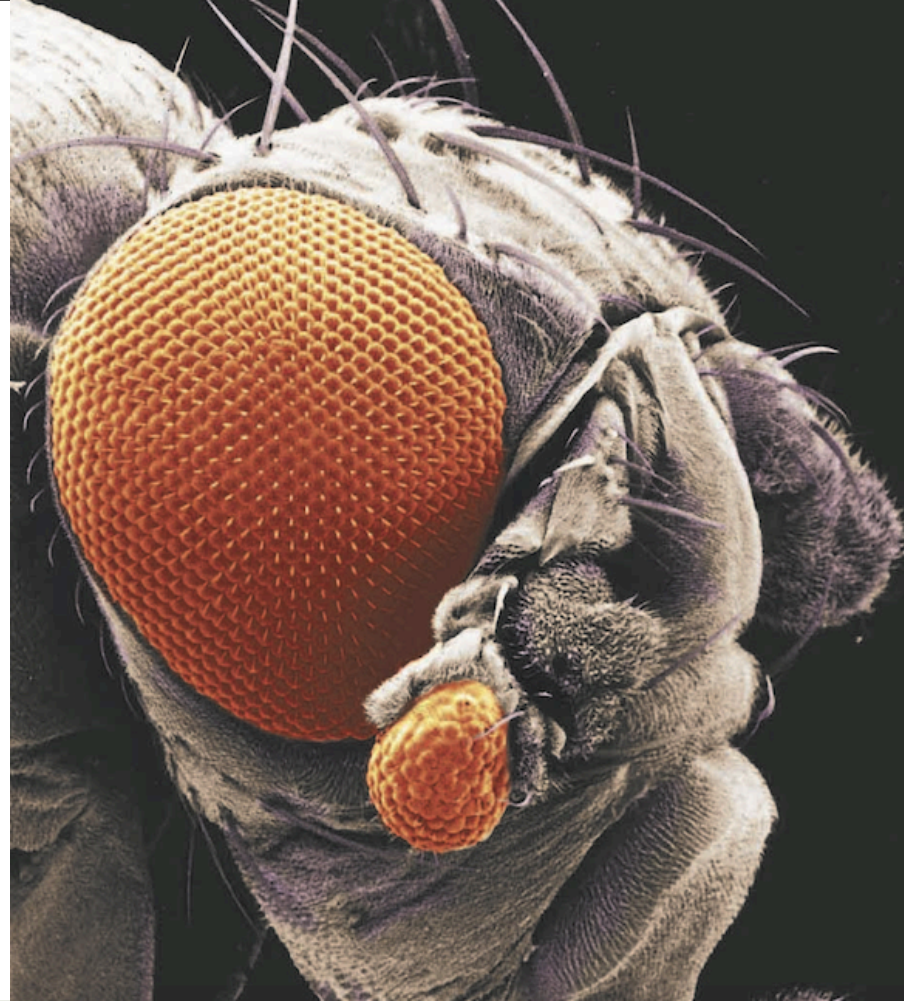


GELİŞİMİN GENETİK TEMELİ



Drosophila'da göz gelişimi

- Bu bölümün temel amacı, tek bir hücreden çok hücreli kompleks bir canlının nasıl geliştiği sorusuna cevap vermektir.
- Araştırmacılar mutasyonlar oluşturarak gelişimde rol oynayan genleri tespit etmeye çalışmaktadır.
- 1995 yılında İsviçreli araştırmacılar, bir genin *Drosophila*'da göz gelişimini yönettiğini tespit ettiler.



Drosophila'da göz gelişimi

- Yandaki şekilde sineğin baş kısmının taramalı elektron mikroskobu görüntüsü görölmektedir.
- Sineğin antenleri üzerinde ilave gözleri bulunmaktadır.



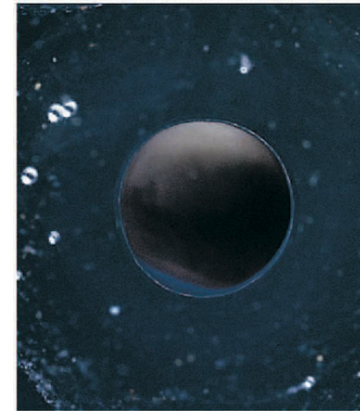
Drosophila'da göz gelişimi

- Anormal bölgede göz gelişiminden sorumlu genlerin ifadesi, ilave gözlerin gelişimine neden olmuştur.
- Benzer bir gen, fare ve diğer memelilerde de göz gelişimini başlatır.

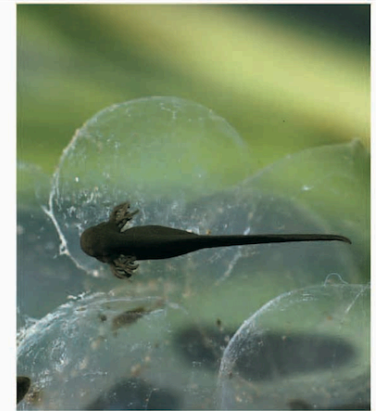


Çok hücreli yaşam zigot ile başlar

- Çok hücreli organizmaların birçoğu yaşamlarına zigot adı verilen tek bir hücre ile başlar.
- Zigottan mitotik bölünmeler ile farklı yapı ve işleve sahip çeşitli tipte hücreler meydana gelir (kas, sinir, mezofil, stoma hücreleri vb).



(a) Fertilized egg of a frog



(b) Tadpole hatching from egg

ŞEKİL 21.1 Dölleniş yumurtadan hayvana: bir haftada hücre bölünmesi. Farklılaşma ve morfogenez olaylarını geçirerek iribaş (b) haline dönüşmesi sadece bir haftalık süre içerisinde olmuştur. (a) Dölleniş kurbağa yumurtası (b) Yumurtadan çıkan iribaş

Embriyonik gelişimin aşamaları

- Bir organizma, birbiriyle ilişkili üç olayın sonucunda meydana gelir.
 - Hücre bölünmesi
 - Hücre farklılaşması
 - Morfogenez
- Zigot, mitotik bölünmeler geçirerek çok sayıda hücreden oluşan büyük bir top meydana getirir.

Embriyonik gelişimin aşamaları

- Hücrelerin sayıca artması yeterli değildir.
- Aynı zamanda yapı ve işlev bakımından özelleşmenin olduğu farklılaşma olayını da geçirirler.
- Özelleşen hücreler, dokular ve organlar şeklinde organize olarak organizmanın kendine has fiziksel biçimini almasını sağlarlar.
- Bu aşamaya ise morfogenez adı verilir.

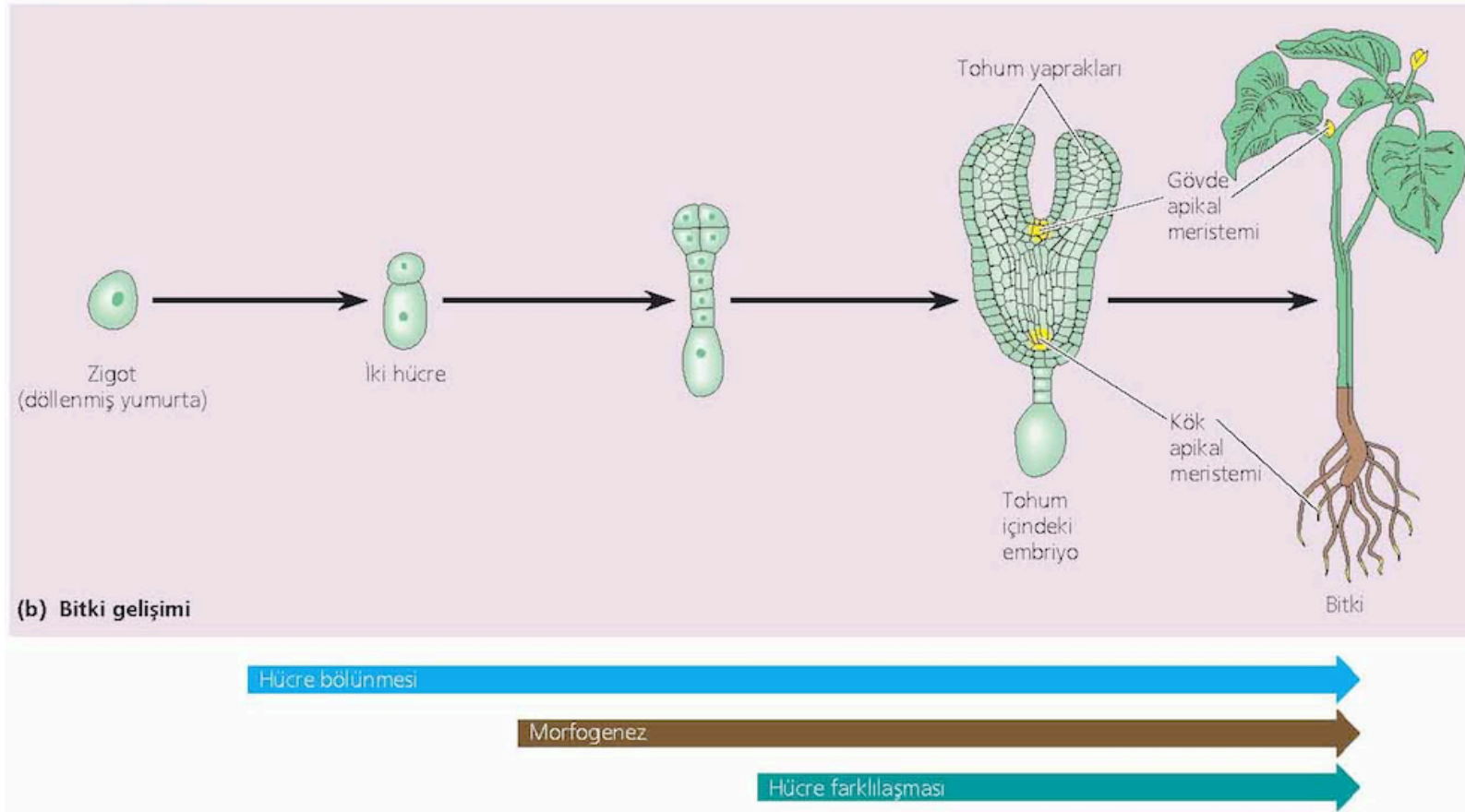
Temel vücut planı ne zaman ortaya çıkar?

- Embriyonik gelişim sırasında organizmanın temel vücut planı çok erken zamanda ortaya çıkar.
- Örneğın, bir hayvan embriyosunun hangi ucunun baş olacağı ya da bir bitki embriyosunun hangi ucunun kök olacağı embriyonik gelişimin başlangıç aşamasında belirlenir.

Bitkilerde büyüme ve morfogenez süreci hayvanlardan farklıdır

- Bitkilerde büyüme ve morfogenez sadece embriyonik ve juvenil dönem ile sınırlı değildir.
- Bitkinin yaşamı boyunca devam eder.
- Kök ve gövde ucunda bulunan apikal meristemler, sürekli olarak büyümeyi ve yeni organ oluşumunu sağlar.

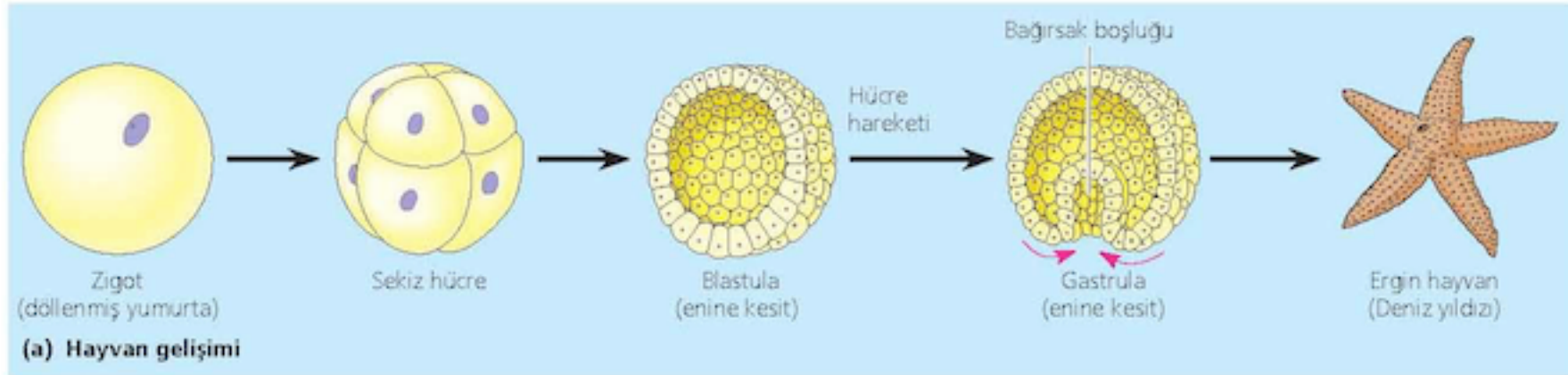
Bitkilerde büyüme ve morfogenez süreci hayvanlardan farklıdır



Hayvanlarda büyüme ve morfogenez süreci

- Ancak hayvanlarda büyüme, belirli bir döneme gelindiğinde durur.
- Bu dönemde gelişim ise yalnızca bazı hücrelerin farklılaşması ile sınırlıdır (örn; kemik iliği kök hücrelerinden kan hücrelerinin yapılması).

Hayvanlarda büyüme ve morfogenez süreci



Morfogenezdeki aksaklıklar ciddi sonuçlar doğurur

- Morfogenezin yanlış ilerlemesi, ciddi insan hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır.
- Örneğın, ağız boşluğunun üst duvarında gelişen yarık damak morfogenezdeki bir aksaklığın sonucudur.



'Model organizma' terimi

- Hayvan ya da bitki gelişimine ilişkin prensipleri çalışmak için seçilen organizmaya 'model organizma' denir.
- Örneğin kurbağalar, morfogenezdeki hücre hareketlerinin rolünü açıklamak için yararlı organizmalardır.
- Çünkü kurbağa gelişimini gözlemek kolaydır ve omurgalı hayvanların çok tipik bir grubunu oluştururlar.

Gelişim genetiği için model organizmalar

- Araştırmacılar gelişim genetiği çalışmalarında model organizma seçmek için bazı kriterlere dikkat ederler.
 - Embriyolar rahatlıkla görülebilmeli
 - Dl verme süresi kısa olmalı
 - Genomu küçük olmalı
 - Genleri hakkında daha önceden mevcut bilgi bulunmalı

Gelişim genetiği için model organizmalar

- Bu nedenle aşağıdaki canlılar araştırmacıların favorisi durumundadır.
 - *Drosophila melanogaster* (meyve sineği)
 - *Caenorhabditis elegans* (yuvarlak solucan)
 - *Mus musculus* (fare)
 - *Danio rerio* (zebra balığı)
 - *Arabidopsis thaliana* (yabani hardal)

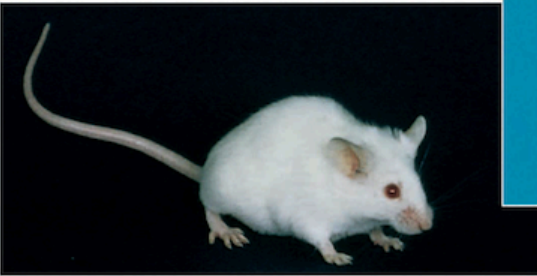
Gelişim genetiği için model organizmalar



(a) *Drosophila melanogaster* (meyve sineği)



(b) *Caenorhabditis elegans* (yuvarlak solucan)



(d) *Mus musculus* (fare)



(d) *Danio rerio* (zebra balığı)



(d) *Arabidopsis thaliana* (yabani hardal)

ŞEKİL 21.3 Model organizmalar. Bu organizmaların her biri, gelişim genetiği üzerine yapılan araştırmalar için belirli avantajlar sunar.

Drosophila ile çalışmanın avantajları

- Sadece bir haftalık jenerasyon süresine sahiptir.
- Çok sayıda yavru meydana getirir.
- Embriyoları vücutunun dışında gelişir.



Drosophila'da ilk bölünmeler farklıdır!

- *Drosophila*'da blastula aşamasına kadarki mitotik bölünmelerde sitokinez görülmez.
- Dolayısıyla tek bir sitoplazma kütlesi içinde çok sayıda çekirdek meydana gelir.

C. elegans ile çalışmanın avantajları

- Toprakta yaşayan bir organizmadır.
- Ancak petri kaplarında da kolaylıkla yetiştirilebilir.
- Birkaç tip hücreden oluşan şeffaf bir vücudu vardır.
- Zigottan erişkin bir birey haline dönüşmesi yalnızca üç buçuk gün sürer.
- Genom sekansı yapılmıştır.



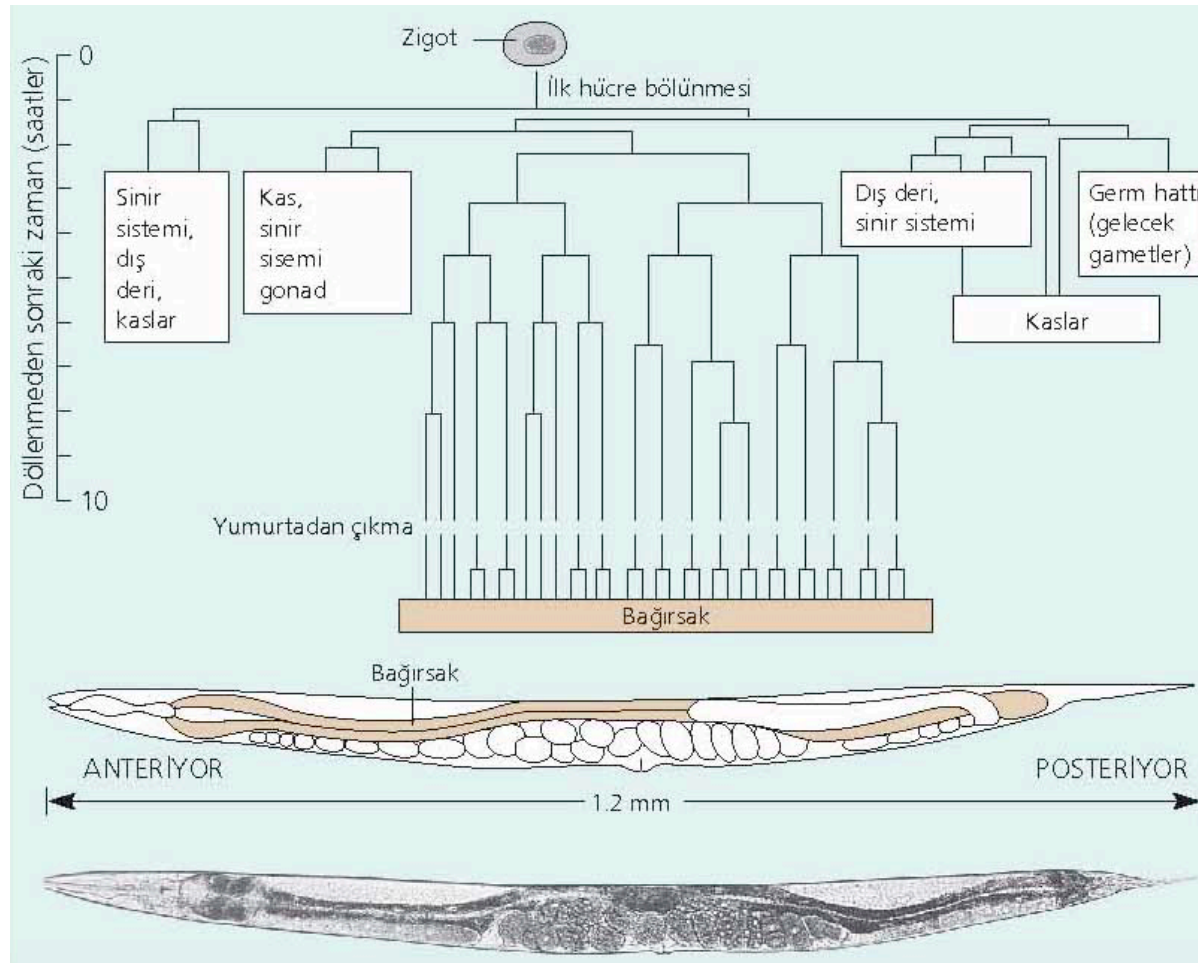
C. elegans hermafrodittir

- Bu organizmayı genetik çalışmalar için elverişli hale getiren diğer bir özellik hermafrodit olmasıdır.
- Yani hem yumurta hem de sperm üretir.
- Hermafrodit canlılarda çekinik mutasyonları tespit etmek daha kolaydır.

Tam hücre hattı

- Erişkin bir *C. elegans* tam olarak 959 somatik hücre taşır.
- Bu hücreler, her birey için, zigottan başlayarak aynı yolla gelişirler.
- Hücre bölünmeleri mikroskop altında izlenebilir.
- Bu nedenle ergin bireyin vücudundaki her hücrenin atası tespit edilebilir.
- Buna, organizmanın tam hücre hattı adı verilir.

C. elegans'in hücre hattı diyagramı



Mus musculus (fare)

- Araştırmacılar, belirli genleri mutasyonla etkisiz hale getirilmiş fareler oluşturmak için deneyler yapmaktadırlar.
- Fare genomu insanlarınkı kadar komplekstir.
- Ancak embriyoları rahim içinde geliştiği için embriyonik gelişimi izlemek zordur.



Danio derio (Zebra balığı)

- 2-4 cm uzunluğunda küçük balıklardır ve laboratuvarında üretmek kolaydır.
- Embriyoları şeffaftır ve anne vücudunun dışında gelişir.
- Jenerasyon süreleri uzun olmasına karşılık (2-4 ay), gelişimin ilk evreleri çabuk ilerler.



Danio derio (Zebra balığı)

- Döllenmeden 24 saat sonra dokuların çoğu ve organların ilk halleri şekillenir.
- İki güne kadar yumurtadan çıkar.



Arabidopsis thaliana (yabani hardal)

- Otsu bir bitki türüdür.
- Bir bitki bireyi deney tüpü içinde büyütüldüğünde 8-10 hafta sonra binlerce yavru oluşturabilir.
- Bezelyelerde olduğu gibi çiçekleri hem yumurta hem de polen üretir.
- 100 milyon nükleotit çiftinden oluşmuş küçük bir genomu vardır ve sekansı çıkarılmıştır.



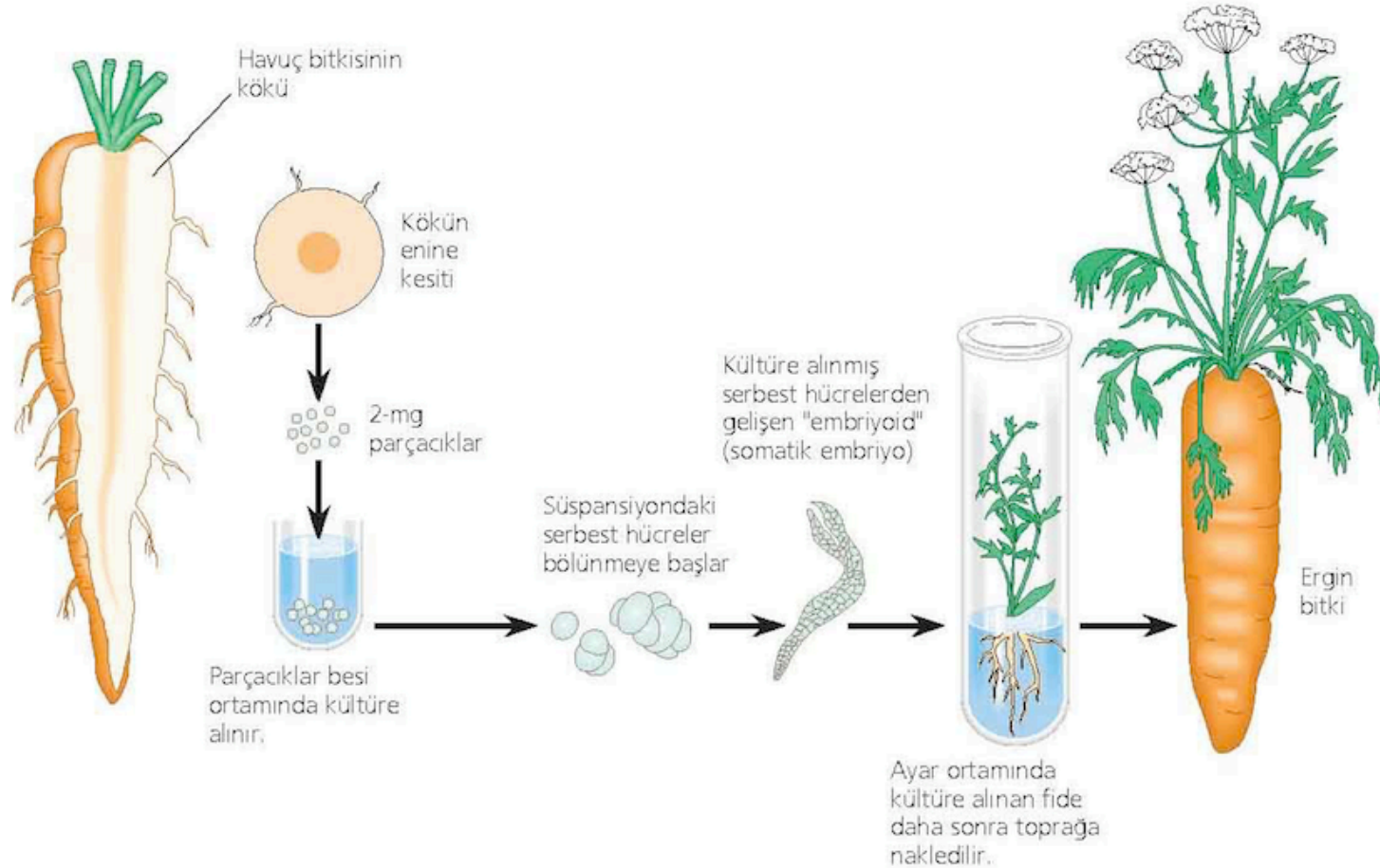
Bitkilerde totipotensi

- Farklılaşmış bitkisel somatik hücrelerden tüm bitki rejenere edilebilir.
- Bu olaya totipotensi adı verilir.
- Totipotensi, 1950'li yıllarda Cornell Üniversitesi'nden F. C. Steward ve öğrencisinin havuç bitkisiyle yaptığı çalışma ile gösterilmiştir.

Bitkilerde totipotensi

- Havuç kökünden alınan hücreler kültür ortamında yetiştirilerek, her birinden, genetik olarak özdeş yeni bitkiler elde edilmiştir.
- Çok hücreli bir organizmanın tek bir somatik hücresinden genetik olarak birbirinin aynısı bireyler elde edilmesine klonlama, her yeni bireye de klon adı verilir.

Bitkilerde totipotensi



Farklılaşma için DNA'da dönüşümsüz değişikliklere gerek yoktur!

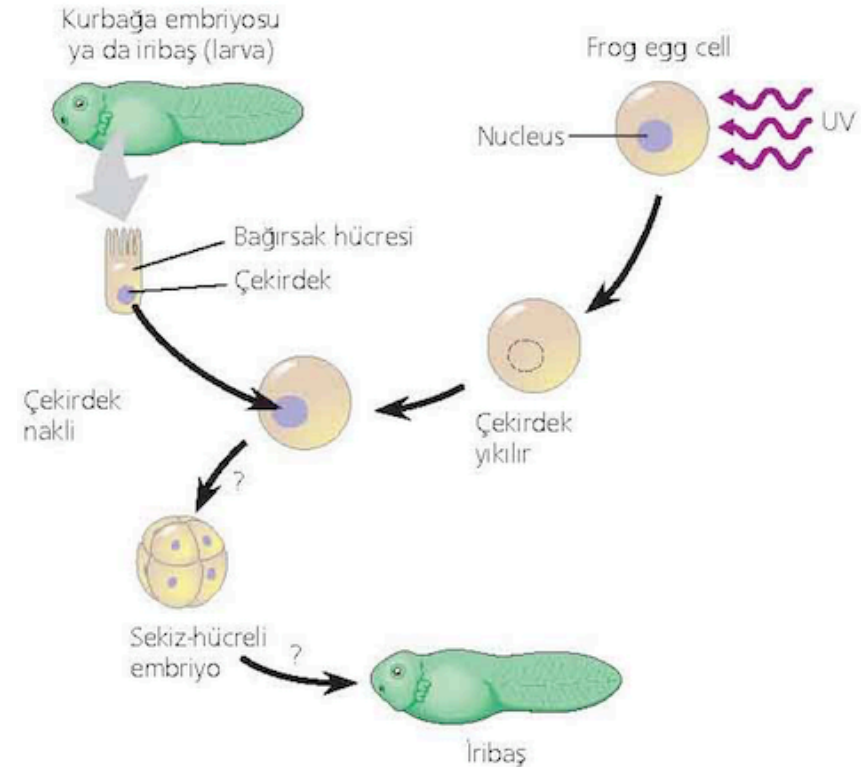
- Bir önceki slayttan da anlaşılabilceği gibi, olgun bir bitki hücrelerinde farklılaşmanın geriye çevrilebilmesi ve daha sonra bu hücrenin ergin bir bireyi oluşturmak üzere tekrar farklılaşması mümkündür.
- Dolayısıyla hücrelerde farklılaşma olayları için hücrenin DNA'sında geri-dönüşümsüz değişiklikler meydana gelmez.
- Yani organizmanın hücreleri, o organizmanın tüm kısımlarını meydana getiren zigotun genetik potansiyeline sahiptirler.

Hayvanlarda ekirdek transplantasyonu

- Farklılaşmış hayvansal hücreler kültür ortamında genellikle bölünmezler.
- Bu durum, farklılaşmış hücre çekirdeklerinin organizma gelişimini yönetip ynetemeyeceği sorusunu akla getirir.
- Araştırmacılar ekirdek transplantasyonu yoluyla bu soruya cevap aramışlardır.

Hayvanlarda çekirdek transplantasyonu

- Bu işlem için öncelikle kurbağa yumurtasının çekirdeği çıkarılarak etkisiz hale getirilmiştir.
- Daha sonra embriyonik ya da larva hücrelerinden alınan çekirdeği, bu çekirdeksiz yumurta hücresine nakletmişlerdir.



Nakledilen çekirdeğin gelişimi destekleme yeteneği

- Nakledilen çekirdeğin gelişimi destekleme yeteneğinin, vericinin (donörün) yaşıyla ters orantılı olduğu belirlenmiştir.
- Embriyonun nispeten farklılaşmamış hücrelerinden alınan çekirdeklerin aktarıldığı yumurtaların çoğu iribaş haline gelmiştir.
- Fakat farklılaşmış hücrelerin (örn; bağırsak hücreleri) ekirdeklerinin aktarıldığı yumurtaların % 2'sinden daha azı gelişebilmiştir.

Farklılaşmış hücresellerin DNA'sı farklı mıdır?

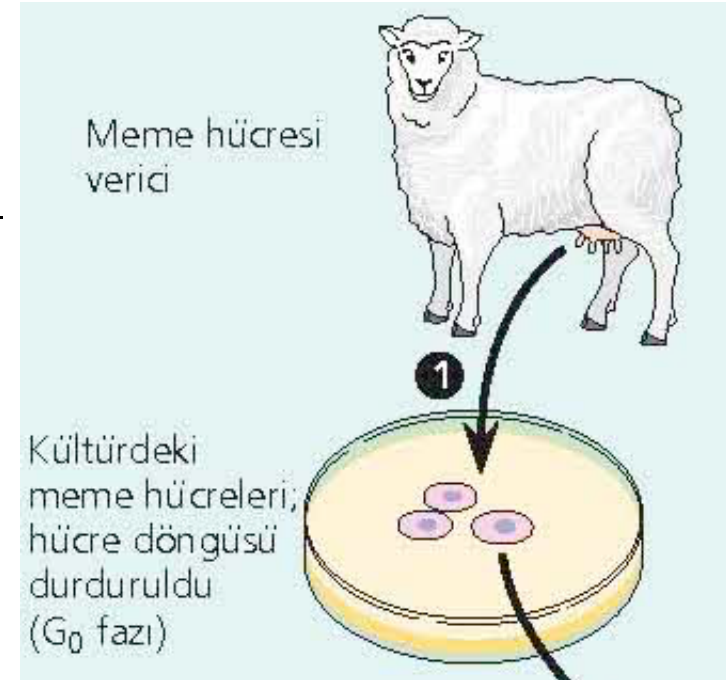
- DNA baz dizilimi değişmemesine karşılık, hücre farklılaşmasına bağlı olarak kromatin yapısında değişiklikler olmaktadır (örn; DNA metilasyonu).
- Farklılaşma ilerledikçe potensi sınırlandırılma eğilimindedir.
- Ancak bu kromatin değişimleri bazen tersine çevrilebilir.

Farklılaşmış hücrelerin DNA'sı farklı mıdır?

- Yani farklılaşmış hayvansal hücrelerin çekirdekleri tam bir organizmayı oluşturmak için gerekli tüm genlere sahiptir.
- Dolayısıyla vücuttaki yapı ve işlev farklılığı taşıyan hücreler, aynı genomun farklı kısımlarını ifade etmektedir.

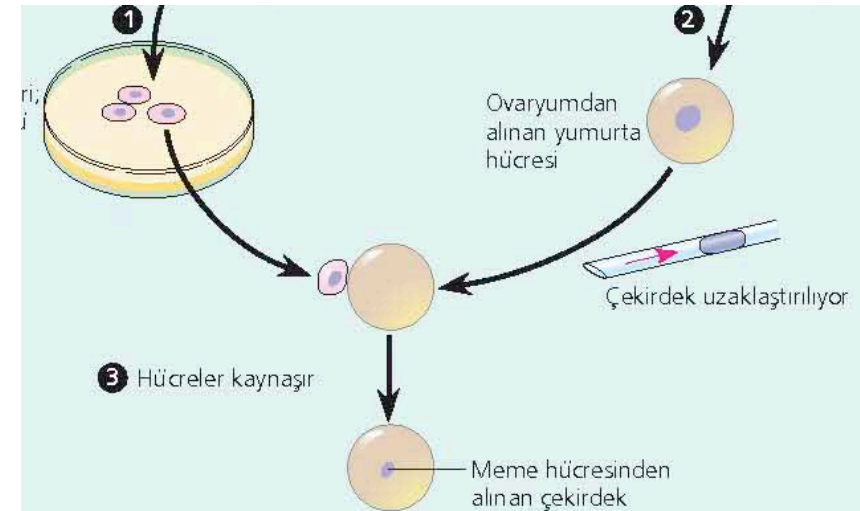
Koyun Dolly!

- 1997'de İskoçyalı araştırmacı Ian Wilmut ve arkadaşları meme hücrelerinden alınan çekirdeği başka bir koyunun döllenmemiş yumurta hücresine nakletti.
- Bu işlem için öncelikle meme hücreleri besince fakir bir ortamda kültüre alınarak çekirdeğin tersine farklılaşması (de-differentiation) sağlandı.



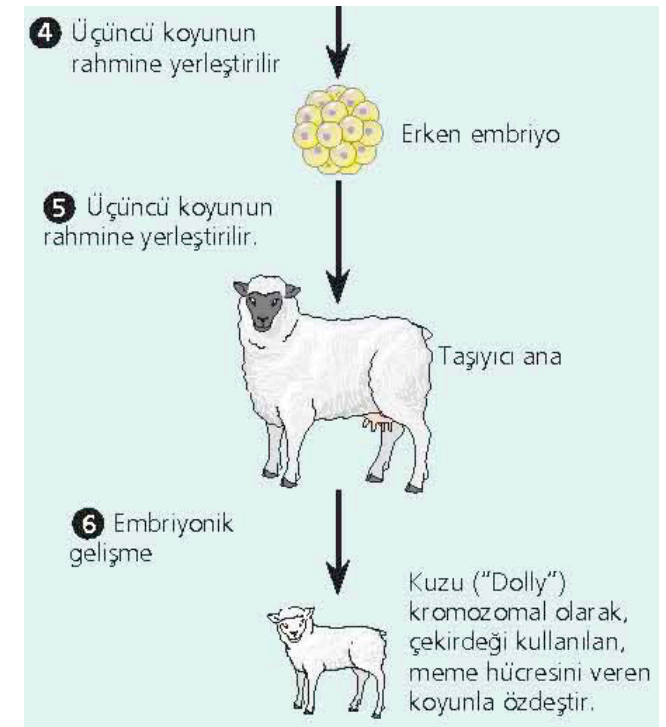
Koyun Dolly!

- Mitotik döngü G_1 kontrol noktasında durdu ve hücreler G_0 evresine girdi.
- Daha sonra bu hücrelerin çekirdekleri, çekirdeği çıkarılmış yumurta hücresine aktarıldı.



Koyun Dolly!

- Oluşan diploit hücre embriyoyu meydana getirmek üzere bölünmelere başladı.
- Embriyo, taşıyıcı koyuna implante edildi.
- Dünyaya gelen koyun (Dolly), genetik açıdan çekirdeği veren koyun ile özdeş yapıya sahiptir.
- Ancak Dolly'nin mitokondriyal DNA'sı beklendiği gibi yumurtayı veren donör hayvandan köken almaktadır.



Klonlanan embriyolar neden normal gelişim gösteremez?

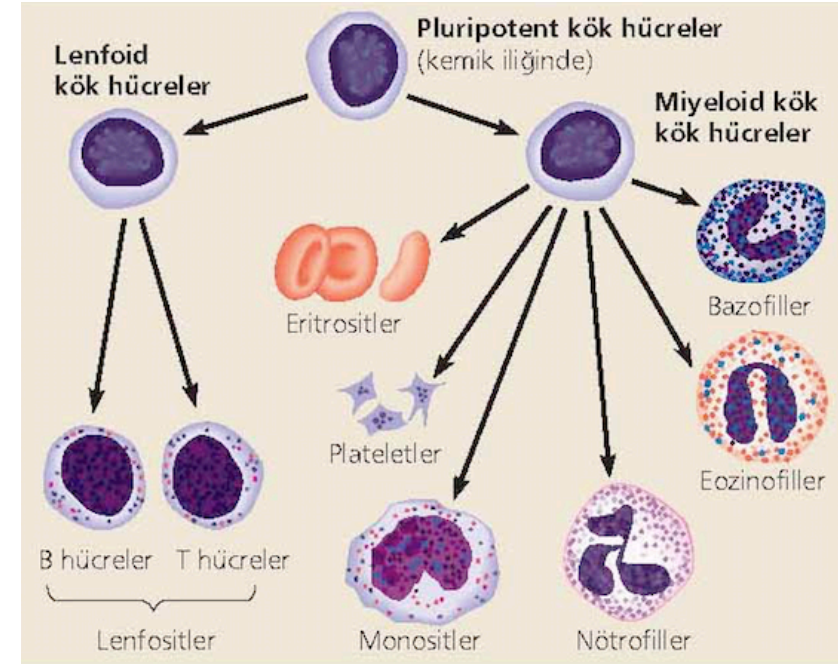
- Klonlanan embriyoların yalnızca küçük bir kısmı normal gelişim göstermektedir.
- Geri kalan embriyoların çoğunun DNA'sı uygun biçimde metillenmemiştir ve ilave metil gruplarına sahiptir.
- DNA metilasyonu gen ifadesini düzenlemeye yardım eder.

Hayvansal organizmalarda kök hücreler

- Bir diğer sıcak araştırma alanı, kök hücrelerin sahip olduğu korunmuş genetik potansiyeldir.
- Bunlar az özelleşmiş hücrelerdir ve kendi kendilerine sürekli çoğalırlar.
- Uygun koşullar altında bir ya da daha fazla tipte özelleşmiş hücreye farklılaşırlar.
- Ergin bireylerin vücutlarında çeşitli tiplerde kök hücreler bulunur.

Hayvansal organizmalarda kök hücreler

- Örneğin kemik iliği kök hücreleri, kan hücrelerinin tüm çeşitlerini oluşturabilir.
- Yakın zamanda yapılan çalışmalarla beyinde de kök hücreler bulunduğ ve çeşitli tipteki sinir hücrelerini oluşturabildikleri tespit edilmiştir.
- Birden fazla hücre tipine dönüşebilen kök hücrelere multipotent ya da pluripotent adı verilir.



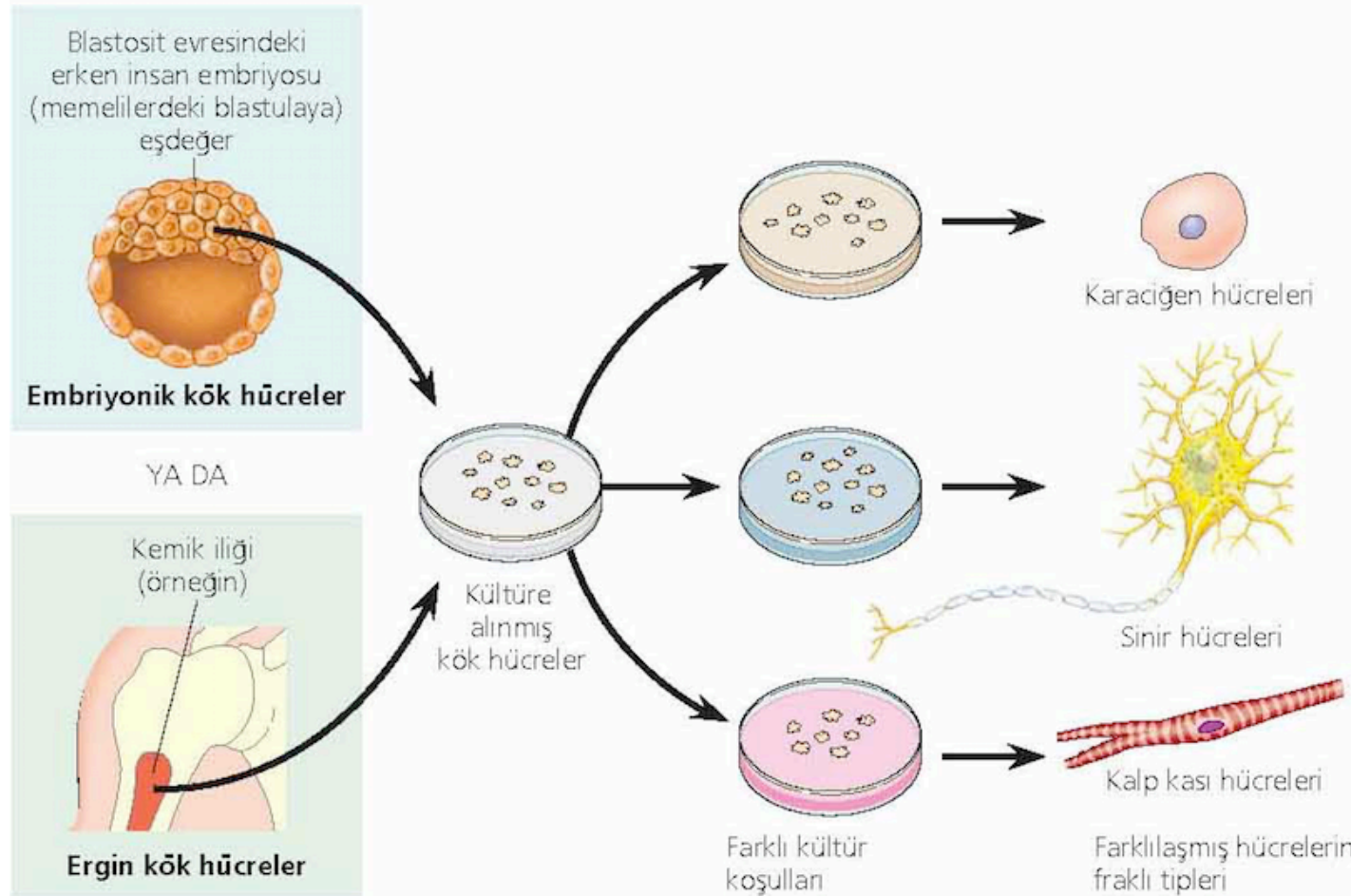
Embriyonik kök hücreler lmszdr!

- ▣ Embriyonik kök hücre kültürleri lmszdr.
- ▣ Zamana bağlı olmaksızın çoğalırlar.
- ▣ Karomozomlardaki telomerleri korumak için telomerazı kullanırlar.

Kök hücrelerle yapabildiklerimiz artıyor!

- Uygun kültür koşullarının sağlanması ile (örn; özgül büyüme faktörleri), kültürdeki kök hücreler özelleşmiş hücrelere farklılaşabilir.
- İlginç olanı şudur ki, ergin kök hücreler bazen *in vivo*'dakinden daha fazla sayıda hücre tipine farklılaşabilmektedir.

Kök hücrelerle yapabildiklerimiz artıyor!



Tıbbi uygulamalarda kök hücre kullanımı

- Tıbbi açıdan asıl amaç, zarar görmüş ya da hastalıklı organların onarılması için sağlıklı yeni hücreler sağlamaktır.
- Örneğın;
 - Şeker hastaları için insülin üreten pankreas hücreleri
 - Parkinson ya da Huntington hastaları için belirli tiplerde beyin hücreleri

Embriyonik kök hücrelere ilişkin sorunlar

- ▣ Embriyonik kök hücreler tıbbi uygulamalar için daha elverişlidir.
- ▣ Ancak bu hücreler insan embriyolarından elde edildiğinden, bu hücrelerin kullanılması etik ve politik sorunlara yol açmaktadır.

Determinasyon

- Hücreyi farklılaşma sürecine iten ilk değişiklikler moleküler düzeydeki hünerli değişikliklerdir.
- Bu hücrenel farklılaşma sürecine determinasyon, farklılaşan hücreye de determine hücre adı verilir.
- Farklılaşma, dokuya özgü proteinleri kodlayan genlerin ifade edildiği anlamına gelir.

Determinasyon

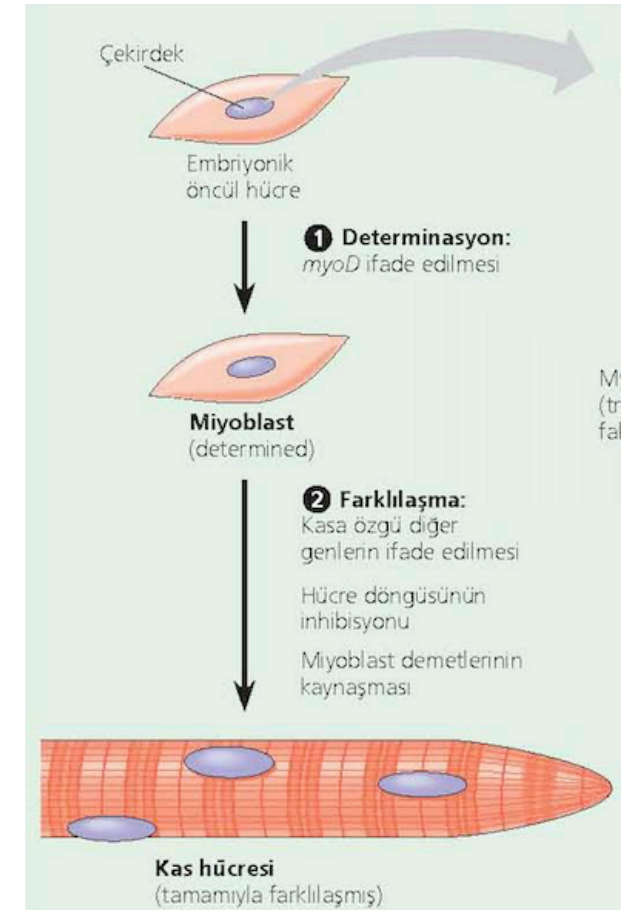
- Sentezlenen proteinler hücreye kendine özgü yapı ve fonksiyonunu kazandırır.
- Farklılaşmanın ilk kanıtı bu proteinlere ait mRNA'ların ortaya çıkmasıdır.
- Farklılaşmış bir hücredeki gen ifadesi modeli (hücrenin hangi proteinleri yapacağı) transkripsiyon düzeyinde kontrol edilir.

Örnek: Omurgalılarda mercek hücreleri

- Omurgalılardaki mercek hücreleri bol miktarda kristalin sentezler.
- Bu proteinler, merceğe ışık geçirme ve odaklama yeteneği veren şeffaf fibrilleri oluşturmak üzere biraraya toplanırlar.
- Omurgalıların diğer hiçbir hücre tipi kristalin proteinini yapamaz.
- Mercek hücresi, protein sentezleme kapasitesinin % 80'ini tek bir tip proteinin yapımına ayırmıştır.

Bir başka örnek: Kas hücreleri

- Embriyonik kök hücrelerden gelişerek miyoblast adını alırlar.
- Tek bir plazma zarı içinde çok sayıda çekirdek içeren uzun lifli yapıdadırlar.
- Kasılma yeteneğine sahip, dokuya özgü proteinleri sentezlerler.



Kas hücresi determinasyonunun tespiti

- Araştırcılar, miyoblastlarda hangi genlerin aktif olduğunu test etmek için bu hücrelerden mRNA izole ettiler.
- Revers transkriptaz kullanarak bu mRNA'ların cDNA formlarını hazırladılar.
- Bu cDNA'ları viral vektörler yoluyla embriyonik kök hücrelere aktararak bu hücrelerin kas hücrelerine farklılaşmasını beklediler.
- Böylelikle kas determinasyonunda görev alan genleri belirlediler.

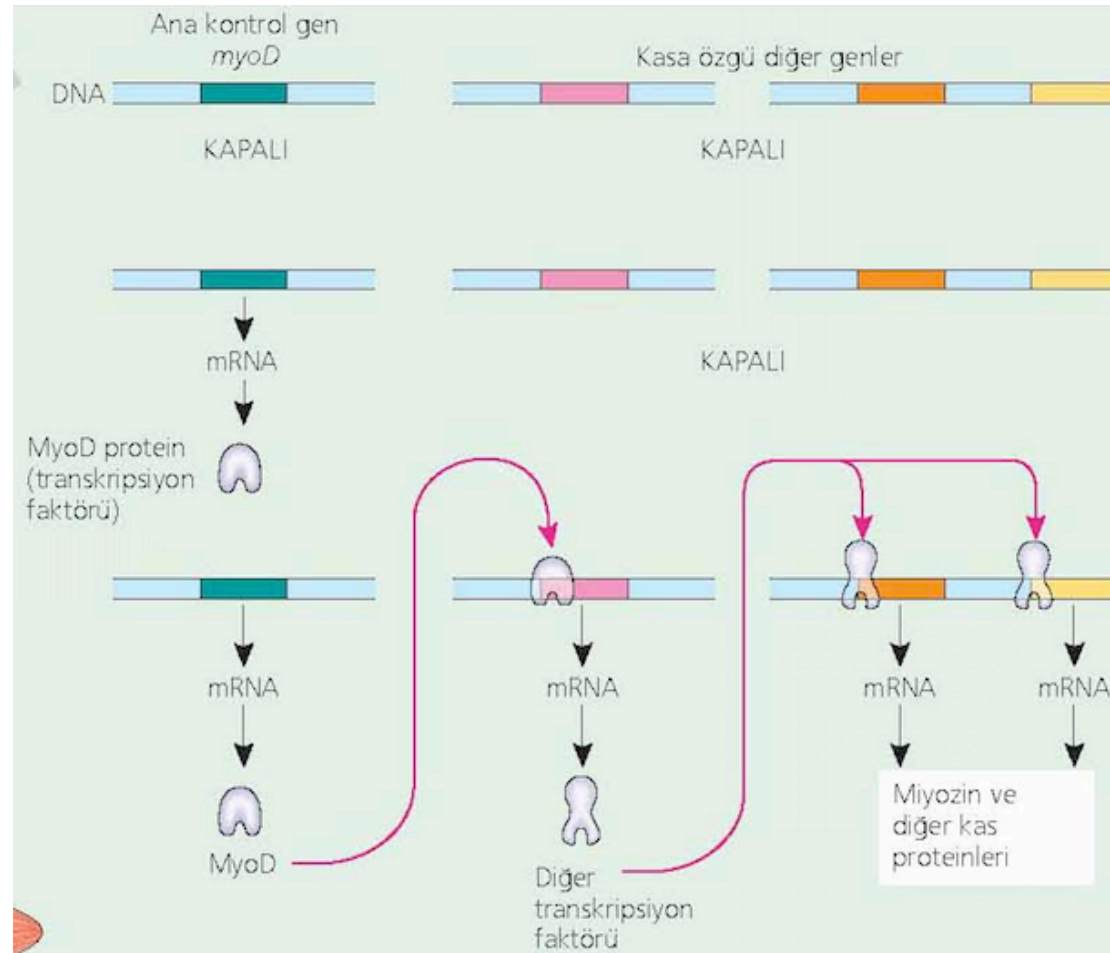
MyoD proteini, kas determinasyonunda önemli bir transkripsiyon faktörüdür

- *myoD* geni kas determinasyonunda görev alan düzenleyici bir genidir.
- Bu genin ürünü olan *MyoD* proteini ise önemli bir transkripsiyon faktörüdür.
- DNA'daki özüml kontrol elemanlarına bağlanarak kasa özüml diğer proteinlerin sentezini kontrol eder.

MyoD proteini, kas determinasyonunda önemli bir transkripsiyon faktörüdür

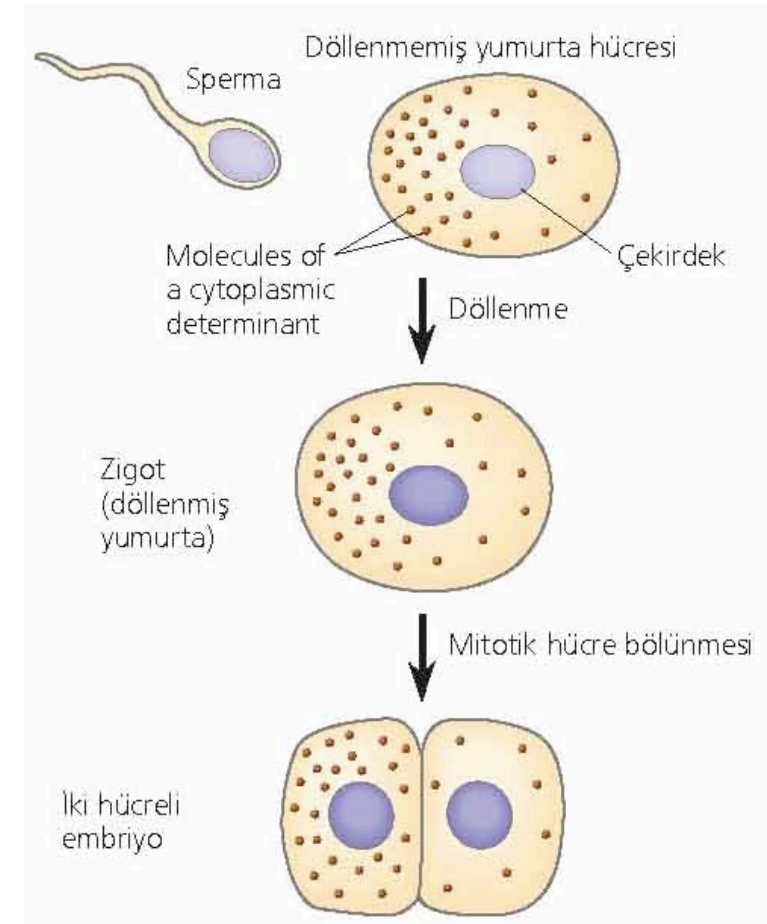
- Ayrıca kasa özgü diğer transkripsiyon faktörlerini sentezleyen genlerin transkripsiyonunu da uyarmaktadır.
- Tahminen tüm bu hedef genler, *MyoD* tarafından tanınan enhansırlara (kuvvetlendirici diziler) sahiptir.

MyoD proteini, kas determinasyonunda önemli bir transkripsiyon faktörüdür



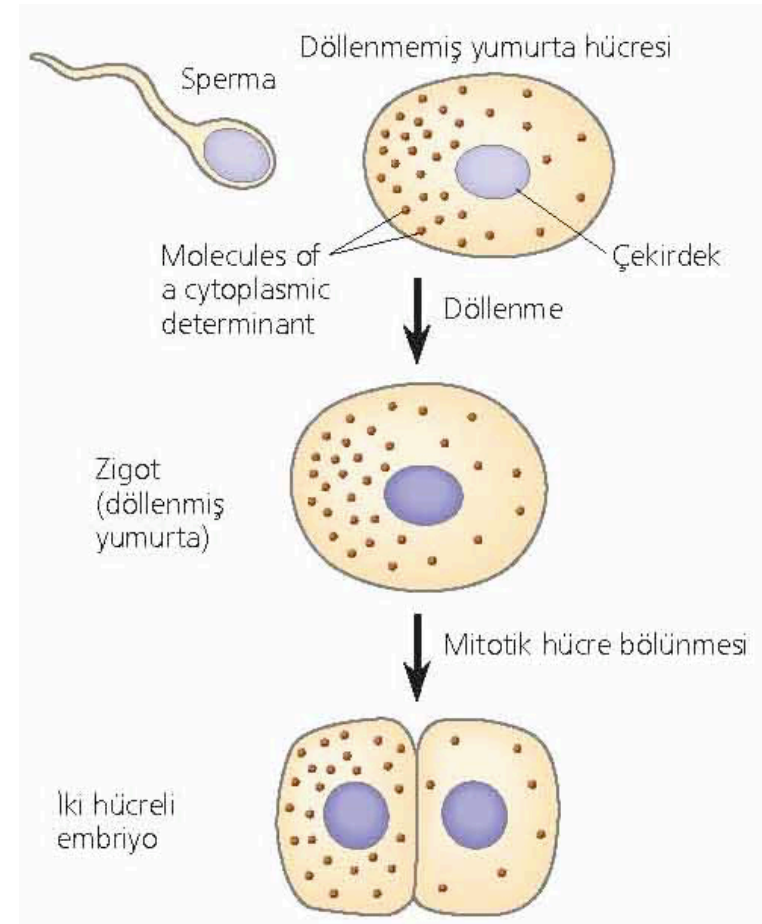
Hücre farklılaşmasını kontrol eden güç: Sitoplazmik determinantlar

- Zigotu embriyonik gelişime yönlendiren önemli güçlerden birisi döllenmemiş yumurtanın sitoplazmasında bulunan RNA ve protein molekülleridir.
- Bu moleküller annenin DNA'sı tarafından şifrelenmektedir.



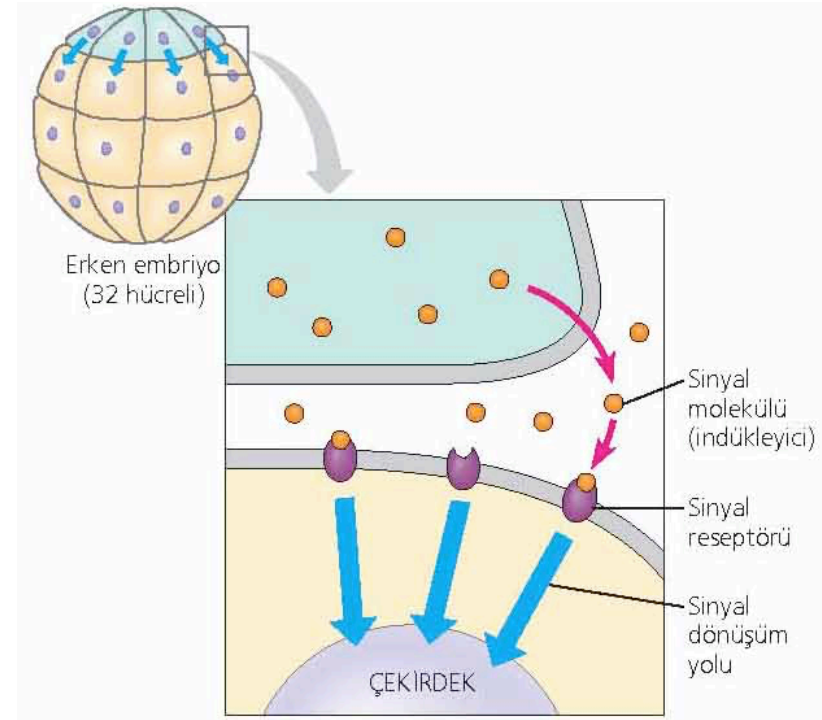
Hücre farklılaşmasını kontrol eden güç: Sitoplazmik determinantlar

- Sitoplazmik determinantlar adı verilen bu moleküller, hücrelerin gelişimsel geleceğini etkileyen genlerin ifadesini düzenler.



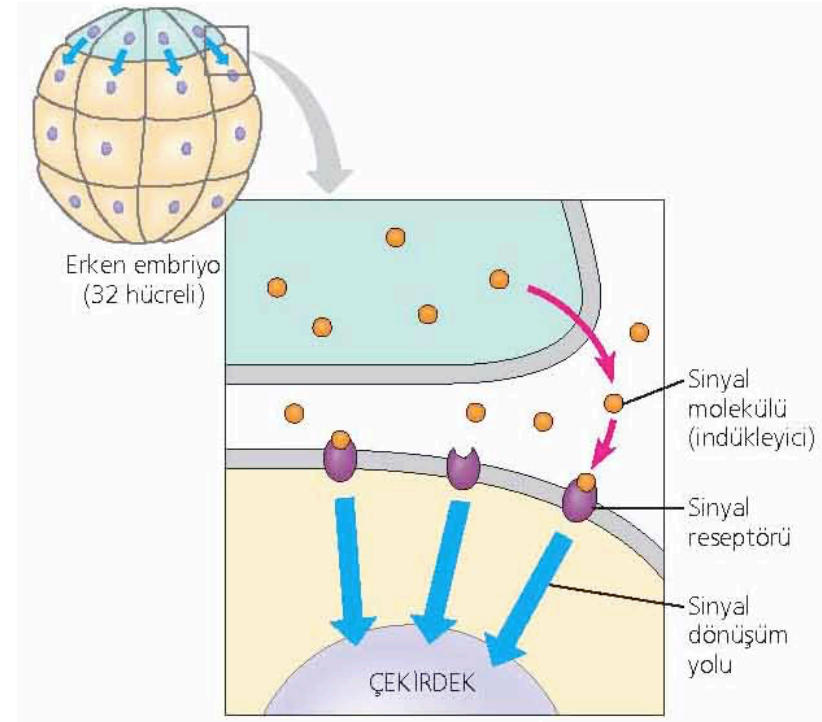
Farklılaşmayı kontrol eden diğer itici güç: İndüksiyon

- Embriyonik hücrelerin sayısı arttıkça, farklılaşma için başka itici güçler de devreye girer.
- Hücreyi çevreleyen ortam bu itici güçlerdendir.
- Yandaki embriyonik hücrelerden gelerek hücreye çarpan sinyaller, gelişim ve farklılaşmada son derece önemlidir.



Farklılaşmayı kontrol eden diğer itici güç: İndüksiyon

- Sinyal molekülleri, yanındaki hücrelerde değişikliklere neden olur, bu olaya indüksiyon adı verilir.
- Sinyal molekülleri, hedef hücredeki genlerin ifadesinde değişikliğe neden olur.
- Bu durum, gözlemlenebilir hücresel değişikliklere yol açar.



İndüksiyon mekanizmaları nelerdir?

- İndüksiyon, kimyasal sinyallerin difüzyonu ile gerçekleşebilir.
- Ayrıca, birbiriyle temas halinde olan hücrelerde yüzey etkileşimi yoluyla da indüksiyon gerçekleşebilir.

Yapı planı oluşumu

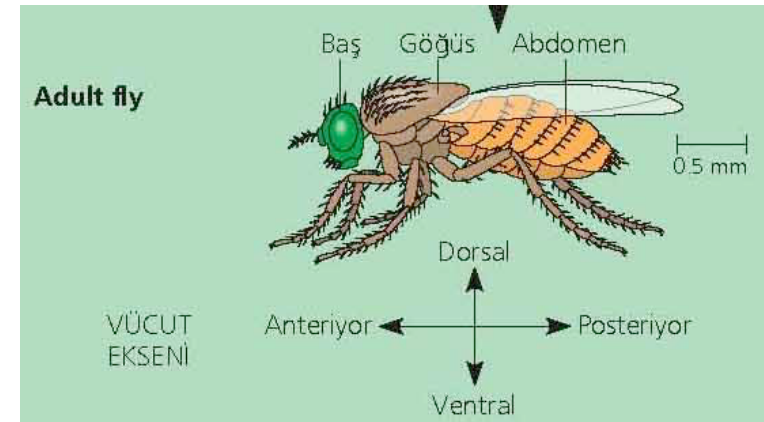
- Organizmanın doku ve organlarının kendine özgü yerlerde konumlanması olayıdır.
- Bitkilerde yapı planı oluşumu apikal meristemlerde ve sürekli gerçekleşir.
- Hayvanlarda ise çoğunlukla embriyolarda ve juvenil dokularda gerçekleşir.

Konumla ilgili bilgi

- Hayvanlardaki yapı planı oluşumu embriyonun başlangıç safhalarında meydana gelir.
- Hayvanın ana eksenleri çok erken zamanlarda tesis edilir.
- Hayvanın baş ve kuyruğunun birbirine göre konumu belirlenir.
- Bu olayları kontrol eden moleküler işaretler, hücreye yerleşeceği yer hakkında bilgi verir.

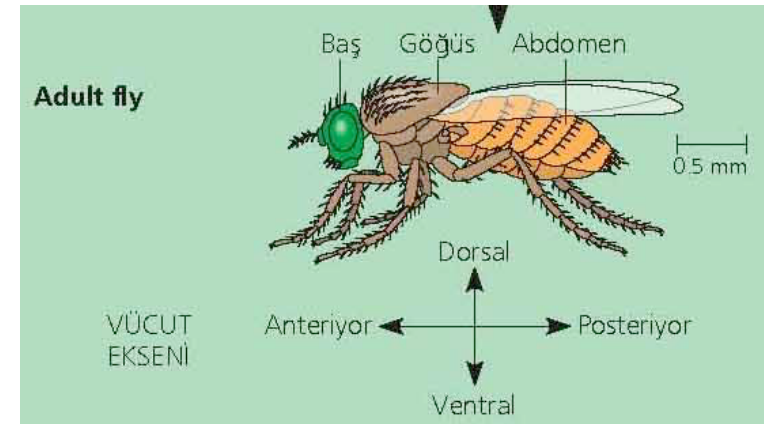
Drosophila'da vücut yapısı

- *Drosophila*, bir seri segmentin birbirine bağlanmasıyla oluşan vücut yapısına sahiptir.
- Bu segmentler vücutta üç ana bölge meydana getirir.
 - Baş
 - Göğüs (kanatlar ve bacakların çıktığı bölüm)
 - Abdomen



Drosophila'da vücut yapısı

- *Drosophila* bilateral simetrlili bir hayvandır.
 - Anterior-poterior (baş-kuyruk) eksen
 - Dorsal-ventral (sırt-karın) eksen

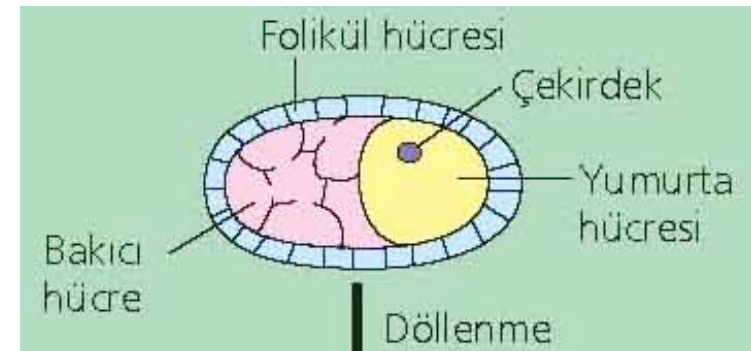


Drosophila'da vücut yapısı

- Döllenmemiş yumurtada bulunan sitoplazmik belirleyiciler, döllenmeden önce bile eksenlerin yerleşimi için gerekli konumsal bilgiyi sağlar.
- Döllenmeden sonra bu bilgi segmentleri oluşturur ve karakteristik vücut yapısını meydana getirir.

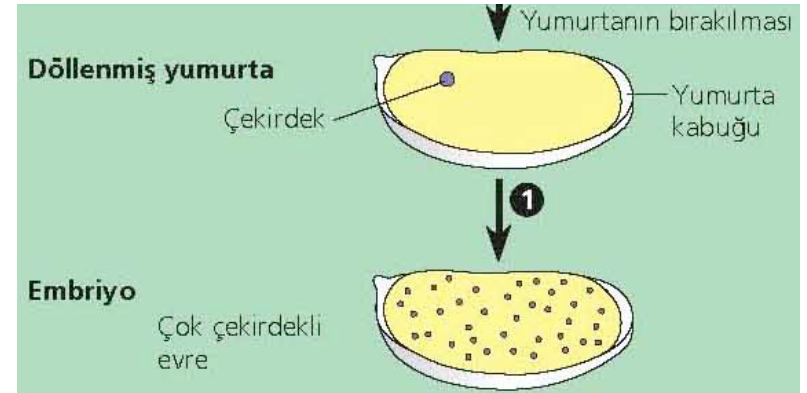
Drosophila'da yumurtanın yapısı

- Yumurta hücresi annenin ovaryumunda gelişir.
- Etrafı bakıcı hücreler ve folikül hücreleri ile sarılıdır.
- Bunlar yumurta hücresinin gelişimi için gerekli besinleri ve diğer maddeleri sağlar.
- Bu hücreler aynı zamanda yumurta kabuğunu oluşturur.



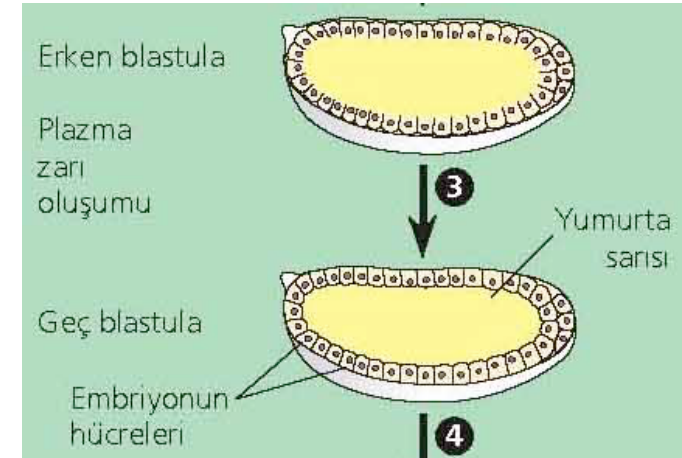
Drosophila'da embriyonik gelişim

- Döllenme vücut içinde gerçekleştikten sonra yumurta dışarıya bırakılır.
- Erken mitotik bölünmelerin iki karakteristik özelliği vardır.
 - 1. Sitoplazma miktarı değişmez, ilk 10 bölünmede sadece S ve M fazı vardır ve büyüme görümez.
 - 2. Sitokinez olmaz, çok çekirdekli bir hücre meydana gelmiş olur.



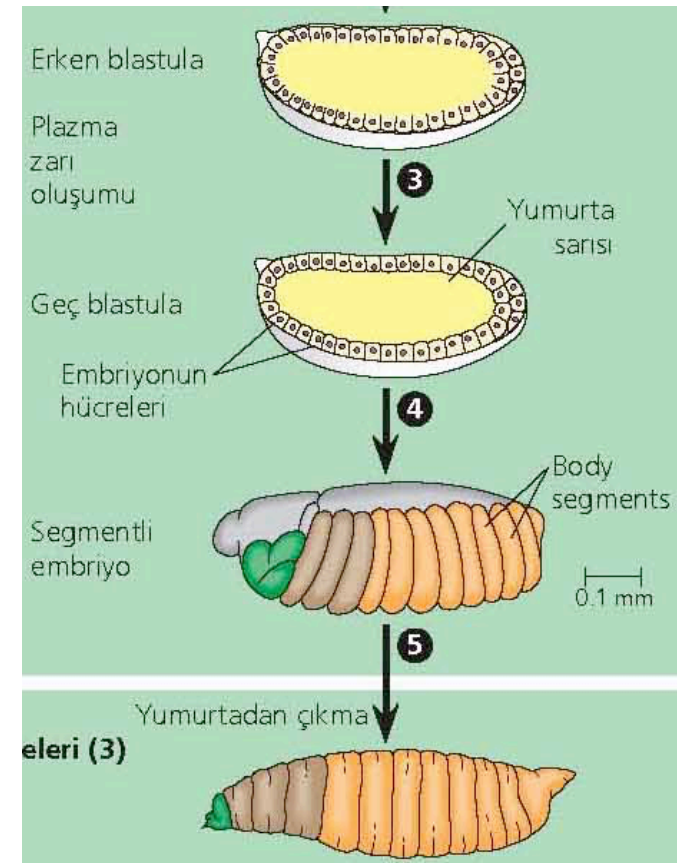
Drosophila'da embriyonik gelişim

- Onuncu çekirdek bölünmesinde çekirdekler embriyonun çevresine göç etmeye başlar.
- 13. bölünmede plazma zarı 6.000 parçaya bölünerek her biri ayrı çekirdeğe sahip hücreler oluşur.
- Henüz mikroskop altında görülmese de eksenleri ve segmentlerin sınırlarını içeren vücut planı bu aşamaya kadar belirlenmiştir.



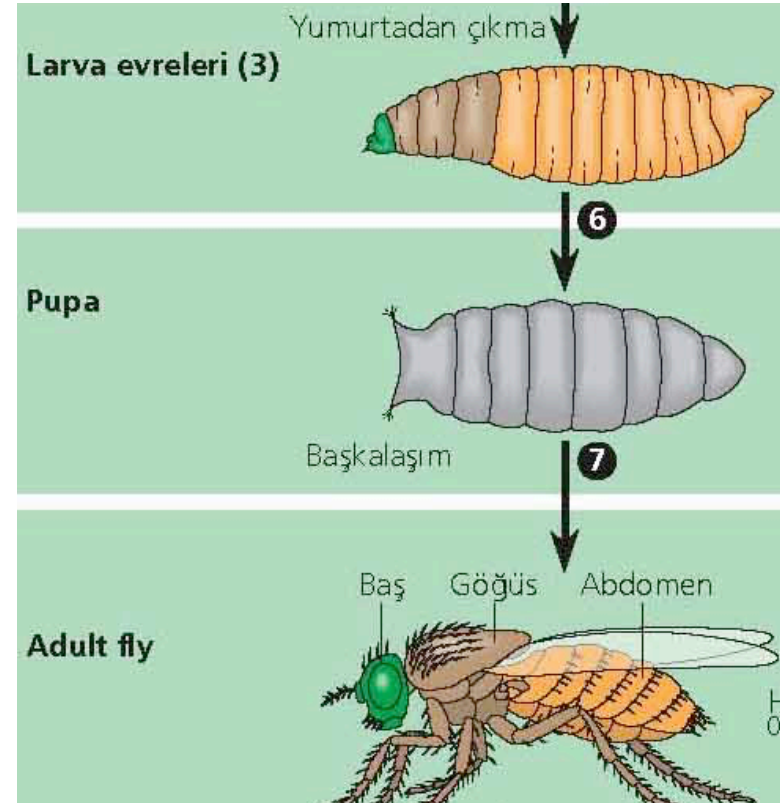
Drosophila'da embriyonik gelişim

- Merkezde yer alan vitellüs (yumurta sarısı) embrioyu besler.
- Daha sonra segmentler ortaya çıkmaya başlar.
- Bazı hücreler yer değiştirir ve organlar oluşur.
- Solucan benzeri larva (juvenil form) yumurta kabuğundan çıkarak.



Drosophila'da embriyonik gelişim

- Çeşitli larval evrelerden geçtikten sonra (büyür ve deri değiştirir) kılıf içinde saklanan pupa'yı oluşturur.
- Metamorfoz kılıf içinde gerçekleşir ve ergin sinek meydana gelir.



Drosophila'da segment oluşumundan sorumlu genlerin belirlenmesi

- 1970'li yıllarda Almanya'da Christiane Nüsslein-Wolhard ve Eric Wieschaus, *Drosophila*'da segment oluşumunu belirleyen genleri araştırmaya başladılar.
- Bu işlem son derece zordu, çünkü organizmadaki gen sayısı 13000 civarındaydı.
- Sinekleri mutajenik maddelere maruz bırakarak anormal segmentasyonlu bireyleri araştırmaya başladılar.

Drosophila'da segment oluşumundan sorumlu genlerin belirlenmesi

- Binlerce ölü embriyo inceledikten sonra embriyonik gelişimde görev alan yaklaşık 1200 geni tanımladılar.
- Bunlardan 120'sinin yapı planı oluşumu için gerekli olduğunu belirlediler.
- Araştırmacılar birkaç yıl boyunca genleri fonksiyonlarına göre gruplayarak haritaladılar.
- Bu performans, ilgili araştırmacılara 1995 yılında Nobel Ödülü getirdi.

Anasal etki genleri

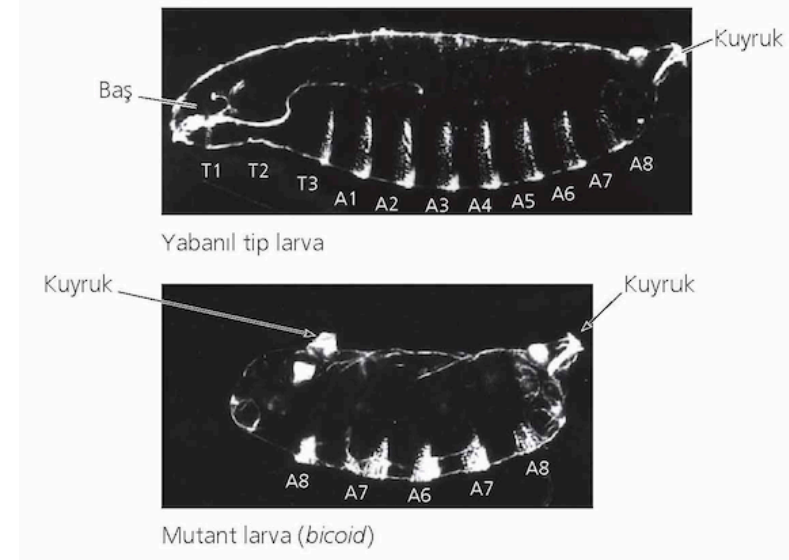
- Sitoplazmik belirleyiciler, daha önce de ifade edildiği gibi, *Drosophila*'da vücut eksenlerini belirleyen maddelerdir.
- Döllenmemiş yumurtada bulunan bu maddeleri (protein ve mRNA) sentezleyen genlere anasal etki genleri adı verilir.
- Bu genler annede mutant olduğunda, yumurtalar kusurlu olur ve döllendiklerinde uygun şekilde gelişemezler.

Anasal etki genleri

- Sineğin oryantasyonunu (polaritesini) da belirleyen bu genlere aynı zamanda yumurta-polarite genleri de denilmektedir.
- Bu proteinlerin bir grubu anterior-posterior eksenini belirlerken, diğer grubu dorsal-ventral eksenini belirler.
- Bu genlerdeki mutasyonlar genellikle embriyo için ölümcüldür.

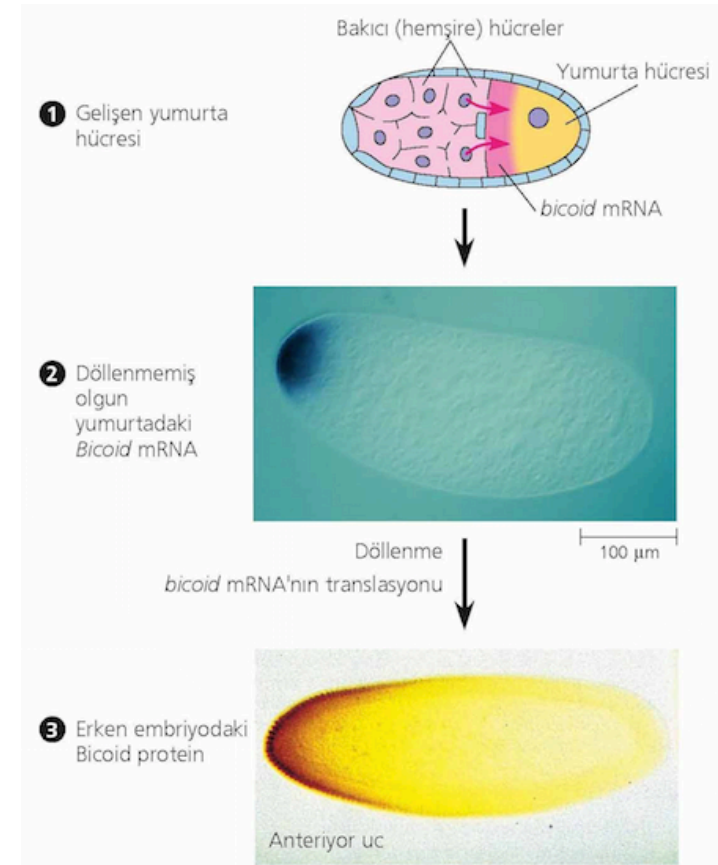
Önemli bir yumurta polarite geni: Bicoid

- Annesinin bicoid geni bozuk olan embriyonun vücudunun ön yarısı eksiktir.
- Embriyo, her iki uçta da posterior yapılar taşır.
- Bu genin ürünü, embriyonun gelecekte anterior olacak uç kısmında yoğunlaşmaktadır.



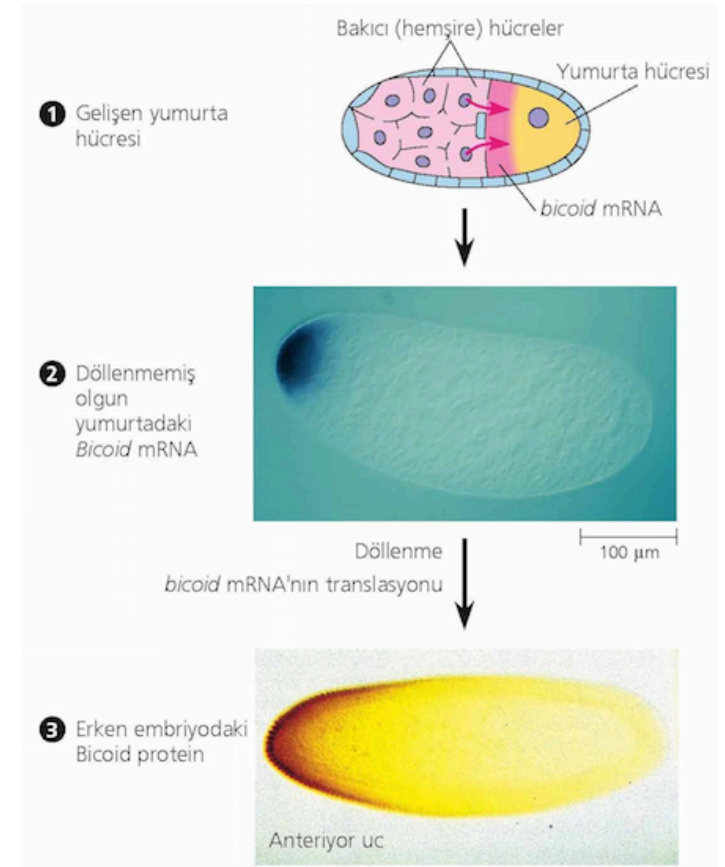
Önemli bir yumurta polarite geni: Bicoid

- Bu durum, embriyologların yaklaşık olarak bir asır önce ortaya koyduğu gradyent hipotezi ile örtüşmektedir.
- Bu hipoteze göre, morfogen denilen maddelerin gradyentleri, embriyonun eksenlerini belirler.



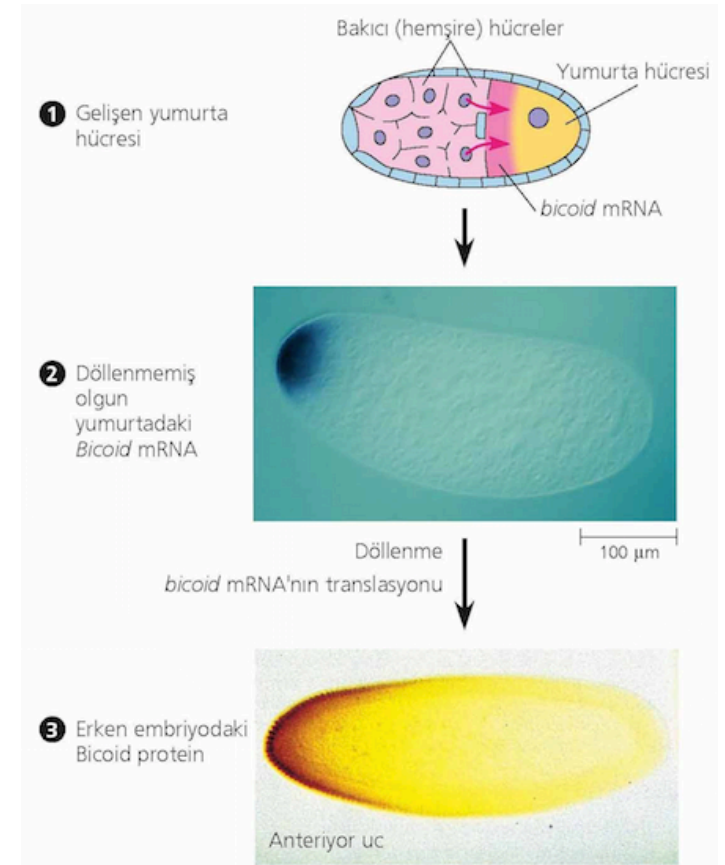
Peki, bicoid proteini gerçekten morfogen midir?

- Araştırmacılar bu sorunun cevabını öğrenebilmek için bicoid genini klonladılar.
- Daha sonra bu geni, yumurta içindeki bicoid mRNA'nın yerini saptamak için prob olarak kullandılar.
- Tahmin edildiği gibi bicoid mRNA yumurta hücrelerinin öndeki en uç kısmında yoğunlaşıyordu.



Peki, bicoid proteini gerçekten morfogen midir?

- Yumurta döllendikten sonra bicoid proteini sentezlenir.
- Bu protein daha sonra yumurtanın anterior ucundan posterior ucuna doğru difüzyonla yayılır.
- Bicoid proteininin derişim farkı, yumurtanın ön ve arka kutuplarını belirler.



Yumurtaya bicoid mRNA enjeksiyonu

- Araştırmacılar bicoid geni ve onun ürününün eksen oluşumu üzerindeki rolünü doğrulamak için bir başka deneysel sistem daha kullandılar.
- Erken embriyoların çeşitli bölgelerine saf bicoid mRNA enjekte ettiler.
- Enjeksiyon yapılan yumurta bölgelerinin tamamında anterior yapıların meydana geldiği görüldü.

Morfogenler aslında birer transkripsiyon faktörleridir

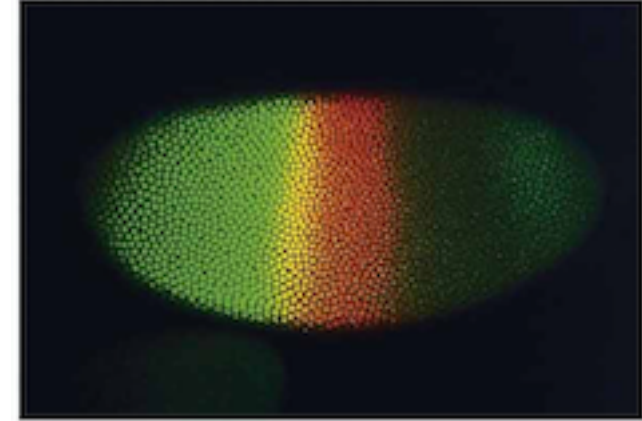
- Bicoid proteini ve diğer morfogenler, embriyonik gelişimde görev alan diğer genlerin transkripsiyonunu kontrol eden transkripsiyon faktörleridir.
- Bu morfogenlerin gradiyentleri, segmentasyon genlerinin ifadesinde bölgesel farklılıklar meydana getirir.
- Segmentasyon genleri, segmentlerin oluşumunu yöneten genlerdir.

Drosophila'da morfogenler tarafından aktive edilen gen grupları

- *Drosophila*'da üç farklı segmentasyon gen grubu ardışık olarak aktive edilerek hayvanın vücut planını oluşturur:
 - Boşluk (gap) genleri
 - Çift kural genleri
 - Segment polarite genleri

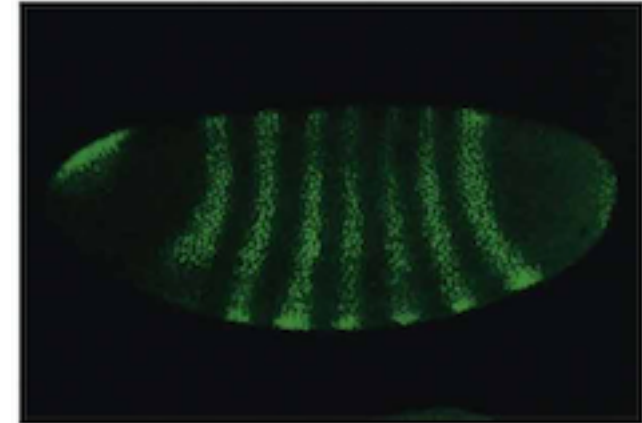
Boşluk (gap) genleri

- Embriyonun anterior-posterior eksenini boyunca temel alt bölümlerinin haritasını yapar.
- Bu genlerdeki mutasyonlar, segmentasyonda boşluklara neden olur.
- Örneğin bu genlerden birindeki mutasyon, embriyoda alt abdominal (karın) segmentinin yokluğuna yol açar.



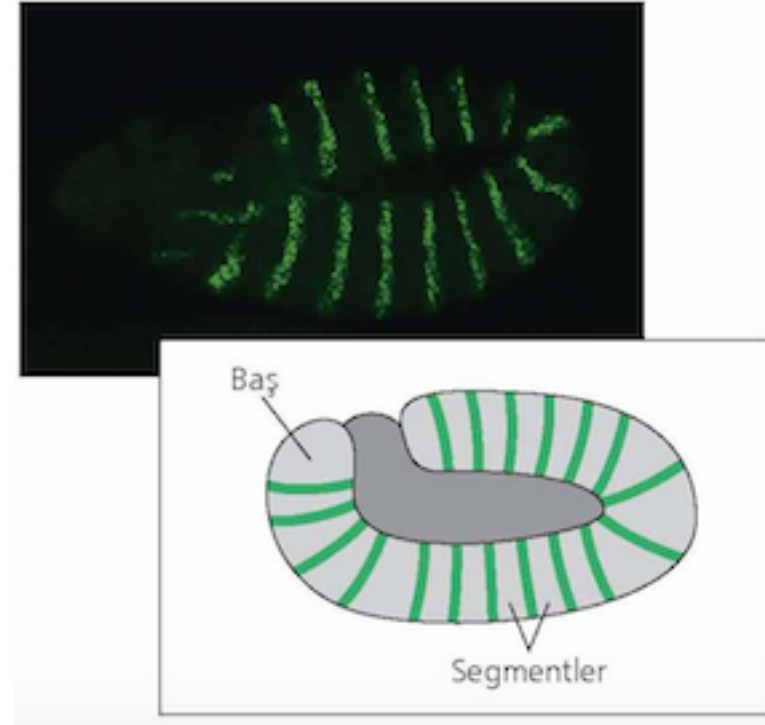
Çift kural genleri

- Bu genlerdeki mutasyonlar, embriyonun, normal segment sayısının yarısı kadar segmente sahip olmasına neden olur.
- Çünkü diğer her bir segmentin (mutasyona bağlı olarak tek ya da çift numaralılar) gelişimi aksar.



Segment polarite genleri

- Her bir segmentin anterior-posterior eksenini belirleyen genlerdir.
- Bu genlerinde mutasyon taşıyan embriyolar normal segment sayısına sahiptir.
- Ancak her bir segmentin bir kısmı, diğer kısmı ile ayna görüntüsü tekrarına sahiptir.

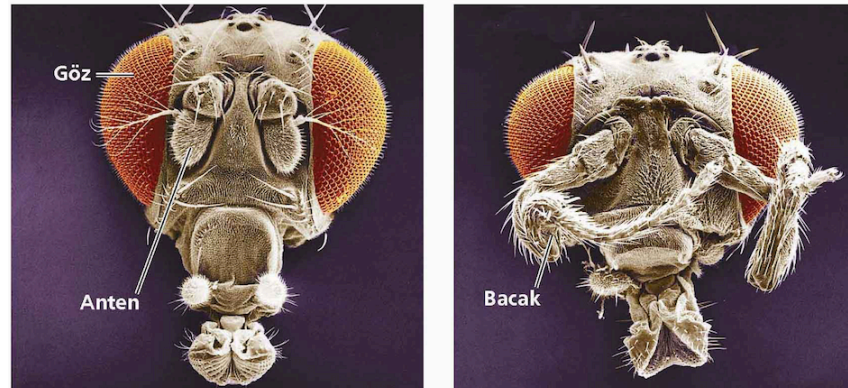


Gen aktivasyon hiyerarşisi

- Yumurta-polarite genlerinin ürünleri, boşluk genlerinin bölgesel olarak ifade edilmesini düzenler.
- Boşluk genlerinin ürünleri, çift kural genlerinin bölgesel olarak ifade edilmesini kontrol eder.
- Çift kural genlerinin ürünleri de, her segmentin farklı kısımlarındaki segmente özgü polarite genlerini aktive eder.
- Embriyo boyunca yer alan her segmentin özgül anatomi, kendisinden sonraki genlerin ifadesini kontrol eder.

Homeotik genler

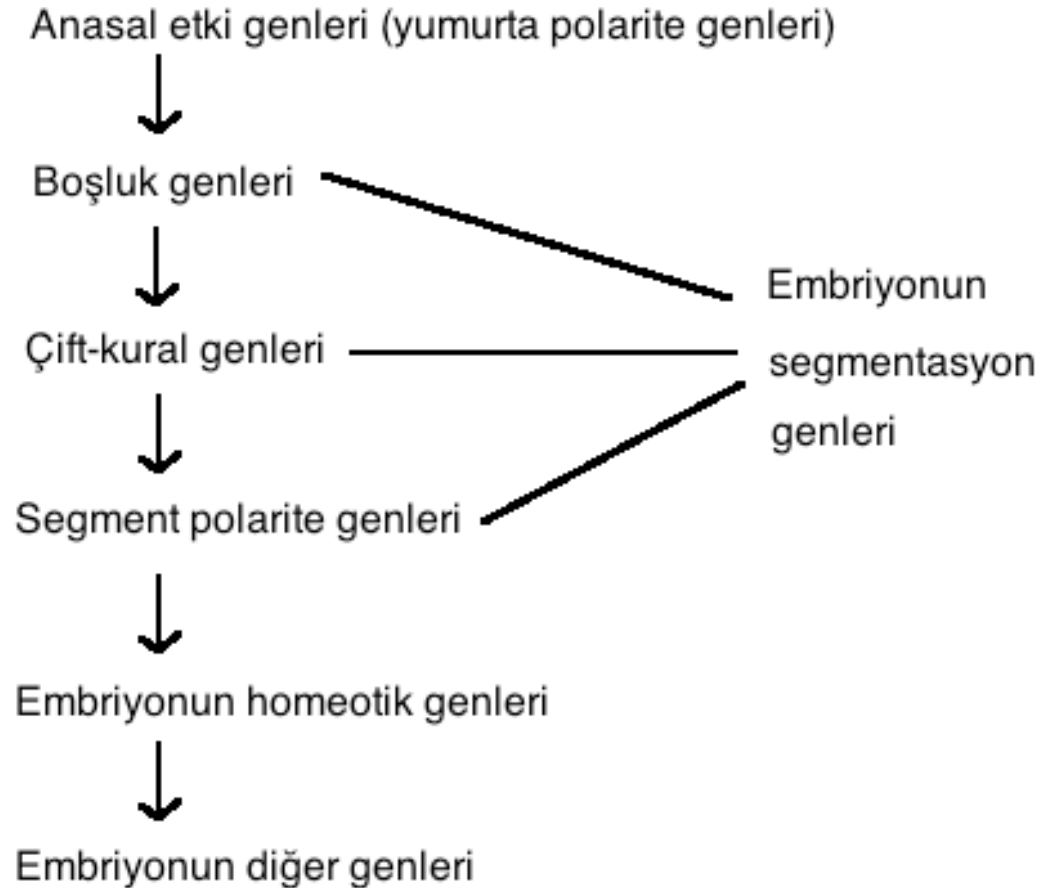
- Sinekte antener, bacaklar ve kanatlar gibi anatomik yapıların uygun segmentlerde gelişmesini sağlayan ana (şef) genlerdir.
- Bu genlerdeki mutasyonlar sonucunda tuhaf özelliklere sahip sinekler meydana gelir (örn; böceğin baş kısmında antenin çıktığı yerde bacakların gelişmesi gibi).



Homeotik genler de birer transkripsiyon faktörüdür

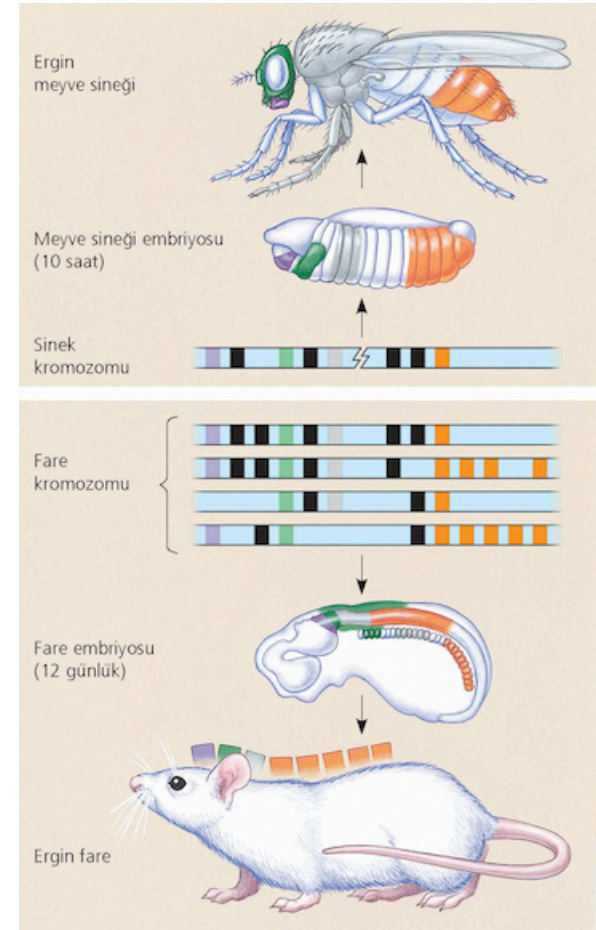
- Homeotik genler de, özüöl anatomik yapılardan sorumlu genlerin ifadesini kontrol eder.
- Örneğin, belirli bir göğüs segmentinde homeotik proteinler bacak gelişimine neden olan genleri aktive ederken, baş segmentinde ise antennelerin bulunacağı yeri belirler.

Drosophila gelişiminde gen aktivitesinin hiyerarşisi



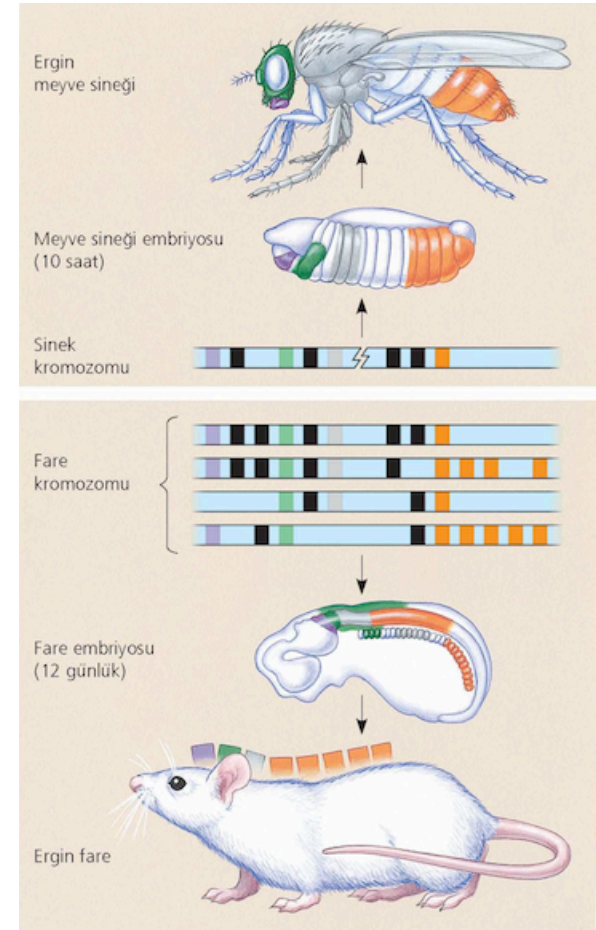
Homeobox genleri evrimsel süreçte korunmuştur

- *Drosophila*'daki homeotik genlerin hepsi, 180 nükleotitik bir sekans olan ve homeobox adı verilen bir baş dizisi içerir.
- Homeobox, homeodomain adı verilen 60 aminoasitlik bir bölgeyi kodlar.
- Bu özdeş nükleotit dizilimi diğer pek çok hayvanın genlerinde keşfedilmiştir.



Homeobox genleri evrimsel süreçte korunmuştur

- Hatta birbirine uzak akraba olan mayalar ve prokaryotlar gibi canlılarda da bulunmaktadır.
- Bu benzerliklere dayanarak homeobox dizilerinin yaşam tarihinin çok erken döneminde ortaya çıktığı söylenebilir.

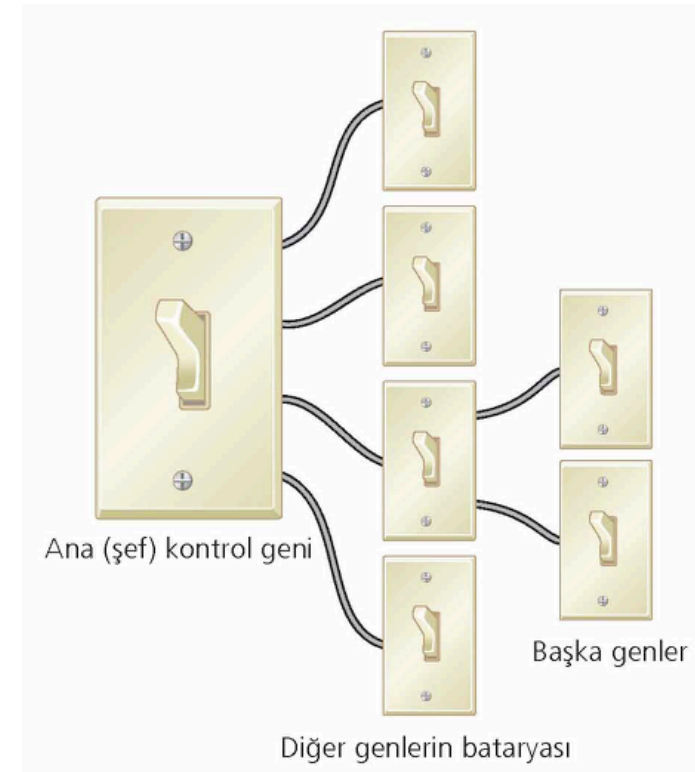


Homeobox sadece homeotik genlerde bulunmaz!

- Homeobox içeren genlerin hepsi homeotik genler değildir.
- Örneğin *Drosophila*'da homeobox yalnızca homeotik genlerde bulunmaz.
- Aynı zamanda yumurta polarite geni olan bicoid'in yapısında, segmentasyon genlerinin bazılarında ve göz gelişiminden sorumlu düzenleyici gende de yer almaktadır.

Proteindeki homeodomain'in rolü nedir?

- Genin homeobox dizisi tarafından kodlanan protein kısmına, ilgili proteinin homeodomain'i adı verilmektedir.
- Proteinin bu kısmı, DNA'ya bağlanma görevini üstlenmektedir.
- Bu sayede sentezlenen protein, diğer proteinlerin sentezini açıp kapatan birer anahtar görevi görmektedir.



Hücreler arası sinyal alışverişi embriyonik gelişimde önemlidir: İndüksiyon

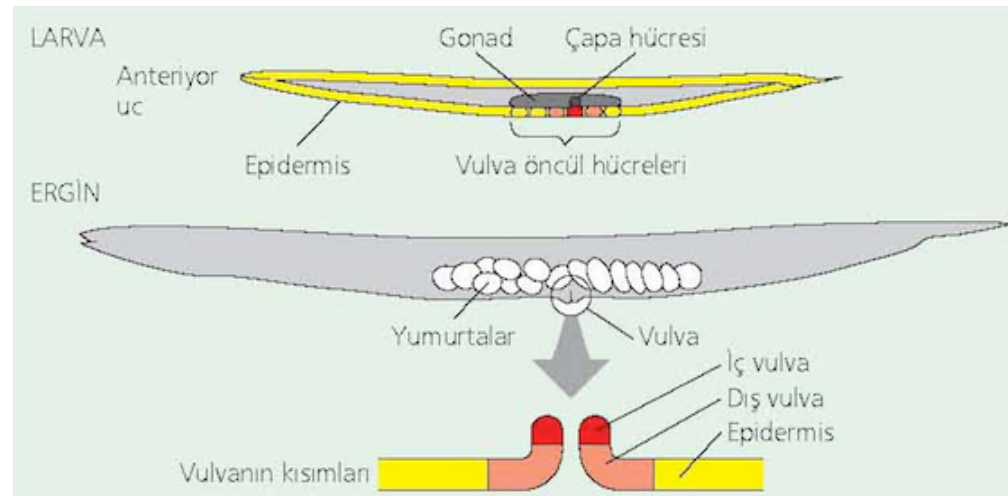
- *Drosophila* embriyosu çok çekirdekli tek bir hücre halindeyken bile hücreler arasındaki haberleşme anahtar rol oynar.
- Döllenmemiş yumurta hücresi ile komşu folikül hücreleri arasındaki sinyal alışverişi, yumurtanın anterior kısmının belirlenmesini sağlar.
- Bicoid mRNA'nın anterior bölgede toplanmasını uyaran faktör, folikül hücrelerinden gelen sinyaldir.

Hücreler arası sinyal alışverişi embriyonik gelişimde önemlidir: İndüksiyon

- Embriyo çok hücreli hale geldiğinde, hücreler arasındaki haberleşme daha önemli hale gelir.
- Hücreler, yanındaki hücreleri belirli genleri ifade etmesi için uyarır.
- Bu olaya indüksiyon adı verilir.
- Hücreler arasında farklılık oluşması için, bazı genlerin açılması ya da kapanması yoluyla transkripsiyonel düzenleme gerçekleştirilir.

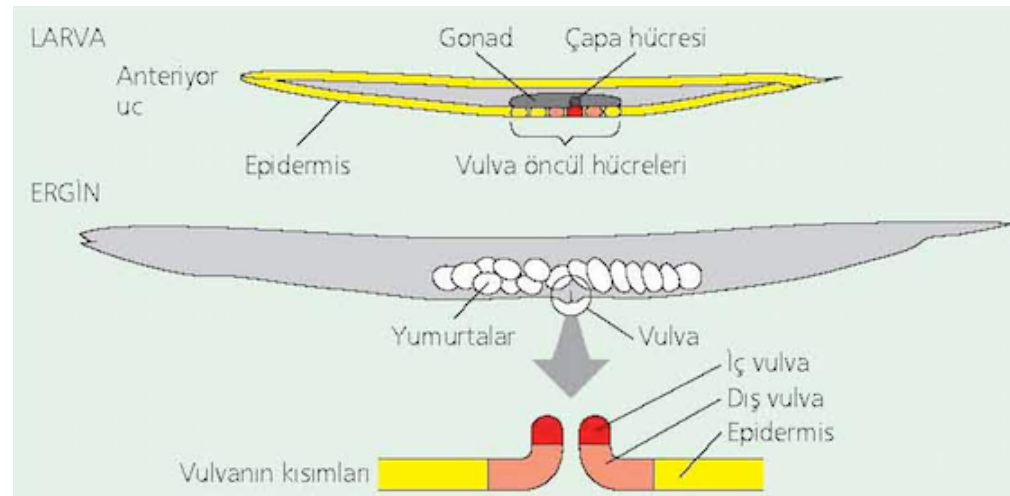
Vulva gelişiminde indüksiyon

- *C. elegans*'ta yumurtaların dışarıya bırakıldığı açıklığa vulva adı verilmektedir.
- Embriyonik gelişimin ikinci larval evresinde ventral yüzeyde bulunan altı hücreden ileride vulva gelişecektir.



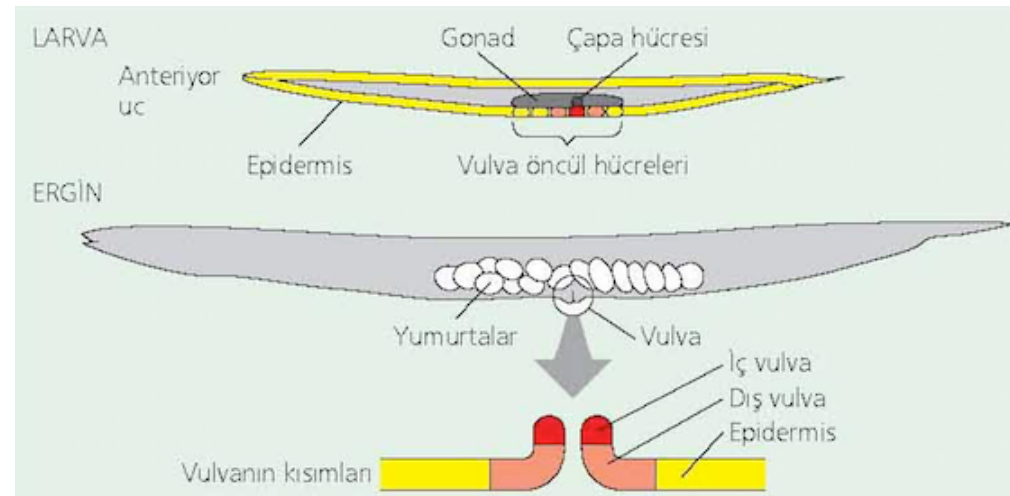
Vulva gelişiminde indüksiyon

- Embriyonik gonadda bulunan çapa hücresi, vulvanın öncül hücrelerinin geleceğini belirleyen sinyal akışını başlatır.
- Eğer çapa hücresi lazer bombardımanı ile yıkılırsa, vulva oluşmaz, öncül hücreler epidermisin yapısına katılır.



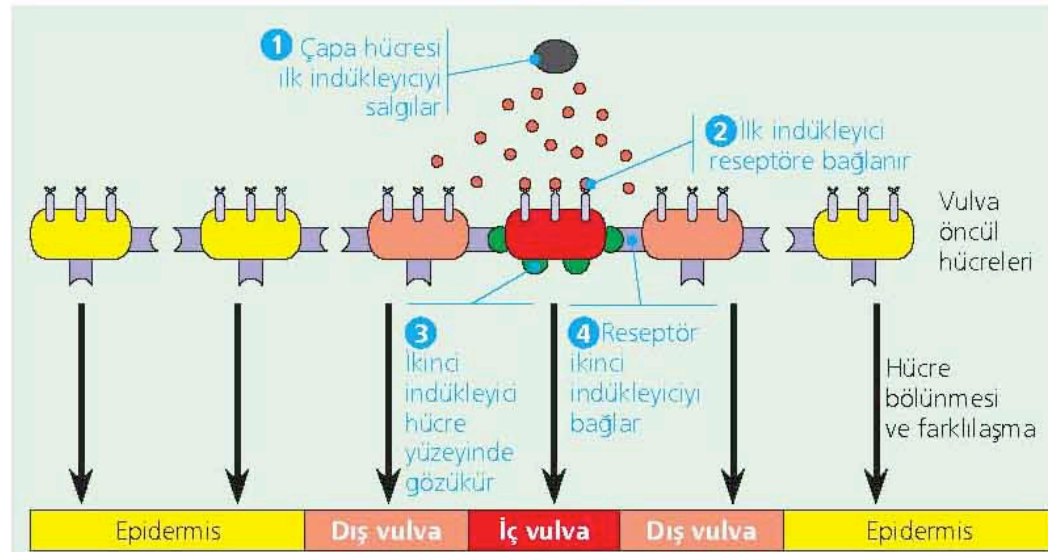
Vulva gelişiminde indüksiyon

- Araştırmacılar, vulva gelişimi anormal bireyler üzerinde yaptıkları çalışmalar ile vulva gelişiminde görev alan genleri tanımlamışlardır.



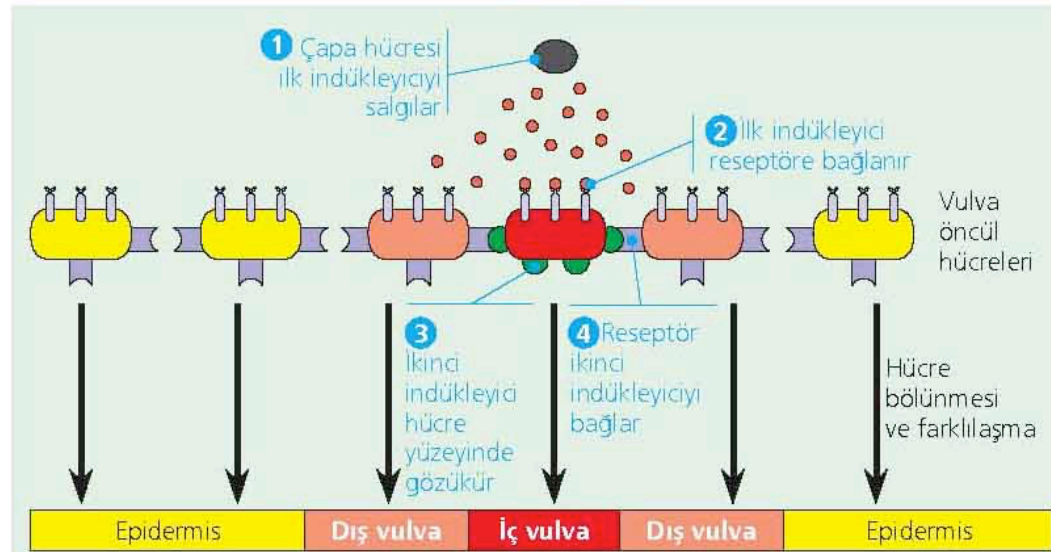
Vulva gelişiminde hücreler haberleşme ve indüksiyon

- Çapa hücresi indükleyici bir sinyal proteini salgılar.
- Bu sinyal proteini diğer memelilerin epidermal büyüme faktörüne (EGF) benzerlik gösterir.



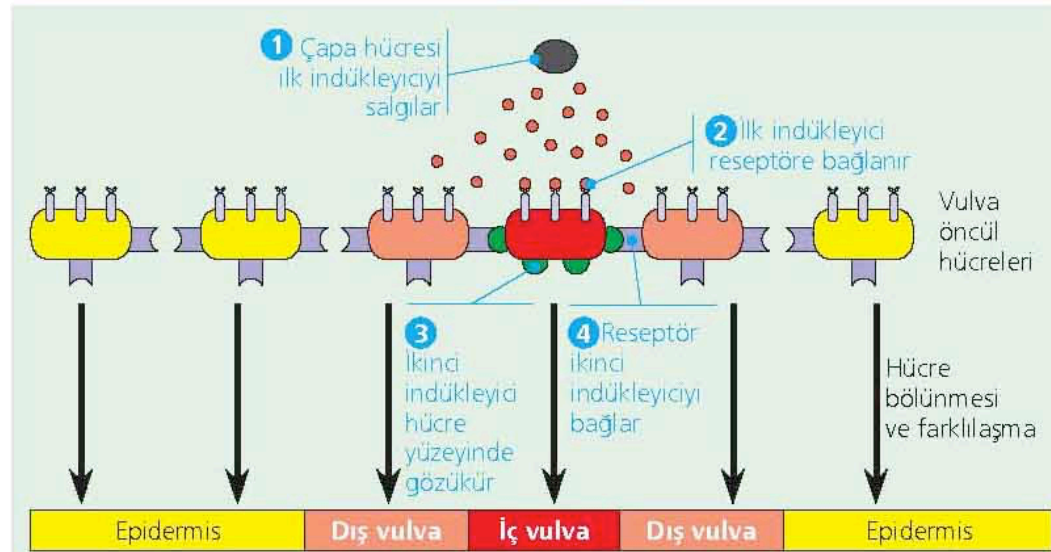
Vulva gelişiminde hücresel haberleşme ve indüksiyon

- Bu protein, vulva öncül hücrelerinin plazma zarındaki reseptörlerine bağlanır.
- Başlangıçta tüm öncül hücreler eşdeğerdir.



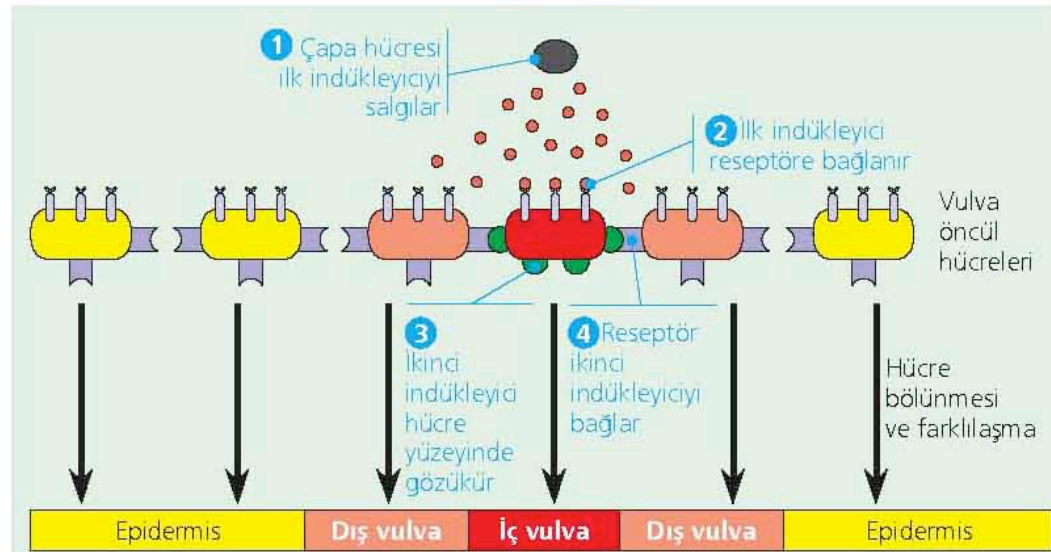
Vulva gelişiminde hücresele haberleşme ve indüksiyon

- Hepsi çapa hücrelerinin gönderdiği sinyali alabilecek reseptörlere sahiptir.
- Vulva öncül hücrelerinden çapa hücrelerine en yakında olan, en yüksek düzeyde indükleyici alır.



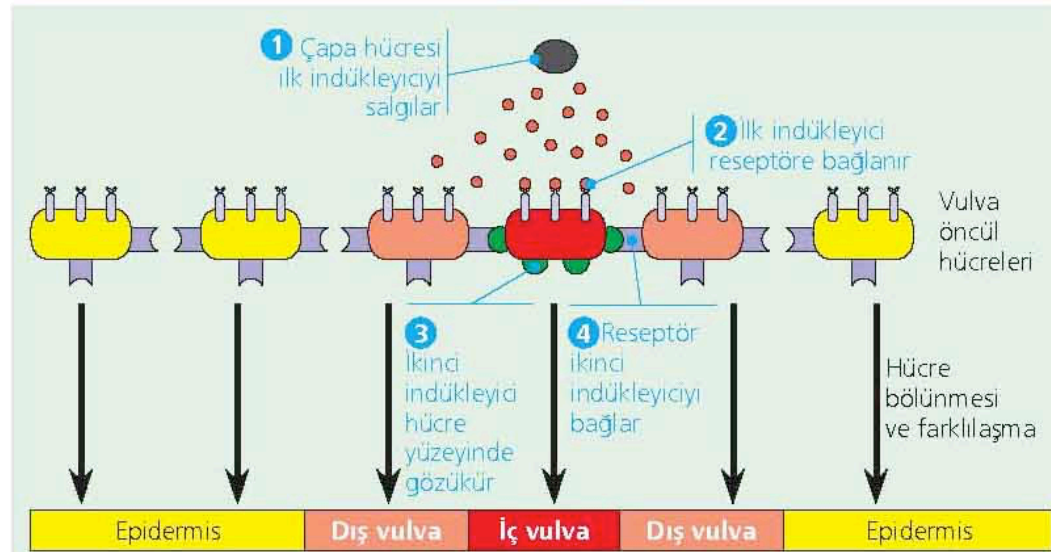
İndükleyici miktarının yüksek olması sonucunda;

- Vulvanın iç kısmını oluşturan hücreler bölünür ve farklılaşır.
- İkinci indükleyici molekülün sentezini başlatan gen aktif hale gelir.



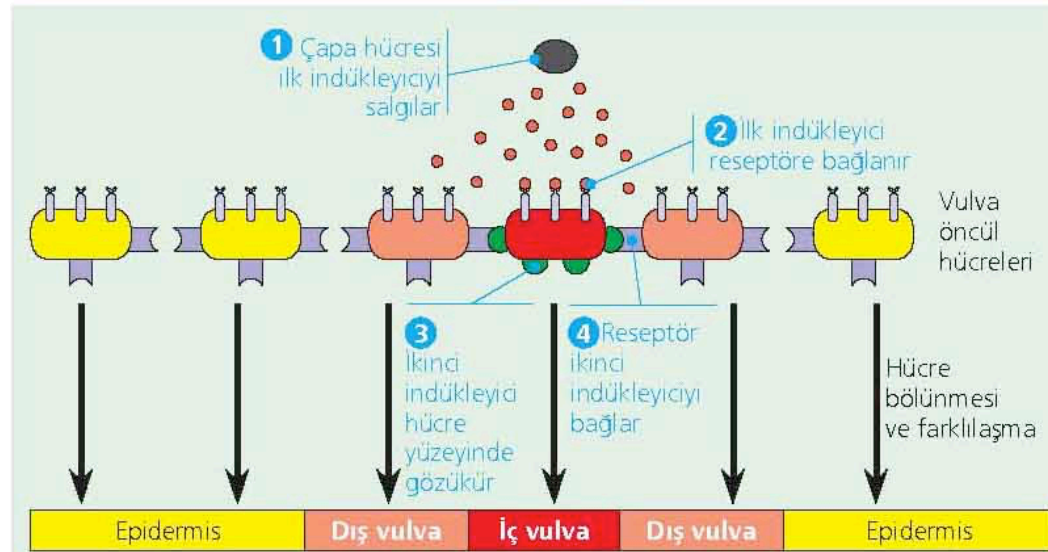
Peki, sonra ne olur?

- İkinci indükleyici, komşu hücrenin zarındaki reseptöre bağlanır.
- Böylelikle altı hücreden üçü indüklenmiş olur.



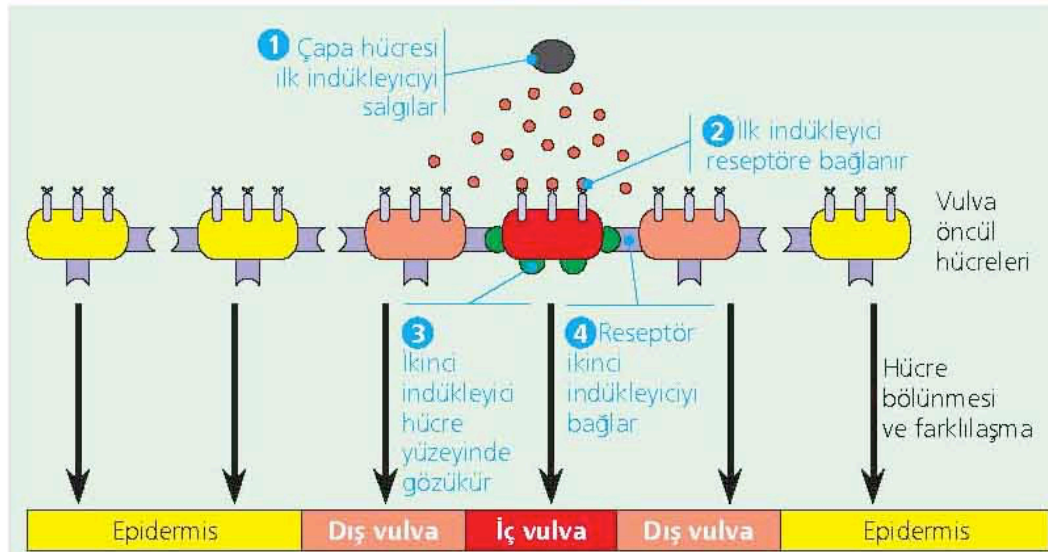
Peki, sonra ne olur?

- Bu hücrelerin bölünmesi ile dış vulva şeklinin gelişmesi sağlanmış olur.



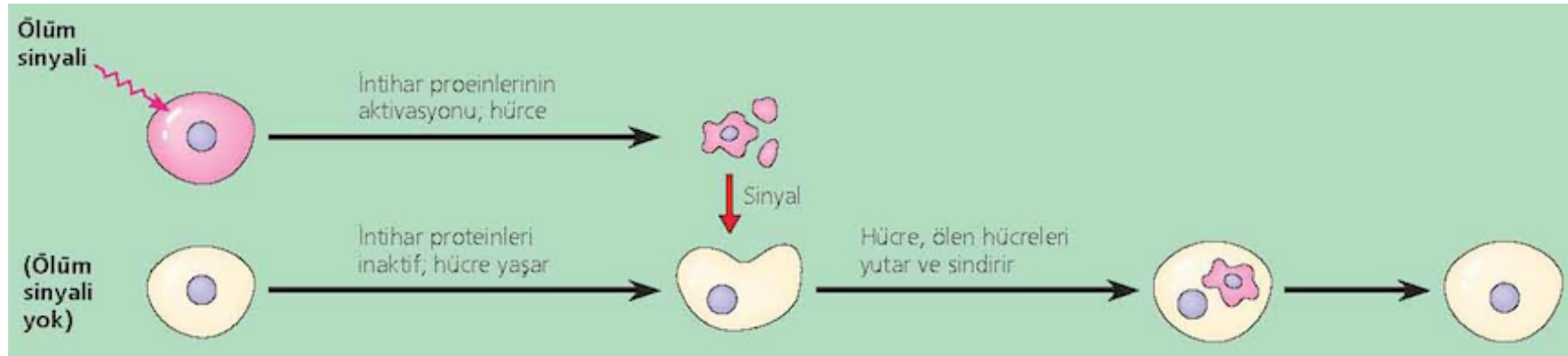
Peki, sonra ne olur?

- Yapıdaki diğer üç hücre ise sinyallerin erişemeyeceği kadar uzakta yer alır.
- Bu hücreler ise epidermal hücreleri meydana getirir.



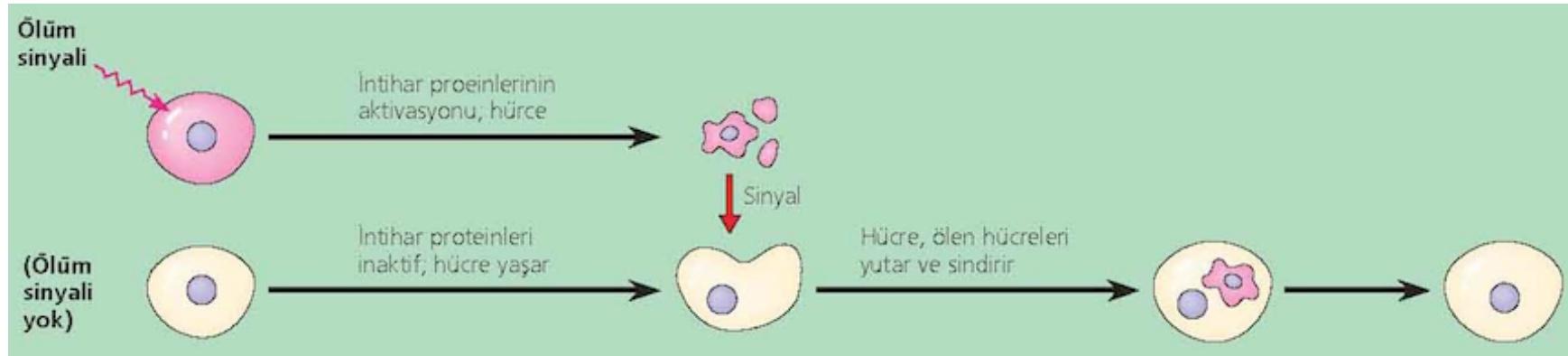
Hücresel haberleşmenin diğer sonucu: Apoptoz (programlı hücre ölümü)

- *C. elegans*'ın gelişim sürecinde tam olarak 131 kez zaman ayarlı hücre ölümü görülür.
- Ölüm sinyalini alan hücrede intihar proteinleri aktive edilir.



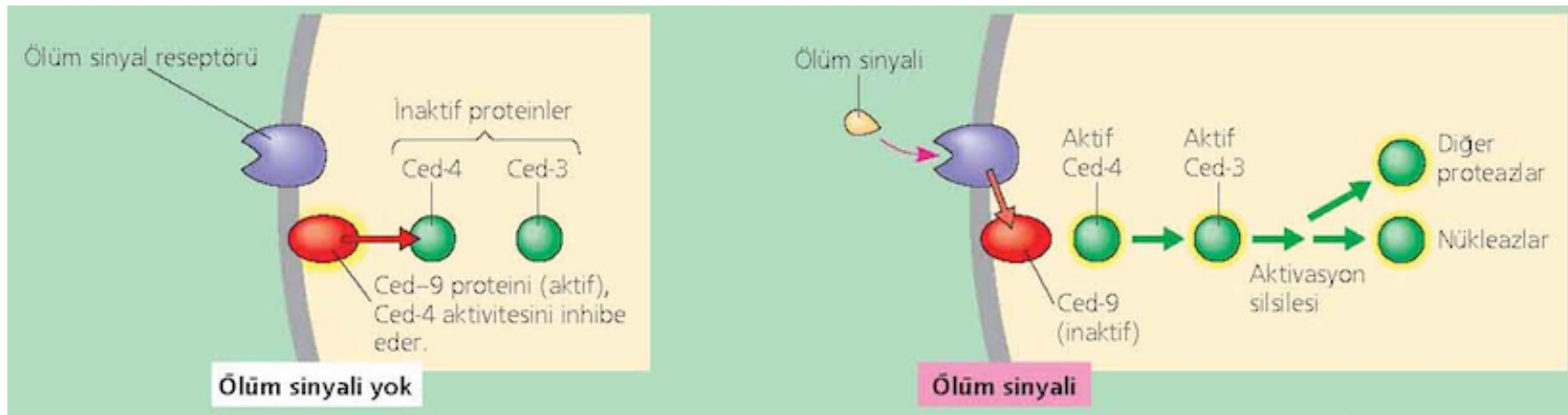
Hücre sel haberleşmenin diğ er sonucu: Apoptoz (programlı hücre ölümü)

- Hücreler büzülür, çekirdekleri yoğunlaşır ve parçalanır.
- Komşu hücreler, kalıntıları yutarak sindirirler.



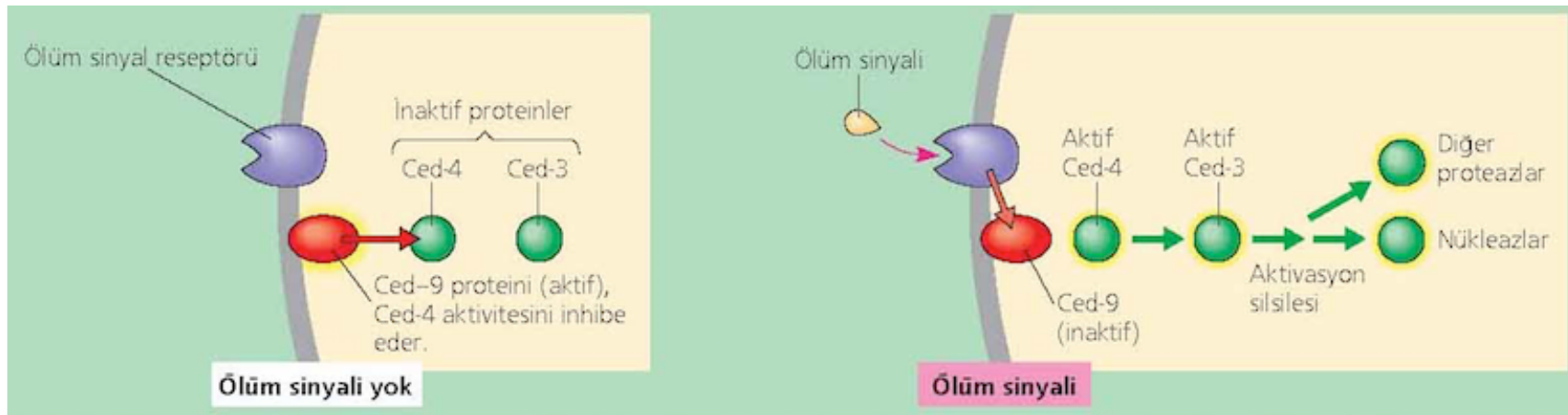
C. elegans'ta iki anahtar apoptozis geni: *ced-3* ve *ced-4*

- Bu genler, apoptozis için gerekli olan proteinleri kodlar.
- Bu proteinler hücre içinde sürekli olarak vardır, ancak inaktif durumdadır.



Ced-9 proteini apoptozun baş düzenleyicisidir

- Hücre ölüm sinyali almadığında, Ced-9 proteini, Ced-3 ve Ced-4 proteinlerini inaktif formda tutar.
- Ölüm sinyali geldiğinde ise, Ced-9 inaktif hale geçer ve Ced-3/Ced-4 proteinleri aktifleşerek apoptozu başlatır.



Ced proteinleri aslında birer kaspaz'dır!

- Apoptoz süreci, hücrenin proteinlerini ve DNA'sını kesen proteaz ve nükleazları aktive eder.
- Apoptozun ana proteazları kaspaz'lar olarak bilinen bir grup enzimdir.
- *C. elegans*'taki şef kaspaz ced-3'tür.

Memelilerde apoptozda mitokondriler önemlidir!

- Memeliler üzerinde yapılan çalışmalarda mitokondrilerin apoptoz surecinde önemli rol oynadıkları belirlenmiştir.
- Ölüm sinyalleri, mitokondri dış zarından sitoplazmaya apoptozu ilerleten proteinlerin sızmasına neden olur.
- Sitokrom C de bu proteinlerdendir.
- Sitokrom C'nin görevinin, elektron taşıma ile sınırlı olduğu düşünülse de, apoptozdaki rolleri hala tartışılmaktadır.

Apoptozun omurgalılar için önemi

- Apoptoz omurgalılarda aşağıdaki olayların gerçekleştirilmesi için gereklidir:
 - Sinir sisteminin normal gelişimi
 - Bağışıklık sisteminin normal çalışması
 - İnsan el ve ayak parmaklarının normal morfogenezi

Apoptoz sağlıklı çalışmazsa!

- İnsanlarda perdeli el ve ayak parmaklarının oluştuğu görülür.
- Bazı sinir sistemi bozukluklarının, apoptoz genlerinin uygun şekilde aktive edilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.
- Ayrıca kanser hücrelerinde apoptoz sürecinin sağlıklı çalışmadığını da unutmamak gerekir.

Bitki morfogenezi hayvanlardan farklıdır

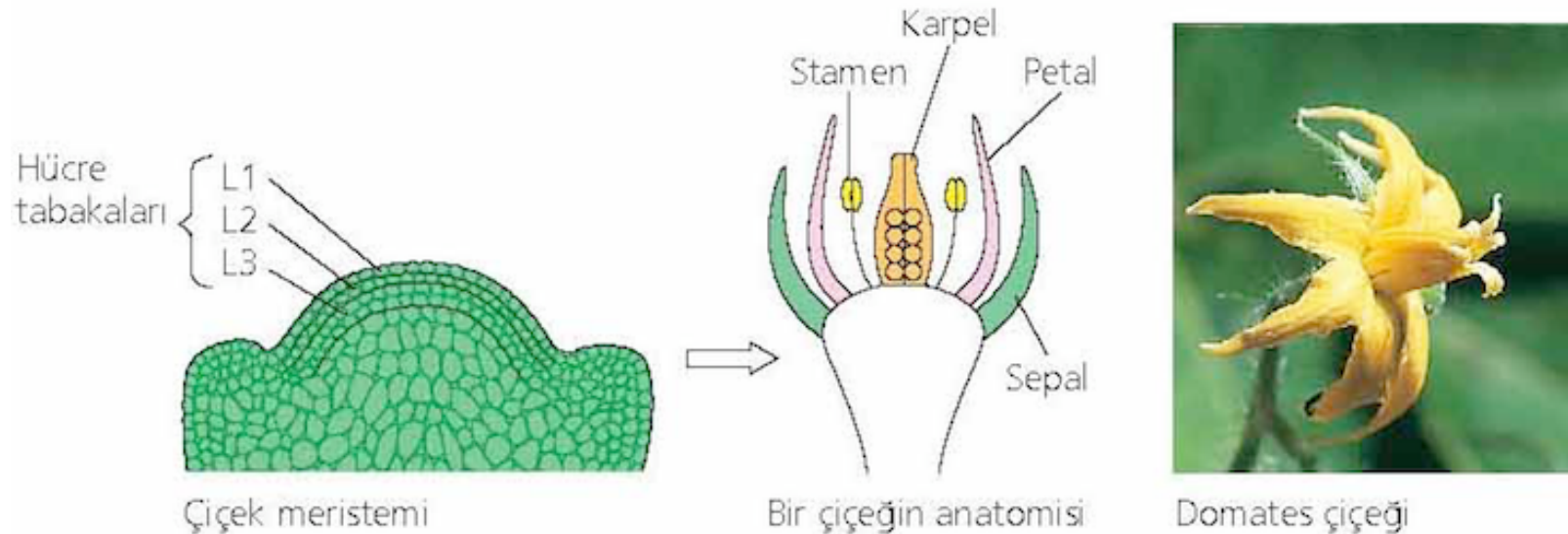
- Bitki hücrelerinde bulunan sert duvar, hücre hareketlerini imkansız kılar.
- Dolayısıyla hayvanlardaki morfogenetik mekanizmalar bitkilerde çalışmaz.
- Bitki morfogenezi daha çok;
 - Hücrelerin bölünme düzlemlerindeki farklılaşmaya ve
 - Seçici olarak hücrelerin büyümesine dayanır.
- Ancak bitki gelişiminde de tıpkı hayvanlarda olduğu gibi hücreler arası iletişim ve transkripsiyonel düzenleme önemlidir.

Bitkilerde embriyoya ulaşmak zordur

- Çoğu bitkinin embriyonik gelişimi tohum içinde olur.
- Bu nedenle embriyoyu doğrudan gözlemlemek zordur.
- Ancak bitkinin yaşamı boyunca meristemlerdeki gelişim devam eder ve gözlemlemek nispeten daha kolaydır.

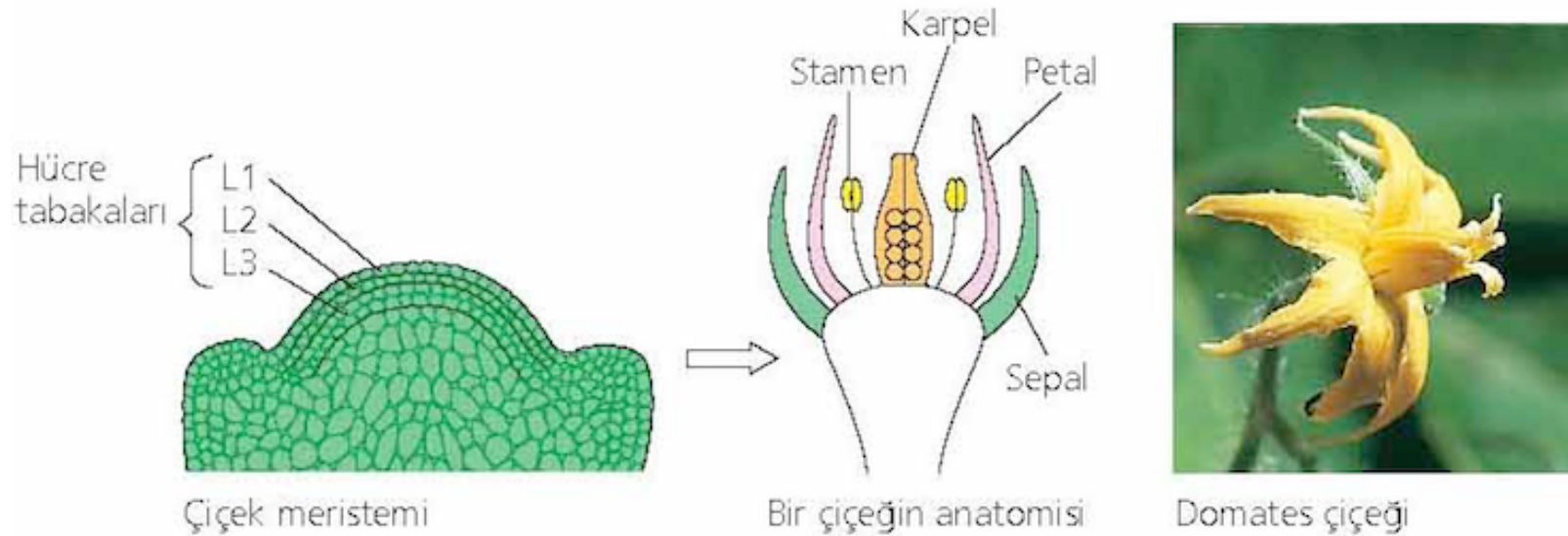
Çiçek gelişiminde hücrese haberleşme

- Gün uzunluğu ve sıcaklık gibi çevresel sinyaller, gövde meristemlerini çiçek meristemlerine dönüştüren sinyal-dönüştürme (indüksiyon) yollarını tetikler.



Çiçek gelişiminde hücrese haberleşme

- Çiçeği oluşturacak olan meristem üç hücre tabakasından meydana gelmiştir (L1, L2 ve L3).
- Bu üç tabakanın hepsi çiçek oluşumuna katılır.



Çiçek gelişiminde hücrese haberleşme

- Çiçek dört çeşit organa sahiptir:
 - Karpeller (yumurta hücrelerini içerir)
 - Stamenler (polen hücrelerini içerir)
 - Taç yapraklar
 - Çanak yapraklar

Çiçek gelişiminde hücreler arası haberleşme

- Araştırmacılar 'fasciated (f)' adı verilen mutant allel bakımından homozigot olan domates bitkileri geliştirmişlerdir.
- Bu bitkilerin çiçekleri, normalden daha fazla sayıda çiçek organı üretmektedir.

PLANT	GENOTYPES OF FLORAL MERISTEM LAYERS			FLOWER PHENOTYPE
	L1	L2	L3	
Wild-type "parent"	++	++	++	Wild type
Fasciated "parent"	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs (fasciated)
Chimera 1	++	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 2	++	++	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 3	++	<i>ff</i>	++	Wild type
Chimera 4	<i>ff</i>	++	++	Wild type

Çiçek gelişiminde hücreler arası haberleşme

- Mutant bireylerden alınan gövde parçaları, yabancı bitkilere aşlanmıştır.
- Aşılama bölgesinden çıkan sürgünlerden yeni bitkiler geliştirilmiştir.

PLANT	GENOTYPES OF FLORAL MERISTEM LAYERS			FLOWER PHENOTYPE
	L1	L2	L3	
Wild-type "parent"	++	++	++	Wild type
Fasciated "parent"	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs (fasciated)
Chimera 1	++	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 2	++	++	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 3	++	<i>ff</i>	++	Wild type
Chimera 4	<i>ff</i>	++	++	Wild type

Çiçek gelişiminde hücreler arası haberleşme

- Oluşan yeni bitkiler kimera'dır, yani hücrelerinin bir kısmı mutant bireye, diğer kısmı ise yabanıl bireye aittir.
- Yapılan çalışmalar sonucunda çiçek başına düşen organ sayısının L3 tabakasının genlerine bağlı olduğu tespit edilmiştir.

PLANT	GENOTYPES OF FLORAL MERISTEM LAYERS			FLOWER PHENOTYPE
	L1	L2	L3	
Wild-type "parent"	++	++	++	Wild type
Fasciated "parent"	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs (fasciated)
Chimera 1	++	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 2	++	++	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 3	++	<i>ff</i>	++	Wild type
Chimera 4	<i>ff</i>	++	++	Wild type

Çiçek gelişiminde hücresel haberleşme

- L3, daha üstteki L2 ve L1 tabakalarını, organları oluşturmak üzere teşvik etmektedir.
- Bu indüksiyona yol açan güç hücre-hücre haberleşmesidir.

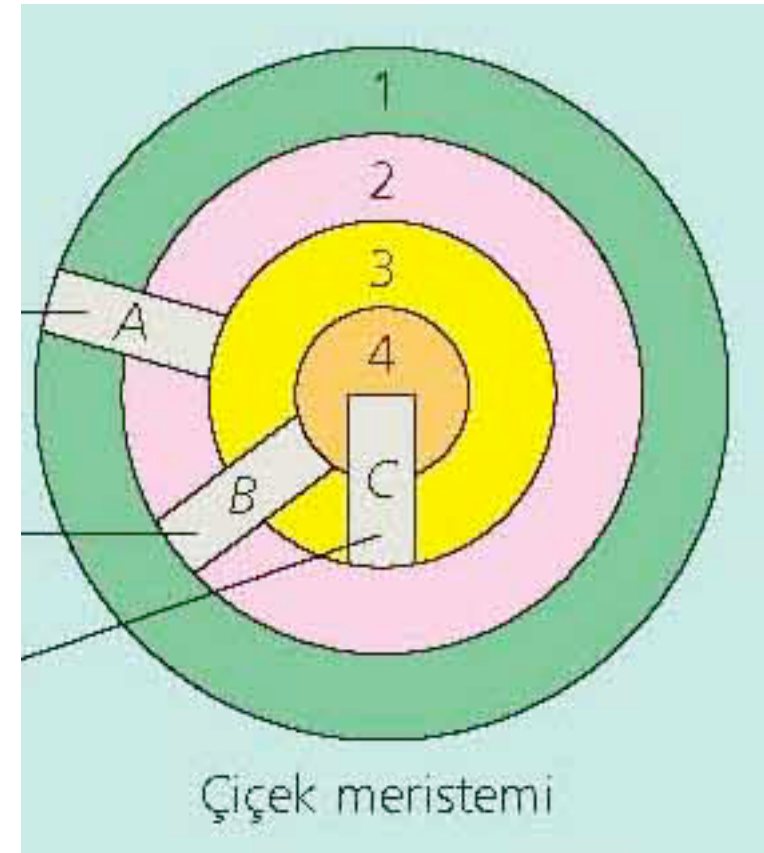
PLANT	GENOTYPES OF FLORAL MERISTEM LAYERS			FLOWER PHENOTYPE
	L1	L2	L3	
Wild-type "parent"	++	++	++	Wild type
Fasciated "parent"	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs (fasciated)
Chimera 1	++	<i>ff</i>	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 2	++	++	<i>ff</i>	Extra organs
Chimera 3	++	<i>ff</i>	++	Wild type
Chimera 4	<i>ff</i>	++	++	Wild type

Bitkilerde organ kimlik genleri

- Bitkilerde meristemlerden gelişecek yapının tipini belirleyen genlerdir.
- Örneğin, çiçek meristeminden gelişecek yapının taç yaprak mı yoksa stamen mi olacağını belirler.
- Bu genler, hayvanlardaki homeotik genlere analogdur.
- O nedenle bitki homeotik genleri olarak da bilinir.

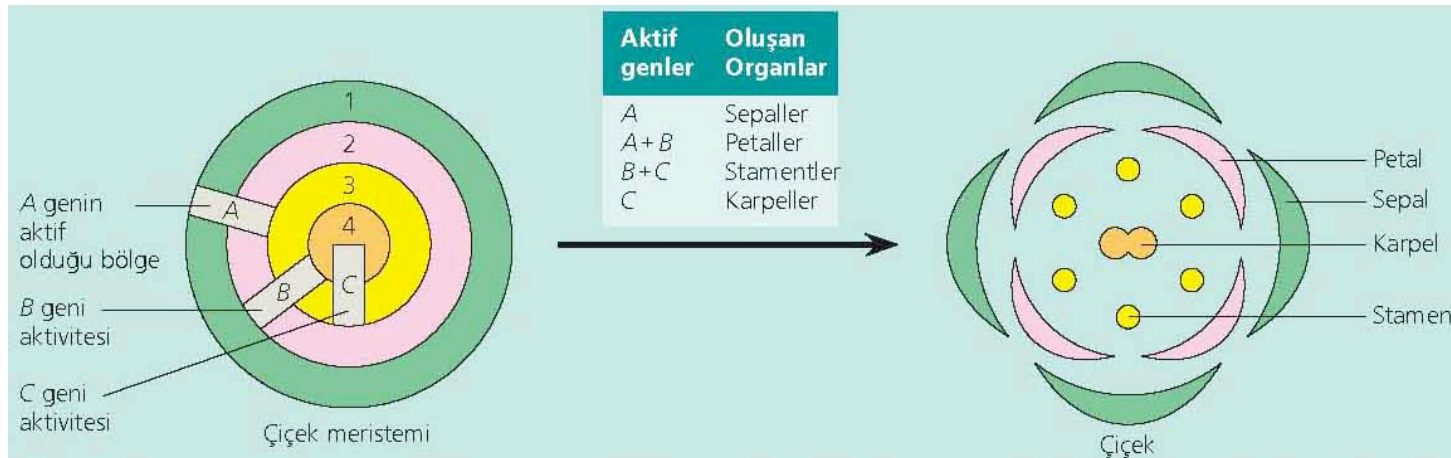
Bitkilerde organ kimlik genleri

- Bu genlerdeki bir mutasyon, ta yaprakların yerinde diş organların gelişmesine yol açabilir.
- Meristemler, üstten bakıldığında i ie geçmiş halkalar şeklinde görünür.



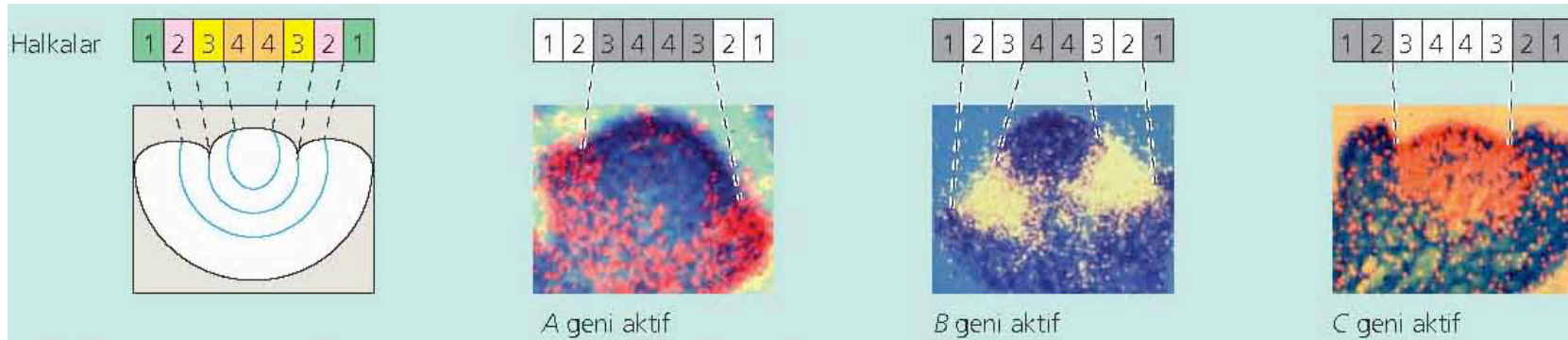
Bitkilerde organ kimlik genleri

- İlk belirlenen organ kimlik genleri A, B ve C şeklinde üç sınıfa ayrılmıştır.
- Bunların her biri iki komşu halkayı etkiler.
- Alttaki şekilde, bu üç sınıf genin, dört çeşit organı nasıl oluşturduğu gösterilmiştir.



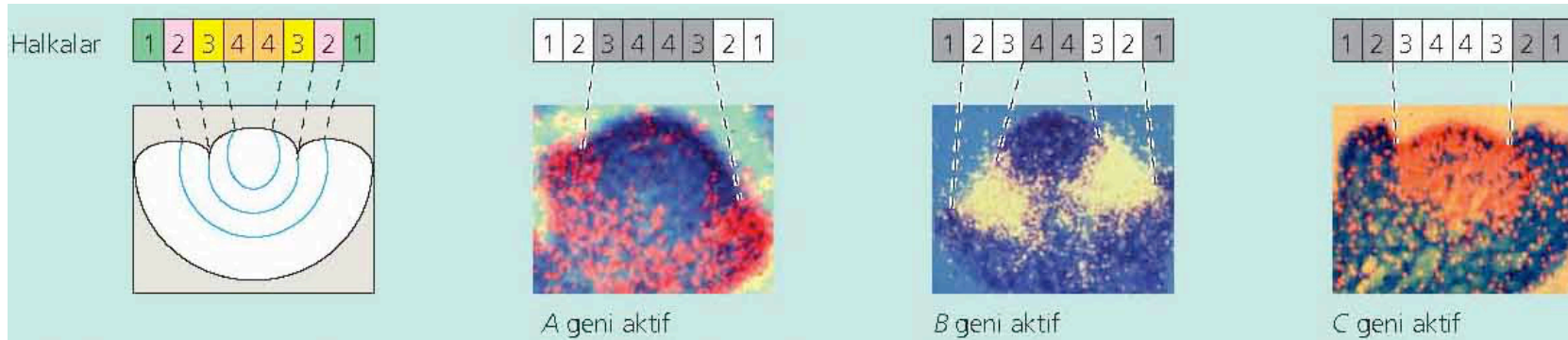
Hangi gen hangi halkada aktiftir?

- Araştırmacılar hangi organ kimlik geninin hangi halkada aktif olduğunu belirlemek için *in situ* hibridizasyon deneyleri yapmışlardır.
- Organ kimlik genlerinin her birinden elde edilen mRNA'yı prob olarak kullanarak çiçek meristeminin halkalarına uygulamışlardır.



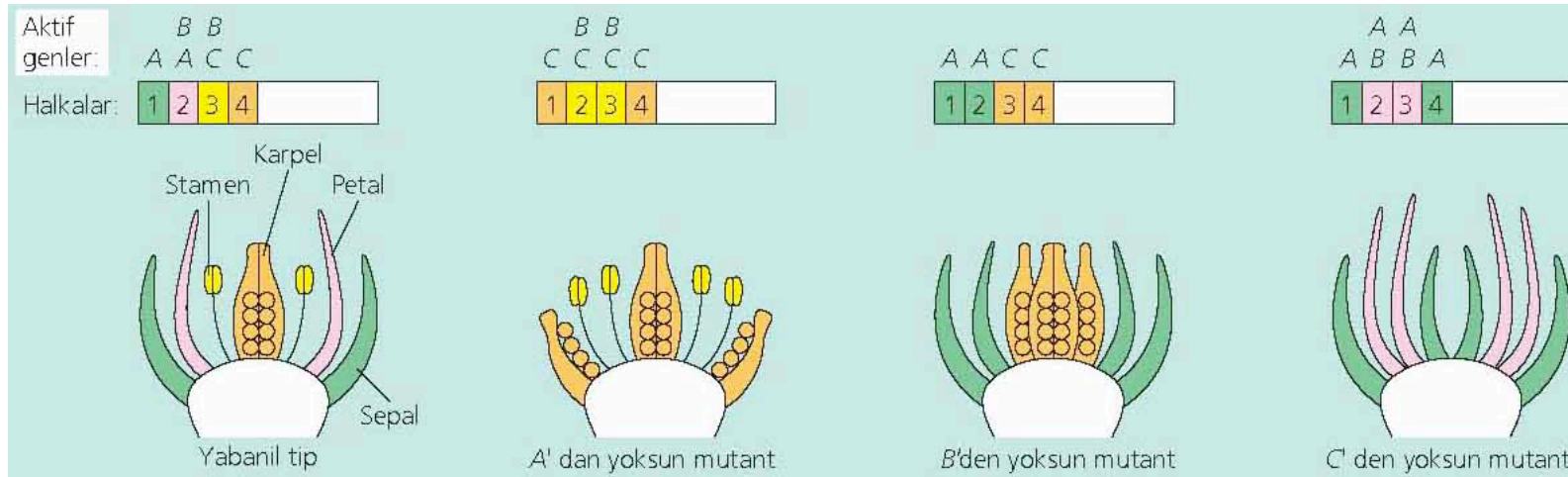
Hangi gen hangi halkada aktiftir?

- Her bir mRNA çeşidi, yalnızca kendine komplementer gen bölgesi ile hibritleşeceğinden, boyalarla etiketlenmiş probların yoğunlaştığı bölgeler ayırt edilebilir.
- Çalışmanın sonuçlarına göre, A geninin dış halkalarda (kırmızı), B geninin orta halkalarda (sarı) ve C geninin ise merkezi halkalarda (turuncu) ifade edildiği saptanmıştır.



Hangi gen hangi halkada aktiftir?

- Aşağıdaki şekilde ise bu üç organ kimlik gen sınıfından herhangi birinin yokluğunda meydana gelebilecek gelişimsel anomaliler verilmiştir.



E sınıfı organ kimlik genleri

- Bu alanda yapılan yoğun çalışmalar sonucunda, 2001 yılında yeni bir sınıf organ kimlik geninin varlığı tespit edilmiştir.
- Bu sınıf genlere, E sınıfı organ kimlik genleri adı verilmektedir.

Organ kimlik genleri de birer transkripsiyon faktörüdür

- Organ kimlik genleri, diğer genlerin aktivitesini kontrol eden düzenleyici şefler olarak iş görür.
- Daha doğrusu, DNA'daki özgül promotorlara veya enhansırlara bağlanarak ilgili genlerin ifadesini kontrol eden transkripsiyon faktörleridir.
- Ancak hayvanlardaki gibi homeobox dizileri içermez.
- DNA'ya bağlanabilen domainlerin sentezinden sorumlu farklı dizilere sahiptir.