamamını, proteomik ise proteomun tüm bileşenlerini ya da belirli bir kısmını yapısal ve/veya işlevsel olarak olarak çalışan bilim dalı olarak tanımlanmıştır ⁽⁴⁾. Günümüzde proteomik çalışmalarının sayısı bir hayli yüksel-

¹ Öğr. Gör. Dr., Mersin Üniversitesi, srtncvk@gmail.com

Tablo 3. Türkiye’de yapılan bitki proteomiği çalışmaları

Çalışma	Kaynak
Sentetik siklitol uygulamasının kuraklık koşullarındaki Arpa bitkisinin yapraklarında meydana getirdiği metabolik değişiklikler proteomik analizlerle belirlenmiştir. En çok fotosentez ve enerji metabolizmasında yer alan proteinlerin ifadelerinin uygulamayla birlikte değiştiği belirlenmiştir.	52
Tuz stresi altındaki bitkilerde meydana gelen proteom değişiklikleri yapılan derleme ile tartışılmıştır.	53
Yüksek bor stresinde meydana gelen proteomik değişiklikler <i>Gypsophila sphaerocephala</i> bitkisinin yapraklarında araştırılmış ve toplamda 14 proteinin miktarında anlamlı değişimler belirlenmiştir.	54
Dört farklı bitki türünde metabolomik ve proteomik profiller karşılaştırılmıştır. Çalışma neticesinde proteomik veriler ile metabolomik veriler arasındaki korelasyon oranları belirlenmiştir.	55

SONUÇ

Hazırlanmış olan bu kitap bölümünde proteomik çalışmalar içinde daha çok bitki proteomiği özelinde durularak, protein izolasyonundan itibaren verilerin işlenmesi aşamasına kadar olan tüm basamaklarda dikkat edilmesi gereken konular ve kullanılan araçlarla ilgili bilgi verilmiştir. Ayrıca Türkiye’de bitki proteomiği alanında yapılan önemli çalışmaların bir kısmı özetlenerek, ülkemizdeki durum hakkında bilgi verilmiştir. Her geçen gün ilginin arttığı proteomik alanının uzun yıllar boyunca, özellikle stres metabolizmasının anlaşılmasında araştırmacıların elindeki en güçlü enstrümanlardan biri olacağı öngörülmektedir, bu nedenle bu alanda yapılan çalışmaların takibi ve yine bu alanda çalışan kişilerin sayısının ülkemizde artması dünyada yapılan çalışmalara ayak uydurmak adına önemli olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. McFadden J, Al-Khalili J. The origins of quantum biology. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2018, 474(2220), 20180674.
2. Budak ŞÖ, Dönmez S. Gıda Biliminde Yeni Omik Teknolojileri. *Gıda Dergisi*. 2012, 37, 3.
3. Başaran E, Aras S, Cansaran-Duman D. Genomik, Proteomik, Metabolomik kavramlarına genel bakış ve uygulama alanları. *Türk Hij Deneysel Biyol Derg*. 2010, 67: 85-96.
4. Salekdeh GH, Siopongco J, Wade LJ, et al. A proteomic approach to analyzing drought and salt responsiveness in rice. *Field Crops Research*, 2002, 76: 199-219.
5. Baginsky S. Plant proteomics: concepts, applications, and novel strategies for data interpretation, *Mass Spectrom. Rev.* 2009, 28, 93-120.
6. Çevik S. Toleransları Farklı İki Nohut Türünde Kuraklık Stresinin Protein İfadeleri Üzerine

- Etkisi, 2015, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
7. Wu X, Gong F, Wang W. Protein extraction from plant tissues for 2DE and its application in proteomic analysis. *Proteomics* 2014, 14, 645-658.
 8. Damerval C, De Vienne D, Zivy M, et al. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat seedling proteins. *Electrophoresis* 1986, 7, 52-54.
 9. Mechin V, Damerval C, Zivy M. Total protein extraction with TCA-acetone. *Methods Mol Biol* 2007, 355, 1-8.
 10. Hurkman WJ, Tanaka CK. Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two-dimensional electrophoresis. *Plant Physiol.* 1986, 81, 802-806.
 11. Wang W, Scali M, Vignani R, et al. Protein extraction for two-dimensional electrophoresis from olive leaf, a plant tissue containing high levels of interfering compounds. *Electrophoresis* 2003; 24, 2369-2375.
 12. Dufresne J, Hoang T, Ajambo J et al. Freeze-dried plasma proteins are stable at room temperature for at least 1 year. *Clin Proteom.* 2017, 14, 35.
 13. Lopez JL. Two-dimensional electrophoresis in proteome expression analysis. *Journal of Chromatography B* 2007; 849, 190-202.
 14. Hodge K, Have ST, Hutton L, et al. Cleaning up the masses: exclusion lists to reduce contamination with HPLC-MS/MS. *Journal of Proteomics*, 2013, 88, 92-103. doi: 10.1016/j.jprot.2013.02.023
 15. Hartree EF. Determination of protein: A modification of Lowry method that gives a linear photometric response, *Analytical Biochemistry* 1972, 48, 422-427.
 16. Bradford MM. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding *Anal. Biochem.* 1976, 72, 248-254.
 17. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid, *Analytical Biochemistry*, 1985, 150(1), 76-85.
 18. Abdallah C, Dumas-Gaudot E, Renaut J et al. Gel-based and gel-free quantitative proteomics approaches at a glance. *Int J Plant Genomics*, 2012, 2012, p. 494572.
 19. Laemmli UK. Laemmli Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
 20. O'Farrell PH. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 1975, 250, 4007-4021.
 21. Ünlü M, Morgan ME, Minden JS. Difference gel electrophoresis: a single gel method for detecting changes in protein extracts, *Electrophoresis*, 18(11), 2071-2077.
 22. Jafari M, Primo V, Smejkal GB, et al. Comparison of in-gel protein separation techniques commonly used for fractionation in mass spectrometry-based proteomic profiling. *Electrophoresis*, 2012, 33, 2516-2526.
 23. Dominique B, Paolo N, Susanne M, et al. Gel-Free Proteomics, Almeida AM, Eckersall D, Miller I, *Proteomics in Domestic Animals: from Farm to Systems Biology* (55-102), İsviçre, Springer.
 24. Gygi SP, Rist B, Gerber SA, et al. Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags. *Nat. Biotechnol.* 1999, 17, 994-999.
 25. Schmidt A, Kellermann J, Lottspeich F. A novel strategy for quantitative proteomics using isotope-coded protein labels. *Proteomics* 2005, 5, 4-15.
 26. Hsu JL, Huang SY, Chen SH. Dimethyl multiplexed labeling combined with microcolumn separation and MS analysis for time course study in proteomics. *Electrophoresis*, 2006, 27, 3652-3660.
 27. Wiese S, Reidegeld KA, Meyer HE, et al. Protein labeling by iTRAQ: a new tool for quantitative

- mass spectrometry in proteome research. *Proteomics*, 2007, 7, 340-350.
28. L, Elias JE. Relative protein quantification using tandem mass tag mass spectrometry', in *Proteomics*, Humana Press, New York, NY, 2017, 185-198.
 29. Ong SE, Blagoev B, Kratchmarova I. Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC, as a simple and accurate approach to expression proteomics. *Mol. Cell. Proteomics* 2002, 1, 376- 386.
 30. Colas, I., Koroleva, O., and Shaw, P. J. (2010). Mass spectrometry in plant proteomic analysis. *Plant Biosyst.* 144, 703-714.
 31. Yates JR. Mass spectrometry and the age of the proteome *J. Mass Spectrom*, 1998, 33, 1-19.
 32. Fenn JB, Mann M, Meng CK, et al. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science* 1989, 246(4926), 64-71.
 33. Tanaka KW, Waki H, Ido Y, et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1988, 2(20), 151-153.
 34. Lin MS, Cherny JJ, Fournier CT, et al. Assessment of MS/MS Search Algorithms with Parent-Protein Profiling *J. Proteome Res.* 2014, 13, 4, 1823.
 35. Eng J, McCormack AL, Yates J. R. An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1994, 5, 976-989.
 36. Craig R, Beavis RC. TANDEM: matching proteins with tandem mass spectra. *Bioinformatics* 2004, 20, 1466-1467.
 37. Geer LY, Markey SP, Kowalak JA, et al. Open mass spectrometry search algorithm. *J. Proteome Res.* 2004, 3(5), 958-64.
 38. Ma B, Zhang K, Hendrie C, et al. PEAKS: powerful software for peptide de novo sequencing by tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003, 17, 2337-2342.
 39. Perkins DN, Pappin DJ, Creasy DM, et al. Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. *Electrophoresis* 1999, 20, 3551-3567.
 40. Chen C, Huang H, Wu CH. Protein bioinformatics databases and resources. *Methods Mol Biol.* 2017, 1558, 3-39.
 41. Subba P, Narayana Kotimoole C, Prasad TSK. Plant proteome databases and bioinformatic tools: an expert review and comparative insights. *OMICS*, 2019, 23(4), 190-206.
 42. Atik AE. A proteomic approach for indentifying boron-stress tolerant proteins in barley genotypes 2008, Master Thesis, Izmir University, İzmir.
 43. Yıldız M, Kaya F, Terzi H. Kuraklık Stresi ve Bitki Proteomiği. *GÜFBED/GUSTIJ*, 2020, 10(1), 286-297.
 44. Şamlı E. Proteomik Çalışmalarda Albümin Uzaklaştırılmasında Karayosunlarının Kullanılabilirliğinin Araştırılması, 2013, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
 45. Çevik S, Akpınar G, Yıldızlı A, et al. Comparative physiological and leaf proteome analysis between drought-tolerant chickpea *Cicer reticulatum* and drought-sensitive chickpea *C. arietinum*. *J Biosci (Bangalore)*, 2019, 44(1), 20.
 46. Budak H, Akpınar BA, Unver T, et al. Proteome changes in wild and modern wheat leaves upon drought stress by two-dimensional electrophoresis and nanoLC-ESI-MS/MS. *Plant Mol Biol*, 2013, 83(1-2), 89-103.
 47. Yıldız M, Terzi H. Proteomic analysis of chromium stress and sulfur deficiency responses in leaves of two canola (*Brassica napus* L.) cultivars differing in Cr (VI) tolerance. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2016, 124, 255-266.
 48. Şelale H. Proteomic Basis Of Drought Tolerance In Chickpea, 2010, Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir.

49. Matyalman D, Mert Z, Baykal AT, et al. Proteomic analysis of early responsive resistance proteins of wheat (*Triticum aestivum*) to yellow rust (*Puccinia striiformis* F.Sp. tritici) using ProteomeLab PF2D. *Plant Omics J.* 2013, 6, 24-35.
50. Demirci YE, Inan C, Gunel A et al. Proteome profiling of the compatible interaction between wheat and stripe rust. *Eur J Plant Pathol*, 2016, 145(4), 941-962.
51. Yıldız M, Akcalı N, Terzi H. Proteomic and biochemical responses of canola (*Brassica napus* L.) exposed to salinity stress and exogenous lipoic acid. *J. Plant Physiol.* 2015, 179, 90-99.
52. Çevik S, Değer AG, Yıldızlı A, et al. Proteomic and Physiological Analyses of *dl*-Cyclopentane-1,2,3-triol-Treated Barley Under Drought Stress. *Plant Mol Biol Rep* 2019, 37, 237-251. <https://doi.org/10.1007/s11105-019-01151-8>
53. Yıldız M, Terzi H, Akçalı N. Tuz Stresi Altındaki Bitkilerin Metabolik Yollarındaki Proteom Değişimleri. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 2014, 3(1), 81-93.
54. Tombuloglu H, Tombuloglu G, Sakcalı MS, et al. Proteomic analysis of naturally occurring boron tolerant plant *Gypsophila sphaerocephala* L. in response to high boron concentration. *J. Plant Physiol.* 2017, 216, 212-217.
55. Gonulalan EM, Nemitlu E, Bayazeid O, et al. Metabolomics and proteomics profiles of some medicinal plants and correlation with BDNF activity. *Phytomedicine.* 2019, 152920. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152920>