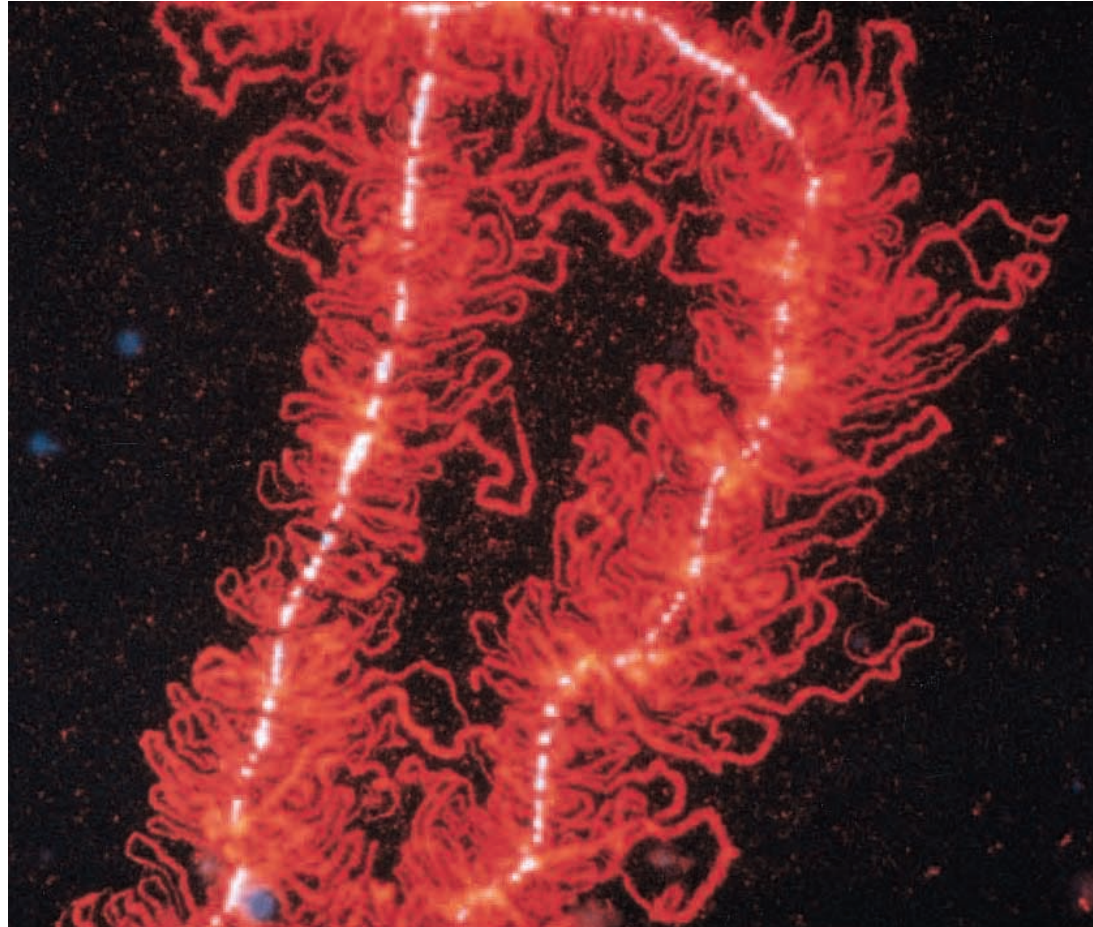


ÖKARYOTİK GENOMLARIN ORGANİZASYONU VE KONTROLÜ



Prokaryotik kromatinin paketlenmesi

- Bakteri DNA'sı bile paketlenir.
- Bakteri genomu sadece birkaç milyon nükleotit çifti içermektedir.
- Önceleri bakteri kromozomunun, herhangi bir kıvrılma modeli göstermeyen, halkasal, ıplak DNA olduğu düşünülüyordu.
- Ancak şimdilerde özgül proteinlerle ilişkili ve düzenli ilmekler oluşturduğu bilinmektedir.

Ökaryotik kromatinin paketlenmesi

- Ökaryotik kromatinin organizasyonu prokaryotlara göre daha karmaşıktır.
- Büyük miktarda protein ile muntazam bir kompleks oluşturmuştur.
- Oluşan kromatin, hücre döngüsü sırasında çarpıcı değişiklikler geçirir.
- Interfaz sırasında çekirdek içerisinde ince-uzun iplikler şeklinde görüntülenirler.

Ökaryotik kromatinin paketlenmesi

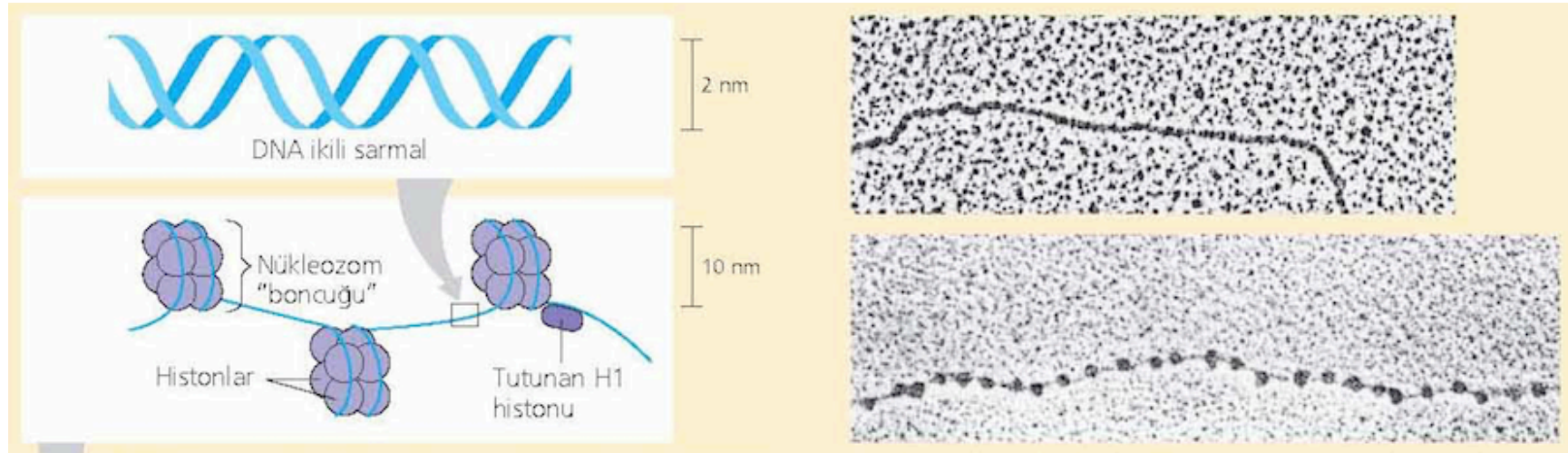
- Mitoza hazırlık sırasında ise kısa ve kalın kromozomları oluşturmak üzere bükülür ve katlanırlar (yoğunlaşırlar).
- Her bir kromozomda bir adet doğrusal DNA çift sarmalı bulunur.
- İnsanlarda bu sarmal ortalama olarak 2×10^8 nükleotit çifti içerir.
- Bu DNA uzatılmış olsaydı, yaklaşık 6 cm uzunluğa denk gelecekti.

Ökaryotik kromatinin paketlenmesi

- Bu uzunluk, hücre çekirdeğinin çapından binlerce kat daha uzundur.
- Ancak bunun gibi 45 kromozomun DNA'sı daha muntazam bir şekilde paketlenerek çekirdeğe sığdırılır.

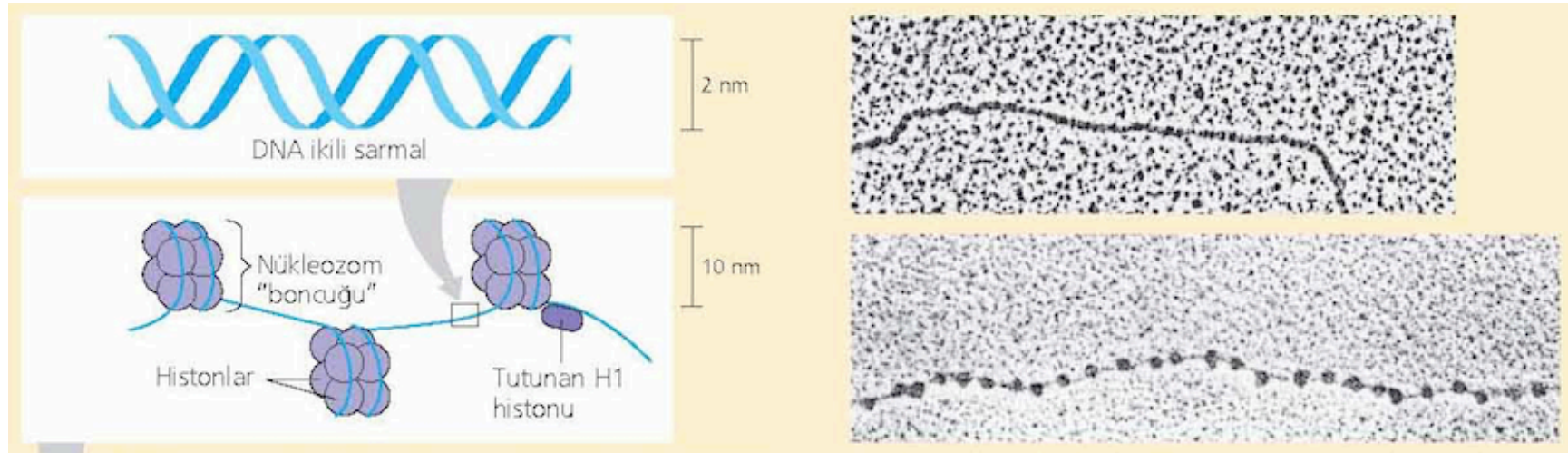
Nükleozomlar

- Ökaryotik kromatinde DNA'nın ilk düzey paketlenmesinden sorumlu proteinler histonlardır.
- Kromatindeki histon kütlesi yaklaşık olarak DNA kütlesine eşittir.



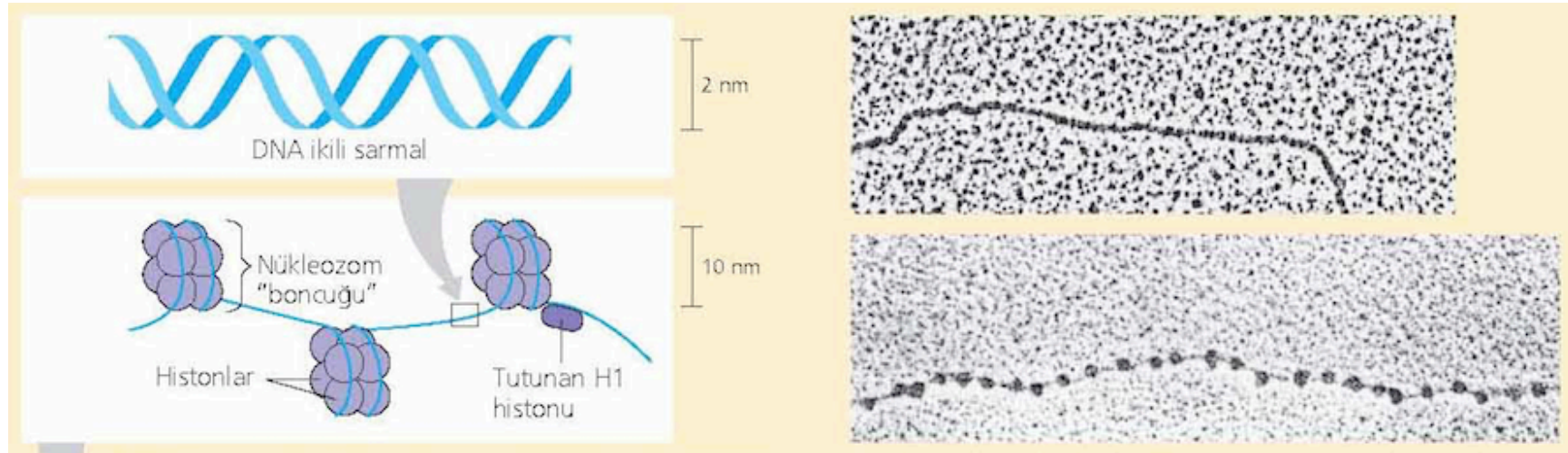
Nükleozomlar

- Histonlar yüksek oranda pozitif yüklü aminoasitler içerir (lizin ve arjinin).
- Bu aminoasitler, negatif yüklü DNA'ya sıkıca bağlanır.



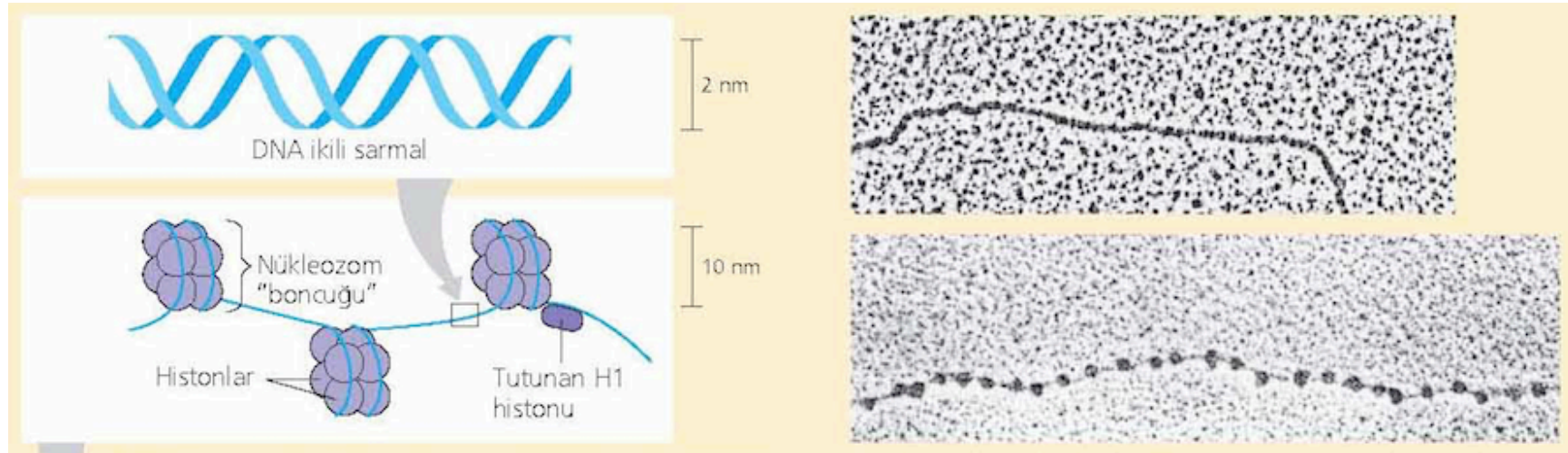
Histon proteinlerinin çeşitleri

- Histonun beş çeşidi vardır.
- Bir ökaryottan diğerine benzer yapıdadırlar.
- Benzer proteinler bakterilerde de bulunur.



Histon proteinlerinin çeşitleri

- Histon genleri evrimsel süreçte çok fazla korunmuştur.
- Aşağıdaki şekilde görülen her bir boncuk ve ona bitişik DNA, nükleozom adı verilen yapıyı oluşturur.



Nükleozomun yapısal elemanları

□ Her bir nükleozom;

□ H₂A

□ H₂B

□ H₃

□ H₄

proteinlerinden ikişer adet ve bir de bunların etrafını saran DNA'dan ibarettir.

Nükleozomun yapısal elemanları

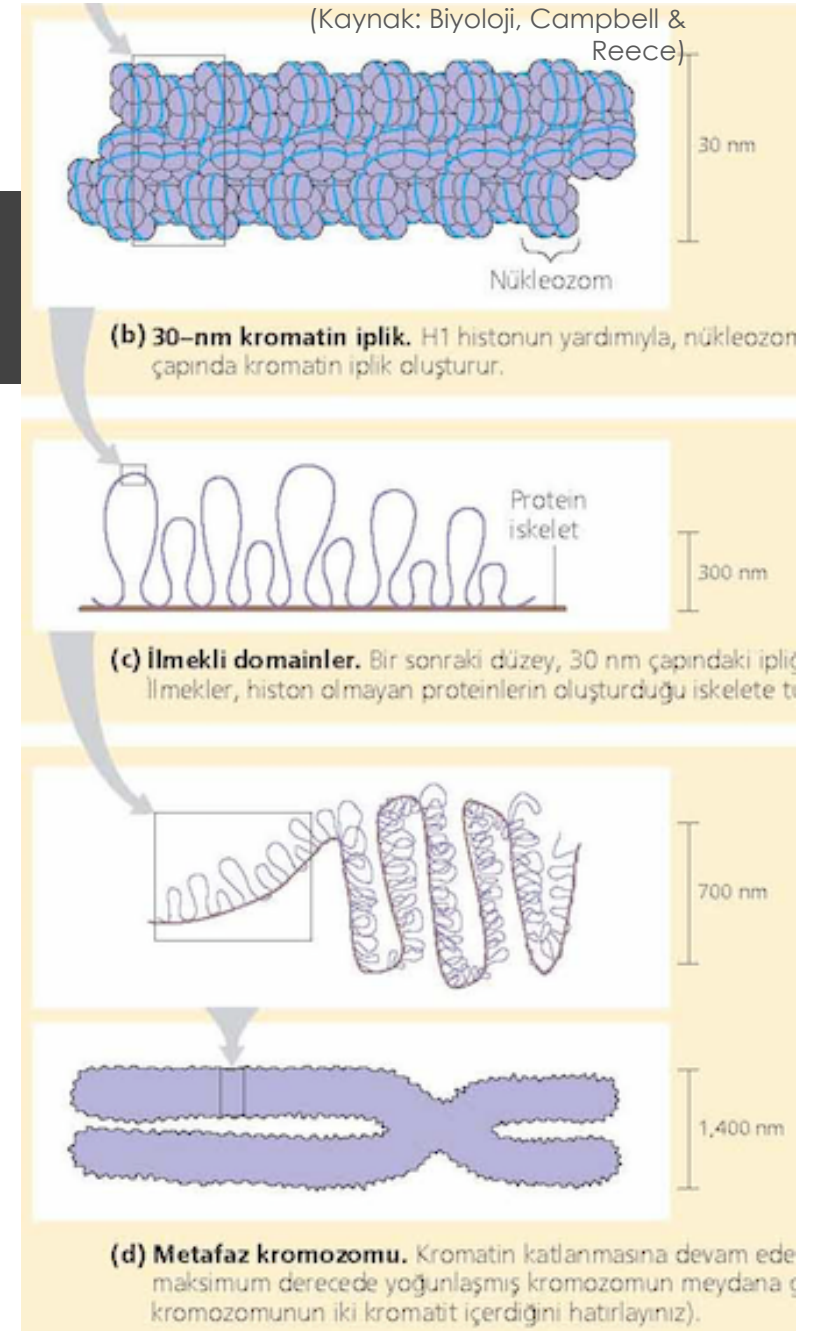
- H₁ ise, kromatin bir sonraki düzeyde paketlenme geçirdiğinde boncuğun yanındaki DNA'ya bağlanır.
- Histonlar sadece replikasyon sırasında DNA'dan geçici olarak ayrılırlar.
- Transkripsiyon sırasında ise DNA ile birlikte kalırlar.

Nükleozomun yapısal elemanları

- Peki DNA histonlara sarılı iken transkripsiyon nasıl gerçekleşir?
- Nükleozomlar biçim ya da konum değiştiren dinamik yapılardır.
- RNA polimerazın DNA boyunca hareket etmesine izin verir.

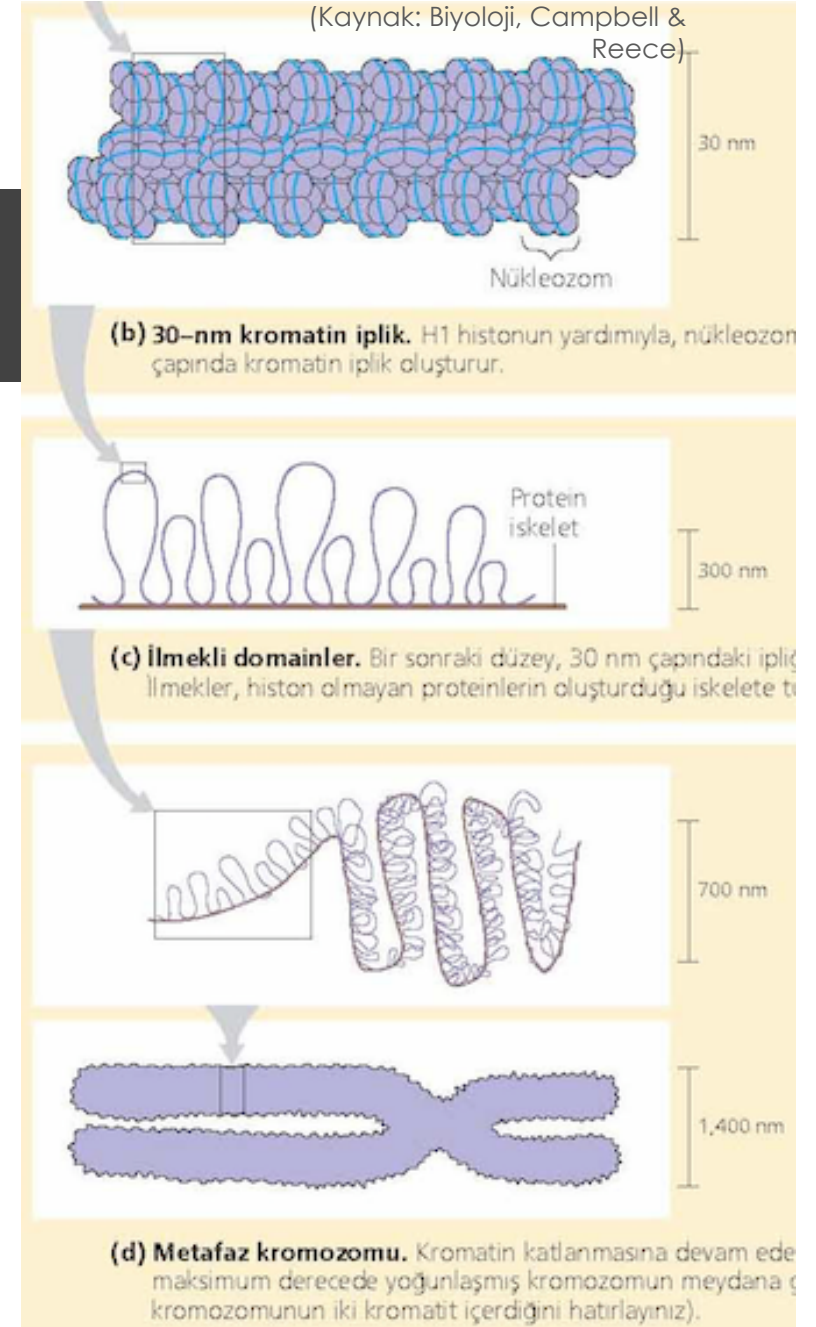
DNA paketlenmesinin daha yüksek düzeyleri

- Nükleozomlar daha yüksek düzeyde paketlenme geçirir.
- Yandaki şekilde gittikçe artışı gösteren sıklıkta yanyana dizilen çeşitli yapılar bulunmaktadır.
- Boncuklu iplik, H₁ histonunun yardımıyla yaklaşık 30 nm kalınlığında iplik oluşturmak için katlanır.



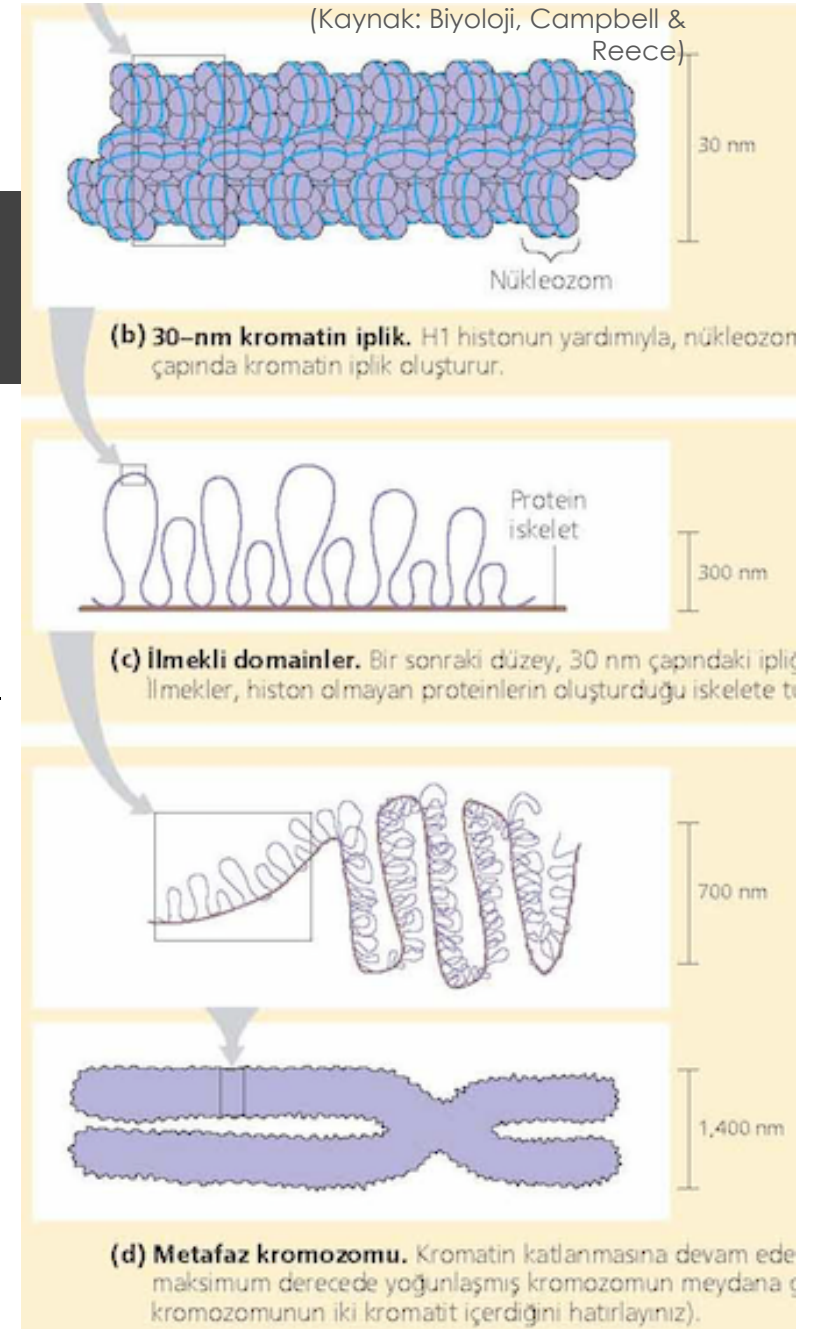
DNA paketlenmesinin daha yüksek düzeyleri

- Bu yapı, 30 nm kromatin iplik olarak bilinir.
- 30 nm iplik, ilmekli domainler adı verilen yapıyı meydana getirir.
- Ilmekli domainler ise kendi üzerinde bükülüp katlanarak tüm kromatini daha ileri düzeyde sıkı hale getirir.



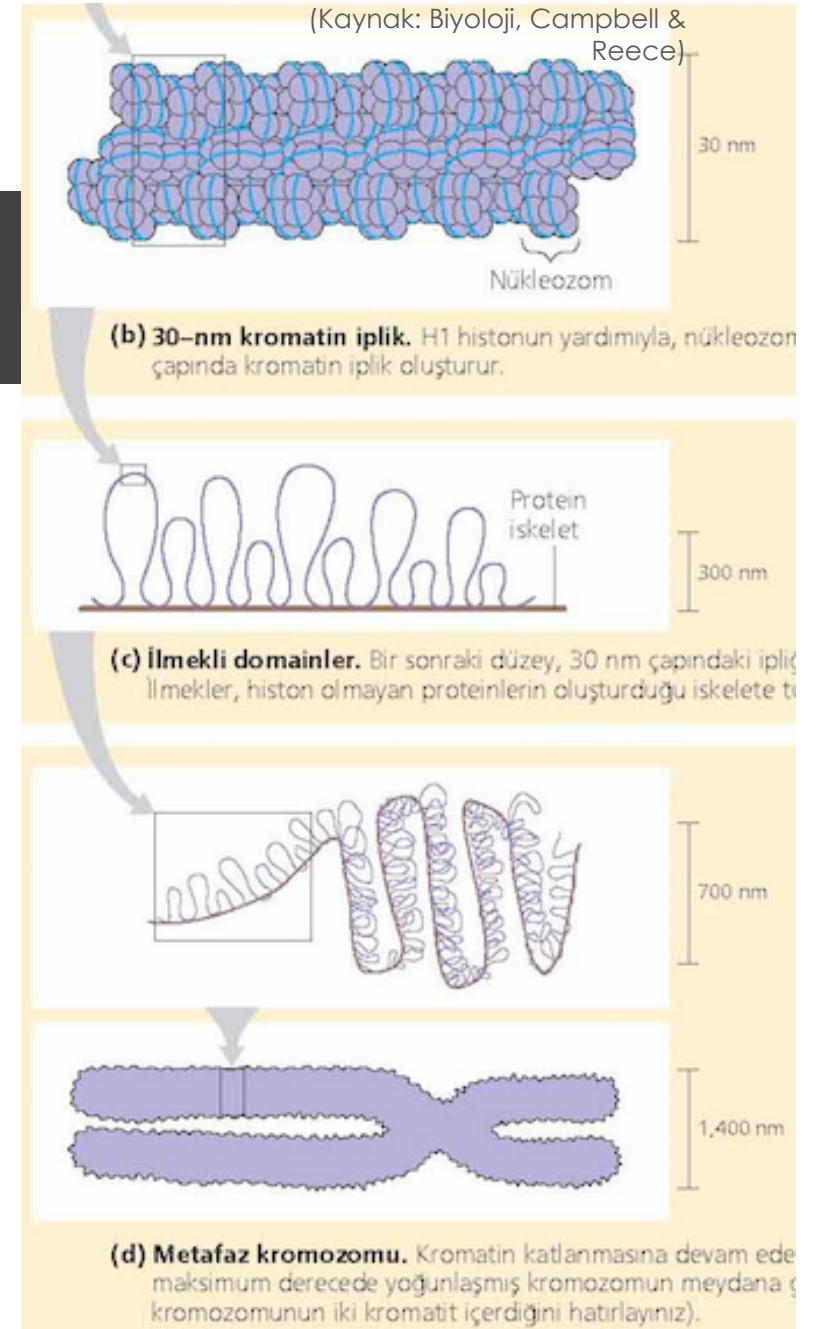
DNA paketlenmesinin daha yüksek düzeyleri

- Interfaz kromatini, mitotik kromozom kromatininden genellikle daha az yoğunlaşma gösterir.
- Ancak yine de kromozomun belirli kısımları ışık mikroskobu altında görülebilir yoğunluğa sahiptir.



DNA paketlenmesinin daha yüksek düzeyleri

- Bu kısımlara heterokromatin denir.
- Daha az yoğunlaşma gösteren kısımlara da ökromatin adı verilir.



İnterfazdaki yoğunlaşmanın işlevi nedir?

- Heterokromatin oluşumunun, gen ifadesinin kontrolünde bir çeşit kaba ayar olduğu düşünülmektedir.
- Heterokromatin DNA'sı, transkripsiyon geçirmez.

Tekrarlanan DNA ve şifrelenmeyen sekanslar

- Prokaryotlarda DNA'nın büyük bir kısmı transkripsiyona uğrar.
- Küçük bir kısım ise promotorlar gibi düzenleyici sekanslardan ibarettir.
- Prokaryotik genlerde intronlar bulunmaz.
- Ancak ökaryotik genomlarda DNA'nın büyük bir kısmı (örn; insanlarda % 97'si) protein ya da RNA şifrelemez.

Tekrarlanan DNA ve şifrelenmeyen sekanslar

- Bazılarının düzenleyici sekanslar olduğu bilinmektedir.
- Ancak çoğunun işlevi henüz anlaşılamamıştır.
- şifrelenmeyen DNA'nın büyük bir kısmını tekrarlanan diziler oluşturur.
- Bu diziler, genom içinde çok sayıda kopyası bulunan ve genellikle gen bölgeleri içerisinde yer almayan dizilerdir.

Art arda tekrarlanan diziler

- Memelilerde genomun yaklaşık % 10-15'i art arda tekrarlanan DNA'dan oluşmaktadır.
- Aşağıda, tekrarlanan bir dizi örneği verilmiştir.
- GTTACGTTACGTTACGTTACGTTAC.....
- Burada tekrarlayan birim GTTAC'dir.
- Tekrar sayısı birkaç yüz bin kadar olabilir.
- Tekrarlanan birimler on baz çifti uzunluğuna ulaşabilir.

Tekrarlanan DNA'nın ayrıştırılması

- Tekrarlanan DNA kısımları genellikle diğer DNA kısımlarından daha yoğundur.
- Bu sayede diferansiyel santrifüjleme kullanılarak tekrarlayan DNA ayrıştırılabilir.
- Tekrarlayan diziler, santrifüj tüpünde diğer DNA'dan ayrı bir bant şeklinde görünür.
- Bu nedenle bu DNA'ya satellit DNA (uydu DNA) adı verilmektedir.

Satellit DNA eşitleri

- İçerdikleri DNA'nın toplam uzunluğuna göre üç kategoride sınıflandırılırlar:
 - Normal satellit DNA
 - Minisatellit DNA
 - Makrosatellit DNA
- Normal satellit DNA 100.000 baz çiftinden daha uzundur.
- Minisatellit ve makrosatellitler ise daha kısa DNA dizileridir.

Satellit DNA eşitleri

- Yalnız 10-100 kez tekrarlanmış kısa birimlere sahip mikrosatellit DNA, DNA parmakizi (fingerprint) alışmalarında son derece kullanılıdır.
- Tekrarlanan diziler bazı genetik hastalıklara yol açmaktadır.
- Zeka geriliğine yol açan kırılgan X sendromunda CGG üçlüsünün yüzlerce ya da binlerce tekrar edildiği tespit edilmiştir.

Satellitlerin kromozomdaki yerleşimi

- Satellit DNA'nın büyük bir kısmının, kromozomların telomerlerinde ve sentromerlerinde yer aldığı tespit edilmiştir.
- Dolayısıyla bu dizilerin, kromozom içinde yapısal rol oynadığı firi akla gelmektedir.

Satellitlerin kromozomdaki yerleşimi

- Sentromerlerde yer alan DNA, hücre bölünmesi sırasında kromatitlerin birbirinden ayrılmasında gereklidir.
- Telomerlerde yer alan DNA ise her defasında kısalan DNA'daki genlerin kaybını engeller (uç replikasyon sorunu).

Yapay kromozomlar

- Telomer ve sentromerler olmaksızın kromozomun yapısal bütünlüğü sağlanamaz.
- Bu noktadan hareketle araştırmacılar yapay kromozomlar geliştirmişlerdir.
- Böyle bir kromozomda replikasyon başlangıç orijini bulunmak zorundadır.
- Replikasyon orijinine ilave olarak bir adet sentromer ve iki adet de telomerin bulunması kromozom için şarttır.

Serpiştirilmiş tekrarlanan diziler

- Bu tip birimler yan yana değillerdir.
- Genomda serpiştirilmiş olarak yer alırlar.
- Coğu memeli genomunun % 25-40'ını meydana getirir.
- Insanlarda ve primatlarda bu DNA'nın büyük bir kısmı Alu elemanları denilen benzer sekans ailesinden meydana gelir.

Serpiştirilmiş tekrarlanan diziler

- Bu birimlerin her biri 300 nükleotit çifti uzunluğundadır.
- Diğer tekrarlayan dizilerin aksine Alu elemanlarının büyük bir kısmı transkripsiyona uğrar.
- Meydana gelen RNA moleküllerinin hücredeki işlevleri bilinmemektedir.

Multigen ailesi

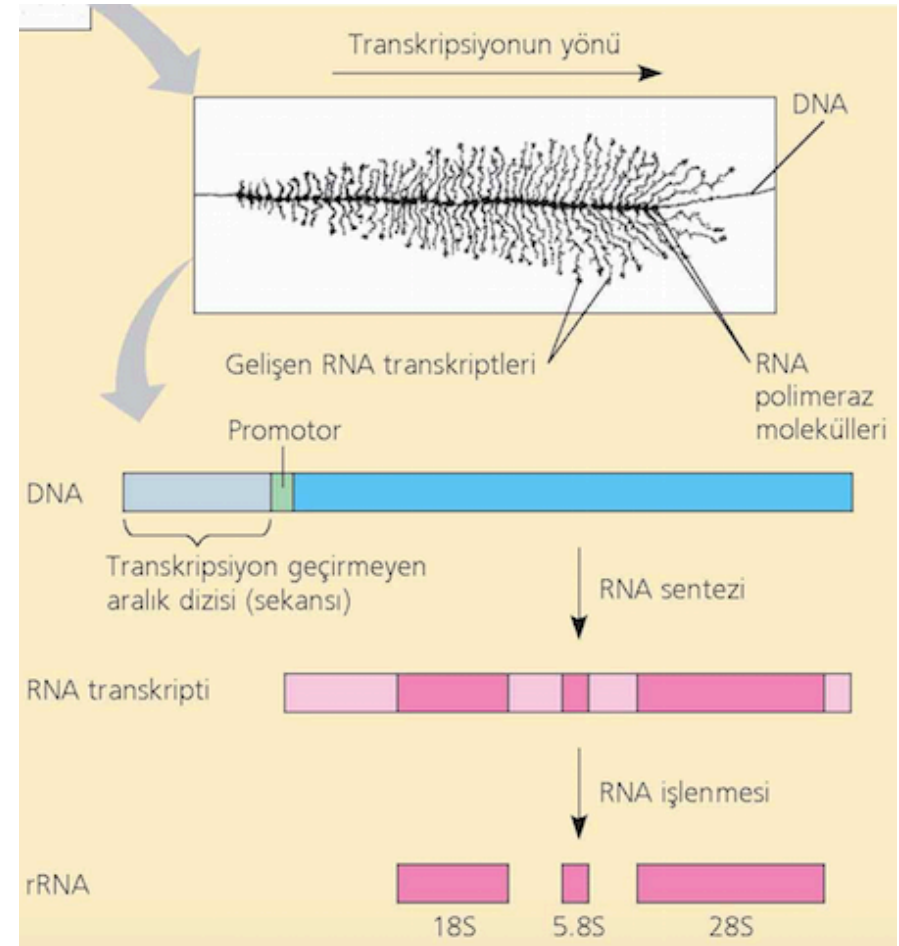
- Prokaryotlarda olduğu gibi, ökaryotik genlerin çoğu da genomda tek bir sekans olarak bulunur.
- Haploit kromozom başına yalnızca tek bir kopya vardır.
- Fakat bazı genlerin birden fazla kopyası vardır.
- Özdeş ya da benzer genlerden oluşan koleksiyona multigen ailesi denir.

Multigen ailesi

- Ailenin üyeleri, muhtemelen tek bir atasal genden ortaya çıkmıştır.
- Çok genli aileler, çok uzun tekrarlayan diziler olarak kabul edilirler.
- Genom içerisinde dağılık ya da kümelenmiş durumda bulunabilirler.
- Ancak bazı çok gen aileleri, art arda sıralanmış özdeş genlerden meydana gelirler.

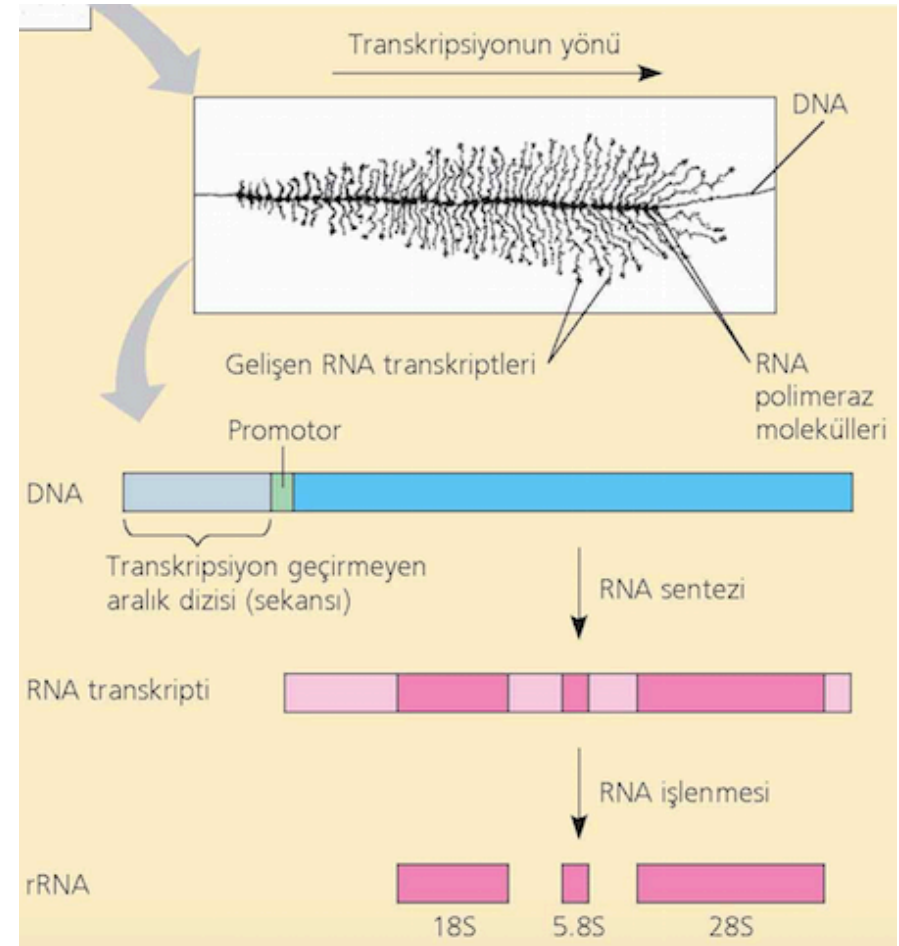
Multigen ailesi

- Bu durum sıklıkla rRNA sentezi yapan genlerde karşımıza çıkmaktadır.
- Bu rRNA'lar, art arda yüzlerce ya da binlerce kez tekrarlanmış olan tek bir transkripsiyon biriminden şifrelenirler.



Multigen ailesi

- Çok sayıda kopya, hücreye, aktif protein sentezi için gerekli olan milyonlarca ribozomu yapma yeteneği verir.

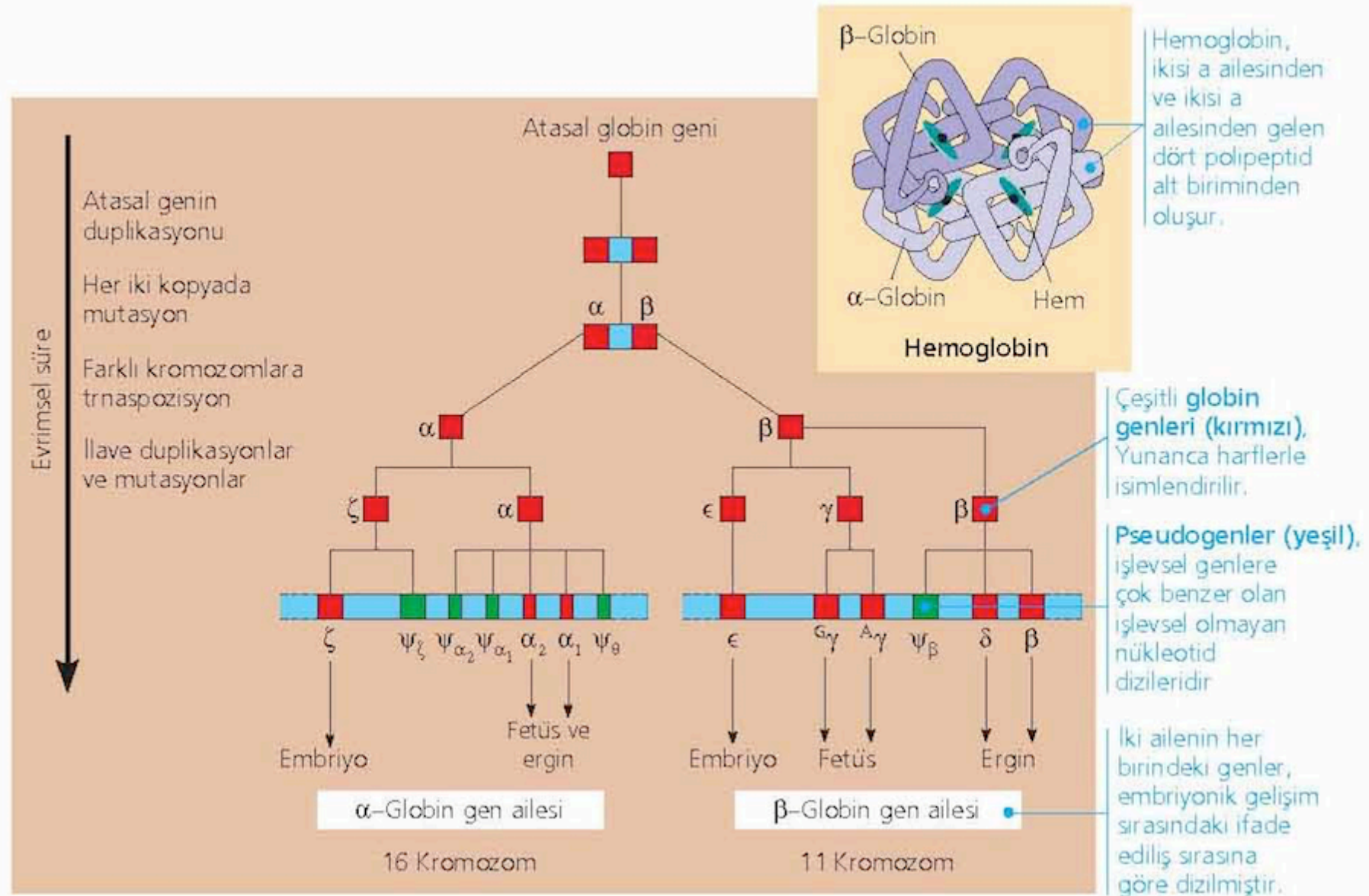


Özdeş olmayan genlere sahip multigen aileleri

- Globin genleri
- Hemoglobin α ve β polipeptit alt birimlerini şifreleyen genler

Globin genleri

- İnsanda 16. kromozom üzerinde yer alan bir familya, α -globinin çeşitli varyasyonlarını şifreler.
- 11. kromozom üzerinde yer alan diğer familya ise β -globin versiyonlarını kodlar.
- Globin genlerinin sekanslarındaki benzerlikler, bunların ortak bir atadan köken almış olabileceğini düşündürmektedir.



Globin genleri

- Her globin alt biriminin farklı versiyonları, gelişim sırasında farklı zamanlarda ifade edilir.
- Böylece gelişmekte olan canlının değişen ortam koşulları içerisinde, hemoglobinin etkin bir şekilde işlev görmesi sağlanır.

İnsanlarda hemoglobinin farklı formları

- İnsanlarda hemoglobinin embriyonik ve fetal formlarının O_2 'ye bağlanma eğilimi ergin formuna göre daha yüksektir.
- Böylelikle anneden gelen O_2 , fetusa daha etkin bir şekilde iletilir.

Gen aileleri nasıl doğar?

- En olası açıklama, DNA replikasyonu veya rekombinasyonu sırasında oluşan hatalardan dolayı gen duplikasyonlarının meydana gelmesidir.
- Özdeş olmayan genler arasındaki farklılıklar ise muhtemelen zamanla biriken mutasyonlardan kaynaklanmaktadır.

Pseudogenler (yalancı genler)

- Bu DNA segmentlerinin varlığı, gen duplikasyonu ve mutasyonlar için önemli bir kanıttır.
- Gerçek genlere çok benzer sekanslara sahiptirler fakat işlevsel ürün vermezler.
- Evrimsel süreç boyunca ortaya çıkan rastgele mutasyonların, bu genlerin işlevlerini ortadan kaldırdığı düşünülmektedir.
- Globin gen aileleri içerisindeki intron bölgelerinde çok sayıda yalancı gen tespit edilmiştir.

Gen amplifikasyonu

- Gelişimin belirli bir evresinde, bazı dokuların hücrelerinde bir gen ya da gen ailesinin kopya sayısı seçici olarak artar.
- Buna en temel örnek amfibilerde rRNA'nın kodlanmasından sorumlu genlerdir.
- Hemen hemen her organizmada bu genlerin çok sayıda kopyası vardır.
- Gelişmekte olan yumurta hücrelerinde rRNA genlerinin bir milyondan fazla kopyası bulunur.

Gen amplifikasyonu

- rRNA genleri, çekirdekçik içinde kromozomlardan ayrılan çok küçük DNA halkaları olarak yer alırlar.
- Gen amplifikasyonu adı verilen bu olayla, rRNA genlerinin seçici olarak ifadesi artırılmış olur.
- Bu olay, gelişmekte olan yumurta hücrelerine çok fazla sayıda ribozom üretme yeteneği verir.
- rRNA genlerinin fazla kopyaları ileriki yaşlarda kopya edilmez ve embriyonik gelişimin erken döneminde yıkılırlar.

Gem amplifikasyonu ile ilaç dirençliliği

- Yüksek dozda kemoterapik ilaçlar, tümör içerisindeki çok fazla hücreyi öldürür.
- Ancak bazı hücreler her zaman dirençlidir.
- Bu hücreler genellikle ilaca dirençlilik sağlayan genlerin çoklu kopyalarını taşırlar.

Gen kaybı

- Bazı böceklerde, belirli dokulardaki genler seçici olarak kaybedilir.
- Gametleri oluşturan hücrelerde gen kaybı gerçekleşmez.
- Bu canlılarda gelişimin erken evrelerinde bazı hücrelerdeki tam kromozomlar ya da kromozom kısımları ortadan kaldırılabilir.

Transpozonlar-Retrotranspozonlar

- Transpozonlar, genom içinde bir bölgeden ayrılarak başka bir bölgeye geçebilen DNA parçalarıdır.
- Eğer bir transpozon, sıçrayarak başka bir genin şifrelenen sekansının orta kısmına girecek olursa bu genin normal fonksiyonu engellenir.
- Eğer transpozon, transkripsiyonu düzenleyen sekansın içine girecek olursa, bir ya da daha fazla proteinin üretimi artabilir veya azalabilir.

Transpozonlar-Retrotranspozonlar

- Hareketli genetik elemanları ilk bulan kişi Barbara McClintock'dur.
- Gelişmekte olan mısır tanelerinin rengini etkileyen transpozonları keşfetmiştir.
- Son zamanlarda yapılan çalışmalarla mısır bitkisi genomunun % 50'sinin, insanda ise % 10'unun transpozonlardan oluştuğu belirlenmiştir.

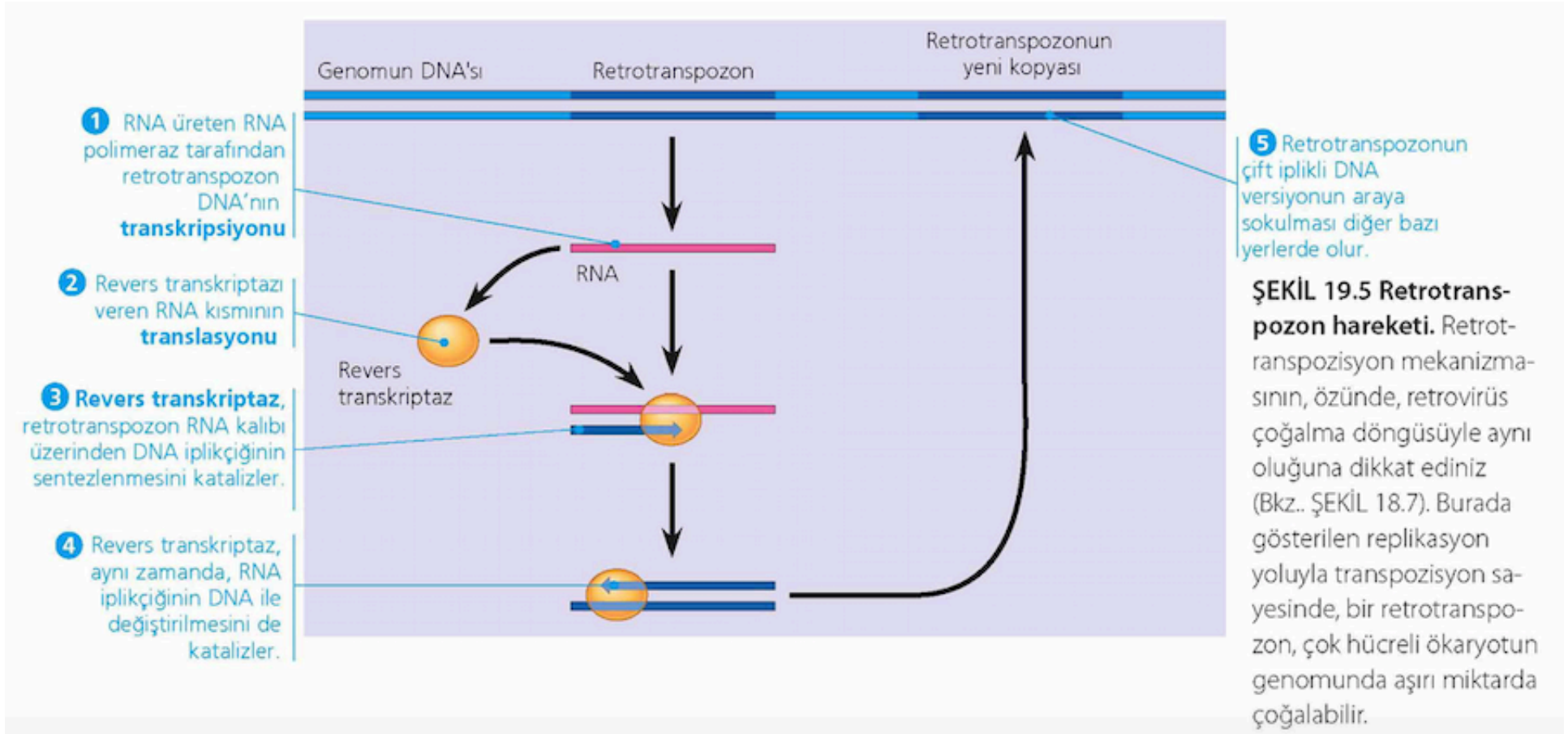
Transpozonların hareket mekanizması

- Hareket, retrotranspozon adlı DNA dizisinin RNA'ya transkribe edilmesiyle başlar.
- RNA retrotranspozonun başka bir yere yerleşmesi için tekrar DNA'ya dönüştürülmesi gerekir.
- Bu olay, revers transkriptaz enzimi ile gerçekleştirilir.

Transpozonların hareket mekanizması

- Retrotranspozonun kendisi tarafından şifrelenen bir enzim, yeni bölgeye girişi katalizler.
- Dolayısıyla revers transkriptaz enzimi, retrovirüslerle enfekte olmamış hücrelerde de bulunabilir.

Transpozonların hareket mekanizması



DNA'da kalıcı yeni düzenlenmeler: İmmunoglobulin genleri

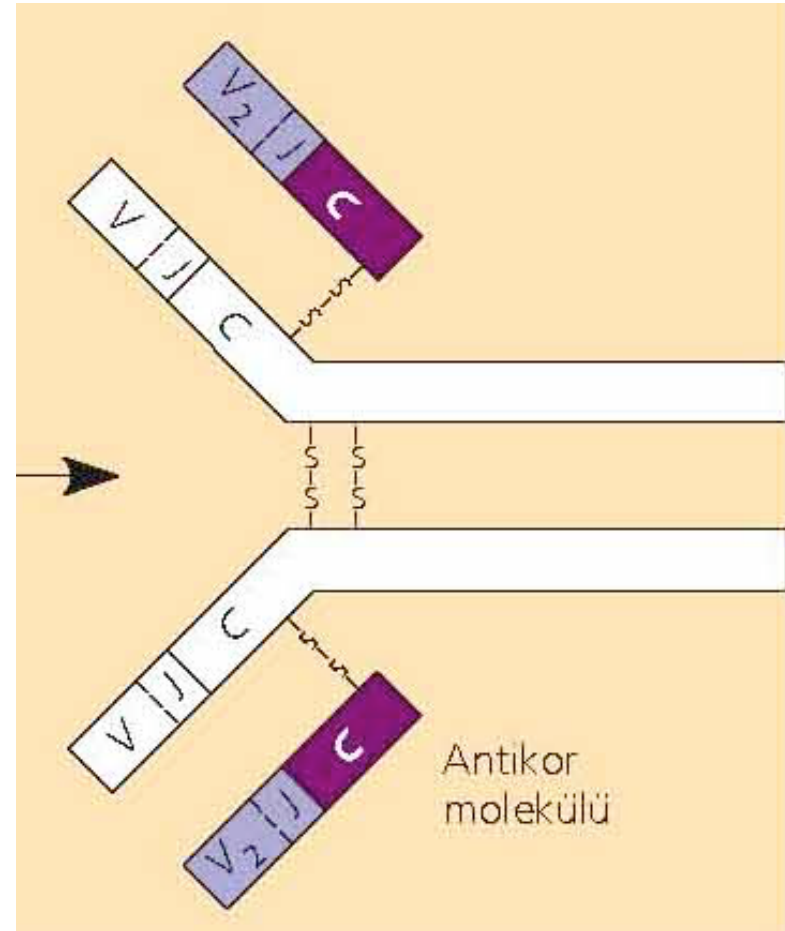
- Genlerin bazılarında kalıcı olarak yeniden düzenlenmeler meydana gelir.
- Bu yeniden düzenlenmenin en tipik örneği bağışıklık sisteminde meydana gelen değişikliklerdir.
- Bağışıklık sistemi hücreleri farklılaştığında bazı genler yeniden düzenlenir.
- İmmunoglobulinler vücuda giren mikroorganizmaları tanıyıp onlarla savaşan proteinlerdir.

DNA'da kalıcı yeni düzenlenmeler: İmmunoglobulin genleri

- Bir çeşit beyaz kan hücresi olan B lenfositler tarafından üretilirler.
- Bu hücreler, vücuda giren özel bir istilacıya saldıran özel tipte bir antikor üretirler.
- B lenfositler farklılaşma geçirdiğinde bazı gen takımları yeniden düzenlenir.
- Özelleşmemiş bir hücre B lenfosite dönüştüğünde, DNA üzerinde birbirinden ayrı konumlanmış olan antikor genleri yeniden düzenlenme geçirerek biraraya getirilir.

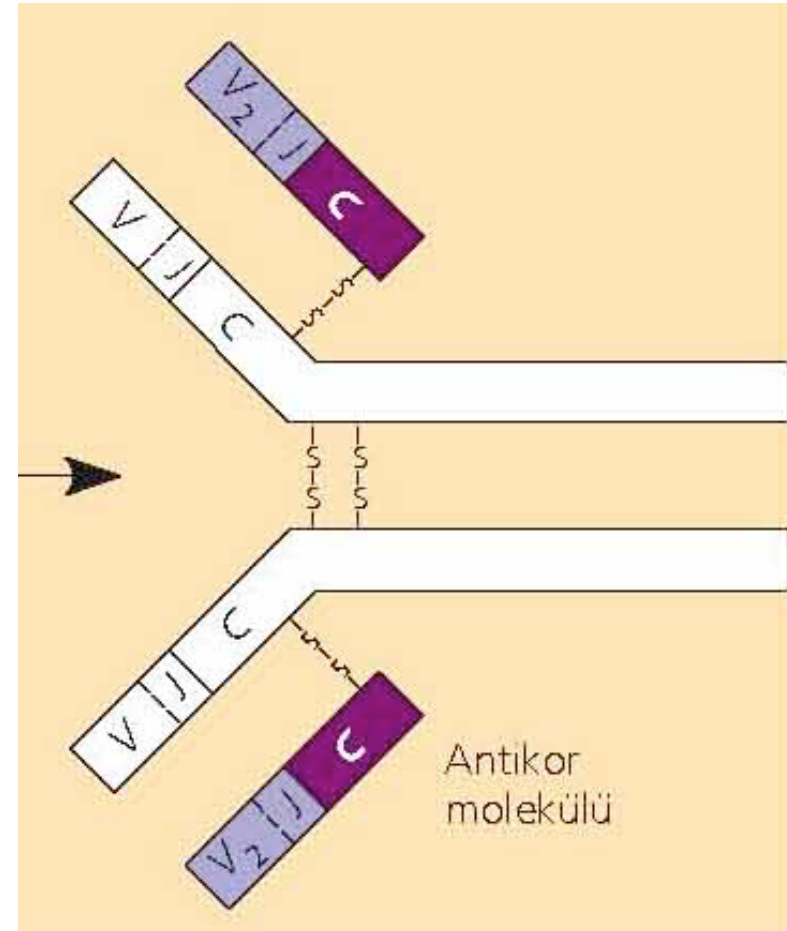
İmmunoglobulin molekülünün yapısı

- Bu molekül, disülfid köprüleriyle birarada tutulan dört polipeptit zincirinden oluşmuştur.
- Her bir zincir iki ana kısımdan oluşur:
 - Sabit bölge (C)
 - Değişken bölge (V)



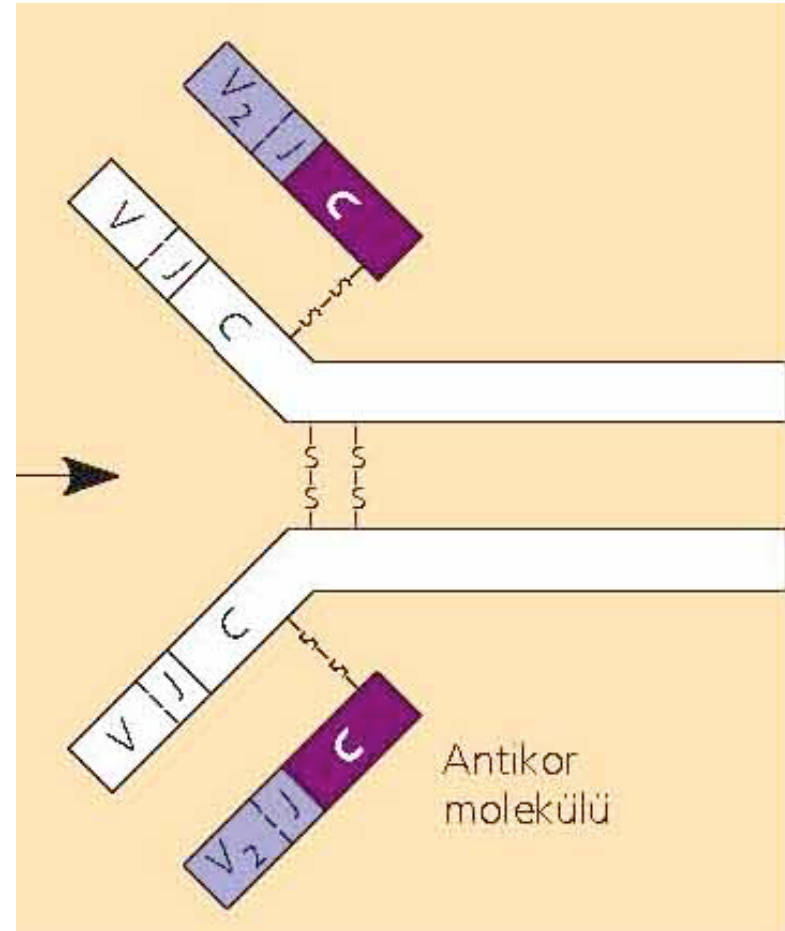
İmmunoglobulin molekülünün yapısı

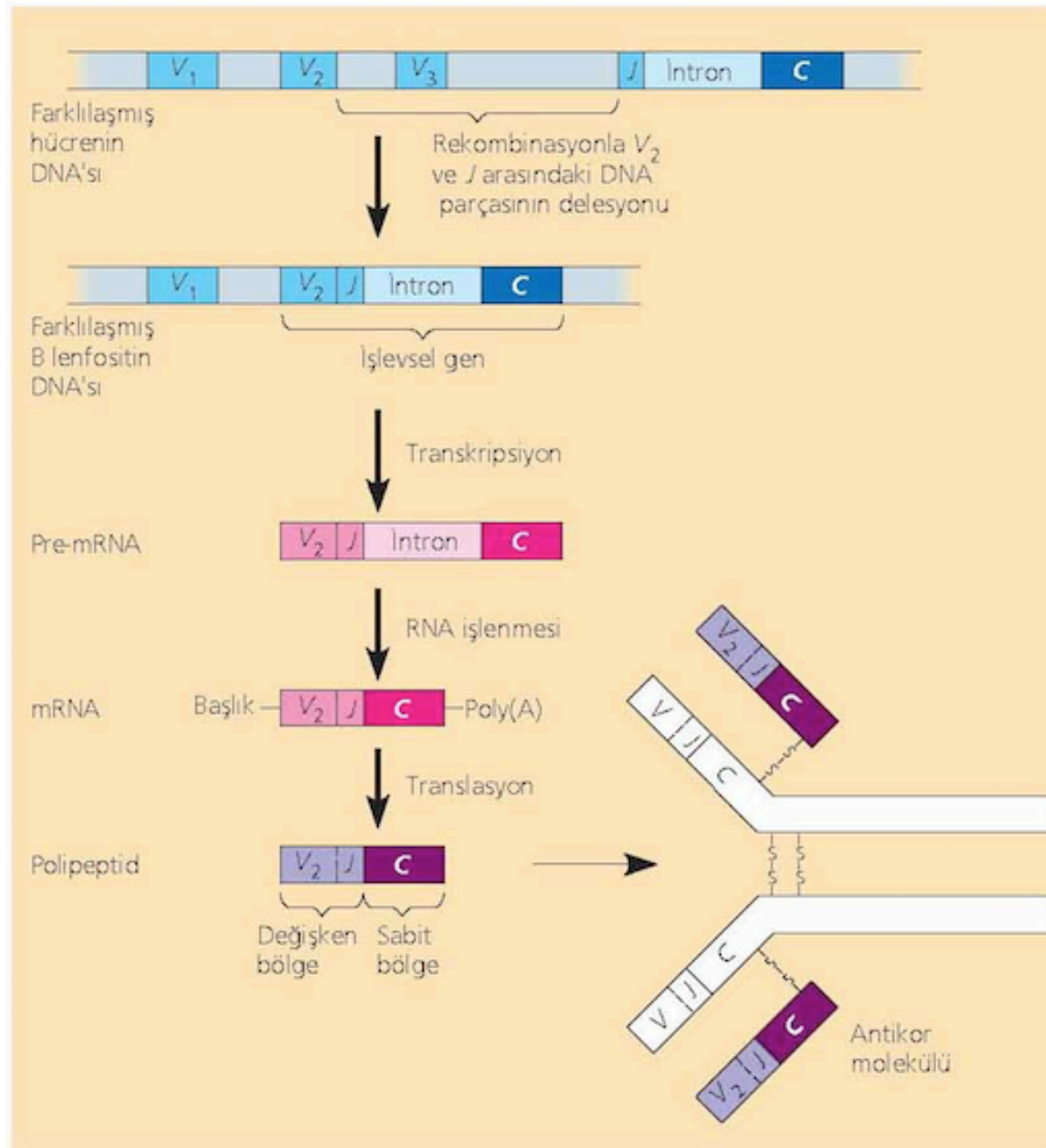
- Değişken bölge, belirli bir antikora, onun kendisine özgül işlevini kazandırır.
- Embriyonik genomda, C bölgesini kodlayan DNA ile V bölgesini kodlayan DNA dizileri (yüzlerce segment) uzun bir DNA parçası ile ayrılırlar.



İmmunoglobulin molekülünün yapısı

- B lenfosit farklılaşma geçirdiğinde C ve V bölgelerini kodlayan diziler yeniden düzenlenme geçirerek biraraya getirilirler.





Ökaryotlar, sahip oldukları genlerin sadece küçük bir kısmını ifade ederler

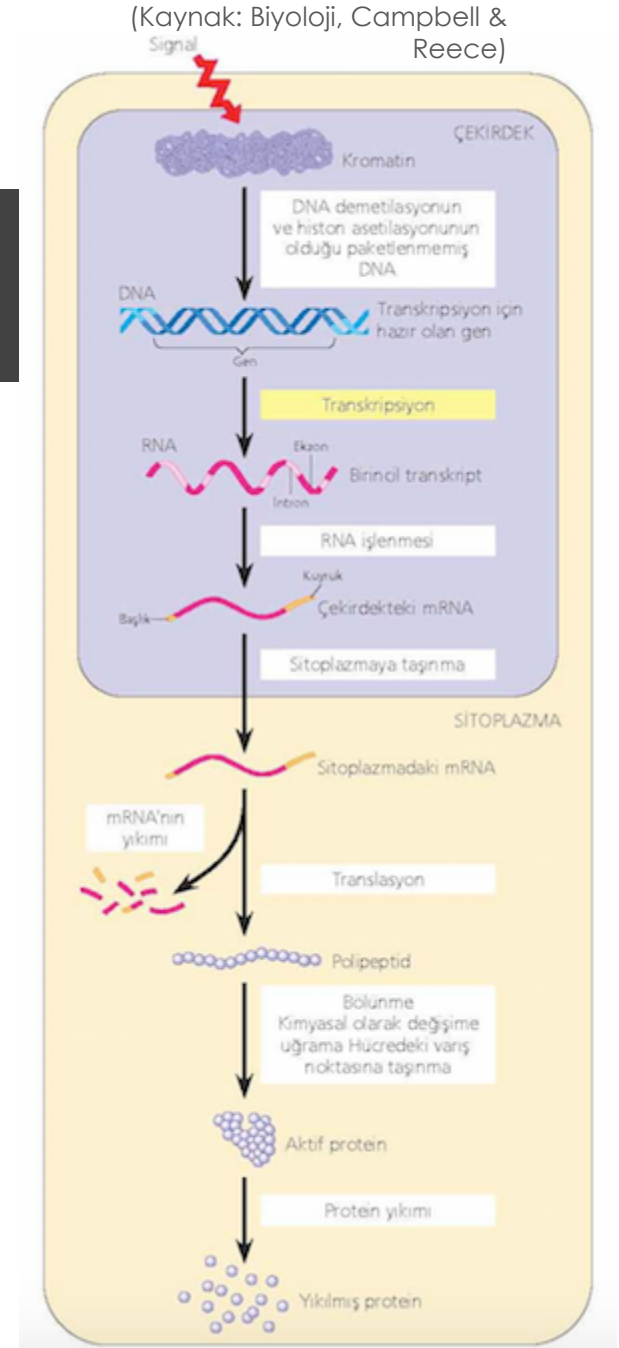
- Ökaryotik genomlarda, şifrelenmeyen DNA dizileri arasında serpiştirilmiş onbinlerce gen bulunmaktadır.
- Peki bu genlerin hangileri ifade edilmektedir?
- Hücreler, iç ve dış ortamdan gelen sinyallere yanıt olarak belirli genleri sürekli açıp kapatmaktadırlar.
- Gen ifadesi ayrıca hücreSEL farklılaşma ile birlikte de kontrol edilmektedir.

Ökaryotlar, sahip oldukları genlerin sadece küçük bir kısmını ifade ederler

- Farklılaşmanın farklı aşamalarında farklı gen setleri ifade edilmektedir.
- Kas veya sinir dokusu gibi özelleşmiş dokularda bulunan hücreler, genlerinin çok küçük bir bölümünü ifade ederler.
- Tipik bir insan hücresi, herhangi bir zamanda kendi genlerinin sadece % 3-5'ini ifade eder.
- Gen ifadesinde görevli enzimler doğru zamanda doğru yere yerleşmelidir.

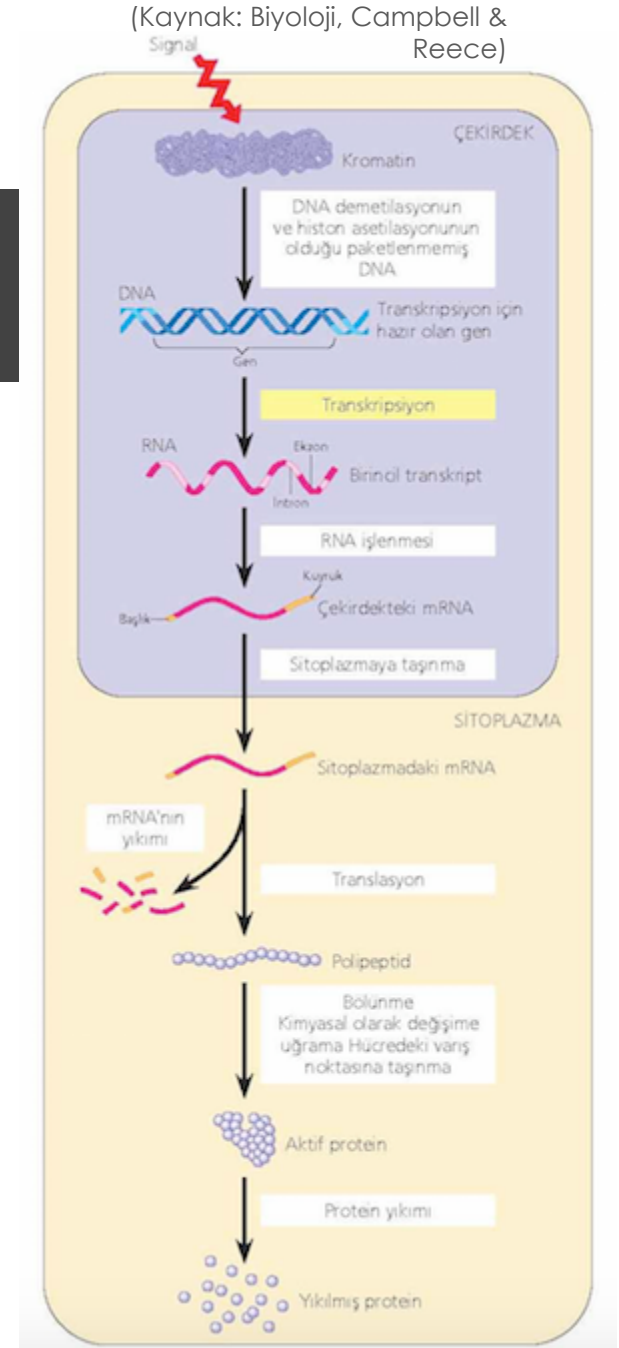
Gen ifadesinin kontrolü

- Yandaki şekil bir ökaryotik hücredeki gen ifadesinin tüm sürecini özetlemektedir.
- Hücrede gen ifadesi şu basamaklardan herhangi birisiyle kontrol edilebilir:



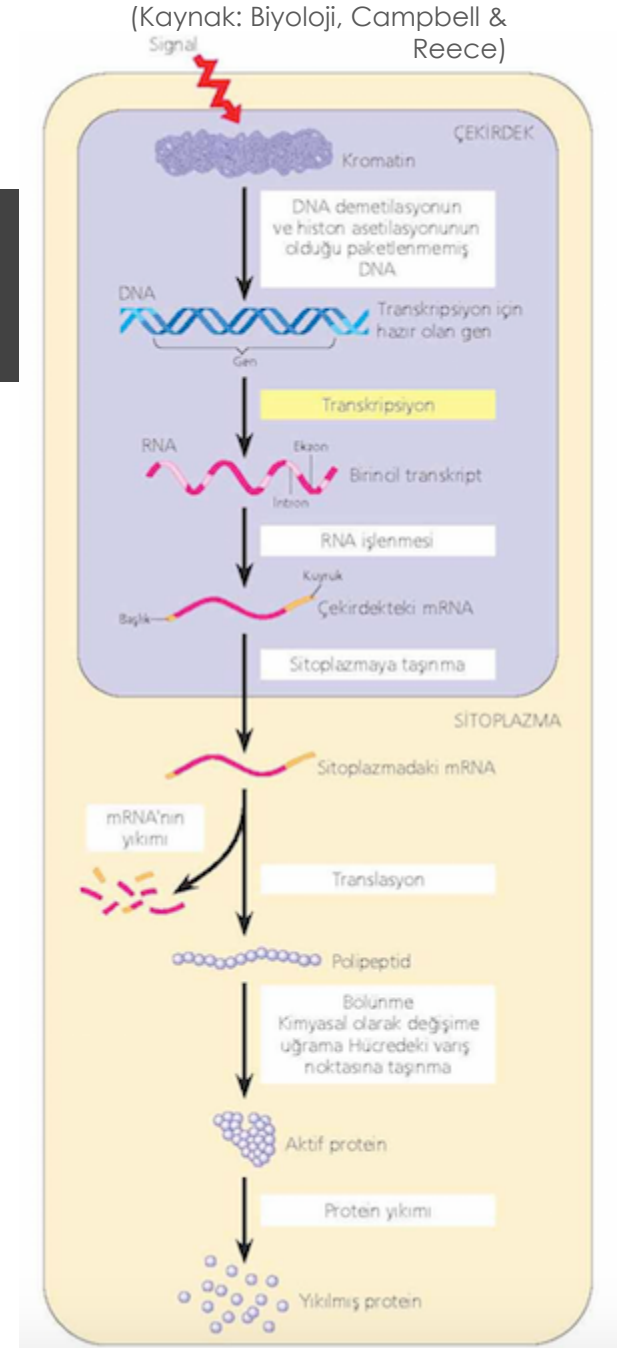
Gen ifadesinin kontrolü

- DNA'nın kromatin ipliklerden çözüldüğü evrede
- Transkripsiyonda
- RNA işlenmesinde ve translasyon aşamasında
- Proteinin şekillendirilmesi aşamasında



Gen ifadesinin kontrolü

- Her evrede kontrol yapma zorunluluğu yoktur.
- Ancak her evre, gen ifadesinin açılabilirdiği ya da kapandığı, hızlandığı ya da yavaşladığı potansiyel noktalardır.



Kromatin değişikliklerinin gen ifadesine etkisi

- Çok yoğunlaşmış durumdaki heterokromatinin genleri genellikle ifade edilmezler.
- Çünkü büyük olasılıkla transkripsiyon proteinleri DNA'ya ulaşamaz.

Kromatin değişikliklerinin gen ifadesine etkisi

- Genin transkripsiyon geçirip geirmeyeceğini belirleyen diğer faktörler muhtemelen şunlardır:
 - Genin nükleozomlarla bağlantılı yerleşimi
 - DNA'nın kromozom iskeletine ya da nüklear laminaya tutunduğu yerler
 - DNA metilasyonu
 - Histon asetilasyonu

DNA metilasyonu

- DNA sentezlendikten sonra, DNA bazlarına metil gruplarının (-CH₃) bağlanmasıdır.
- Çoğu bitkisel ve hayvansal DNA'ların özellikle sitozin molekülü metillenmektedir.
- Memelilerdeki inaktif X kromozomu da çok fazla miktarda metillenmiştir.
- Diğer taraftan metil gruplarının uzaklaştırılması, DNA'yı tekrar aktif hale getirmektedir.

DNA metilasyonu

- DNA metilasyonunun bazı canlı türlerinde embriyodaki hücrel farklılaşmalar sırasında gerekli olduğu düşünülmektedir.
- Metilasyonu sağlayan enzimin yokluğu, embriyonik gelişimde anormalliklere neden olmaktadır.
- Genler bir kere metilasyon geçirdiğinde, birbirini izleyen hücre bölünmeleri boyunca aynı şekilde varlıklarını sürdürürler.

DNA metilasyonu

- Metilasyon kalıpları bu şekilde yavru hücrelere de aktarılmış olur.
- Bu şekilde korunan metilasyon kalıbı aynı zamanda memelilerdeki genomik damgalama (imprinting) olayını da sağlar.
- Imprinting olayında, gelişimin başlangıcında bazı genlerin anneden ya da babadan gelen alleleri, metilasyonla kalıcı olarak kapatılır.

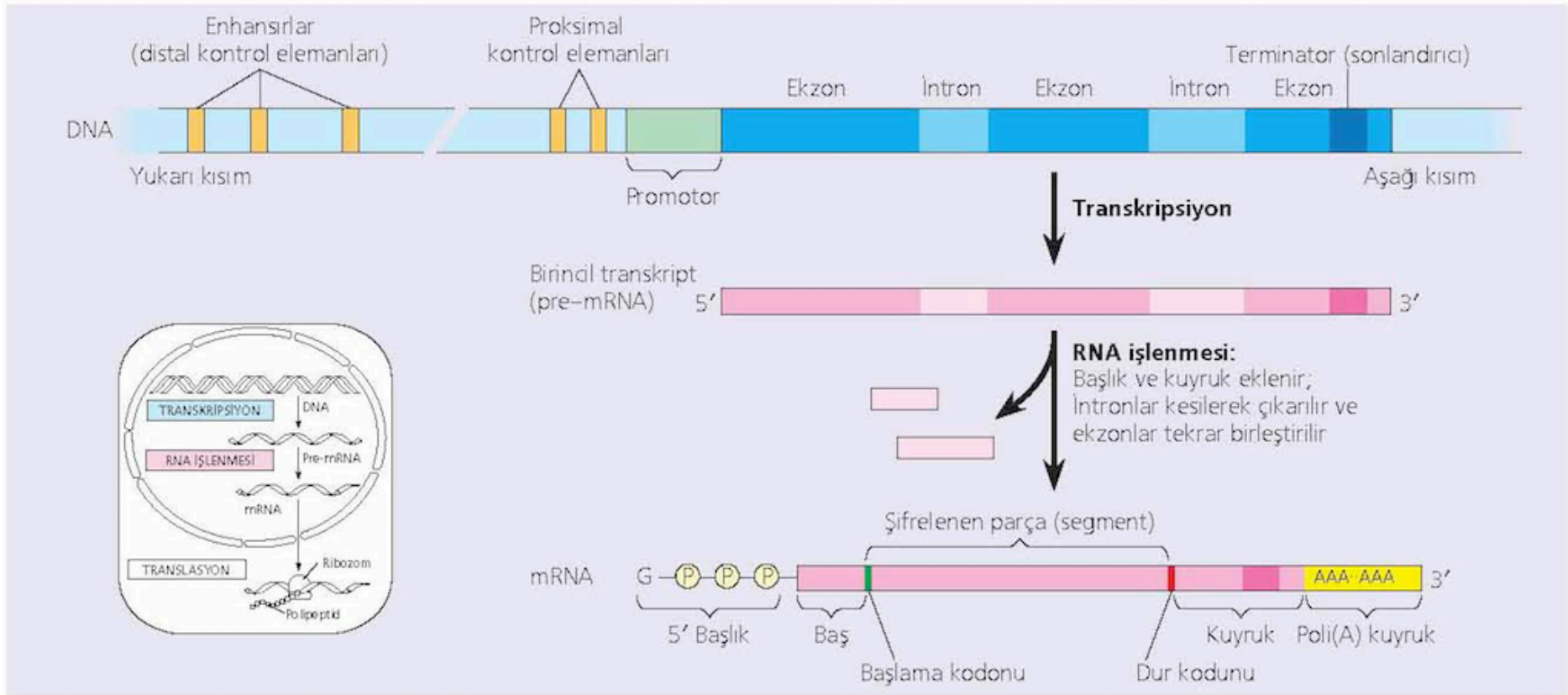
Histon asetilasyonu

- Histon proteinlerinde yer alan bazı aminoasitlere asetil gruplarının (-COCH₃) bağlanmasıdır.
- Deasetilasyon ise bu asetil gruplarının tekrar uzaklaştırılmasıdır.
- Histonlar, asetillendiğinde biçim değişikliğine uğrayarak DNA'ya daha gevşek bağlanır.

Histon asetilasyonu

- Sonuçta transkripsiyon proteinleri asetillenmiş bölgedeki genlere daha kolay girerler.
- Histon asetilasyonu ile genin transkripsiyonu arasında yakın ilişki bulunmaktadır.

Tipik bir ökaryotik genin organizasyonu



Tipik bir ökaryotik genin organizasyonu

- Prokaryotlarda genler içerisinde protein kodlamayan bölgeler bulunmazken, ökaryotik genlerde intronlar yer almaktadır.
- Intronlar, RNA'nın işlenmesi sürecinde primer transkriptten kesilerek uzaklaştırılır.
- Bu nedenle olgun mRNA'da intronlar görülmez.

Tipik bir ökaryotik genin organizasyonu

- mRNA'nın işlenmesi sırasında gerçekleşen diğer olaylar şunlardır:
 - 5' ucuna guanozin trifosfattan oluşan bir boşluk (cap) takılması
 - 3' ucuna bir poli A kuyruk eklenmesi

Tipik bir ökaryotik genin organizasyonu

- Ökaryotik genlerde ayrıca kontrol elemanları adı verilen diziler bulunur.
- Bu dizilere, transkripsiyon faktörleri adı verilen proteinler bağlanır.
- Kontrol elemanları genin transkripsiyonunu kontrol eden, fakat şifrelenmeyen DNA parçalarıdır.

Transkripsiyon faktörlerinin rolü

- Ökaryotik RNA polimeraz, bir genin transkripsiyonunu tek başına başlatamaz.
- Transkripsiyon faktörlerine bağımlıdır.
- Bilinen çok sayıda transkripsiyon faktörü bulunmaktadır.
- Bunlardan yalnızca bir tanesi, promotor içerisindeki TATA kutusu olarak bilinen DNA sekansını bağımsız olarak tanımaktadır.

Transkripsiyon faktörlerinin rolü

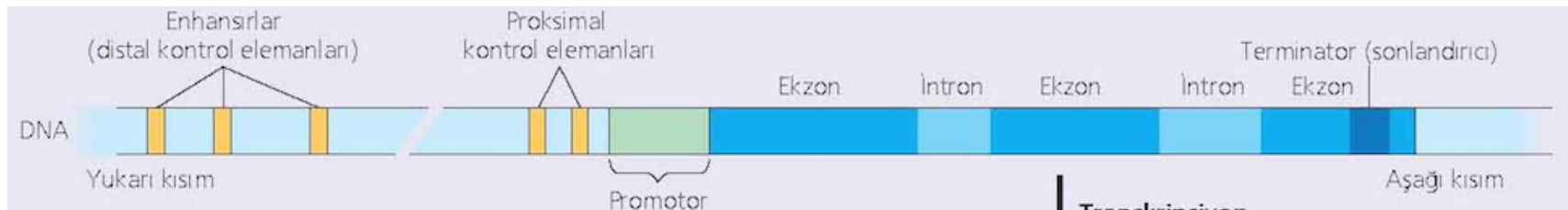
- Diğer transkripsiyon faktörleri ise RNA polimeraz ve diğer proteinleri tanır.
- Bu tarz protein-protein etkileşimleri, ökaryotik transkripsiyonun başlatılmasında son derece önemlidir.
- Transkripsiyon faktörlerinin etkisi ile transkripsiyon düşük bir hızda ve az miktarda RNA transkripti oluşturacak şekilde başlatılır.

Transkripsiyon faktörlerinin rolü

- Transkripsiyonun hızını artıran asıl etken kontrol elemanlarıdır.
- Bu DNA sekansları, ilave transkripsiyon faktörleri bağlamak suretiyle promotorun etkinliğini büyük ölçüde artırır.

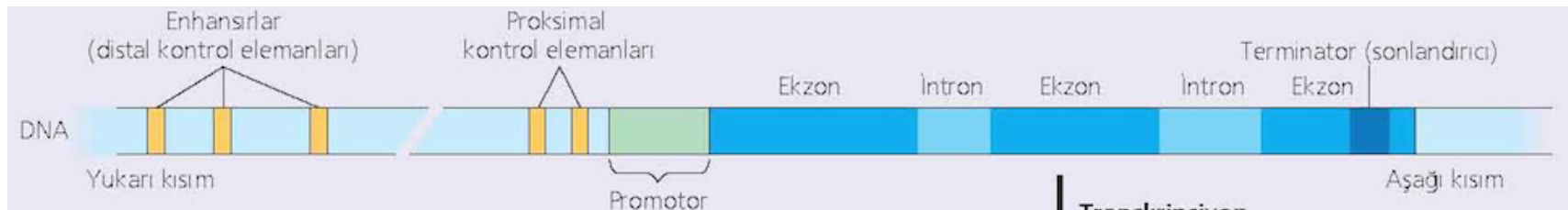
Kontrol elemanı türleri

- Kontrol elemanlarının bazıları promotora yakın konumlanmıştır.
- Bunlara proksimal kontrol elemanları adı verilir.
- Enhancers (kuvvetlendiriciler) adı verilen kontrol elemanları ise daha uzak yerlerde bulunurlar ve distal kontrol elemanları olarak da bilinirler.

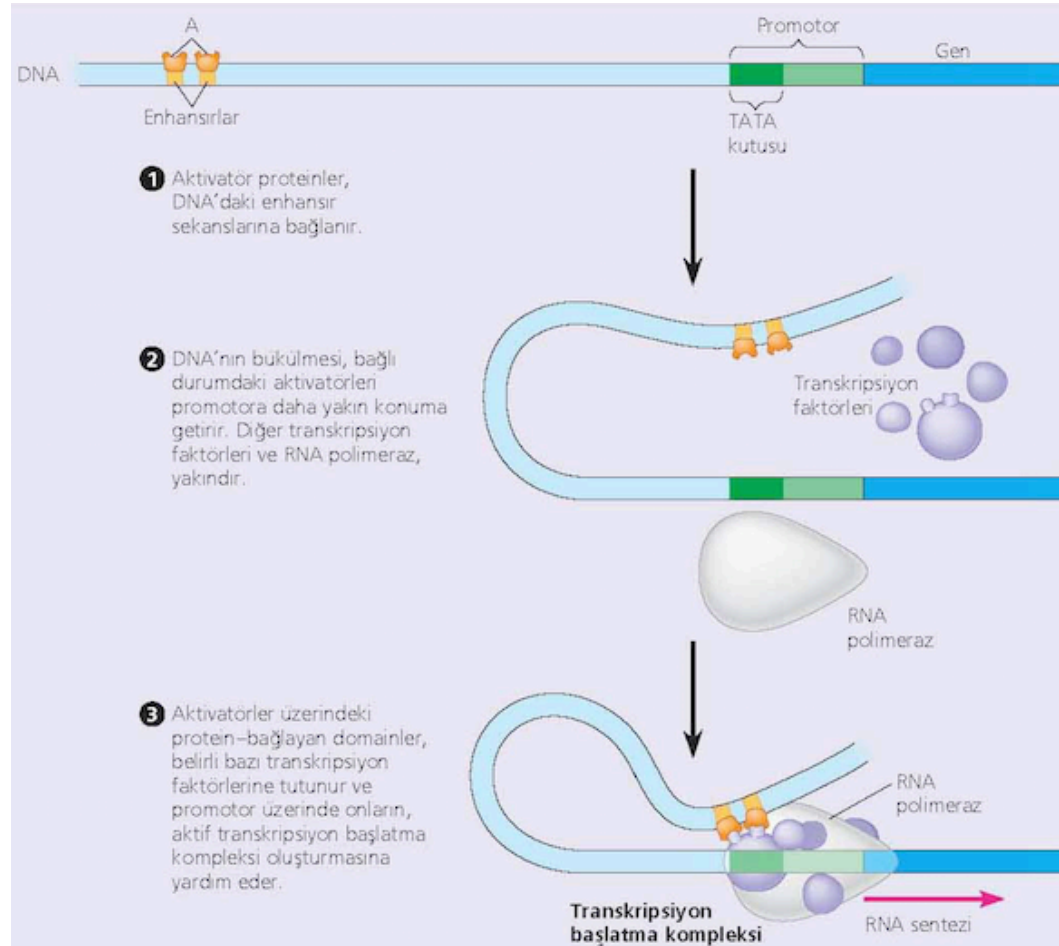


Kontrol elemanı türleri

- Bu kuvvetlendiriciler, binlerce nükleotitten oluşabilirler.
- Hatta genin iç kısmında, bazen de herhangi bir intronun içerisinde yer alabilirler.
- Transkripsiyon faktörleri ile enhansırlar arasındaki etkileşim, ökaryotlarda gen ifadesinin kontrolünde büyük önem taşımaktadır.



Enhansırlar transkripsiyonu nasıl etkiler?



Enhansrlar transkripsiyonu nasıl etkiler?

- Promotordan çok uzakta bulunmasına rağmen enhansrların transkripsiyonu nasıl etkilediği önemli bir konudur.
- Enhansrın bulunduğu noktanın promotore doğru büküldüğü ve buradaki transkripsiyon faktörleri ile etkileşim kurduğu düşünölmektedir.

Enhansırlar transkripsiyonu nasıl etkiler?

- Enhansıra bağlanan ve transkripsiyonu uyaran transkripsiyon faktörlerine aktivatör adı verilir.
- Aktivatörler, promotor üzerindeki başlatma kompleksinin pozisyon almasına yardım ederler.

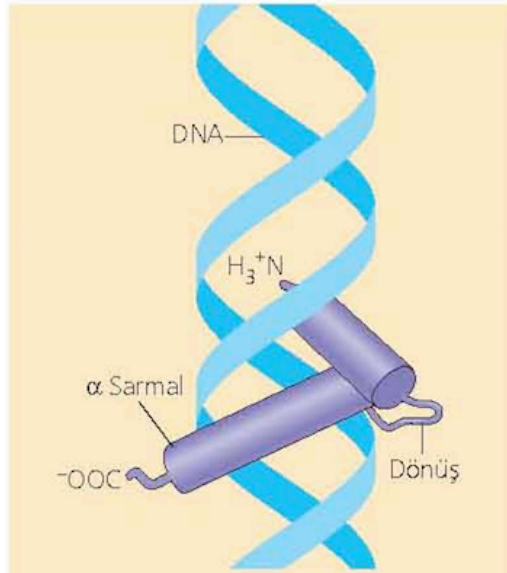
Sessizleştiriciler (silencers)

- Bakterilerde olduğu gibi ökaryotlarda da repressör (baskılayıcı) transkripsiyon faktörleri var mıdır?
- Evet, ökaryotik repressörlerin varlığına ilişkin kanıtlar vardır.
- Bunlara ilişkin en tipik örnek, seçici olarak DNA kontrol elemanlarına bağlanabilen sessizleştiricilerdir.
- Bunların enhansırlara analog olduğu kabul edilir.

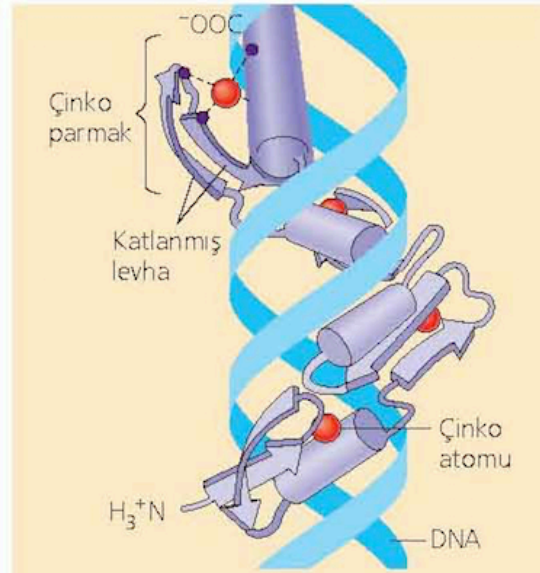
DNA bağlanma bölgesi (DNA binding factor)

- Ökaryotik transkripsiyon faktörleri çok sayıda olsa da benzer temel yapılara sahiptirler.
- Transkripsiyon faktörleri genellikle DNA bağlanma bölgelerine sahiptir.
- Transkripsiyon faktörü, bu bölge ile DNA'ya bağlanır.
- Ayrıca her transkripsiyon faktörü, diğer transkripsiyon faktörünü tanıyan protein bağlanma bölgesi içerir.

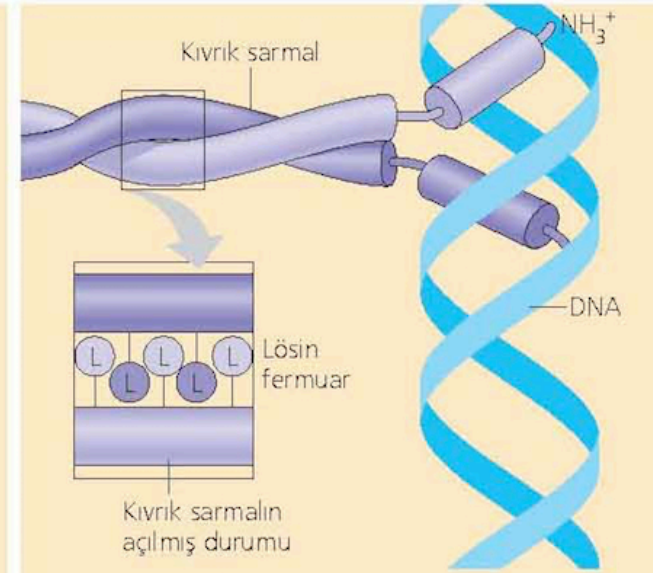
DNA bağlanma bölgesi (DNA binding factor)



(a) Sarmal-dönüş-sarmal motifi. Bu motif, prokaryotik lac ve trp repressör proteinlerinin de kapsayan düzenleyici birçok proteinde bulunur.



(b) Çinko parmak motifi. Her bir "parmak", bir çinko atomunun yardımıyla bir arada tutulan bir ve bir α - sarmal ve bir β levhadan meydana gelir.



(c) Lysin fermuar motifi. Düzenli aralıklarla lizin amino asitlerinin yer aldığı iki α sarmal, birbirinin etrafını sarar ve böylece iki polipeptidi birleştirerek bir arada tutar.

Farklı kromozomlardaki ökaryotik genler nasıl kontrol edilir?

- Birbirleriyle ilişkili olan genler prokaryotlarda bir operon altında toplanmıştır.
- Burada birbirine komşu olacak şekilde yer alırlar ve tek bir promotörü paylaşırlar.
- Operon altındaki tüm genler tek bir mRNA molekülüne kopyalanır ve birlikte tercüme edilir.

Farklı kromozomlardaki ökaryotik genler nasıl kontrol edilir?

- Ancak ökaryotik hücrelerde, nadir istisnalar dışında böyle operonlar bulunmaz.
- Ökaryotik genler, aynı kromozom üzerinde birbirine yakın olsa bile her biri kendi promotoruna sahiptir.
- Ökaryotik genlerin ifadesini ayarlayan özgül kontrol elemanlarının bulunduğu düşünülmektedir.
- Bu kontrol elemanlarını tanıyan transkripsiyon faktörleri, bu dizilere bağlanarak genlerin transkripsiyonunu eşzamanlı olarak iletmektedir.

Örneğin; steroidağ hormonlar

- Eşey hormonları olan steroidağ hormonlar vücutta çok yönlü etkiye sahiptir.
- Steroidağ bir hormon öncelikle sitoplazmaya girer.
- Daha sonra sitoplazma ya da çekirdekdeki özgül bir reseptöre bağlanan kimyasal bir işaret olarak işlev görür.

Örneğin; steroida hormonal

- Steroidin bağlandığı reseptör, transkripsiyon faktörü olarak işlev görür.
- Böylelikle hormon, özgül bir genin çalışmaya başlamasını sağlamış olur.

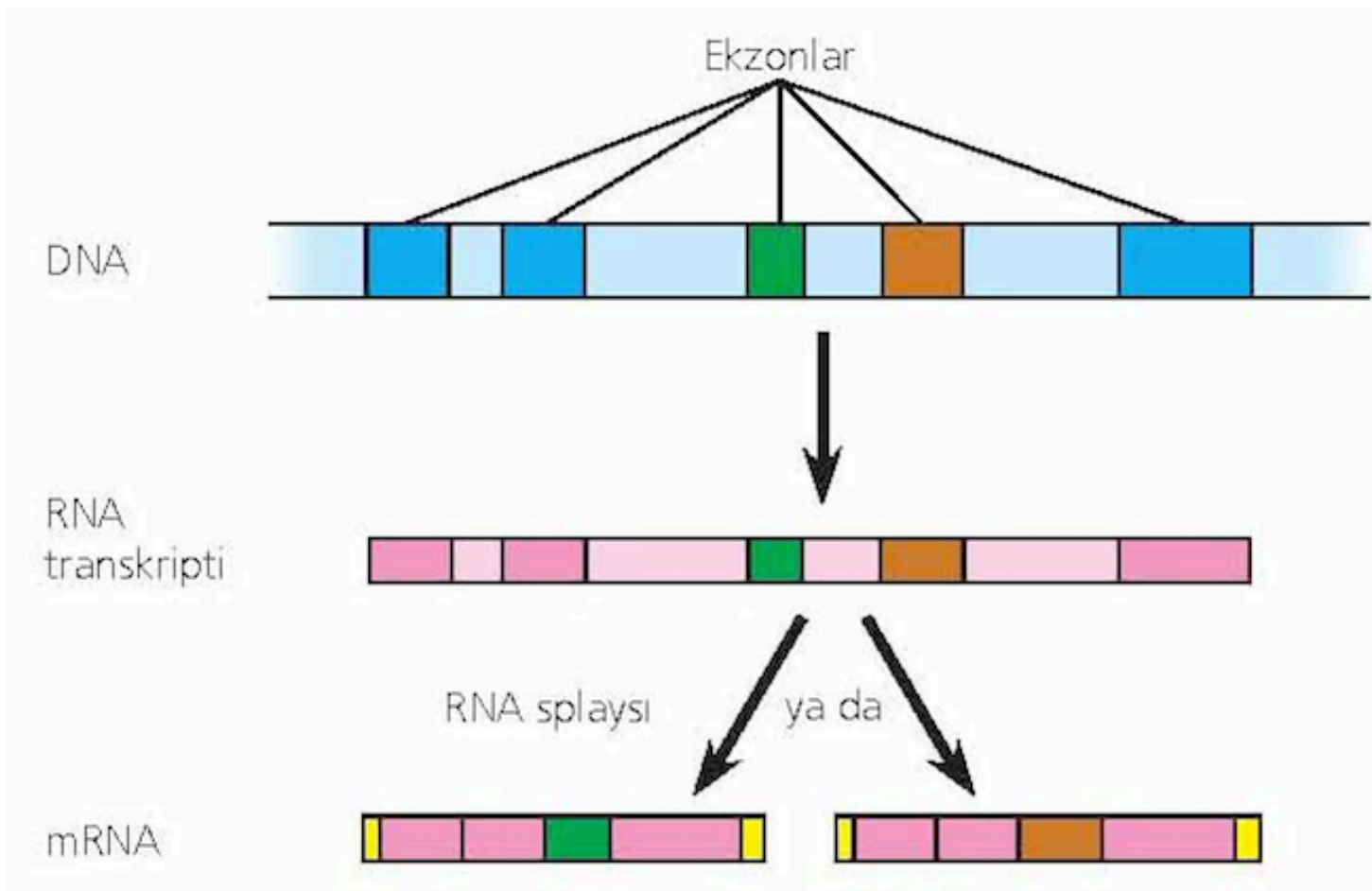
Hücre dışı sinyaller

- Steroidal olmayan hücre dışı sinyallerin büyük bir kısmı hücrenin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanırlar.
- Hiçbir zaman hücre içine girmezler.
- Ancak belirli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açan sinyal aktarım yollarını tetiklerler.
- Böylece dolaylı olarak gen ifadesini kontrol ederler.

Transkripsiyon sonrası düzenlemeler

- Transkripsiyon sonrası düzenleme mekanizmaları ile gen ifadesi üzerinde hızlı bir şekilde ince ayar yapılabilir.

Alternatif RNA splicing



Alternatif RNA splicing

- mRNA ökaryotlarda ilk sentezlendiğinde, ökaryotik DNA'da bulunan intron ve ekzon bölgelerini içermektedir.
- Ancak daha sonra intronlar uzaklaştırılarak ekzonlar farklı kombinasyonlarda birleştirilir.
- Böylelikle aynı primer mRNA'dan farklı olgun mRNA'lar üretilir.
- Hücre tipine özgün bazı proteinler, mRNA transkripti içerisindeki düzenleyici sekanslara bağlanarak intron-ekzon seçimini kontrol ederler.

mRNA yıkımının düzenlenmesi

- Sitoplazmadaki mRNA moleküllerinin ömür uzunluğu ile protein sentez tarzı arasında yakın ilişki vardır.
- Prokaryotik mRNA'lar çok kısa ömürlüdür ve yalnızca birkaç dakika sonra enzimler tarafından yıkılırlar.
- Ancak ökaryotlarda sitoplazmik mRNA'nın ömrü saatler, günler hatta haftalar boyu devam edebilir.
- Bunun en tipik örneğine kırmızı kan hücrelerinde rastlanır.

mRNA yıkımının düzenlenmesi

- Hemoglobin polipeptitlerini (α -globin ve β -globin) kodlayan mRNA'ların ömrü oldukça uzundur.
- Alışılmadık Şekilde kararlı olan bu mRNA'lar hücrede tekrar tekrar tercüme edilirler.

mRNA'nın ömür uzunluğuna etki eden diğer faktörler

- Poli A kuyruğunun enzimatik olarak kısaltılmasıyla mRNA yıkımının hızlandığı tespit edilmiştir.
- mRNA'nın 5' ucundaki başlığın ortadan kaldırılması da nükleaz enzimlerini harekete geçirir ve molekül hızlı bir Şekilde parçalanır.

Translasyonun kontrolü

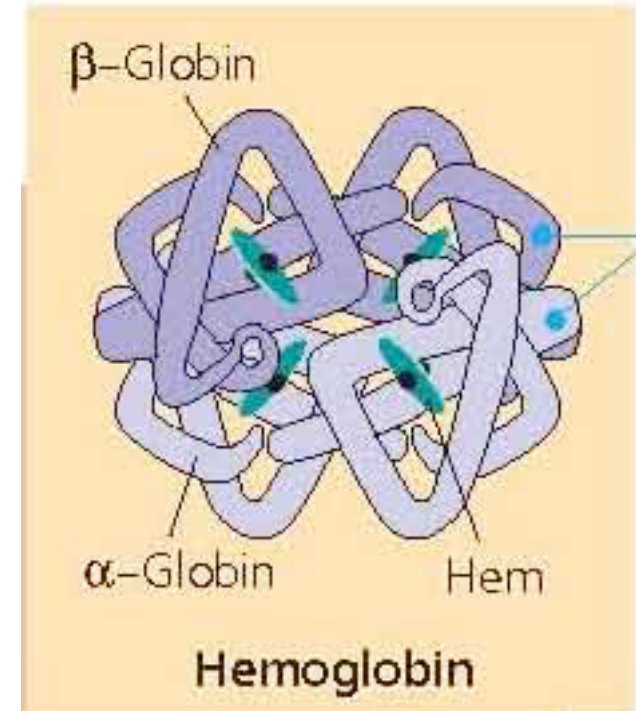
- Bazı özgül mRNA'ların translasyonunu engellemek mümkündür.
- Bu mRNA'ların 5' ucunda yer alan lider bölgedeki dizilere bağlanan düzenleyici proteinler, protein sentezini engelleyebilir.

Translasyonun kontrolü

- Bu mekanizma embriyonik gelişimde önemlidir.
- Çeşitli mRNA'lar yumurta içerisinde depolanır.
- Bu mRNA'lar döllenmeden sonra özüml evrelere kadar tercüme edilmez.

Hemoglobin sentezinin kontrolü

- İşlevsel bir hemoglobin molekülü, her biri ayrı bir polipeptite bağlanan dört tane hem grubu içerir.
- Gelişmekte olan kırmızı kan hücresinde yeterli miktarda hem grubu yok ise;



Hemoglobin sentezinin kontrolü

- Düzenleyici bir protein, translasyon için gerekli bir başlama faktörünü fosforlayarak inaktif hale getirir.
- Bu olay, tüm translasyonu inhibe eder.

Translasyonun kontrolünün embriyonik gelişimdeki önemi

- Çoğu organizmanın yumurta hücreleri, çok sayıda mRNA molekölü sentezler ve depolar.
- Bu moleköller döllenmeden hemen sonraya kadar tercüme edilmez.
- Translasyon, başlama faktörlerinin ani aktivasyonu ile belirlenir.
- Sonuçta bazı proteinlerin sentezinde ani artışlar meydana gelir.

Protein işlenmesi ve yıkımı

- Ökaryotik polipeptitlerin, işlevsel protein moleküllerine dönüşmesi için işlenmesi gerekir.
- Örneğin; aktif hormon meydana getirmek için başlangıçtaki insülin polipeptidinin bölünmesi gerekmektedir.
- Ayrıca birçok protein, işlev görmek için kimyasal değişikliklere ihtiyaç duyar.

Protein işlenmesi ve yıkımı

- Örneğin; hayvan hücresi yüzeyine gönderilen proteinlere şeker ilave edilmelidir.
- Bu proteinler, çoğu kez, fosfat gruplarının ilave edilmesi ile aktif ya da inaktif hale getirilirler.
- Ayrıca polipeptitler işlev görmek için hücredeki hedef bölgeye taşınmalıdırlar.

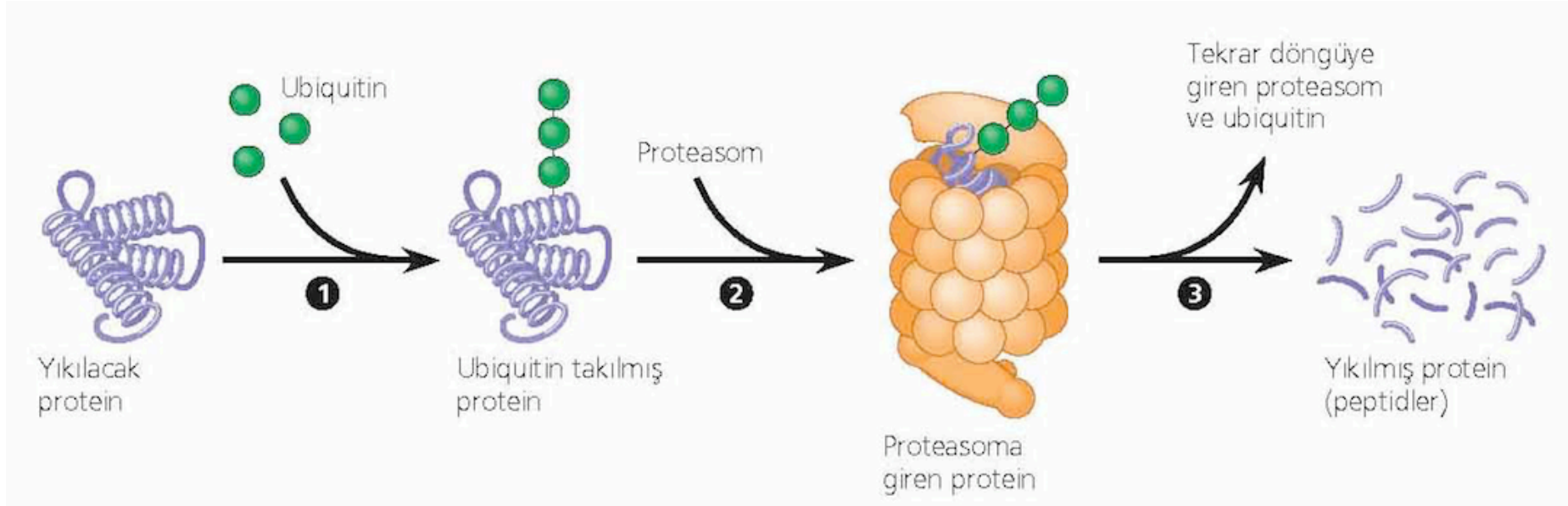
Kistik fibrozis

- Bir proteinin normal olmayan bir hedef seçmesi sonucu oluşan bir hastalıktır.
- Hastalık, klor iyon kanalı olarak işlev gören bir proteini kodlayan gendeki mutasyonun kaynaklanmaktadır.
- Kusurlu protein, hücredeki hedef bölgeye (plazma zarı) hiçbir zaman ulaşamaz ve hızlı bir şekilde yıkılır.

Proteozom

- Hücre, kusurlu olmayan proteinlerin ömür uzunluğunu da belirleyecek mekanizmalara sahiptir.
- Hücre döngüsünün düzenlenmesinden sorumlu siklinler buna örnek olarak verilebilir.
- Hücre, yıkılacak belirli bir proteini işaretlemek için genellikle o proteine ubiquitin'i takar.
- Daha sonra proteozom adı verilen dev protein kompleksleri ubiquitin'i tanır ve etiketli proteini yıkar.

Proteozom



Proteozom neden önemlidir?

- Hücre döngüsü proteinlerini proteozomların yıkımına kapalı hale getiren mutasyonlar, kansere yol açabilmektedir.

KANSERİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Kanser: Proto-onkogenler

- Bazı genler, hücrenin normal büyüme ve bölünmesini düzenlerler.
- Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar kansere yol açabilir.
- Retrovirüslerde onkogen adı verilen ve kansere yol açan genler bulunmaktadır.

Kanser: Proto-onkogenler

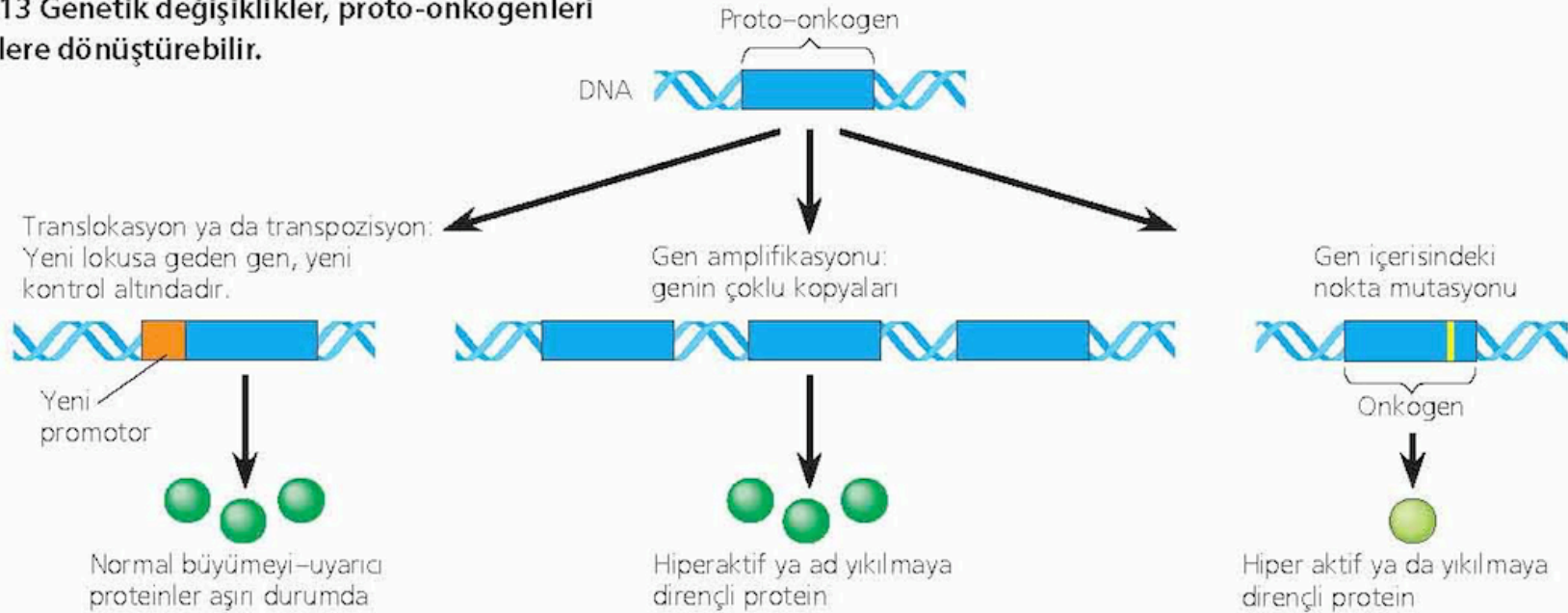
- Bu onkogenlerin benzer kopyaları insanların ve diğer hayvanların genomlarında da tespit edilmiştir.
- Proto-onkogen adı verilen bu genler, normal hücre bölünmesini ve büyümesini uyaran proteinleri şifrelerler.

Proto-onkogen, onkogene nasıl dönüşür?

- Proto-onkogenleri onkogenlere dönüştüren değişiklikler üç temel kategoride incelenebilir.
 - Genom içerisindeki DNA'nın hareketi
 - Proto-onkogenin çoğaltılması (amplifikasyonu)
 - Proto-onkogendeki nokta mutasyonu

Proto-onkogen, onkogene nasıl dönüşür?

ŞEKİL 19.13 Genetik değişiklikler, proto-onkogenleri onkogenlere dönüştürebilir.



Genom içindeki DNA'nın hareketi

- Malignant hücrelerde, kırılmış ve tekrar birleşirken yanlış birleşmenin olduğu kromozomlara sıklıkla rastlanır.
- Birleşme bölgesinde bulunan bir proto-onkogen, aktif bir promotora yakın bir bölgeye yerleşebilir.
- Bu aktif promotor, onu onkogene dönüştürerek transkripsiyonunu artırabilir.

Proto-onkogenin çoğaltılması (amplifikasyonu)

- Bu yolla proto-onkogenin hücredeki kopya sayısı artırılır.

Proto-onkogendeki nokta mutasyonu

- Mutasyon sonucunda, genin protein ürünü, yıkılmaya karşı daha dirençli bir yapı kazanır.

Tümör baskılayıcı (supressor) genler

- Büyümeyi uyarıcı proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlara ilave olarak,
- Hücre bölünmesini inhibe eden genlerdeki değişiklikler de kansere yol açabilir.
- Böyle genlere tümör baskılayıcı (supressor) genler adı verilir.

Tümör baskılayıcı (supressor) genler

- Bu genlerin şifreledikleri proteinler, normalde, kontROLSÜZ hücre büyümesini ve bölünmesini önlerler.
- Tümör baskılayıcı proteinler DNA'yı tamir edebilirler, böylece kansere neden olan mutasyonların hücrede birikmesini önlerler.
- Bazı tümör baskılayıcı proteinler ise hücrelerin birbirlerine ya da hücre dışı matrikse yapışmasını kontrol ederler.

Tümör baskılayıcı (supressor) genler

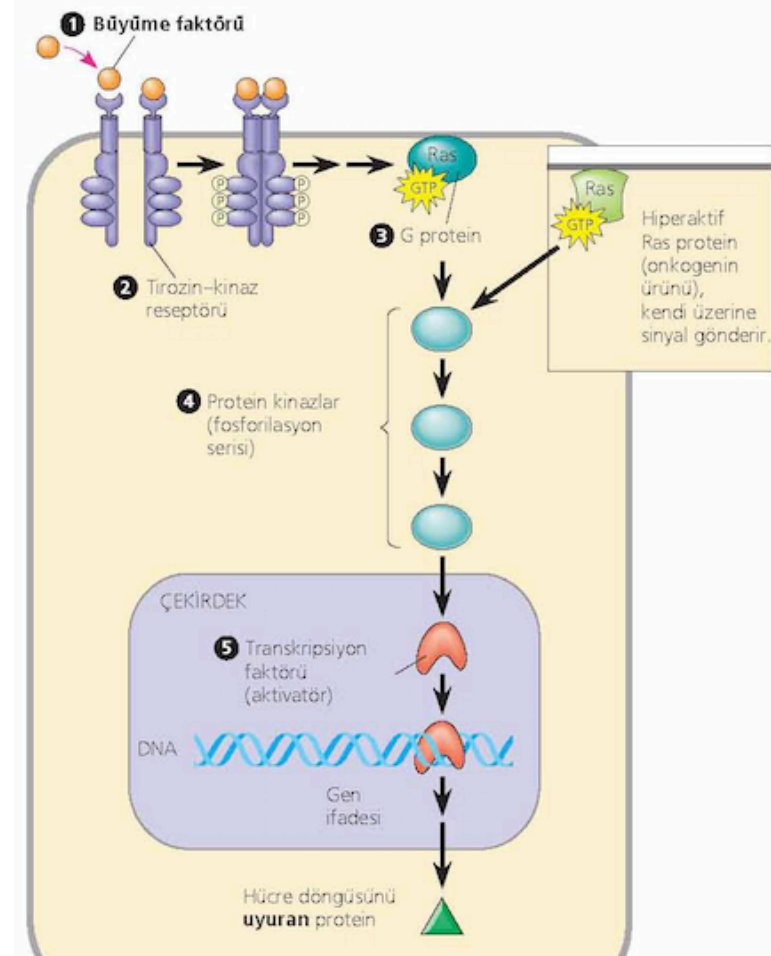
- Hücrelerin uygun bir şekilde bağlanması, normal dokularda çok önemlidir.
- Kanser hücrelerinde bu bağlanma genellikle görülmez.
- Diğer bazı tümör baskılayıcı proteinler ise hücre döngüsünü inhibe eden hücre sinyal yolu elemanlarıdır.

'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- Bu genlerdeki mutasyonlar insan kanserlerinde çok yaygındır.
- 'ras', insan kanserlerinin yaklaşık % 30'unda mutasyon geçirmiştir.
- p53 için ise frekans % 50'ye yakındır.
- Her iki genin ürünü olan protein de, dış sinyallerin hücre çekirdeğine iletilmesini sağlayan sinyal iletim yolu elemanlarıdır.

'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- Yandaki şekilde 'ras' proteininin, hücre zarındaki sinyali çekirdek DNA'sına taşıma mekanizması verilmiştir.
- Bu yolun sonundaki hücresel cevap, hücre döngüsünü uyaran bir proteinin sentezidir.

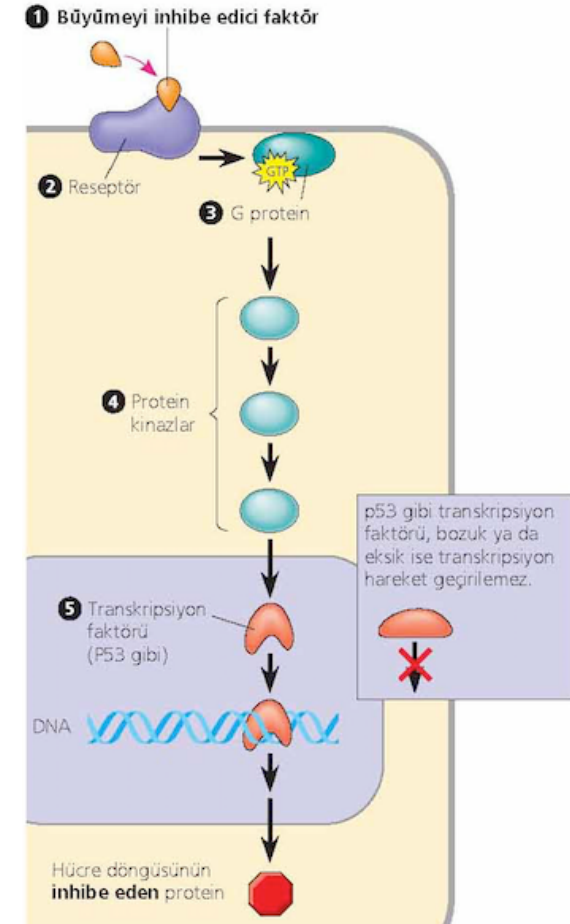


'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- Normal olarak böyle bir yol, uygun bir büyüme faktörü tarafından tetiklenmedikçe çalışmayacaktır.
- Ancak bu yolda yer alan bir onkogen proteini, büyüme faktörü olmasa bile hücre bölünmesini artırabilir.
- 'ras' onkogenlerinin çoğu, Ras proteininin hiperaktif versiyonuna yol açan bir nokta mutasyonuna sahiptir.

'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- Yandaki şekilde ise büyümenin inhibe edildiği yol gösterilmektedir.
- Bu yolda, büyümeyi inhibe edici sinyaller, hücre döngüsünü baskılayıcı bir proteinin sentezine yol açmaktadır.
- Böylece bu yolun elemanlarından sorumlu genler, tümör baskılayıcı genler gibi rol oynarlar.



'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- Normal p53 proteini, büyümeyi inhibe edici proteinlerin sentezini sağlayan bir transkripsiyon faktörüdür.
- Bu nedenle p53 genini devre dışı bırakacak bir mutasyon kansere yol açabilir.
- p53 geni, 'genomun koruyucu meleği' olarak da bilinir.
- p53 geninin ürünü olan p53 proteini, birçok gen için transkripsiyon faktörü olarak işlev görür.

'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- p53 proteini, p21 adlı başka bir geni harekete geçirir.
- p21 proteini ise sikline bağımlı kinazlara bağlanarak hücre döngüsünü duraksatır.
- Bu da hücreye, DNA'yı tamir etmesi için vakit kazandırır.

'ras' proto-onkogeni ve p53 tümör baskılayıcı geni

- DNA hasarı tamir edilemeyecek kadar büyük olduğunda p53 'intihar genlerini' harekete geçirir.
- Bu genlerin ürünleri, apoptozis adı verilen bir işlem ile hücrenin ölümünü sağlar.

Çoklu mutasyonlar ve kanser gelişimi

- Bir hücrenin tamamen kanserleşmesi için genellikle birden fazla sayıda mutasyona gerek vardır.
- Bu durum, kanser görülme sıklığının neden yaş ile birlikte büyük ölçüde artış gösterdiğini açıklamaya yardım edebilir.

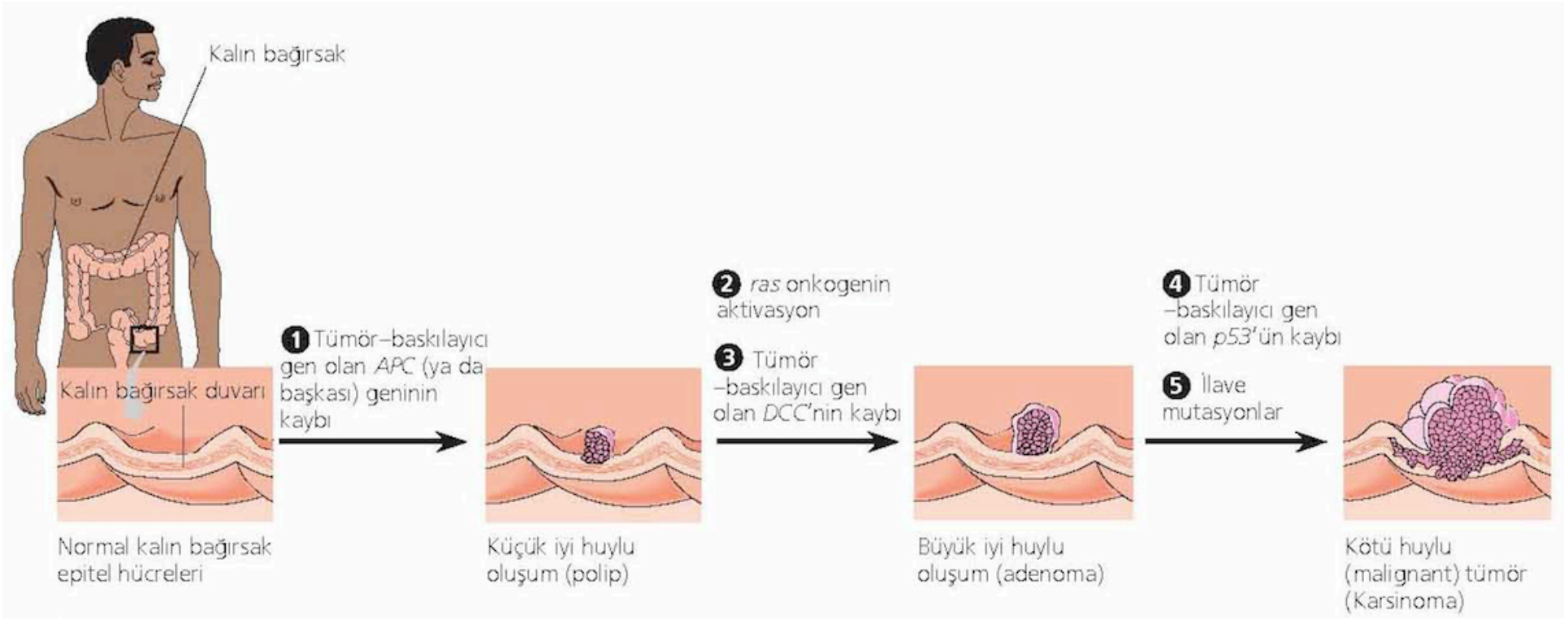
Çoklu mutasyonlar ve kanser gelişimi

- Eğer kanser, mutasyonların birikmesinden kaynaklanıyorsa ve
- Eğer mutasyonlar yaşam boyunca meydana geliyorsa,
- O zaman daha uzun süre yaşadığımızda kansere yakalanma olasılığımız daha yüksek olacaktır.

Kalın bağırsak-rektum kanserinin gelişimi

- Kansere giden çok basamaklı yol modelini en iyi açıklayan örneklerden birisidir.
- Birleşik Devletler'de her yıl yaklaşık 135.000 yeni kalın bağırsak-rektum kanseri teşhis edilmektedir.
- Çoğu kanser gibi kademeli olarak gelişen bir süreçtir.

Kalın bağırsak-rektum kanserinin gelişimi



Kalın bağırsak-rektum kanserinin gelişimi

- İlk belirti çoğunlukla bir poliptir.
- Polip, kalın bağırsaktaki iyi huylu küçük bir tümördür.
- Tümör büyür ve sonunda kötü huylu (malignant) yapıya dönüşür.
- Bu yapının gelişimi, onkogenleri faaliyete geçiren ve tümör baskılayıcı genleri devre dışı bırakan mutasyonların birikmesi ile paraleldir.

Kalın bağırsak-rektum kanserinin gelişimi

- Çoğu kez bu olayın içinde, bir ras onkogeni ve mutasyona uğramış bir p53 geni birlikte yer alır.
- Bir hücrenin tamamen kanserleşmesi için, DNA düzeyinde yaklaşık yarım düzine değişikliğin olması gerekir.
- Son olarak telomerazdan sorumlu gende aktif hale gelir.
- Bu enzim, kromozomların uç kısımlarının aşınmasını önler.

Kanser ve virüsler

- Dünya genelinde rastlanan insan kanseri vakalarının yaklaşık % 15'inin virüslerden kaynaklandığı düşünülmektedir.
 - Retrovirüsler, lösemiye neden olur.
 - Hepatit virüsleri, karaciğer kanserine neden olur.
 - Siğil virüsleri, serviks (rahim ağzı) kanserine neden olur.

Kanser ve virüsler

- Virüsler, enfekte olmuş hücrelerin DNA'sı içine kendi kalıtsal maddesini yerleştirerek kanser gelişimine katkı yaparlar.
- Bu işlemle bir retrovirüs, bir onkogeni hücreye verebilir.
- Ayrıca virüs DNA'sı, tümör baskılayıcı genin yapısını bozacak şekilde genomun içine yerleşebilir.
- Ya da virüs, bir proto-onkogeni onkogene dönüştürebilir.

APC (tümör baskılayıcı gen)

- 1997 yılında yapılan bir çalışmada Polonya, Alman ve Rus Yahudilerinin % 6'sında bu genin mutant olduğu tespit edilmiştir.
- Bu keşif, bu etnik grup içerisinde saptanmış en genel kansere yatkınlık mutasyonudur.

Göğüs kanseri

- Birleşik Devletler'de her yıl 180.000'den fazla kişinin yakalandığı önemli bir kanser türüdür.
- Vakaların % 5-10'unun kalıtsal yatkınlığa dayandığı düşünölmektedir.
- 1994 ve 1995'te göğüs kanserlerinde rol oynayan BRCA1 ve BRCA2 adlı iki gen tespit edilmiştir.
- Bu genlerden herhangi birinde meydana gelen mutasyon, göğüs ve ovaryum kanserlerinin gelişim riskini artırır.