



## Identification and bioinformatics analyzes of heat shock protein 70 genes (Hsp 70) in *Fagaceae* family

Esra Nurten YER<sup>1</sup>, Mehmet Cengiz BALOĞLU<sup>2</sup>, Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU<sup>2</sup>, Sezgin AYAN<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi, Silvikültür ABD, 37100-Kastamonu, Türkiye

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fak., Genetik ve Biyomühendislik Böl., 37150, Kastamonu, Turkey

### Abstract

Heat shock proteins (Hsps) are a group of proteins found in all living organisms. They play key roles in regulating the stress response to salinity, drought, and extreme temperature changes in plants. Hsps also act as molecular chaperones that provide favorable conditions for the correct folding of other proteins, thus preventing protein aggregation. Many studies have been performed to identify molecular functions of individual family members. However, there is a limited study on genome-wide identification and characterizations of Hsp70s in *Fagaceae* family (American beech, American chestnut, Chinese chestnut, European chestnut, Japanese chestnut, Oak, Red oak and White oak). In this study, we have identified 13, 17 and 15 *Hsp70* genes in beech, oak and chestnut, respectively. Phylogenetic, conserved motifs and 3D protein structure analysis of identified *Hsp70* genes were also performed. According to phylogenetic analysis, *Hsp70* genes could be classified into different groups. Specific motifs were found in all predicted Hsp70 proteins and were relatively conserved in beech, oak and chestnut genomes. The protein 3D structure of a total of thirteen Hsp70s “(FagHsp70-03(68%) / FagHsp70-08(65%) / FagHsp70-09(71%) / FagHsp70-13(80%) / QuerHsp70-03(65%) / QuerHsp70-04(68%) / QuerHsp70-09(71%) / QuerHsp70-14(77%) / CasHsp70-03(65%) / CasHsp70-04(67%) / CasHsp70-11(65%) / CasHsp70-14(65%) / CasHsp70-15(61%)” were modelled at > 90% confidence and the percentage residue varied from 65 to 80. These results provide characterization and functional information of Hsp70 proteins for *Fagaceae* family. This genome-wide identification will enable researcher to open new perspectives for further studies to improve stress tolerant forest trees.

**Key words:** bioinformatics analysis, heat shock protein, *Fagaceae*, genome-wide identification

----- \* -----

### *Fagaceae* familyasında ısı şoku protein 70 gen ailesinin (Hsp70) tanımlanması ve bioinformatik analizleri

### Özet

Isı şoku proteinleri (Hsps: Heat Shock Proteins), canlı organizmalarda bulunan bir grup protein ailesidir. Isı şoku protein genleri stres anında örneğin tuzluluk, kuraklık ve ekstrem sıcaklık değişimlerinin düzenlenmesinde anahtar bir rol üstlenmektedirler. Bu proteinler hücrel şaperonlar gibi fonksiyon görürler, protein sentezinde proteinlerin doğru katlanmasında ve taşınmasında rol oynarlar. *Hsp70* gen ailesinin moleküler işlevlerine ait bazı çalışmalar yapılmıştır. Fakat *Fagaceae* familyası (Amerikan kayını, Amerikan kestanesi, Çin kestanesi, Avrupa kestanesi, Japon kestanesi, Meşe, Kırmızı meşe ve Ak meşe) *Hsp70* gen ailesinin genom analizi ve gen karakterizasyonuna ait sınırlı çalışma mevcuttur. Bu çalışmada Tanımlanan *Hsp70* gen ailesi dizilerinin genomdaki dağılımları, korunmuş motiflerinin tanımlanması ve tahmini üç boyutlu protein yapılarının belirlenmesi hedeflenmiştir. *Hsp70* gen ailesine ait Kayın, Meşe ve Kestane’de sırasıyla 13, 17 ve 15 gen tanımlanmıştır. Filogenetik analiz sonucuna göre *Hsp70* genleri 3 farklı grup oluşturmuştur. Yapılan motif analizine göre Hsp70 proteinlerinin genom içerisinde (kayın, meşe ve kestanede) nispeten korunduğu görülmüştür. Proteinlerin üç boyutlu modellemesi yapıldığında toplam *Fagaceae* familyasına ait 13 *Hsp70* geni >90% güven düzeyinde test edilmiştir. Bu on üç protein “(FagHsp70-03(%68) / FagHsp70-08(%65) / FagHsp70-09(%71) / FagHsp70-13(%80) / QuerHsp70-03(%65) / QuerHsp70-04(%68) / QuerHsp70-09(%71) / QuerHsp70-14(%77) / CasHsp70-03(%65) / CasHsp70-04(%67) / CasHsp70-11(%65) / CasHsp70-14(%65) / CasHsp70-15(%61)” data bankta bulunan proteinlerle yaklaşık %65-%80 arasında üç boyutlu

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +903662801010; Fax.: +903662152316; E-mail: sezginayan@kastamonu.edu.tr

homoloji modellemesi göstermiştir. Bu sonuçlar *Fagaceae* familyasında *Hsp70* gen ailesinin karakterizasyonu ve fonksiyonel işlevleri hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu çalışma ile bitkilerde stres toleransının geliştirilmesine ait birçok araştırma için yeni bir perspektif sağlanacaktır.

**Anahtar kelimeler:** biyoinformatik analizler, ısı şoku proteinleri, *Fagaceae* familyası, Genom analizi

## 1. Giriş

Isı şoku proteinlerini kodlayan genlerin bulunduğu gen ailelerinin evrim sürecinde fonksiyon ve yapı bakımından en fazla korunmuş gen ailesi olduğu bilinmektedir (Sorensen ve ark., 2004). Bu grup proteinlere ısı şoku proteinleri (Heat shock protein; Hsp), stres proteinleri, şaperon gibi farklı isimler verilmiştir ve molekül ağırlıklarına göre sınıflandırılmışlardır. Bu proteinler bütün prokaryot ve ökaryotlarda korunmuştur (Liberek ve ark., 2008). Ayrıca bu proteinler bir kalıp görevi görerek sentez sırasında veya sentezden hemen sonra proteinlerin doğru katlanmalarını sağlamaktadır.

Hsp70 evrim süresince korunmuş olan en önemli stres uyarımlı proteindir. Hücredeki sentezi en fazla yüksek ısı ve ağır metal etkisinde artmaktadır. Hsp70 ilk olarak Ritossa adlı araştırmacı tarafından 1962 yılında *Drosophila melanogaster* (Sirke sineği) tükrük bezi hücrelerinde tanımlanmıştır. Yüksek bitkiler birçok çevresel stresle karşı karşıya kalırlar. Hiperterm stres bitkinin büyüme ve gelişimini olumsuz etkileyen bazı morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere sebep olmaktadır. Bitkiler yüksek sıcaklık stresine cevap olarak Hsp proteinlerini sentezler (Ritossa, 1996).

Sentezlenen protein zincirini oluşturan polipeptid zinciri ribozomun dar yapısı nedeniyle ribozomun içinde katlanamaz. Ancak 50-300 aminoasitlik zincir ribozomdan tamamen çıktıktan sonra katlanabilir hale gelir. Oluşan protein zincirine bağlanan Hsp'ler (trigger faktör, Hsp70, prefoldin) ribozomdan uzayarak sentezlenen zincirleri düzgünce stabilize ederler. In vitro ortamda küçük proteinler kendiliğinden katlanırken büyük proteinler kısmen veya hatalı katlanırlar ve genelde çökme eğilimi gösterirler. Sitozolün yoğun yapısı doğal olmayan zincirin agregasyonunu arttırarak makromoleküler yığılma adı verilen durumu oluşturur. Makromoleküler yığılma, katlanma sırasında zincirin büzüşmesi ve doğal olmayan zincir-şaperon etkileşimini ortaya çıkarır (Thomas ve ark., 2005). Tüm türlerde mitokondrial Hsp 70 proteinleri normal koşullarda belirlenmiştir ve bu nedenle, zorunlu bir protein olduğu düşünülmektedir. Kontrol ve stres koşulları altında agregasyonun önlenmesi ve doğal yapısı bozulmuş proteinlerin tekrar katlanmasında zorunlu fonksiyon üstlenmiştir (Frydman, 2001). Hsp 70 proteinlerinin birkaç üyesi, katlanmış regülatör proteinlerin biyolojik aktivitesinin kontrolünü sağlamakta ve transkripsiyon ile ilgili sıcaklık şoku faktörünün negatif baskılayıcı olarak fonksiyon gösterebilmektedir (Hartl, 1996; Morimoto, 1998). Hsp 70 proteinlerinin ATP hidrolizi ve protein katlanmasını kolaylaştırdığı, hiperterm stresi sırasında denatüre olan proteinlere bağlandığı ve öncül ribozomları denatürasyondan koruduğu ileri sürülmüştür (Pelham, 1986).

*Fagaceae* familyası içerisinde yer alan; Kayın (*Fagus*), Türkiye'de Doğu kayını (*Fagus orientalis* Lipsky.) ve Avrupa kayını (*Fagus sylvatica* L.) olmak üzere iki türle temsil edilmektedir. Fakat ülkemizde esas yayılışı Doğu kayını yapmaktadır (Atalay, 1992). Doğu Kayını, Mayr'ın Orman basamaklarına göre, Castanetum zonunun serin basamağı (250-500 m) ile Fagetum zonu içerisinde (500-1000 m) yer almaktadır. Ancak, yetişme ortamlarına göre 150 m'ye kadar inip (Akçakoca), 2000 m'ye kadar çıkabilen (Simav) bir türdür (Atay, 1982a). Doğu Kayını ağırlıklı olarak kuzey ve kuzey-batı bakılarda karşımıza çıkmaktadır. Drenajı iyi yerlerden hoşlanması ve durgun sudan kaçması sebebiyle çok eğimli ve dik yamaçları tercih etmektedir. Bu tip sahalarda da genellikle orta ve üst yamaçlarda bulunmaktadır. Doğu kayını, yağışın yıl içinde dağılımının düzenli, oransal nemin yüksek ve sıcaklık ekstremlerinin fazla olmadığı yetişme ortamlarının ağacıdır (Atay, 1982b). Meşeler taksonomik yönden karmaşık bir yapı oluşturmalarının yanında çok fazla melez oluşturma özelliğine sahip olan türlerdendir. Türkiye orman alanları içinde iğne yapraklı türlerden sonra en fazla alanı % 22.78 ile yayvan yapraklı ağaç türlerinden olan meşeler kaplamaktadır. Meşelere Türkiye'nin hemen bütün bölgelerinde rastlamak mümkündür. Doğal 18 adet farklı meşe türüyle dünyada önemli meşe ülkelerinden biri olarak bilinen ülkemizde bazen saf bazen de karışık ormanlar kurmaktadır ve hemen bütün toprak şartlarında yetişmeye uygun bir tür durumundadır (Efe ve ark., 2011). Kestaneler, *Fagaceae* familyasının *Castanea* cinsine mensupturlar. Kestanelerin doğal yayılma alanları özellikle Kuzey Yarım Kürenin ılıman bölgeleri olan Çin, Kore, Japonya, Türkiye, Avrupa ve Kuzey Amerika ile birlikte Boliviya'dır. Kestane değerli bir ağaçtır. Kabukları, odunu, yaprağı ve kömürü değişik amaçlarla endüstride kullanılmaktadır. Ekonomik açıdan meyveleri büyük öneme sahiptir. (Delen, 1992).

Hsp70 gen ailesinin moleküler işlevlerine ait bazı çalışmalar yapılmıştır. Fakat, *Fagaceae* familyası (Amerikan kayını, Amerikan kestanesi, Çin kestanesi, Avrupa kestanesi, Japon kestanesi, Meşe, Kırmızı meşe ve Ak meşe) HSP70 gen ailesinin genom analizi ve gen karakterizasyonuna ait çok sınırlı çalışma mevcuttur. Bu çalışmada; Tanımlanan HSP70 gen ailesi dizilerinin genomdaki dağılımları, korunmuş motiflerinin tanımlanması ve tahmini üç boyutlu protein yapılarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 2. Materyal ve yöntem

### 2.1. Hsp70 genlerinin analizi ve tanımlanması

*Fagaceae* familyasına ait Kayın, Meşe ve Kestane türlerinde potansiyel *Hsp70* genlerini tanımlamak için “Heat Shock Protein Database Information Resource” (<http://pdslab.biochem.iisc.ernet.in/Hspir/index.php>) veri tabanı kullanılmıştır. Farklı bitkilerde tanımlanması yapılmış olan tüm *Hsp70* genlerinin (20 farklı bitki türü/290 aminoasit sekansı) taraması yapılarak ilgili sekanslar veri tabanından indirilmiştir. Kayın, Meşe ve Kestane de belirlenen *Hsp70* proteinleri *Fagaceae* Blast veri tabanı (<http://www.fagaceae.org/node/318861>) kullanılarak varsayılan veya tanımlanmamış proteinler ile eşleştirilmiştir. Eşleştirilen sekanslar ([www.fr33.net](http://www.fr33.net)) translator kullanılarak intron bölgeleri çıkartılıp, ekzon bölgeleri elde edilmiştir. EXPASY veri tabanı kullanılarak ([web.expasy.org/decrease\\_redundancy](http://web.expasy.org/decrease_redundancy)) tekrar eden sekanslar elimine edilmiştir. Kalan tüm sekanslar için SMART (<http://smart.emblheidelberg.de>) (Letunic ve Bork, 2011) ve Pfam (<http://pfam.sanger.ac.uk>) veri tabanları kullanılarak *Hsp70* gen ailesi ile eşleşme olup olmadığı doğrulanmıştır.

### 2.2. Dizi hizalaması, filogenetik analizler ve korunmuş motiflerin belirlenmesi

Aminoasit dizileri, MEGA 7 (Tamura vd., 2011) programına yüklenmiştir. Çoklu dizi hizalamaları, ClustalW programı kullanılarak yapılmıştır. Hizalanan dizi dosyası, komşu birleştirme (Neighbor Joining) yöntemi ile 1000 tekrarlı önyükleme sekmesi (Bootstrap: 1000) seçilerek filogenetik ağaç oluşturulmasında kullanılmıştır (Saitou ve Nei, 1987). Protein dizi motifleri ise DNA motif tarama aracı (MEME) (<http://meme.nbcr.net/meme3/meme.html>) (Bailey ve Elkan, 1994) veri tabanına yüklenerek belirlenmiştir. Analizler için maksimum motif sayısı 20, optimum motif genişlikleri  $\geq 2$  ve  $\leq 300$ 'dür.

### 2.3. Hsp70 proteinlerinin homoloji modellemesi

*Fagaceae* familyasında tanımlanan tüm *Hsp70* genleri, benzer dizi ve bilinen üç boyutlu yapıya sahip en iyi örneği belirlemek için BLASTP yapılarak Protein Data Bank'da (PDB) (Berman vd., 2000) taranmıştır. Elde edilen bilgi için SWISS-MODEL Homology <https://swissmodel.expasy.org> programı kullanılarak homoloji modellemesi ile protein yapısı tahmin edilmiştir (Benkert, 2011).

## 3. Results

### 3.1. FagHsp70, QuerHsp70 ve CasHsp70 Hsp70 proteinini kodlayan sekansların karakterizasyonu

Aday *Hsp70* genlerini tanımlamak için; veri tabanında mevcut olan tüm bitkilerde daha önceden tanımlanmış olan sekans bilgileri BLAST yapılmıştır. Hidden Markov Model (HMM) yöntemi uygulanmış ve bir karşılaştırma yapılmıştır. Bulunan sekansların *Hsp70* ile ilişkisini tekrar değerlendirmek üzere sekans bilgileri Pfam ve SMART veri tabanlarına girilmiştir. Toplamda 136 adet gen dizisi belirlenmiştir. Bu genlerin genom üzerinde korunduğu düşünerek, birbirlerini içeren tekrar bölgeleri expasy veri tabanı sonuçlarına göre elimine edilmiştir. Sonuçta *Fagus* spp. genomuna ait 13 adet *Hsp70* gen dizisi tanımlanmıştır. *FagHsp70-01*'den *FagHsp70-13*'a kadar bir isimlendirme yapılmıştır. *Quercus* spp. genomuna ait 17 adet *Hsp70* gen dizisi tanımlanmıştır. *QuerHsp70-01*'den *QuerHsp70-17*'e kadar bir isimlendirme yapılmıştır. *Castanea* genomuna ait 15 adet *Hsp70* gen dizisi tanımlanmıştır. *CasHsp70-01* den *CasHsp70-15*'e kadar bir isimlendirme yapılmıştır.

Bireysel olarak *Hsp70* genleri mısır da (Rochester vd., 1986), arpada (Chen vd., 1994) ve nohutta (Dhankher vd., 1997) tanımlanmış olmasına rağmen, genomik seviyede ilk *Arabidopsis*'de 18 *Hsp70* gen ailesi (Lin vd., 2001; Sung vd., 2001) tanımlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda pirinçte 32 *Hsp70* genin karakterizasyonu yapılmıştır (Jung vd., 2013). Kavakta 34 *Hsp70* geni bulunmuştur (Yer vd. 2016). Yaptığımız çalışmada benzer şekilde *Hsp70* gen ailesine ait *Fagaceae* familyasında (Kayın 13, Meşe 17 ve Kestane 15) toplam 45 adet gen tanımlanmıştır.

### 3.2. FagHsp70, QuerHsp70 ve CasHsp70 geninin filogenetik analizleri ve korunmuş motiflerin belirlenmesi

Korunmuş *Hsp70* proteinlerinin yapısının evrimsel olarak dağılımını anlamak için detaylı filogenetik sınıflandırma yapılmıştır. 13 *FagHsp70*, 17 *QuerHsp70* ve 15 *CasHsp70* proteinleri için filogenetik ağaç oluşturulurken “komşu birleştirme (Neighbour-Joining, NJ) yöntemi” kullanılmıştır. 1000 tekrarlı bootstrap analizinden dolayı, dallar arasında yüksek bootstrap değerleri elde edilmiştir. Böylece, yüksek ‘bootstrap’ değeri ile gruplandırmalar için homojen ve güvenilir bir sonuç elde edilmiştir. Kayın, Meşe ve Kestane için yapılan filogenetik analiz sonucunda 3 ana grup oluşmuştur (Grup-1, Grup-2, Grup-3). Sırasıyla her grupta kayın için 6, 4 ve 3 - meşe için 11, 5 ve 1 - kestane için 10, 3 ve 2 protein bulunmaktadır (Şekil 1). Tüm gruplar kendi içerisinde farklı alt grup oluşturmuştur. Grupların kendi arasında oluşturduğu alt grupları da farklı oranlarda kümeleme göstermiştir.

Filogenetik ağaç yapısı *Arabidopsis* ve pirinç için de benzer bir yapı oluşturmuştur. *Arabidopsis*'de Hsp70 proteinleri 2 ana grup altında 7 alt grup oluşturmuştur (Lin vd. 2001). Pirinçte ise 4 ana grup oluşturmuştur (A-B-C-D) bu gruplarda farklı alt gruplara ayrılmıştır (Sarkar vd., 2013).

Filogenetik ağacın doğruluğunu kontrol edebilmek için korunmuş motiflerin analizi yapılmıştır. MEME veri tabanına Hsp70 proteinlerinin tüm aminoasit sekansları yüklenmiştir. Hsp70 için 10 farklı korunmuş motif tanımlanmıştır. Filogenetik ağaçta yer alan çoğu Hsp70 proteinin benzer motif yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. Bazı motiflerin ise farklı gruplarda olduğu belirlenmiştir. Tanımlanan motifler ile *Fagaceae* familyasına özgü bir yapı oluşturulmuştur. Hsp70 proteinleri kendi içerisinde korunmuş bölgeler içermektedir (Şekil 2; Tablo 1).

Pirinç de Sarkar vd. (2013) C uç bölgesinde ve ATP bağlanmalarında yüksek motif benzerliğinin olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, Hsp70 proteinleri için filogenetik ağaçta görülen yakınlık incelendiğinde, sekansların motif yapısı olarak benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir (Sung vd., 2001). *Arabidopsis* de N uç bölgesinin başlangıcı ATP bağlanmalarında yüksek oranda korunmuştur. *Arabidopsis*'de ATP bağlanmasında işlev alan motif yürütülen bu çalışmada motif 2 olarak tanımlanmıştır. Dolayısıyla bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile literatürde bulunan sonuçlar benzerlik göstermektedir. *Hsp70* gen ailesi üyeleri evrimsel açıdan korunmuş motif bölgeleri içermesinden dolayı, farklı bitkilerde ve orman ağaçlarında filogenetik açıdan benzer dağılımlar gösterdiği düşünülmektedir.

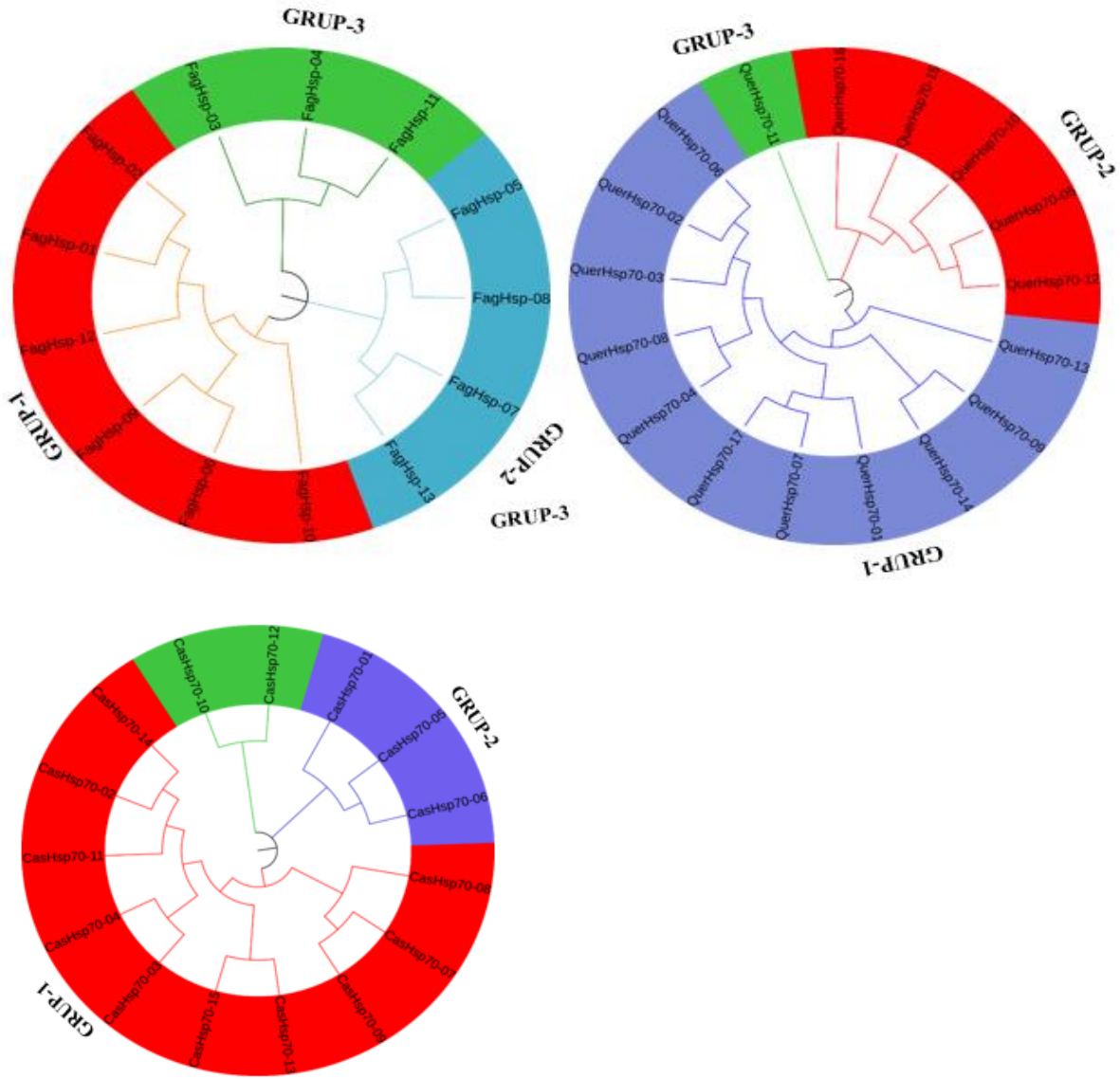
### 3.3. *FagHsp70*, *QuerHsp70* ve *CasHsp70* Proteinlerinin homoloji modellemesi

Homoloji modellemesi için *Fagaceae* veri tabanı içerisinde BLAST taraması yapılmıştır. Yüksek doğruluk belirleyebilmek için SWISS-MODEL Homology programına aminoasit sekansları yüklenmiştir. Belirlenen proteinin modellenme yüzdesi >90% güven düzeyinde 65 den 80 e kadar değişiklik gösteren benzerlik oranı tespit edilmiştir. Toplamda 4 *FagHsp70*, 4 *QuerHsp70* ve 5 *CasHsp70* proteinleri yüksek homoloji göstermektedir (Şekil 4). Hsp70 proteinlerinin moleküler fonksiyonlarının anlaşılabilmesi için protein yapısının bu şekilde tahmin edilmesi yüksek doğruluk belirlemektedir (Şekil 3; Şekil 4; Şekil 5).

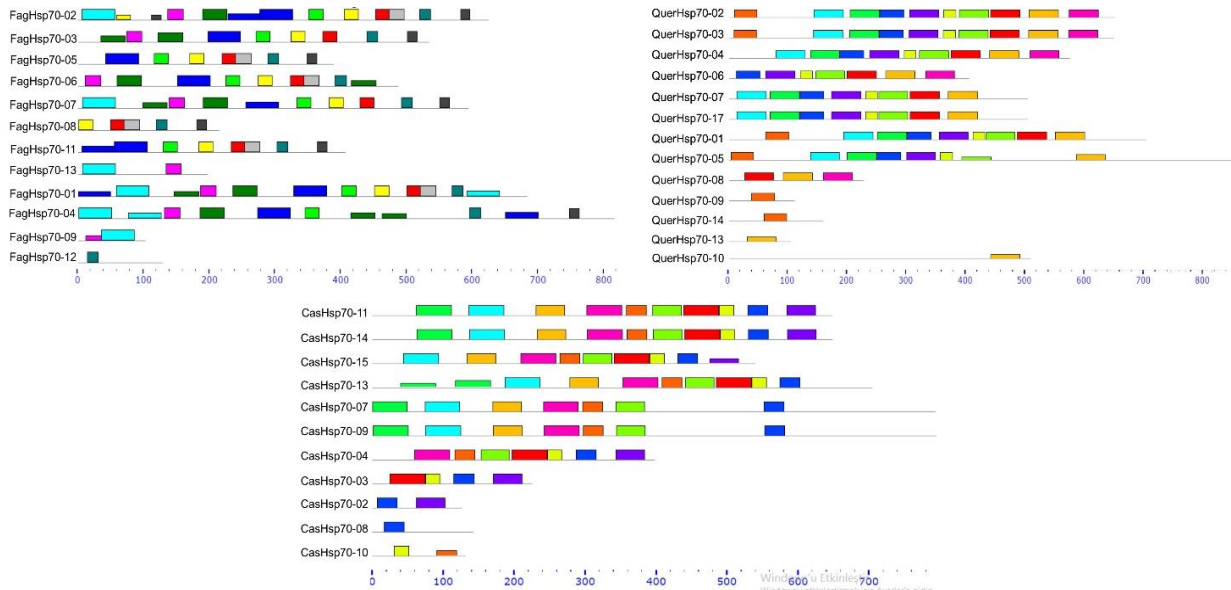
## 4. Sonuçlar ve tartışma

Isı şoku proteinleri (Hsps: Heat shock proteins), canlı organizmalarda bulunan bir grup protein ailesidir ve aynı zamanda literatürde stres proteinleri olarak da isimlendirilmektedir. Isı şoku protein geni 70 (Hsp70) ailesi üyeleri moleküler şaperonlar olarak bilinmektedirler. Stres anında (örneğin tuzluluk, kuraklık ve ekstrem sıcaklık değişimleri) proteinlerin doğru katlanmasında ve dokuların korunmasında önemli bir rol üstlenmektedirler. Birçok çalışma, bireysel aile üyelerinin moleküler fonksiyonlarını belirlemek için yapılmış olsa da, *Fagaceae* familyası Hsp70'lerin yapısal genomlarının belirlenmesi ve karakterizasyonu üzerine sınırlı bir çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada; *Hsp70* gen ailesine ait kayın, meşe ve kestanede sırasıyla 13, 17 ve 15 olmak üzere *Fagaceae* ailesine ait toplam 45 adet gen tanımlanmıştır. Filogenetik analiz sonucuna göre; *Hsp70* genleri 3 farklı grup oluşturmuştur. Yapılan motif analizine göre Hsp70 proteinlerinin genom içerisinde (kayın, meşe ve kestanede) nispeten korunduğu görülmüştür. Proteinlerin üç boyutlu modellemesi yapıldığında toplam *Fagaceae* familyasına ait 13 Hsp70 geni >%90 güven düzeyinde test edilmiştir. Bu on üç protein "(*FagHsp70-03*(%68) / *FagHsp70-08*(%65) / *FagHsp70-09*(%71) / *FagHsp70-13*(%80) / *QuerHsp70-03*(%65) / *QuerHsp70-04*(%68) / *QuerHsp70-09*(%71) / *QuerHsp70-14*(%77) / *CasHsp70-03*(%65) / *CasHsp70-04*(%67) / *CasHsp70-11*(%65) / *CasHsp70-14*(%65) / *CasHsp70-15*(%61)" data bankta bulunan proteinlerle yaklaşık %65-80 arasında üç boyutlu homoloji modellemesi göstermiştir. Bu sonuçlar *Fagaceae* familyasında *Hsp70* gen ailesinin karakterizasyonu ve fonksiyonel işlevleri hakkında bilgi sağlamaktadır. Ayrıca, *Fagaceae* familyası için kuraklık stresi toleransı mekanizmasının belirlenmesinde temel bir ipucu göstermektedir.



Şekil 1. FagHsp70, QuerHsp70 ve CasHsp70 proteinlerinin filogenetik sınıflandırması



Şekil 2. FagHsp70, QuerHsp70 ve CasHsp70 genlerinin motif dağılımlarının gösterimi

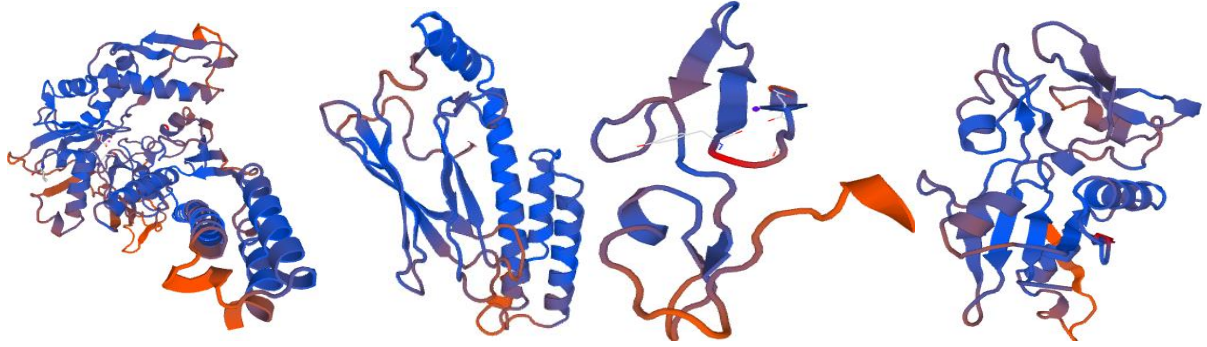
Tablo 1. FagHsp70, QuerHsp70 ve CasHsp70 aminoasitlerinin motif kompozisyonu

Motif No.	Motif Sayısı	E-değeri	FagHsp70 Aminoasit Sekanslarının Motif Kompozisyonları	Uzunluk (aa)
Motif 1	4	1.3e-083	IDLGTTYSCVGVWQHDRV EIIANDQGNRTTPSWVAFDTSERLIGDAAKNQ	50
Motif 2	7	1.5e-076	IDSLEYEGHIFYSTITRARFEELNMDLFRKCMPEPVEKCLRDAMDKSSVHD	50
Motif 3	8	9.3e-065	PPAPRGVPPQIEVCFDIDANGI	21
Motif 4	7	8.6e-062	AVVTVPAYFNDSQRQATKDAGVI	23
Motif 5	8	7.8e-057	PRNTTIPTKKSQVFSTYSDNQ	21
Motif 6	8	4.5e-043	CKSINPDEAVAYGAAVQCAIL	21
Motif 7	10	2.3e-030	IDAKNALENYVYNMRN	16
Motif 8	7	1.5e-022	LESICNPIIAKMYQ	14
Motif 9	5	3.1e-031	NVLIFDLGGGTFDVSILTIEEGIFEVKAHSGDTHLGG	37
Motif 10	6	1.8e-022	LNVSAEDKTTGQKNKITITNDKG	23
Motif No.	Motif Sayısı	E-değeri	QuerHsp70 Aminoasit Sekanslarının Motif Kompozisyonları	Uzunluk (aa)
Motif 1	8	7.9e-168	QTQVLIQVYQGERTMTRDNNLLGKFELSGIPPAPRGMPQIEVCFDIDANG	50
Motif 2	7	5.2e-133	VKNAVVTVPAYFNDAQRQATKDAGRIAGLHV MRIINEPTAAALAYGMDKK	50
Motif 3	7	1.9e-125	GEGNEDVQDLLLDVTPLSLGLGTLGGVMTRLIPRNTTIPTKKSQVFSTY	50
Motif 4	8	9.2e-111	TRARFEELNMDLFRRCMEPCENCLRDAKMTKSTIHEVVLVGGSTRIPKVQ	50
Motif 5	8	4.6e-105	QITITNDKGRLSQDEIEKMQEAEKYASEDQEHKEKIDAKNSLETYYNM	50
Motif 6	7	3.0e-094	FDLGGGTFDVSILTISNGVFEVKATNGDTHLGGEDFDNRLMDYFVQEFKR	50
Motif 7	8	6.1e-068	KNKIDISKNPRAQLRLTACERAKRTLSSTHQTINIPLY	41
Motif 8	5	4.9e-066	KKKIEDAIDQAIQWLDGNQLAEAEDEFEDKMKELESICNPIIAKMYQGSGG	50
Motif 9	6	1.7e-060	VIGIDLGTTYSCVGVWQHGHEVEIANDQGNRTTPSWVAF	39
Motif 10	8	1.1e-043	GKEPCKSINPDEAVAYGAAVQ	21
Motif No.	Motif Sayısı	E-değeri	CasHsp70 Aminoasit Sekanslarının Motif Kompozisyonları	Uzunluk (aa)
Motif 1	6	2.9e-106	QTTVLIQVYEGERTLTRDCNLLGKFELSGIPPAPRGVPPQIEVCFDIDANG	50
Motif 2	6	2.2e-097	YLNATVVNCCITVPAYFNDSQRQATKDAGTIAGLHVLRINEPTAAALAY	50
Motif 3	7	3.7e-077	LLWLDVTPLSLGLGTLGGVMTVLIPRNTTIPTKKSQVFSTY	41

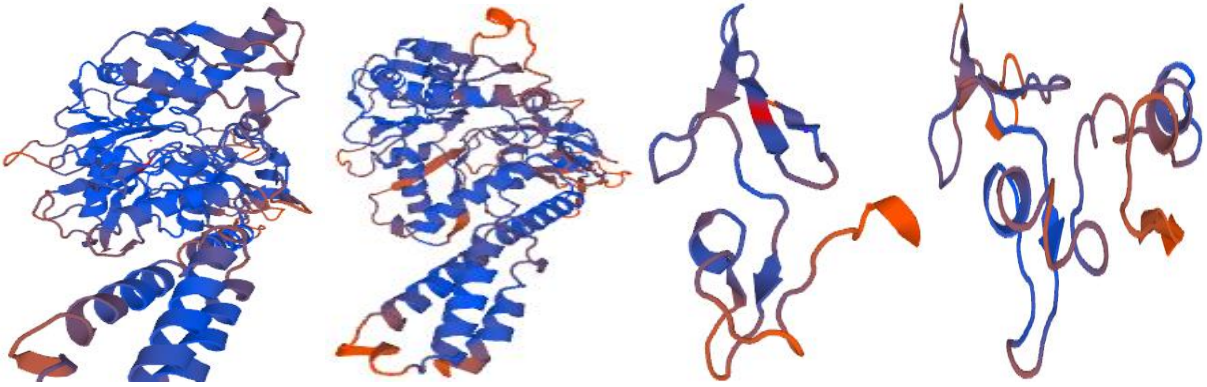


Tablo 1. Devam ediyor

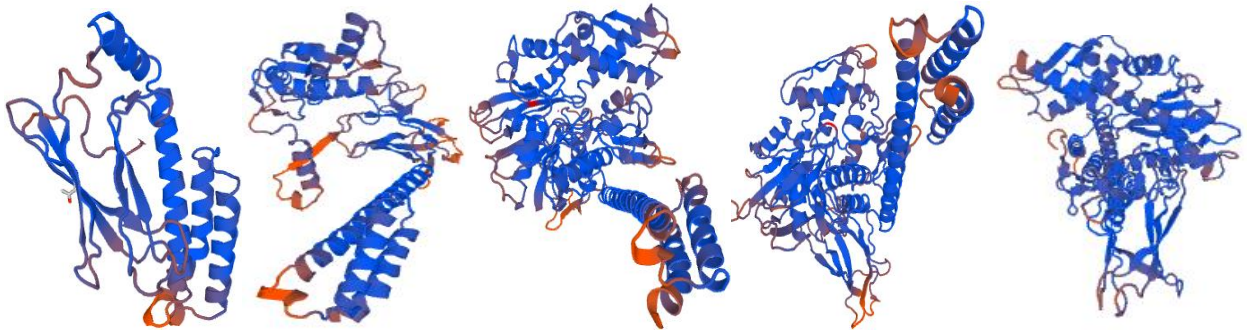
<b>Motif 4</b>	5	1.2e-065	WLDGNQLAEADFEFDKMKKELESICNPIIAKMYQGS GGDMGG	41
<b>Motif 5</b>	6	6.0e-059	HLGGEDFDNRMFNHFVAEFKRQYKIDIFQNP RACQLRTAC	41
<b>Motif 6</b>	4	1.1e-054	MNPKNSIFQIKRLIGRKYN DPSVQRDMQSWPFKVI PGPGGYPMIHVNYLG	50
<b>Motif 7</b>	10	2.0e-054	YALEDREHKETIDAKNALENYVYNMRNQI	29
<b>Motif 8</b>	7	8.3e-084	TRARFEELNMDLFRRCMQPVEKCLRDAGLTISNVH MVVLVGGSTRIPKVQ	50
<b>Motif 9</b>	7	9.4e-053	FFGKDPCKTMNPDECVAYGCAVQCAILSG	29
<b>Motif 10</b>	7	9.3e-025	ILNVSAEDKWTGQKQKITTN	21



Şekil 3. Sırasıyla FagHsp70-03/ FagHsp70-08/FagHsp70-09/FagHsp70-13genlerinin protein yapısı



Şekil 4. Sırasıyla QuerHsp70-03/QuerHsp70-04/QuerHsp70-09/QuerHsp70-14 genlerinin protein yapısı



Şekil 5. Sırasıyla CasHsp70-03/CasHsp70-04/CasHsp70-11/CasHsp70-14/ CasHsp70-15 genlerinin protein yapısı

**Kaynaklar**

- Atalay, İ., 1992. Kayın (*Fagus orientalis* Lipsky.) Ormanlarının Ekolojisi ve Tohum Transferi Yönünden Bölgelere Ayrılması, Orman Bakanlığı, Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü, Yayın No:5, Ankara.
- Atay, İ., 1982a. Doğal Gençleştirme Yöntemleri II (Önemli Ağaç Türlerimizin Silvikültürel Özellikleri ve Bu Özelliklere Göre Gençleştirme Yöntemlerinin Uygulanması). İ.Ü. Orman Fakültesi Yayını, No. 3012/320.
- Atay, İ., 1982b. Doğal Gençleştirme Yöntemleri I (Doğal Gençleştiriminin Başarısını Etkileyen Önemli Hususlar). İ.Ü. Orman Fakültesi Yayını, No. 2876/306.
- Bailey, T.L., Elkan, C. 1994. 'Fitting a Mixture Model by Expectation Maximization to Discover Motifs in Biopolymers', Proceedings of the 'Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology', p.28-36.
- Berman, Westbrook et al. 2000. Nucleic Acids Res. 28, 235-242; <http://www.pdb.org/>. Benkert, P., Biasini, M., Schwede, T. 2011. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. Bioinformatics, 27, 343-350.
- Chen, F., Hayes, P.M., Mulrooney, D.M. and Pan, A. 1994. Nucleotide sequence of a cDNA encoding a heat-shock protein (HSP70) from barley (*Hordeum vulgare* L). Plant Physiol 106 (2): 815.
- Dhankher, O.P., Drew, J.E., Gatehouse, J.A. 1997. Characterization of a pea Hsp70 gene which is both developmentally and stress-regulated. Plant Mol Biol 34(2):345-52.
- Delen, N. 1992. Ege Bölgesi' nde yeni bir hastalık: Kestane Kanseri. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, TYUAP Ege-Marmara Dilimi, Bahçe Bitkileri Grubu Abav Toplantısı, (3-6 Kasım 1992), Menemen-İzmir.
- Frydman, J. 2001. Folding of newly translated proteins in vivo: the role of molecular chaperones. Annual Review of Biochemistry 70, 603-647.
- Efe, R., Soykan, A., Curebal, I., Sonmez, S. 2011. Dede Korkut Monument Oak (*Quercus infectoria* Olivier) (Kadıköy-Edremit-Balıkesir, Turkey) The 2nd International Geography Symposium GEOMED2010, Procedia Social and Behavioral Sciences, (19) 627-636.
- Hartl, F.U. 1996. Molecular chaperones in cellular protein folding. Nature 381, 571-580.
- Jung, K.H., Gho, H.J., Nguyen, M.X., Kim, S.R., An, G. 2013. Genome-wide expression analysis of HSP70 family genes in rice and identification of a cytosolic HSP70 gene highly induced under heat stress. Funct Integr Genomics 13(3):391-402. doi: 10.1007/s10142-013-0331-6.
- Letunic I., Bork, P. 2011. Interactive Tree Of Life v2: online annotation and display of phylogenetic trees made easy. Nucleic Acids Res 39: W475-8. doi: 10.1093/nar/gkr201.
- Liberek, K. Lewandowska, A., Zietkiewicz, S. 2008. Chaperones in Control of Protein Disaggregation. The EMBO Journal, Sayı 27, s. 328-335.
- Lin, B.L., Wang, J.S., Liu, H.C., Chen, R.W., Meyer, Y., Barakat, A., Delseny, M. 2001. Genomic analysis of the Hsp70 superfamily in Arabidopsis thaliana. Cell Stress Chaperones 6 (3):201-208.
- Morimoto, R.I. 1998. Regulation of the heat shock transcriptional response: Cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. Genes and Development 12, 3788-3796.
- Pelham, H.R.B. 1986. Speculations on the functions of major heat shock and glucose regulated proteins. Cell 46, 959-961.
- Ritossa, F. 1996. "Discovery of the heat shock response". Cell Stress Chaperones 1 (2): 97-8. doi:10.1379/1466-1268(1996)001<0097:DOTHSR>2.3.CO;2. PMC 248460. PMID 9222594.
- Rochester, D.E., Winer, J.A., Shah, D.M. 1986. The structure and expression of maize genes encoding the major heat-shock protein, Hsp70. EMBO J. 5:451-458.
- Sarkar, N.K., Kundnani, P., Grover, A. 2013. Functional analysis of Hsp70 superfamily proteins of rice (*Oryza sativa*). Cell Stress Chaperones, 18(4):427-437.
- Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4-406-425.
- Sorensen, J.G., Loeschcke, V. 2004. Effects of relative emergence time on heat stress resistance traits, longevity and Hsp70 expression level in Drosophila melanogaster, Journal of Thermal Biology 29(4-5): 195-203.
- Sung, D.Y., Vierling, E., Guy, C.L. 2001. Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp70 gene family. Plant Physiol, 126(2):789-800.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., et al. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol 28:2731-2739. doi:10.1093/molbev/msr121.
- Thomas, N. A., Deng, W., Puente, J. L., Frey, E. A., Yip, C. K., Strynadka, N. C. & Finlay, B. B. 2005. CesT is a multi-effector chaperone and recruitment factor required for the efficient type III secretion of both LEE- and non-LEE-encoded effectors of enteropathogenic Escherichia coli. Mol Microbiol 57, 1762-1779.
- Yer, E.N., Baloglu, M. C., Ziplar, U.T., Ayan, S., Unver, T. 2016. Drought-Responsive Hsp70 Gene Analysis in Populus at Genome-Wide Level. Plant Mol Biol Repor. 34:483-500. doi:10.1007/s11105-015-0933-3.

(Received for publication 10 April 2016; The date of publication 15 August 2016)