

G Proteinleri

G PROTEINS

Emel EMREGÜL*, Sibel SUNGUR**

* Uz.,Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya AD,

** Doç.Dr.,Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya AD, ANKARA

Bir insanın düşünmesi, hareketi veya varlığı için vücuttaki hücrelerin birbiriyle etkileşmesi gerekmektedir. Bu, hormonlar ve nörotransmitter gibi bazı kimyasal mesajcıların sirkülasyona gönderilmesi ile gerçekleşmektedir. Bu mesajıcılardan bazıları gerçek anlamda hedef hücrelere girerek hücrelerin fonksiyonlarında değişikliğe neden olmaktadır. Diğer bir grup ise bir aracı yardımı ile bilgiyi hücre içine iletmektedir. Bu mesajıcılar spesifik reseptör olarak görev yapan, hedef hücre yüzeyindeki proteinlere bağlanarak mesajlarını “sinyal aktarımı” olarak adlandırılan bir işlem içinde hücre içi araçılara iletmektedirler.

Tipik bir biyolojik hücre zarının yapısında temel olarak fosfolipitler ve proteinler, daha az miktarlarda glikoproteinler, sfingolipitler ve kolesterol bulunmaktadır. Hücre zarına bağlı proteinler, bir enzim, bir taşıyıcı protein, bir reseptör ya da bir bağışıklık proteini olabilmektedir.

Araştırmalar sonunda düzinelere hücre dışı mesajcı tespit edilmiştir. Bu mesajıcılardan her biri farklı moleküler etkileşim serisini başlatmaktadır. “G proteinleri” sinyalin reseptörden hücreye akışını sağlayan moleküllerdir. Bu moleküllere G proteini adı verilmesinin nedeni guanin nükleotidlerine bağlanmış olmalarıdır. Guanin nükleotitler de diğer nükleotitlerde olduğu gibi organik bir baz olan guanin, bir şeker ve bir veya daha fazla fosfat içermektedir.

Hormon veya başka hücre dışı birinci mesajcıların sinyallerini reseptörler herhangi bir G proteinini stimule ederek aktarmaktadır. Hücre zarının iç tarafına bağlı bazı efektörler zar üzerinde sinyal aktarımında aracı görevi yapmaktadır. Çoğunlukla enzim olan efektörler, inaktif olan çıkış maddelerini aktif hale geçirerek ikinci habercilerin oluşumuna neden olur ve ikinci haberciler sitoplazmaya difüzlenerak sinyali taşırlar. İkinci haberciler olarak adlandırılan; adenosin 3'-5'-monofosfat (cAMP), guanosin 3'-5'-monofosfat (cGMP), 1,2 diaçil gliserol, inositol 1,4,5 trifosfat ve Ca^{+2} hücrenin hareketlerinde değişikliğe neden olan moleküler reaksiyonların başlatıcılarıdır.

Hücre içi sinyalleme ile ilgili çalışmalar 1950'li yıllarda başlamıştır. Rall ve Sutherland, adrenalin hormonunun karaciğer hücrelerini uyarması ile, glikoz salınımının ilişkisini araştırmışlar ve analizler sonucunda adrenalinin plazma membranındaki enzime etki ettiğini, bu enzimin de adenosin trifosfat'ı (ATP) önceden bilinmeyen bir maddeye dönüştürdüğünü gözlemlemişlerdir. Daha sonraki yıllarda bu maddenin cAMP, ve enzimin ise adenilat siklaz olduğu belirlenmiştir. Adrenalin ile başlayan sinyalleme ve adenilat siklazın aktivasyonuna neden olan ara basamakların mekanizmasının aydınlatılması ile ilgili araştırmalar sonunda Sutherland adenilat siklaz ile adrenalinin reseptörünün aynı molekül olduğunu, böylece reseptörün iki görevi olduğunu düşünmüştür (1).

1970'li yıllarda adenilat siklaz ile reseptörün farklı moleküller olduğu yapılan deneyler sonucunda belirlenmiştir. Bu sonuç dikkatleri reseptörün adenilat siklaz ile haberleşme mekanizması üzerine çekmiştir.

Geliş Tarihi: 01.03.1996

Yazışma Adresi: Uz.Emel EMREGÜL
Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi,
Kimya Bölümü, Biyokimya AD,
06100 Beşevler, ANKARA

Rodbellö, Birnbaumer ve arkadaşları, glukagon hormonunun ortamda tek başına bulunmasının, reseptör üzerinden adenilat siklazı aktive etmekte yeterli olmadığını göstermişlerdir (2,3).

Daha sonraki yıllarda Cassel ve Selinger plazma membranının bir kısmına adrenalın eklenmesinin sadece adenilil siklazı aktive etmediğini aynı zamanda GTP az enziminin GTP'yi hidrolizlemesi sonucu guanosin trifosfatın (GTP), guanosin difosfata (GDP) dönüşümünü de sağladığını tespit etmişlerdir (4-6).

Gilman ve Ross adenilat siklazın aktivasyonu için gerekli molekülleri ve bu mekanizmada GTP'nin rolünü tespit etmek için yaptıkları çalışmalarda; aktifleştirici molekülün bir protein olduğunu ve bu bileşiğin GTP tarafından stimüle edildiğini göstermişlerdir. Bu proteine guanin nükleotit bağlı protein, kısaca G proteini adını vermişlerdir. Adrenalin bilgiyi, reseptörü aracılığı ile G proteinine geçirmekte, o da adenilat siklazı stimule ederek ATP'yi, cAMP'ye çevirmektedir (1).

Sterweis ve Northup, G_s olarak bilinen ve adenilat siklazı stimule eden G proteinini saflaştırmayı başarmışlardır. Daha sonra adrenalın reseptörünü ve adenilat siklazı da izole etmişlerdir (8-12).

Gilman ve Ross plazma membranının yapısal komponentleri olan bu üç proteini içeren suni hücre membranını hazırlayarak zara adrenalın, ATP ve GTP eklendiğinde cAMP oluşturmayı başarmışlardır. Bu şekilde cAMP'nin oluşum zinciri 1980'li yılların ortalarında aydınlatılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda, cAMP'nin protein kinazı aktifleştirdiği görülmüştür. cAMP, glikojenin glikoza yıkımını katalizleyen fosforilaz enzimini stimule ederek enzimatik olayları başlatmaktadır (1).

Gilman ve arkadaşları G_s üzerinde çalışırken bir başka grup ise retinadaki rod hücrelerinin ışığa karşı hassasiyetlerinin nedenini araştırmışlardır. Bitensky ve daha sonra Stryer ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen deneylerde transducin (G_t) olarak bilinen ikinci bir G proteinine rastlanmıştır (13). Günümüzde en az 20 farklı formda G proteini izole edilmiş ve birçok G proteininin etkileşimi aydınlatılmıştır.

G Proteinlerinin Yapısı

Hücre açısından G proteinlerinin rolü oldukça önemlidir. Bu proteinlerin bilgi aktarım mekaniz-

maları uzun yıllar süren araştırmalar sonunda açıklığa kavuşmuştur. G proteinleri plazma membranının iç yüzeyine bağlı olup üç protein zincirine sahiptir. Bunlar büyükten küçüğe doğru sıralandığında alfa (α), beta (β) ve gama (γ) olarak adlandırılmaktadır.

G_s ile yapılan çalışmalarda, GTP'nin proteine kovalent olmayan fakat oldukça sıkı bir şekilde bağlı olduğu ve α alt biriminin molekül ağırlığı 36-52 kDa, β alt biriminin 35-36 kDa ve γ alt biriminin 6-8 kDa olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar şimdiye kadar 17 değişik α , 4 değişik β ve 4 değişik γ yapısına rastlamışlardır. Değişik α zincirleri, benzer veya değişik β ve γ çiftine bağlanabilmekte ve binden fazla α , β ve γ kombinasyonu olduğu söylenmektedir (14).

Adenilat siklazı aktive etme kabiliyetine sahip G_s saflaştırma esnasında, değişik α alt birimleri (Mr 52000 ve 45000 Da) ve $\beta\gamma$ alt birimlerinin karışımı olacak şekilde tesbit edilmiştir. G_s 'in iki formunun relatif konsantrasyonu hücreden hücreye ve dokudan dokuya değişmektedir. Bu fonksiyonel değişim henüz bilinmemektedir. Daha sonraki yıllarda adenilat siklazın inhibisyonunda görev alan G proteini (G_i), tavşan karaciğeri ve insan eritrositlerinden saflaştırılmıştır. G_i 'deki α alt birimi G_s 'deki α alt birimi ile yapısal olarak benzerdir. Değişik G proteinleri ile ilgili çalışmalarda α alt birimleri arasında aminoasit dizilişi ile karşılaştırmalar yapılmış ve bunların birbirine çok benzediği görülmüştür (15-18). G_s , G_t ve G_i 'nin saflaştırılması sonucunda bu proteinlerinin β alt birimlerinin benzer polipeptitler içerdiği fakat bunların aminoasit dizilişinde küçük farklılıklar olduğu tesbit edilmiştir. β alt birimi γ ile kompleks halinde bulunmakta ve kompleks değişebilir bir fonksiyon göstermektedir. Yani G_s 'den veya G_i 'den gelen $\beta\gamma$, G_s 'den gelen α alt birimi ile etkileşebilmektedir (19-21).

γ alt birimi ilk defa G_t 'de gözlemlenmiş, G_s ve G_i 'nin de bir komponenti olduğu daha sonra tespit edilmiştir. $\alpha\beta\gamma$ kompleksinde, β ve γ alt birimleri birbirine oldukça sıkı olarak bağlıdır. Aktive edici sinyal geldiğinde $\beta\gamma$, α alt biriminden kompleks halinde ayrılır. G_{ty} ile yapılan çalışmalarda G_{ty} 'nin 74 aminoasit kalıntısı içerdiği, oldukça hidrofolik ve asidik karakterde olduğu belirlenmiştir (22,23).

Halen sinyal aktaran G proteinlerinin hangi bölgesinin reseptörle etkileşimi sağladığı ve G pro-

teinlerinin alt birimlerinin diğerleri ile nasıl ilişki kurduğu hakkında kesin bilgi yoktur.

Hücre zarı, kompleksliği, sinyalleri farklı algılamasıyla, dışarıdan gelen haberleri ikinci habercilere iletmesi ile tam bir açma kapama düğmesine benzer. Hücre dışı sinyalleme ile olan iletişim 6 basamak içermektedir; 1. Sentez, 2. Sinyalleme hücresinden bu kimyasal maddelerin salgılanması, 3. Hedef hücrelere taşınması, 4. Spesifik reseptör proteinleri aracılığı ile sinyalin algılanması, 5. Hücre içi metabolizmada bir değişim, 6. Sinyalin uzaklaşması.

Beyinden gelen uyarı hipotalamusa, hipotalamustan hipofize, hipofiz ise hedef dokuya etkiyerek gerekli hormonu salgılar.

Beyin ---> Hipotalamus ---> Hipofiz ---> Hedef doku
(Salgılayıcı (Tropik Hedef doku
hormon) hormon) hormonu

G proteinleri, fonksiyonlarını gerçekleştirirken değişik konumlarda bulunurlar. Bekleme durumunda, α , β ve γ alt birimleri bir kompleks oluşturur ve GDP α alt birimine bağlıdır.

Hormon ve diğer birinci habercilerin reseptörle etkileşmesi, reseptörde konformasyon değişikliğine neden olur ve reseptör G proteinine bağlanır. Bu etkileşim α alt birimine bağlı GDP'nin ayrılmasına neden olur. Hücrede yoğunlaşmış olan GTP, GDP'den boşalan bağlanma bölgelerini doldurarak α alt birimini aktive eder. Aktive olmuş, GTP bağlanmış α alt birimi, $\beta\gamma$ kompleksinden ayrılarak plazma zarının iç kısmına doğru, adenilat siklaz gibi bir efektör ile karşılaşmaya kadar yayılır. Birkaç saniye sonra α alt birimi GTP'yi GDP oluşturmak üzere hidrolizler ve inaktive olur. α alt birimi inaktifleşince efektörden ayrılır ve serbest $\beta\gamma$ kompleksi ile tekrar birleşir. G proteinleri bu şekilde açma kapama düğmesi ve aynı zamanda zaman ayarlayıcı gibi işlem görmektedir. Sinyal aktarım işleminde GTP bağlı α zinciri efektöre bağlandığında düğme açılmakta, GTP GDP'ye hidrolizlendiğinde ise düğme kapanmaktadır (24,25).

G Proteinleri Tarafından Regüle Edilen Fonksiyonlar Adenilat Siklazın Aktivasyonu

Fizyolojik koşullarda adenilat siklazın aktivasyonu için G_s proteini gereklidir. Adrenalin, gluk-

agon, adrenokortikotropik hormon gibi hormonların reseptöre bağlanması ile reseptörde konformasyon değişimi olur ve reseptörün G_s 'ye bağlanması sonucunda G_s 'ye bağlı GDP, GTP ile yer değiştirir ve G_s 'nin alt birimleri birbirinden ayrılır. $G_{s\alpha}$ alt birimi adenilat siklazı stimule ederek ikinci haberce olarak adlandırılan cAMP sentezini aktive eder. GTP'nin GDP'ye hidrolizlenmesi $G_{s\alpha}$ 'nın adenilat siklazdan ayrılmasına neden olur ve $G_{\beta\gamma}$ ile tekrar birleşerek G_s 'yi yeniden oluşturur (26,27).

Adenilat Siklazın İnhibisyonu

Adenilat siklazın inhibisyonu hormonal inhibisyon ve pertussis toksini ile olmak üzere iki şekilde olmaktadır (28-31).

Prostaglandin (PGE_1) ve adenosin'in reseptörle etkileşmesi sonucunda G_i proteini aktive olur. Hormonun reseptöre bağlanması ile $G_{i\alpha}$ 'ya bağlı olan GDP ayrılır yerine GTP bağlanır. Daha sonra G_i , $G_{i\alpha}$ GTP ve $G_{\beta\gamma}$ alt birimlerine disosiyasyon olur. Adenilat siklazın inhibisyonu iki şekilde olmaktadır. Bunlardan birincisi $G_{i\alpha}$ 'nın doğrudan adenilat siklaza bağlanması ile adenilat siklazın inhibe olmasıdır. İkincisi ise disosiyasyon olan $G_{\beta\gamma}$ alt biriminin $G_{s\alpha}$ ile birleşmesi sonucunda oluşan kompleksin inaktif olmasıdır. Oluşan kompleks $G_{s\alpha}$ GTPG $_{\beta\gamma}$ şeklindedir. Böylece $G_{s\alpha}$ GTP'nin adenilat siklazı aktive etmesi engellenmiş olur (32-34).

Retinal cGMP Fosfodiesterazın Stimülasyonu

Işık, retinada bulunan rod hücrelerinin dış yüzeyindeki cGMP'ye spesifik fosfodiesterazı aktive etmektedir. Retinada ışık ile aktive olan GTPaz'ın ve fosfodiesterazın aktivitesi için guanin nükleotitlerinin gerekli olması G proteinleri ailesinden olan G_t 'nin saflaştırılmasına neden olmuştur (35,36). Işıktan hücre içine bilginin aktarılması rodopsin, G_t proteini ve fosfodiesteraz ile gerçekleşmektedir. Bu G proteini, ışığın reseptörü olan rodopsin ile ikinci mesajcı olan cGMP'nin seviyesini regüle eden efektör enzim fosfodiesteraz arasında arabulucu olarak görev yapmaktadır. Fotonların rodopsine gelmesi Gt proteinini aktive etmekte, aktif G_t ise efektör enzim fosfodiesterazı stimule ederek cGMP'nin GMP'ye dönüşmesine neden olmaktadır. cGMP sodyum kanallarını açık tutar, cGMP'nin GMP'ye dönüşmesi ile kanallar kapanır ve sodyum iyonlarının hücreye girişi engellenir. Bunun sonucu olarak hücre içindeki

negatif yük artar ve hücre içinin hiperpolarize olması elektriksel sinyali doğurarak beyine aktarılmasını sağlar (37-39).

Fosfoinosit Hidrolizinin Stimülasyonu

Fosfoinosit hidrolizi plazma membranlarında gerçekleşmektedir. Bu olayın aktifleşmesi ile hücre içi mesajcılar oluşmaktadır. Serotonin gibi bir hormonun hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanması sonucunda fosfolipaz C aktifleşmektedir. Aktif fosfolipaz C ise fosfatidil inositol 4,5-bifosfat'ın (PIP₂), trifosfoinositol (PI₃) ve diaçil gliserole dönüşmesini sağlamaktadır. Bu her iki bileşik IP₃ ve diaçil gliserol hücre içi reaksiyonlarda ikinci haberci olarak görev yapmaktadır. IP₃, Ca⁺²'nin hücre içi depoları olan endoplazmik redikulum ve yumuşak kas hücrelerinde sarkoplazmik redikulumdan salınımını hızlandırmaktadır. PIP₂ hidrolizlenmesinin, GTP'nin analogları ve AIF₄⁻ tarafından stimule edilmesi, sinyalin reseptörden fosfolipaz C'ye taşınmasında G proteinlerinin etkin olduğunu göstermektedir. Bu mekanizmanın Pertussis toksini tarafından stimule edilmesi yine dikkatleri G proteinleri üzerine çekmiştir (40,41).

İyon Kanalları Regülasyonu

Araştırmacılar G proteinleri ile iyon kanalları arasındaki doğrudan ilişkiyi kanıtlayamamışlardır. Kanalların G proteinleri aracılığı ile regülasyonu protein kinaz ve fosfoprotein fosfataz ile olduğu tahmin edilmektedir. Ganglion hücrelerinde voltaj bağımlı Ca⁺² kanallarının inhibisyonunda G_i ve diğer G proteinlerinin (G_o) etkili olduğu tahmin edilmektedir (42,43).

Bazı Toksinlerin G Proteinlerine Etkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalar dikkatleri hücre zarındaki sinyal aktarım mekanizması üzerine çekmektedir. Sinyalizasyonda ilk kontrol basamağında G proteinlerinin bulunması, birçok hastalık ile G proteinleri arasındaki ilişkinin araştırılmasına neden olmaktadır (44,45).

Kolera toksini, bağırsak hücrelerine girdiğinde G_s'nin α alt birimini bloke ederek GTP'nin GDP'ye dönüşümünü engellemektedir. Kolera toksini iki çeşit peptit zincirinden oluşmuştur. Zincirlerden birisi enzim olup hücre zarına difüzlenerak sistosole girer ve NAD⁺'dan gelen ADP-

ribosil grubunu G_s'nin α alt birimine kovalent olarak bağlar. Bu şekilde tersinmez olarak modifiye olmuş G_s alt birimi adenilat siklazı sürekli aktive eder. GTP'nin GDP'ye hidrolizi engellenmiştir. Bu olay G proteinlerinin açma kapama düğmesi özelliğini yitirmesine ve başlayan reaksiyonun durdurulamamasına neden olmaktadır (46-49).

Pertussis toksini ise reseptörü engelleyerek G_i proteininin aktif olmamasına neden olmaktadır. İnhibitör olmayınca stimulator yolak yine uzun bir süre çalışmaya devam eder. Bu toksin çok çeşit hücreyi etkilemekte, immün sistemi bozmakta ve karakteristik öksürüğe neden olmaktadır (50).

Araştırmalar G_s ve G_i'yi de içeren G proteinlerinin mutasyonu ile bazı kanser türleri arasında ilişki olduğunu göstermektedir. Araştırmacılar tümör hücrelerindeki G_s'nin α alt birimine spesifik gende mutasyon tespit etmişlerdir. Bu mutasyon α alt biriminin birkaç saniye yerine dakikalarca efektör gibi hareket etmesine neden olmaktadır (51).

Sonuç

Hücrelerde G proteinleri son derece önemli fonksiyonları yerine getirmektedir. Araştırmacılar G proteinlerinin fonksiyonlarındaki bozukluklar ile kalp hastalıkları, diabet, psikolojik depresyon gibi hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştırmaktadırlar.

Günümüzde G proteinlerinin yapısı ve fonksiyonları ile ilgili araştırmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir. Gelecekte bunların spesifik tipleri için ilaç geliştirmek mümkün olabilecek ve böylece hatalı hücrelerde hasarlı fonksiyonlar düzeltilerek sağlıklı hücreler elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Linder ME and Gilman AG. G proteins. Scientific American 1992; 6:36-43.
2. Rodbell M, Birnbaumer L, Pohl SL, Krans HMJ. Glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma membranes of red liver V. Obligatory role of guanyl nucleotides in glucagon action. J Biol Chem 1971; 246:1877-82.
3. Rodbell M, Birnbaumer L, Pohl SL, Krans HMJ. Glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma membranes of red liver IV. Effect of guanyl nucleotides on binding of 125 I-glucagon. J Biol Chem 1971; 246:1872-76.
4. Cassel D, Selinger Z. Catecholamine-stimulated GTPase activity in turkey erythrocyte membranes. Biochem Biophys Acta 1976; 452:538-51.

5. Cassel D, Selinger Z. Activation of turkey erythrocyte adenylate cyclase and blocking of the catecholamine stimulation. *Proc Natl Acad Sci* 1977; 74:3307-11.
6. Cassel D, Selinger Z. Catecholamine induced release of [3H]- Gpp (NH)p from turkey erythrocyte adenylate cyclase. *J Cyclic Nucleotide Res* 1977; 3:11-22.
7. Gilman AG. G proteins. Transducers of receptor-generated signals. *Ann Rev Biochem* 1987; 56:615-49.
8. Northup JK, Sternweis PC, Smigel MD, Schleifer LS, Ross EM, Gilman AG. The regulatory component of adenylate cyclase from uncoupled S49 lymphoma cells differs in change from the wild type protein. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77:6516-20.
9. Sternweis PC, Northup JK, Smigel MD, Gilman AG. The regulatory component of adenylate cyclase purification and properties. *J Biol Chem* 1981; 256:11517-26.
10. Hanski E, Sternweis PC, Northup JK, Dromerick AW, Gilman AG. The regulatory component of adenylate cyclase: Properties of the turkey erythrocyte protein. *J Biol Chem* 1981; 256:12911-19.
11. Northup JK, Sternweis PC, Gilman AG. The subunits of the stimulatory regulatory component of adenylate cyclase. Resolution, activity and properties of the 35.000 dalton (b subunit). *J Biol Chem* 1983; 258:11361-68.
12. Northup JK, Smigel MD, Sternweis PC, Gilman AG. The subunits of the stimulatory regulatory component of adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1983; 258:11369-76.
13. Stryer L. Molecular design of an amplification cascade in vision. *Biopolymers* 1985; 24:29-47.
14. Neer EJ, Clapham DE. Roles of G proteins subunits transmembrane signalling. *Nature* 1988; 333:129-34.
15. Bokoch GM, Katada T, Northup JK, Hewlett EL, Gilman AG. Identification of the predominant substrate for ADP-ribosylation by Islet activating protein. *J Biol Chem* 1983; 258:2072-75.
16. Bokoch GM, Katada T, Northup JK, Ui M, Gilman AG. Purification and properties of the inhibitory guanine nucleotide binding regulatory component of adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1984; 259:3560-67.
17. Codina J, Hildebrandt JD, Sekura RD, Burnbaumer M, Bryan J. Ns and Ni the stimulatory and inhibitory regulatory components of adenylyl cyclases. Purification of the human erythrocyte proteins without the use of activating regulatory ligand. *J Biol Chem* 1984; 259:5871-86.
18. Codina J, Hildebrandt JD, Iyengar R, Birnbaumer M, Sekura RD, Manclark CR. Pertussis toxin substrate, the putative Ni component of adenylyl cyclases, in an ab heterodimer regulated by guanine nucleotide and magnesium. *Proc Natl Acad Sci* 1983; 80:4276-80.
19. Katada T, Bokoch GM, Northup JK, Ui M, Gilman AG. The inhibitory guanine nucleotide-binding regulatory component of adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1984; 259:3568-77.
20. Tang WJ, Gilman AG. Type-specific regulation of adenylyl cyclase by G protein bg subunits. *Science* 1991; 254:1500-03.
21. Federman AD, Conklin BR, Schrader KA, Reed RR, Bourne HR. Hormonal stimulation of adenylyl cyclase through Gi protein $\beta\gamma$ subunits: *Nature* 1992; 356:159-61.
22. Fung BKK, Hurley JB, Stryer L. Flow of information in light triggered cyclic nucleotide cascade of vision. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:152-6.
23. Lai RK, Perez-Sala D, Canada FJ, Rando RR. The γ subunit of transducin is farnesylated. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:7673-77.
24. Simon MI, Strathman MP, Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction. *Science* 1991; 252:802-8.
25. Strader CD, Fong TM, Tota MR, Underwood D. Structure and function of G protein-coupled receptors. *Annu Rev Biochem* 1994; 63:101-32.
26. Ross EM, Hewlett AC, Fergusson KM, Gilman AG. Reconstitution of hormone-sensitive adenylate cyclase activity with resolved components of the enzyme. *J Biol Chem* 1978; 253:6401-12.
27. Pfeuffer T. GTP-binding proteins in membranes and the control of adenylate cyclase activity. *J Biol Chem* 1977; 252:7224-34.
28. Hazeki O, Ui M. Modification by islet activating protein of receptor mediated regulation of c-AMP accumulation in isolated rat heart cells. *J Biol Chem* 1981; 256:2856-62.
29. Katada T, Amoina T, Ui M. Modulation by islet-activating protein of adenylate cyclase activity in C 6 glioma cells. *J Biol Chem* 1982; 257:3729-46.
30. Katada T, Ui M. Direct modification of the membrane adenylate cyclase system by islet activating protein due to ADP ribosylation of α membrane protein. *J Biol Chem* 1982; 257:7210-16.
31. Katada T, Ui M. ADP ribosylation of the specific membrane protein of the C 6 cells by islet activating protein associated with modification of adenylate cyclase activity. *Proc Natl Acad Sci* 1982; 79:3129-33.
32. Hurley JB, Simon MI, Teplow DB, Robishaws JD, Gilman AG. Homologies between signal transducing G proteins and ras gene products. *Science* 1984; 226:860-2.
33. West RE Jr, Moss J, Vaughan M, Liu T, Liu TY. Pertussis toxin catalyzed ADP-ribosylation of transducin. *J Biol Chem* 1985; 260:14428-30.
34. Willumsen BM, Norris K, Papageorge AG, Hubbert NL, Lowry DR. The P21 ras C-terminus is required for transformation and membrane association. *EMBO J* 1984; 3:2581-85.
35. Bitensky MW, Wheeler GL, Aloni B, Vetury S, Matuo Y. Light and GTP activated receptor phosphodiesterase: Regulation via light activated GTPase and identification of rodopsin as the phosphodiesterase binding site. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 1978; 9:553-72.
36. Yee R, Liebman PA. Light activated phosphodiesterase of the rod outer segment. Kinetic and parameters of activation and deactivation. *J Biol Chem* 1978; 253:8902-09.
37. Chader GJ, Bensinger R, Johnson M, Fletcher RT. Phosphodiesterase. Important role in cyclic nucleotide regulation in the retina. *Exp Eye Res* 1973; 17:483-6.

38. Miki N, Keirns JJ, Marcus FR, Freeman J, Bitensky MW. Regulation of cyclic nucleotide concentrations in photoreceptors. ATP dependant stimulation of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci* 1973; 70:3820-24.
39. Wheeler GL, Bitensky MW. α light-activated GTPase in vertebrate photoreceptors: regulation of light-activated cyclic GMP phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci* 1977; 74:4238-42.
40. Berridge MJ. Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messenger. *Biochem J* 1984; 220:345-60.
41. Shamshad C. Polyphosphoinositide phosphodiesterase: regulation by a novel guanine nucleotide binding protein, Gp. *TIBS* 1987; 12:75-8.
42. Holz GG, Rane SG, Dunlap K. GTP-binding proteins mediate transmitter inhibition of voltage dependant calcium channels. *Nature* 1986; 319:670-2.
43. Bertoline M, Llinas RR. The central role of voltage-activated and receptor-operated calcium channels in neuronal cells. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32:399-421.
44. Lyons J, Landis CA, Harsh G, Vallar L, Grünewald K. Two G protein oncogenes in human endocrine tumors. *Science* 1992; 249:655-8.
45. Gawler D, Milligan G, Spiegel AM, Unson CG, Houslay MD. Abolition of the expression of inhibitory guanine nucleotide regulatory protein Gi in diabetes. *Nature* 1987; 327:229-32.
46. Gill DM, Meren R. ADP-ribosylation of membrane proteins catalysed by cholera toxin: basis of the activation of the adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci* 1978; 75:3050-54.
47. Cassel D, Pfeuffer T. Mechanism of cholera toxin action: covalent modification of the guanyl nucleotide binding protein of the adenylate cyclase system. *Proc Natl Acad Sci* 1978; 75:2669-73.
48. Van Dop C, Tsubokawa M, Bourne HR, Ramachandran J. Amino acid sequence of retinal transducin at the site ADP-ribosylated by cholera toxin. *J Biol Chem* 1984; 259:696-8.
49. Robishaw JD, Russel DW, Harris BA, Smigel MD, Gilman AG. Deduced primary structure of the α subunit of the GTP binding stimulatory protein of adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83:1251-55.
50. Harvey K, Tamane K, Fung K. Covalent modifications of G-proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 32:201-41.
51. Kahn RA, Gilman AG. ADP-ribosylation of Gs promotes the dissociation of its α and β subunits. *J Biol Chem* 1984; 259:6235-40.