

Gen İfadesinin Düzenlenmesi

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Genel Biyoloji

Bölüm 18

Dört Gözlü Balık: İki Ortam, Tek Göz

- *Anableps anableps* tatlı sularda süzülürken her gözünün üst yarısı suyun üstünde, alt yarısı suda kalır.
- Gözün üst yarısı havada görmeye, alt yarısı suda görmeye uyum sağlar.
- İki yarının hücreleri aynı genoma sahip olsa da görme ile ilişkili genleri kısmen farklı düzeylerde ifade eder.



Gen İfadesinin Düzenlenmesi Neden Hayati?

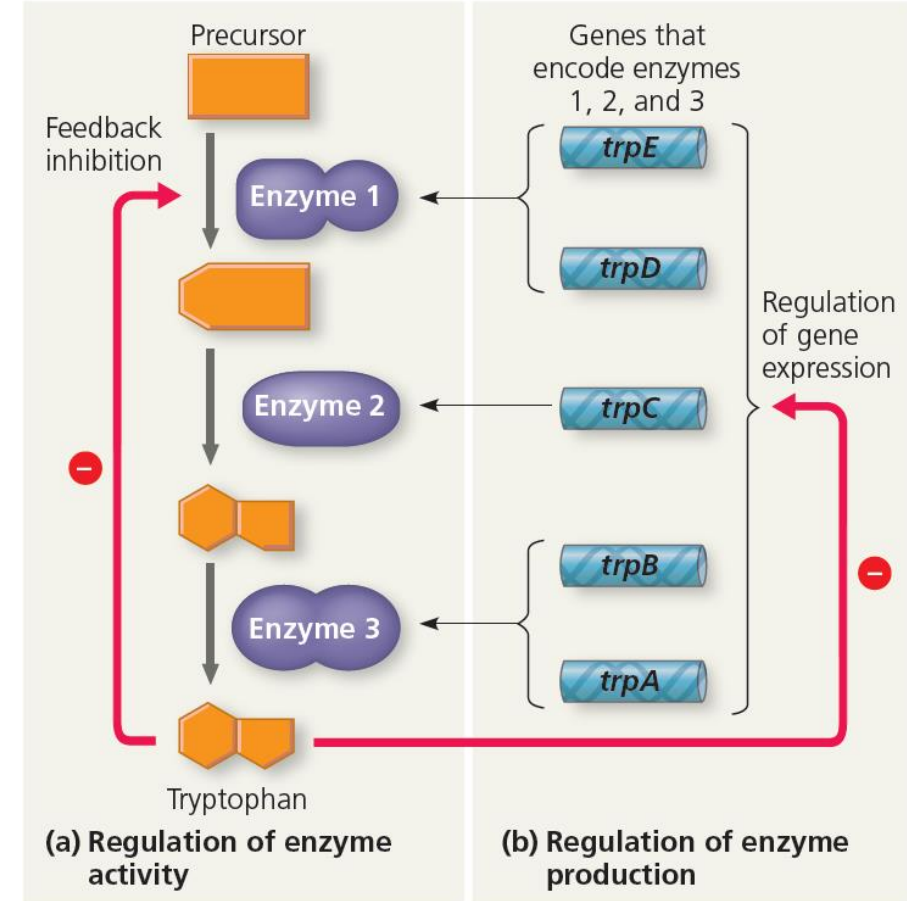
- Prokaryotlardan balık hücrelerine kadar tüm canlılarda gen ifadesinin hassas ayarı yaşam işlevlerinin temelidir.
- Bu bölümün ilk kısmında bakterilerin çevre koşullarına yanıt verirken gen ifadesini nasıl ayarladığını ele alacağız.
- Devamında ökaryotlarda genel düzenekler ve RNA'nın üstlendiği çeşitli roller incelenecektir.
- Son kısımda ise embriyonik gelişimde doğru düzenlemenin önemi ve kanserde düzenin bozulmasının sonuçlarını örnekleneyecektir.

Bakterilerde Tasarruf ve Uyum

- Kaynak ve enerji tasarrufu yapabilen bakteriler evrimsel açıdan avantaj elde eder.
- Bu nedenle yalnızca ihtiyaç duyulan gen ürünlerinin üretildiği durumlar seçimle desteklenir.
- Değişken bağırsak koşullarında yaşayan bir *E. coli* hücresinin besine göre yanıt vermesi bu duruma güzel bir örnektir.

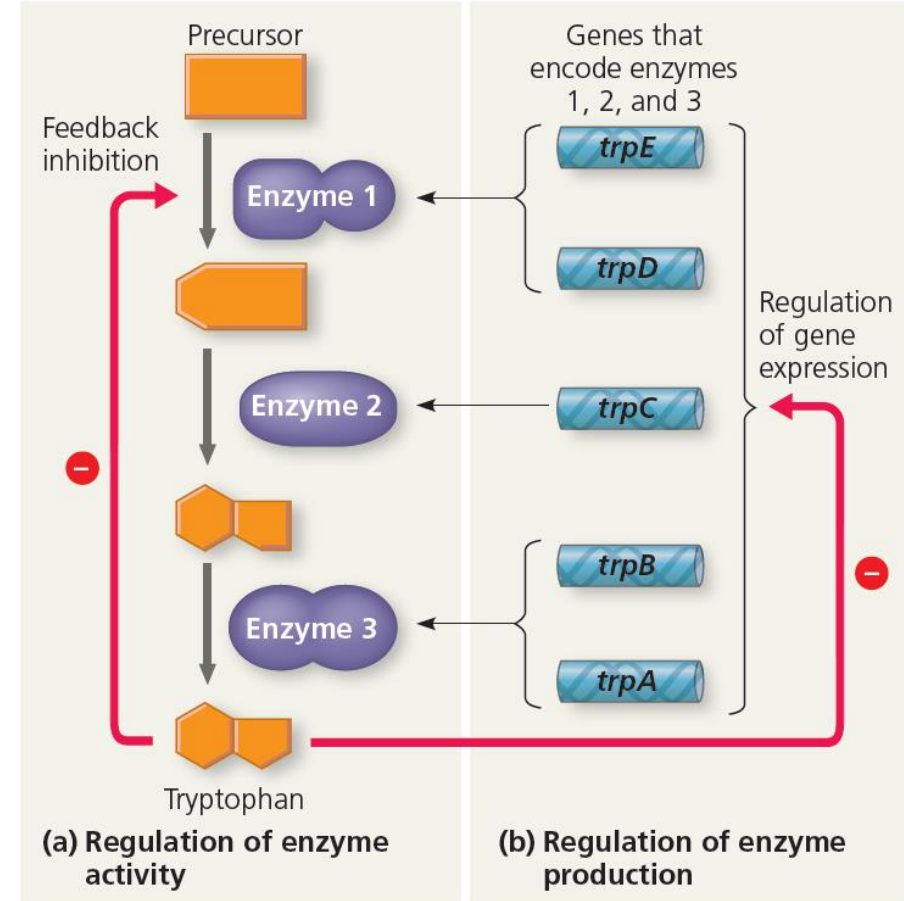
Triptofan Örneği ile Çevresel Sinyale Yanıt

- Ortamda triptofan yoksa hücre, başka bir bileşikten triptofan sentezleyen yolu etkinleştirir.
- Ev sahibinin triptofanca zengin bir öğününden sonra hücre bu sentezi durdurarak gereksiz harcamayı önler.
- Böylece hücre, dalgalanan besin düzeylerine uyum sağlayarak yaşamsal dengesini korur.



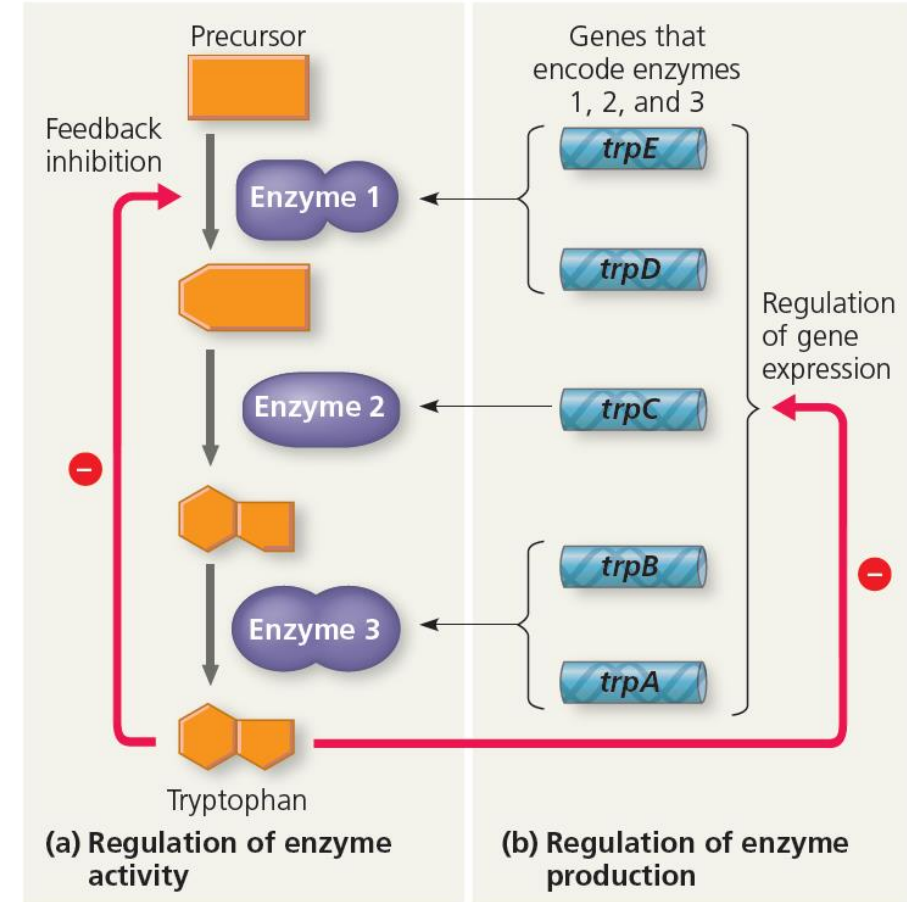
Düzey 1: Enzim Aktivitesinin Hızlı Ayarı

- Hücre, mevcut enzimlerin etkinliğini kimyasal işaretlere duyarlılıkları sayesinde hızla artırıp azaltabilir.
- Yolun ilk enzimi, son ürün olan triptofan biriktiğinde baskılanır ve sentez kapanır.
- Bu geri besleme tipi anabolik yollarda tipiktir ve kısa süreli dalgalanmalara uyumu sağlar.



Düzey 2: Gen İfadesinin Üretim Düzeyinde Ayarı

- Hücre, gerekli olmadığında ilgili enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu azaltır.
- Ortam triptofan sağlıyorsa sentez yolunun enzimlerini üretmeyi bırakarak kaynak kullanımını düşürür.
- Bu kontrol, mRNA sentezinin ayarlanmasına dayanır ve daha uzun vadeli bir yanıttır.

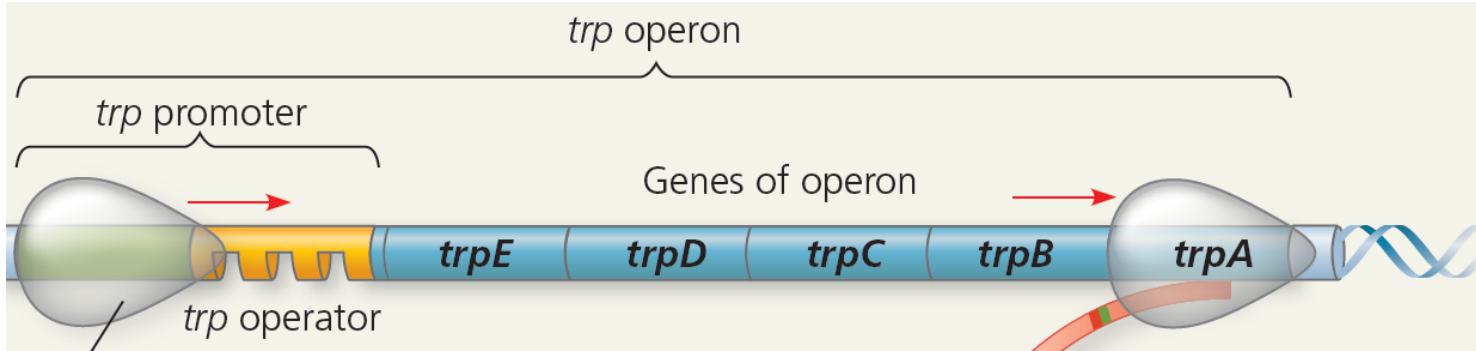


Operon Modeline Giriş

- Bakterilerde birçok gen, hücrenin metabolik durumuna göre açılıp kapanan ortak şalterlerle denetlenir.
- Bu temel düzenekler, gen ifadesinin bütüncül kontrolünü açıklayan operon modeli ile tanımlanır.
- 1961'de geliştirilen bu çerçeve, bakterilerin çevreye uyumda nasıl verimli davrandığını aydınlatır.

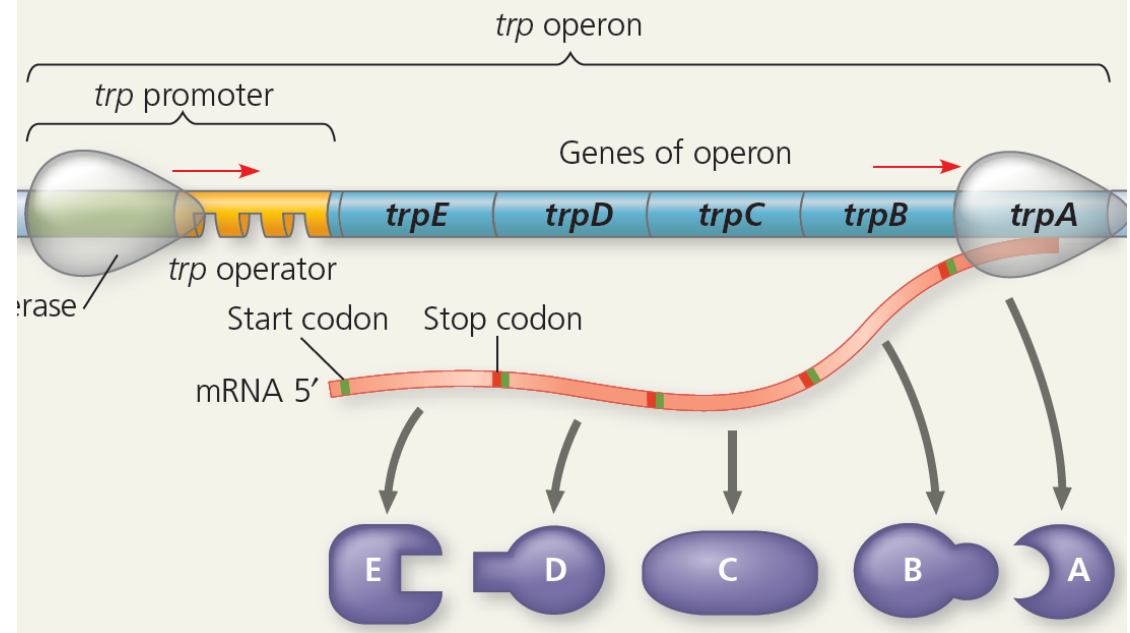
Operon Fikrinin Kalbi

- *E. coli*, triptofanı üç basamaklı bir yoldan sentezler.
- Her basamağı özgül bir enzim katalizler ve bu enzimlerin alt birimlerini kodlayan beş gen kromozomda kümelenir.
- Beş gen tek bir promotörden yönetilir ve birlikte bir transkripsiyon birimi oluşturur.



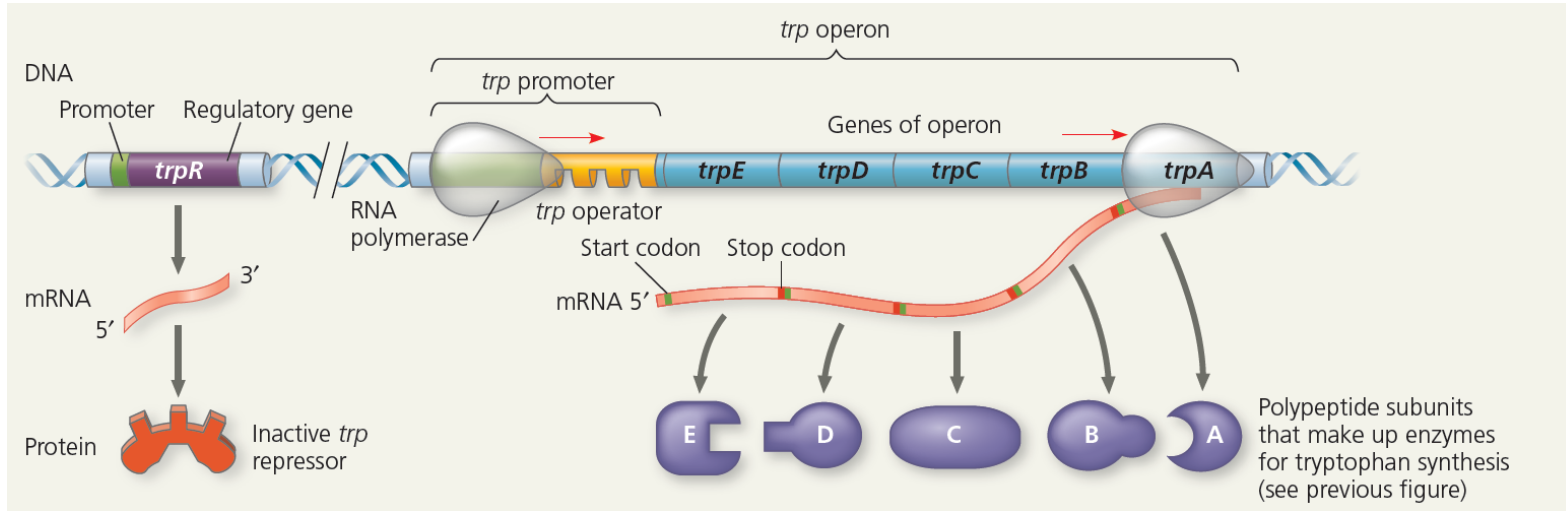
Tek mRNA, Beş Polipeptit

- Transkripsiyon sonucu oluşan uzun mRNA, yolun beş polipeptidini bir arada kodlar.
- mRNA dizisi, her polipeptidin nerede başlayıp bittiğini gösteren başlatma ve durdurma kodonları ile bölümlenir.
- Hücre, tek bir mRNA'dan beş ayrı polipeptidi çevirebilir.



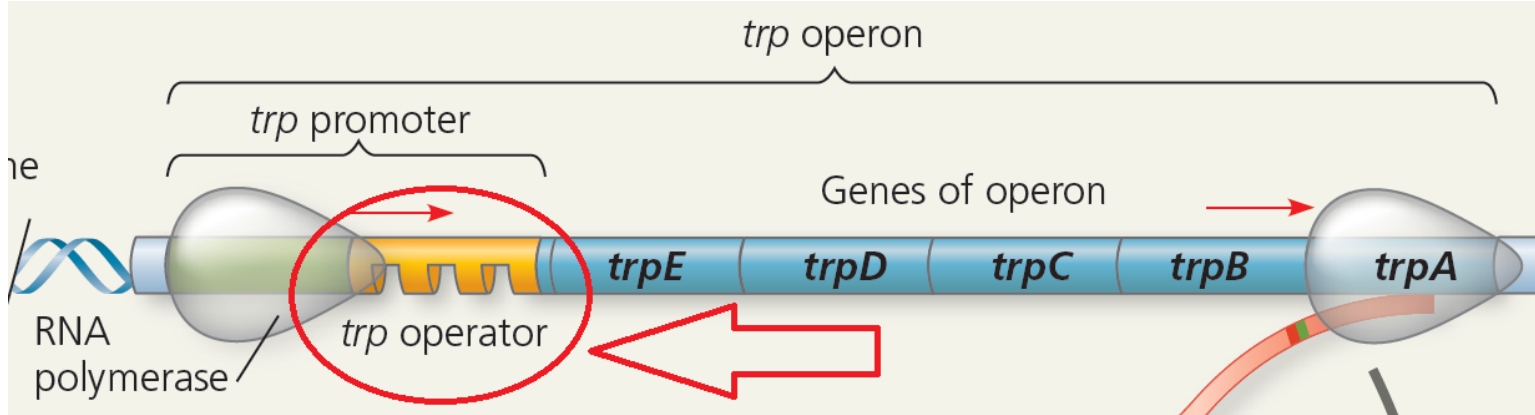
Koordineli Kontrolün Avantajı

- İlgili işlevdeki genlerin birlikte gruplanması, tek bir aç kapa düğmesi ile hepsinin yönetilmesini sağlar.
- Ortamda triptofan yoksa hücre bütün enzimleri aynı anda sentezler.
- Bu sayede gereksinim olduğunda yol hızlıca devreye girer.



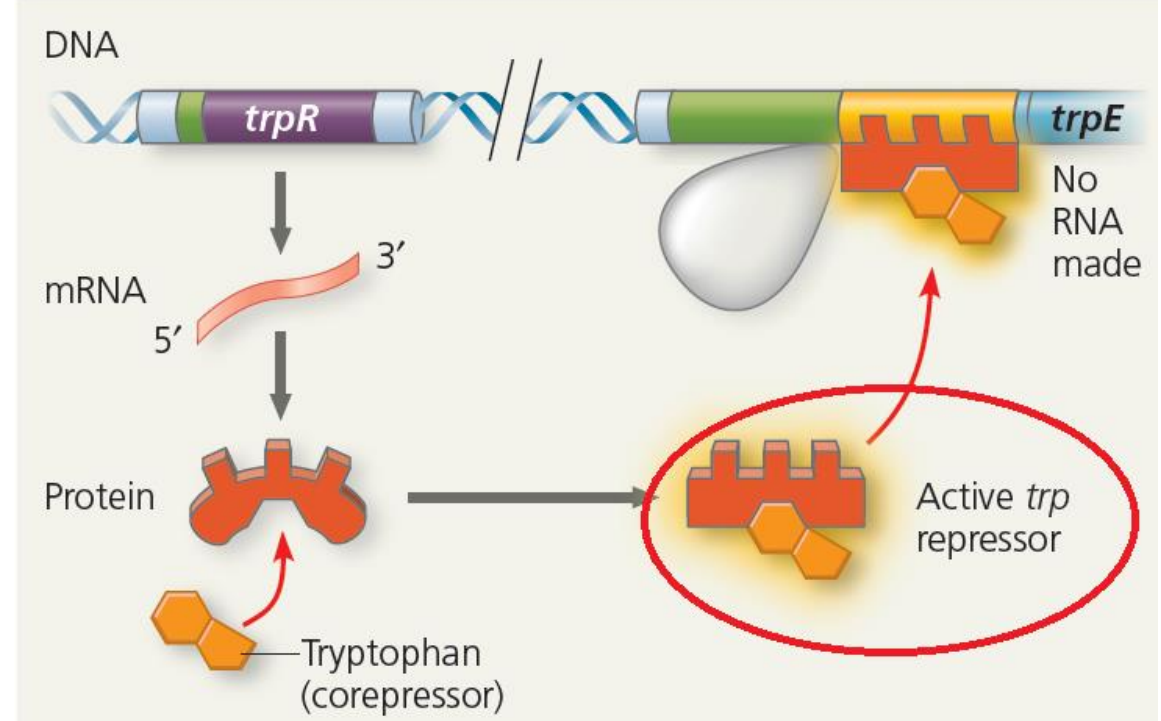
Operatörün Konumu ve Rolü

- Aç kapa düğmesi görevini operatör adı verilen DNA bölgesi üstlenir.
- Operatör, promotörün içinde ya da promotör ile enzim genleri arasında konumlanabilir.
- Operatör, RNA polimerazın genlere erişimini denetleyerek geçişi yönetir.
- Bu yapısal birlik operon kavramının temelini oluşturur.



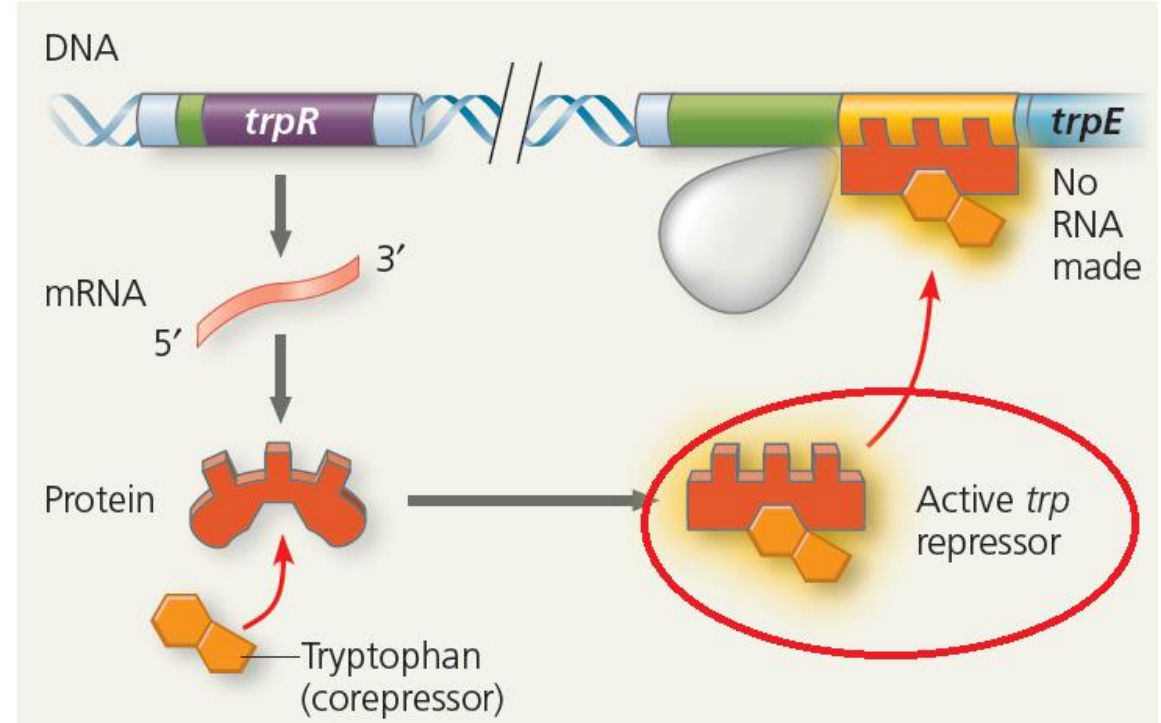
trp Operonu Varsayılan Olarak Açıktır

- trp operonu kendi başına açık durumdadır ve RNA polimeraz promotöre bağlanarak genleri transkribe edebilir.
- Operonun kapanması trp represör adlı bir proteinle sağlanır.
- Represör operatöre bağlanınca RNA polimerazın bağlanması engellenir ve transkripsiyon durur.



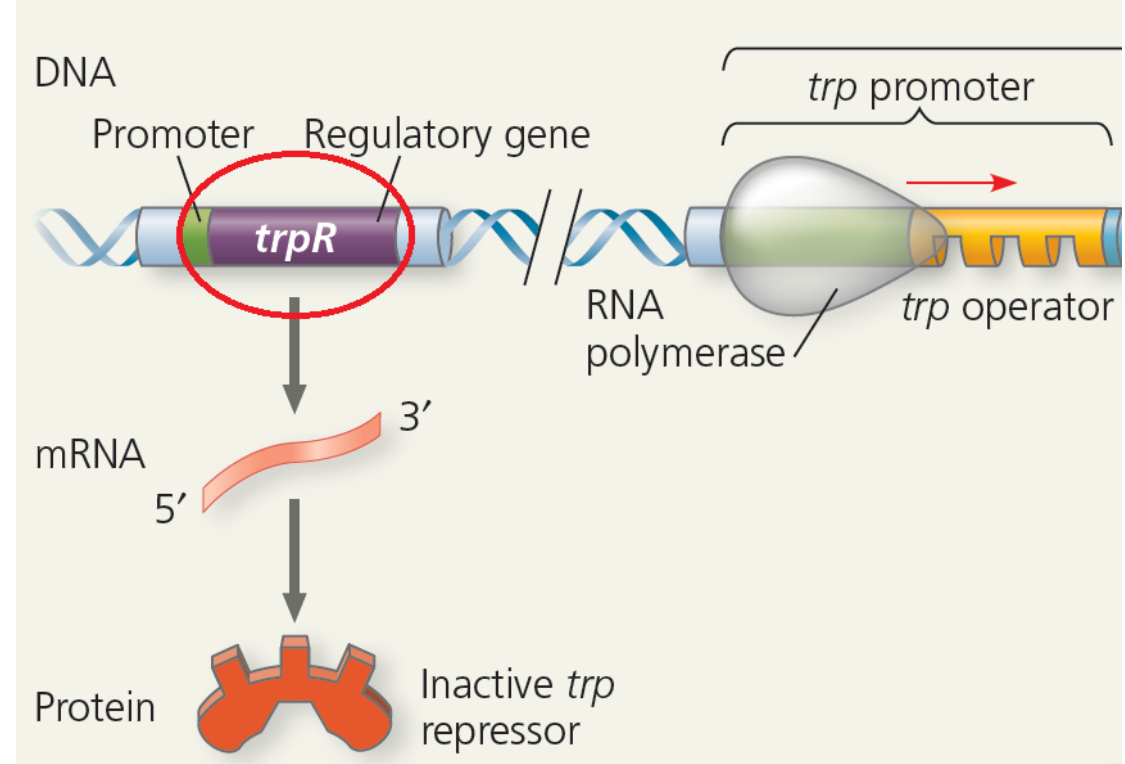
Özgüllük ve Genom İçindeki Seçicilik

- Her represör, yalnızca ait olduğu operonun operatörünü tanır.
- trp represörü, trp operatörünü kapatırken diğer operonları etkilemez.
- Bu seçicilik, yanlış hedefleri baskılamayı önleyen bir güvenlik katmanını sağlar.



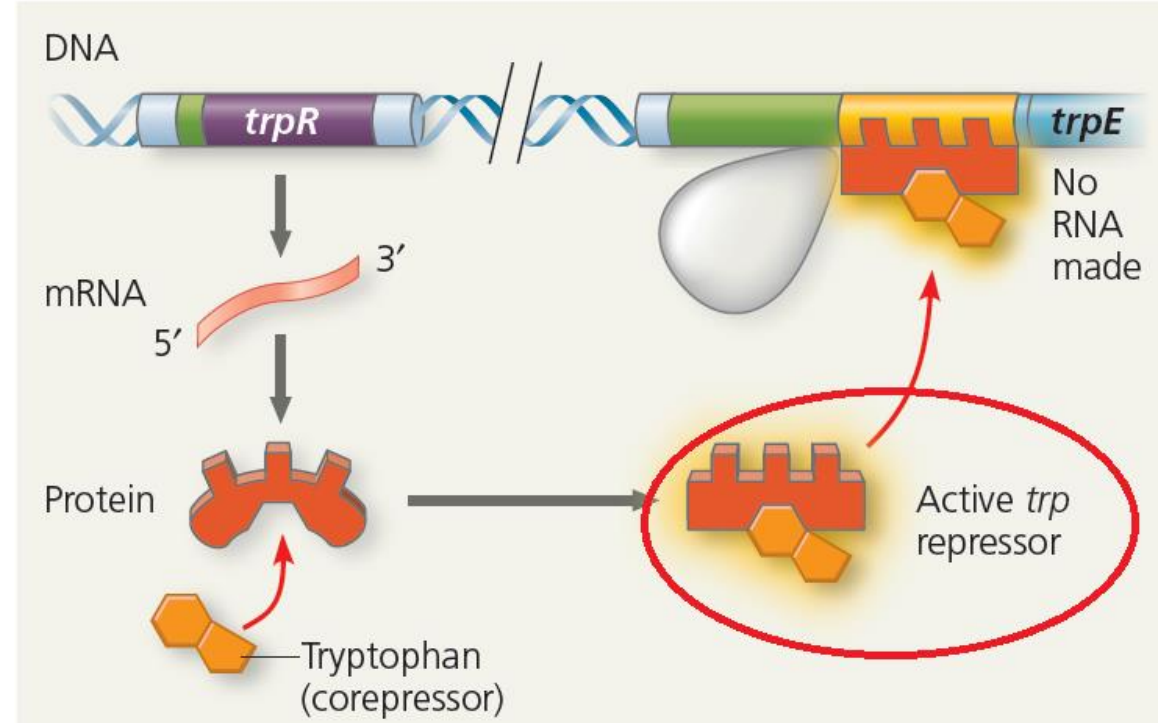
trpR ve Represörün Üretimi

- Represör proteini, trpR adlı düzenleyici gen tarafından kodlanır.
- trpR, operondan uzakta bulunur ve kendi promotörüne sahiptir.
- Düzenleyici gen düşük düzeyde sürekli ifade edilir ve hücrede bir miktar represör her zaman bulunur.



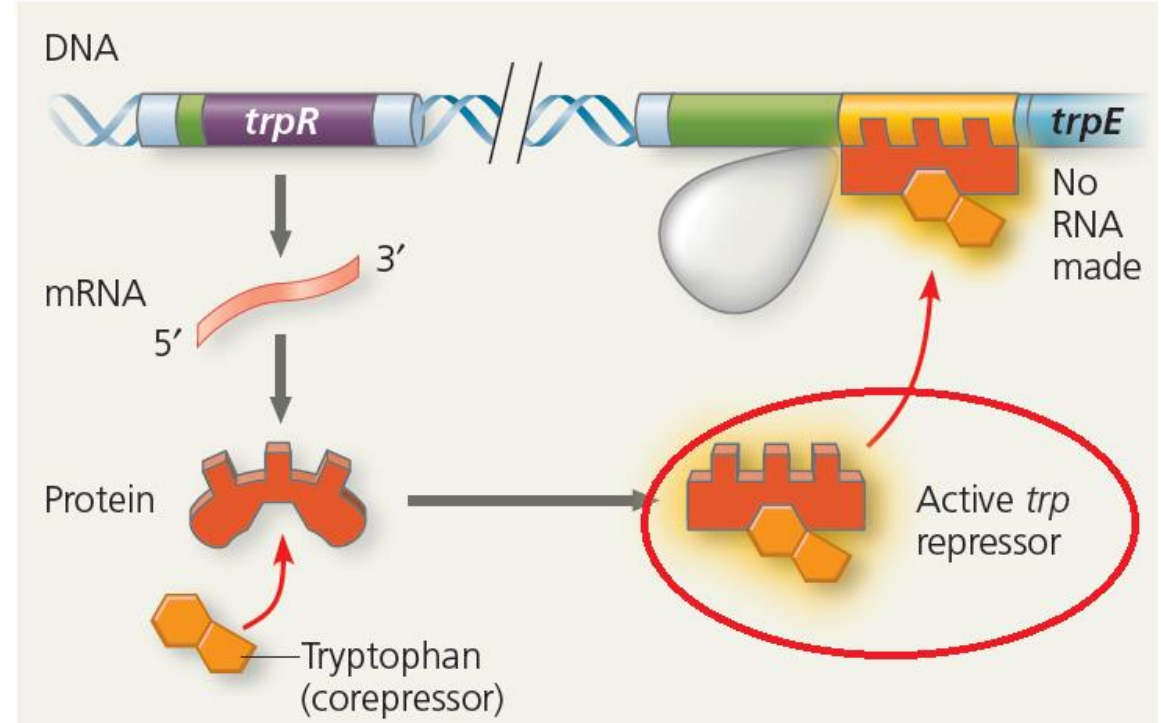
Bağlanma Dengesi ve Geri Dönüřlölük

- Represörün operatöre bağlanması tersinir bir süreçtir.
- Operatör, represör bağlı ve represörsüz iki durum arasında gidip gelir.
- Aktif represör molekülleri arttıkça bağlı kalma süresi uzar.
- Bu dinamik denge, kapanmanın süre ve řiddetini belirler.



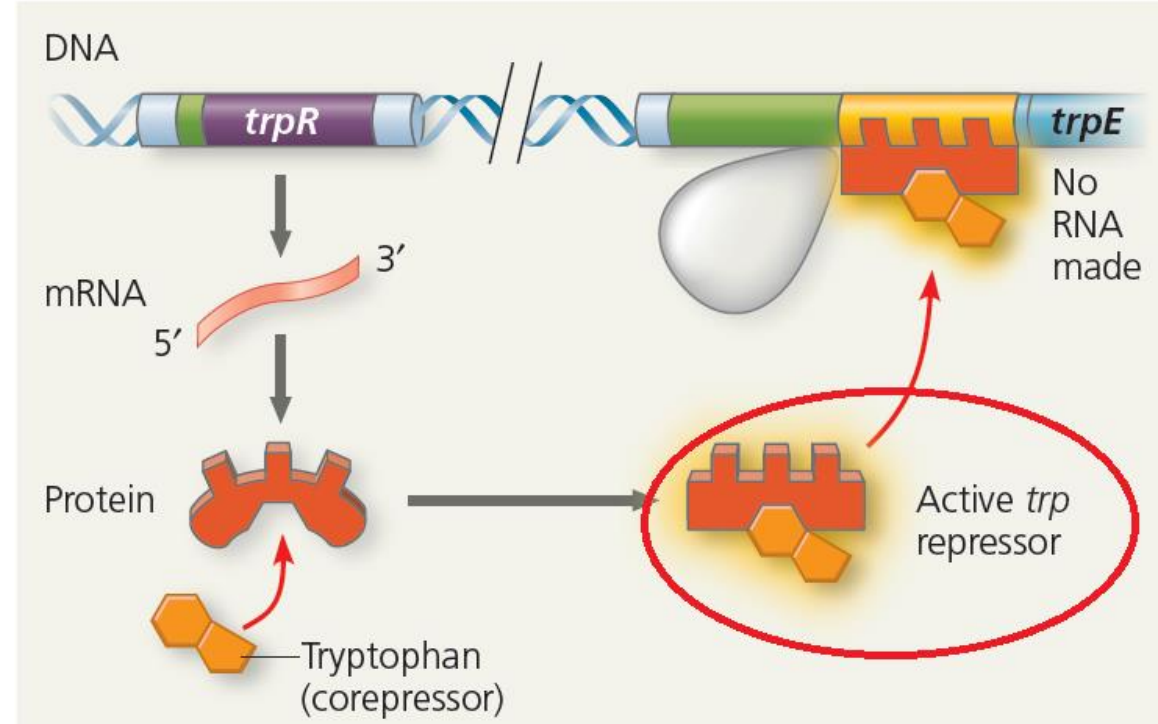
Allosterik Anahtar ile Etkinleşme

- trp represörü allosterik bir proteindir ve iki biçimi vardır.
- Represör inaktif biçimde sentezlenir ve trp operatörüne düşük ilgilidir.
- Triptofan represöre allosterik bölgeden bağlanınca protein aktif biçime geçer.



Ko-Repressör Olarak Triptofan

- Triptofan, operonu kapatma sürecinde represörle iş birliği yapan bir ko-represör gibi davranır.
- Triptofan birikince daha çok represör triptofan bağlar ve operatöre tutunarak yolu kapatır.
- Triptofan düzeyi düşüncce represörler triptofanı bırakır ve operatörden ayrılır.
- Bu iniş çıkışlar operonun iç ve dış çevre değişimlerine uyumunu sağlar.



Baskılanabilen ve Uyarılabilen Operonların Mantığı

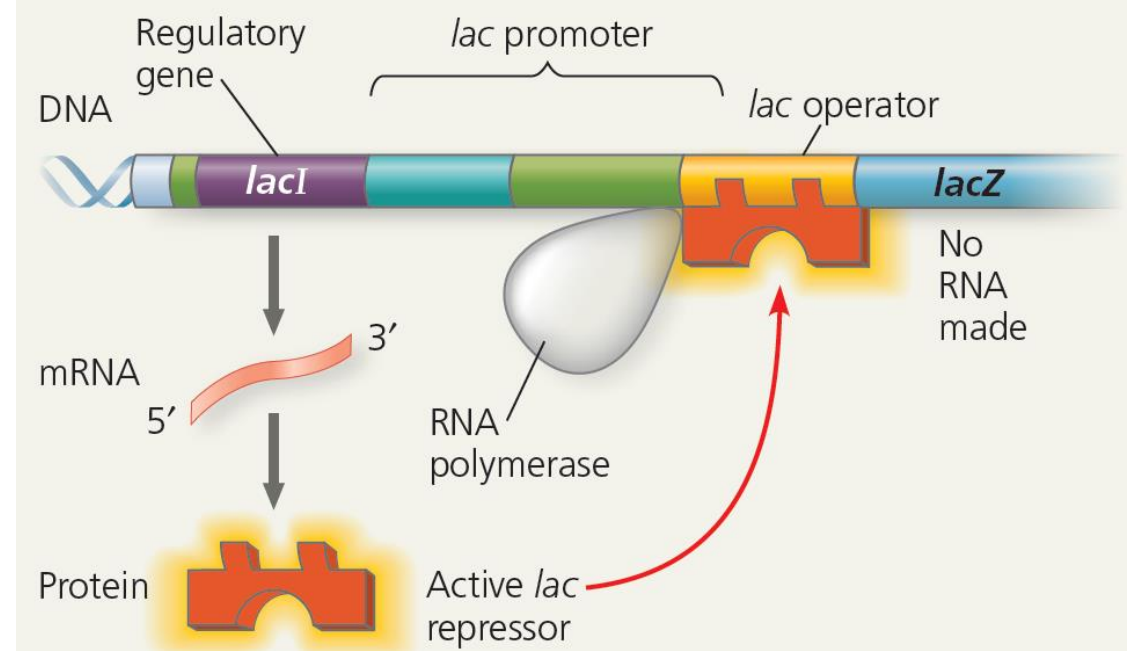
- trp operonu genellikle açık olan ve küçük-özgül bir molekülle baskılanabilen bir operondur.
- Uyarılabilen operonlar ise genellikle kapalıdır ve küçük-özgül bir molekülle uyarıldığında açılır.
- Uyarılabilen operonlara klasik örnek laktoz kullanımını yöneten lac operonudur.
- Bu iki model negatif gen düzenlemesinin farklı yüzlerini temsil eder.

Laktoz Varlığında Hızla Yanıt

- Laktoz, β -galaktosidaz tarafından glukoz ve galaktoza hidroliz edilerek parçalanır.
- Laktoz yokken hücrede β -galaktosidaz çok azdır, laktoz geldiğinde enzim düzeyi kısa sürede katlanarak artar.
- Bu hızlı artışı gerçekleştiren mekanizmanın temelinde lac operonu yatar.

Lac Operonunun Bileşenleri ve Genel Şema

- β -galaktosidazı kodlayan *lacZ*, laktoz kullanımındaki iki enzim geniyle birlikte aynı transkripsiyon birimindedir.
- Tüm birim tek bir ana operatör ve tek bir promotörün kontrolündedir.
- Operon dışındaki *lacI* düzenleyici geni allosterik bir represör proteini kodlar.

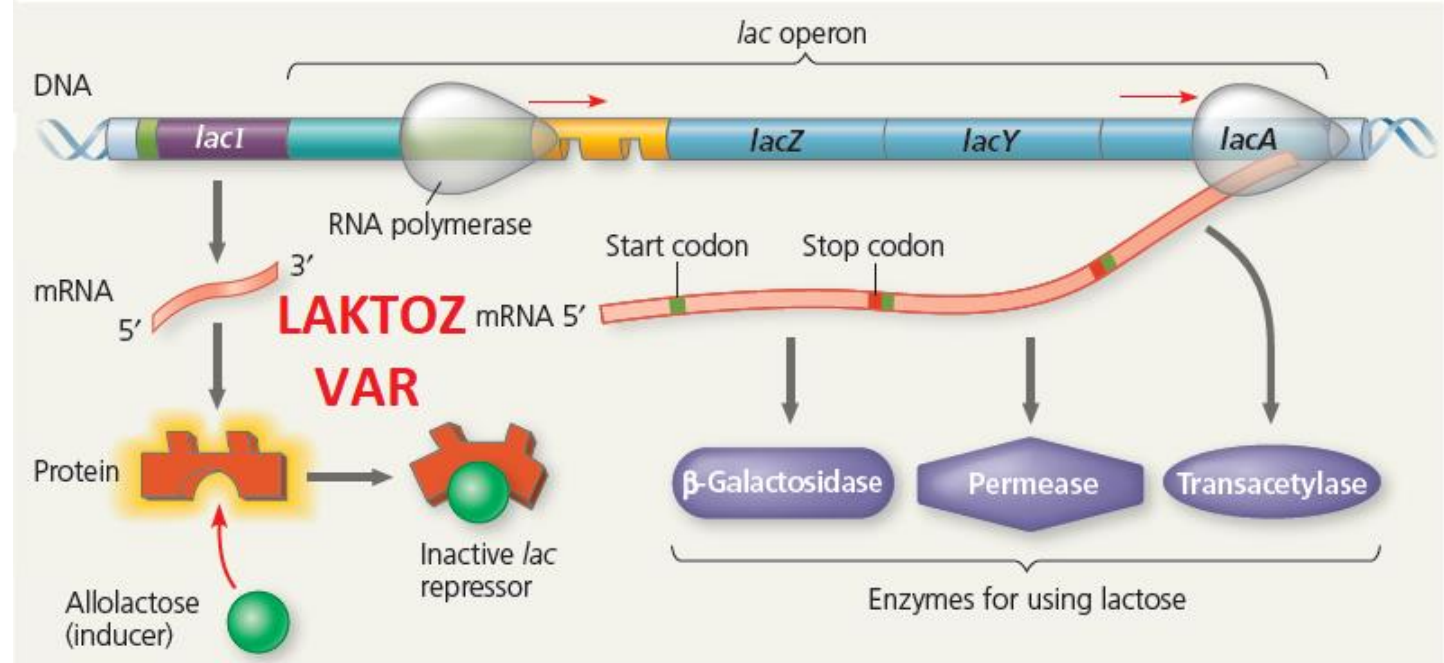
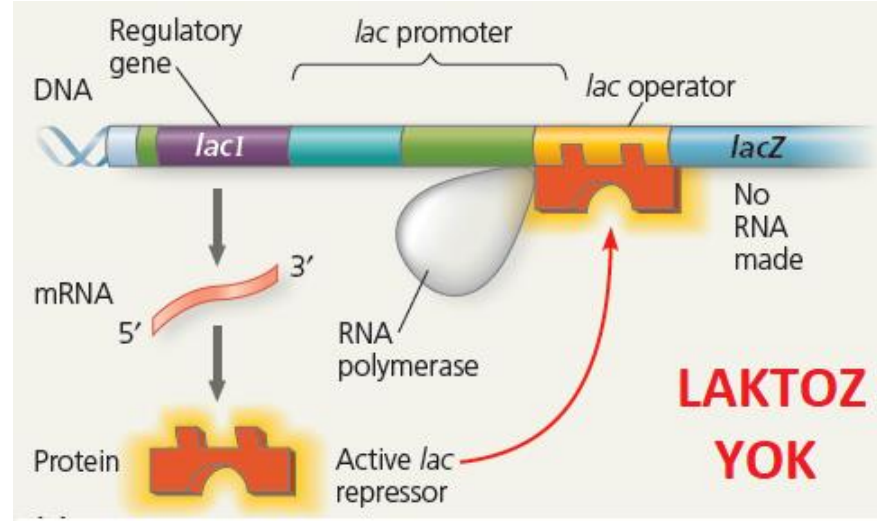


trp ve lac Represörlerinin Temel Farkı

- trp represörü tek başına inaktiftir ve operatöre bağlanmak için triptofana ihtiyaç duyar.
- lac represörü tek başına aktiftir ve operatöre bağlanarak lac operonunu kapatır.
- lac düzeninde bir indükleyici molekül represörü etkisizleştirerek kapıyı açar.

İndükleyici Olarak Allolaktoz

- Hücreye giren laktozun küçük bir kısmından allolaktoz izomeri oluşur.
- Laktoz yoksa allolaktoz da yoktur, lac represörü aktif kalır ve operatöre bağlanır.
- Laktoz geldiğinde allolaktoz represöre bağlanır ve operatörden ayrılmasını sağlar.



Uyarılabilen ve Baskılanabilen Enzimlerin İşlev Bağlamı

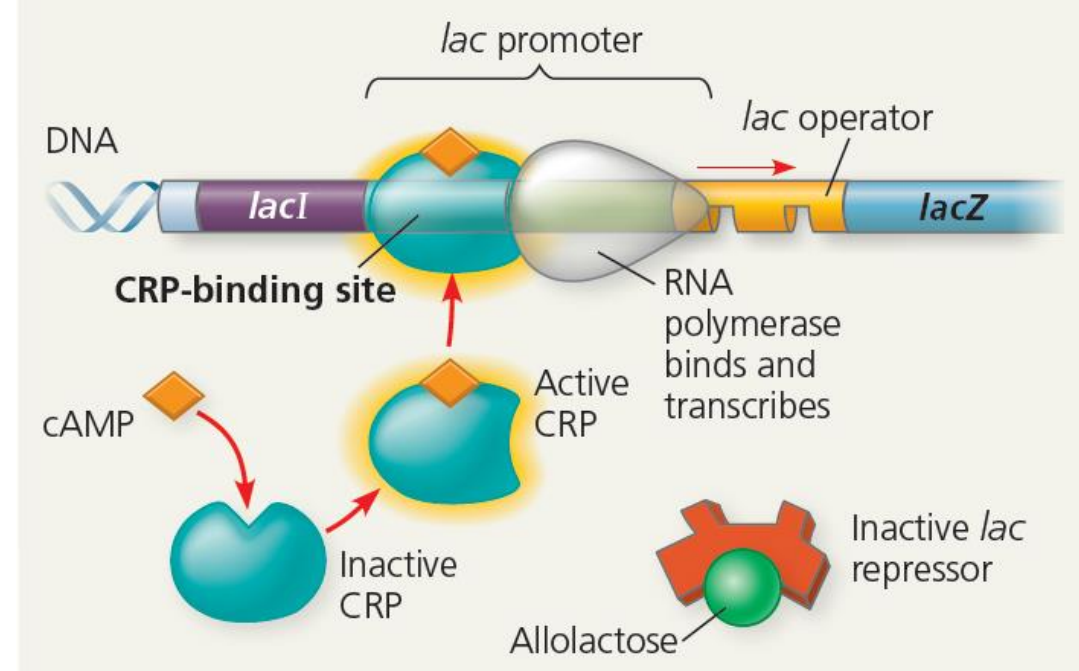
- Laktoz yolundaki enzimler kimyasal bir sinyalle sentezi tetiklenen uyarılabilen enzimlerdir.
- Triptofan sentez yolundakiler ise gereksiz olduğunda kapatılan baskılanabilen enzimlerdir.
- Baskılanabilen enzimler genelde anabolik yollarda, uyarılabilen enzimler ise katabolik yollarda görev yapar.
- Hücre bu sayede enerji ve öncülleri ihtiyaç anına saklar.

Glukoz Varken Tercih ve Sürekli Glikoliz Enzimleri

- Glukoz ve laktoz birlikteyken *E. coli* önce glukozu kullanır.
- Glikoliz enzimleri hücrede sürekli bulunur ve glukoz parçalanması aksatılmaz.
- Glukoz azalınca laktoz kullanımına geçiş ve ilgili enzimlerin üretimi belirginleşir.

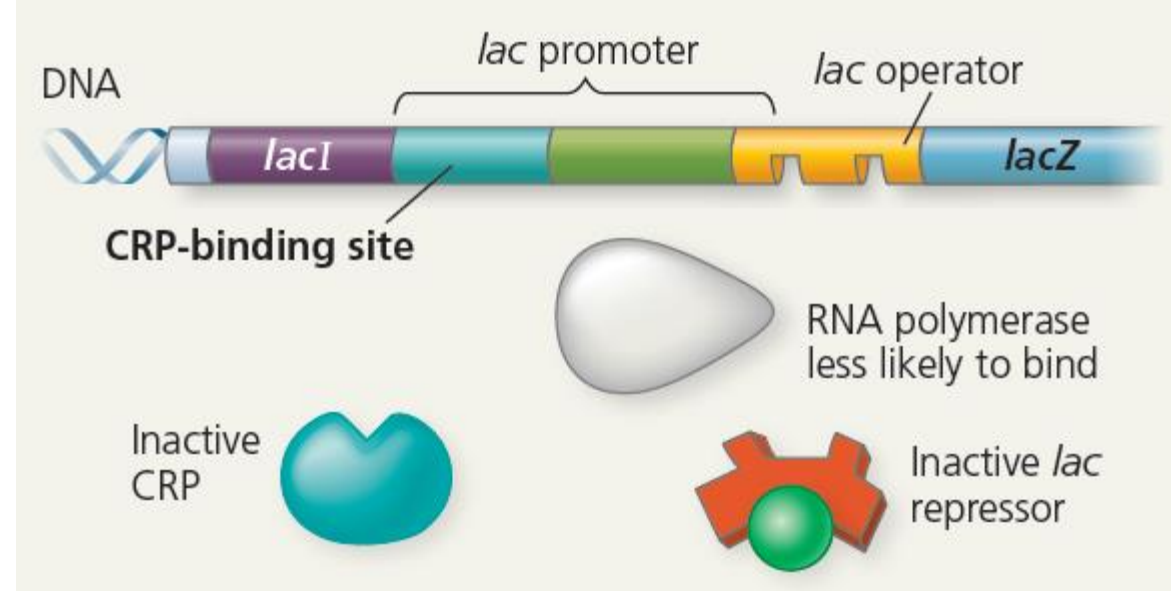
cAMP ve CRP ile Pozitif Düzenleme

- Hücre glukoz düzeyini cAMP birikimi üzerinden algılar, cAMP glukoz kıtlığında artar.
- cAMP bağlanan CRP aktifleşir ve lac promotörünün yukarısındaki özgül bölgeye tutunur.
- Bu bağlanma RNA polimerazın promotöre ilgisini artırarak transkripsiyonu hızlandırır.



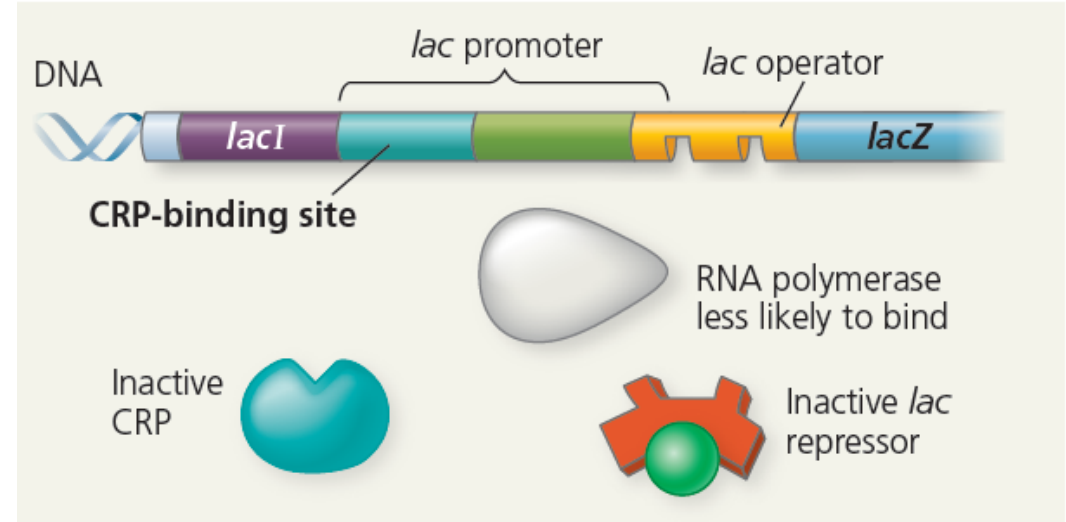
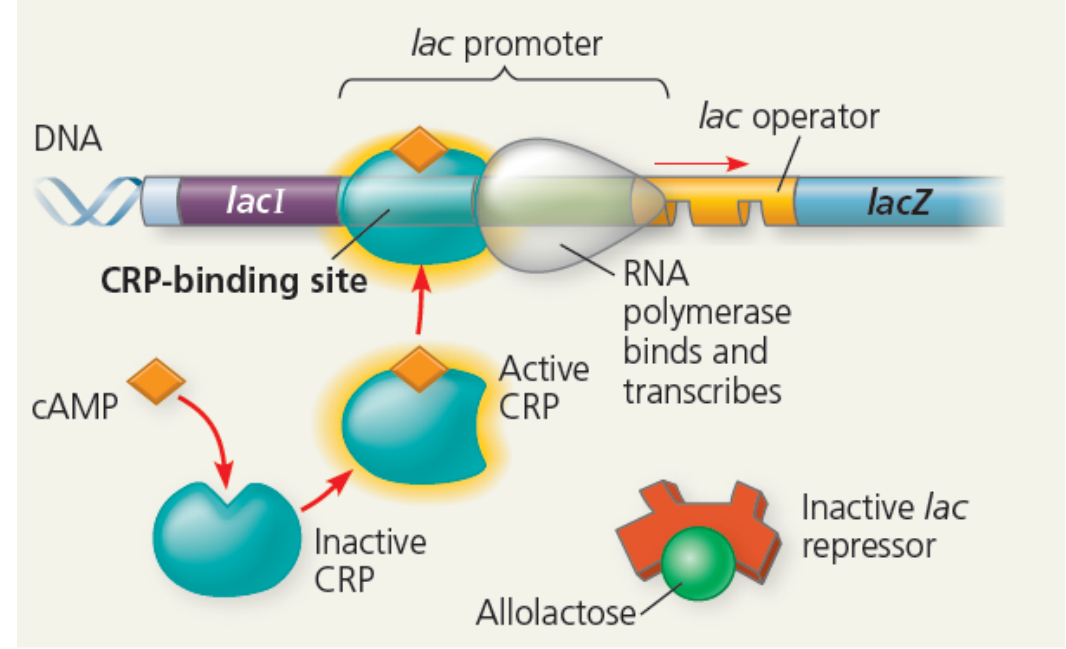
Glukoz Artınca Hacim Düğmesi Kısıılır

- Glukoz yükseldiğinde cAMP düşer ve CRP operondan ayrılır.
- CRP inaktif olduğunda RNA polimeraz promotöre daha zayıf bağlanır.
- Laktoz olsa bile transkripsiyon düşük düzeyde sürer.
- Böylece operonda hem aç-kapa hem de ses düzeyi kontrolü birlikte işler.



Çift Yönlü Kontrolün Özet Çerçevesi

- lac operonu negatif kontrolde lac represörüyle, pozitif kontrolde CRP ile düzenlenir.
- Represöre allolaktöz bağlı olup olmaması transkripsiyonun başlayıp başlamayacağını belirler.
- CRP'nin cAMP ile bağlı olup olmaması baskısız durumda hızın ne olacağını belirler.
- Bu iki katman çevresel koşullara hızlı ve ölçülü yanıt sağlar.



CRP'nin Daha Geniş Etkileri

- CRP yalnızca lac operonunu değil, diğer katabolik yol operonlarını da düzenler.
- Glukoz bolken CRP inaktif kaldığı için alternatif besinlere ait enzimlerin sentezi yavaşlar.
- Glukoz kıtlığında alternatif bileşikleri katabolize edebilmek hayatta kalma avantajı sağlar.
- Hangi operonların açık olduğu, anlık bileşiklerin ve düzenleyici etkileşimlerin basit toplamına bağlıdır.

Ökaryotlarda Gen İfadesinin Düzenlenmesi

- Ökaryotik gen ifadesi birçok aşamada düzenlenir.
- Tüm canlılar belirli anda hangi genlerin ifade edileceğini ayarlamak zorundadır.
- Hücre içi ve dışı sinyallere yanıt olarak genler açılır veya kapanır.
- Çok hücreli canlılarda bu düzenleme hücre özelleşmesi için gereklidir.

Hücre Tipi ve İfade Programı

- Her hücre tipi kendine özgü bir gen ifade programı sürdürür.
- Bazı genler pek çok hücrede ortak şekilde çalışır, bazıları yalnızca belirli hücre tiplerine özgüdür.
- Hücre tipleri arasındaki fark genom farkından değil ifade farklılığından doğar.
- Aynı genomla farklı görevler üstlenebilmenin anahtarı farklı gen setlerinin etkinliğidir.

Diferansiyel Gen İfadesi

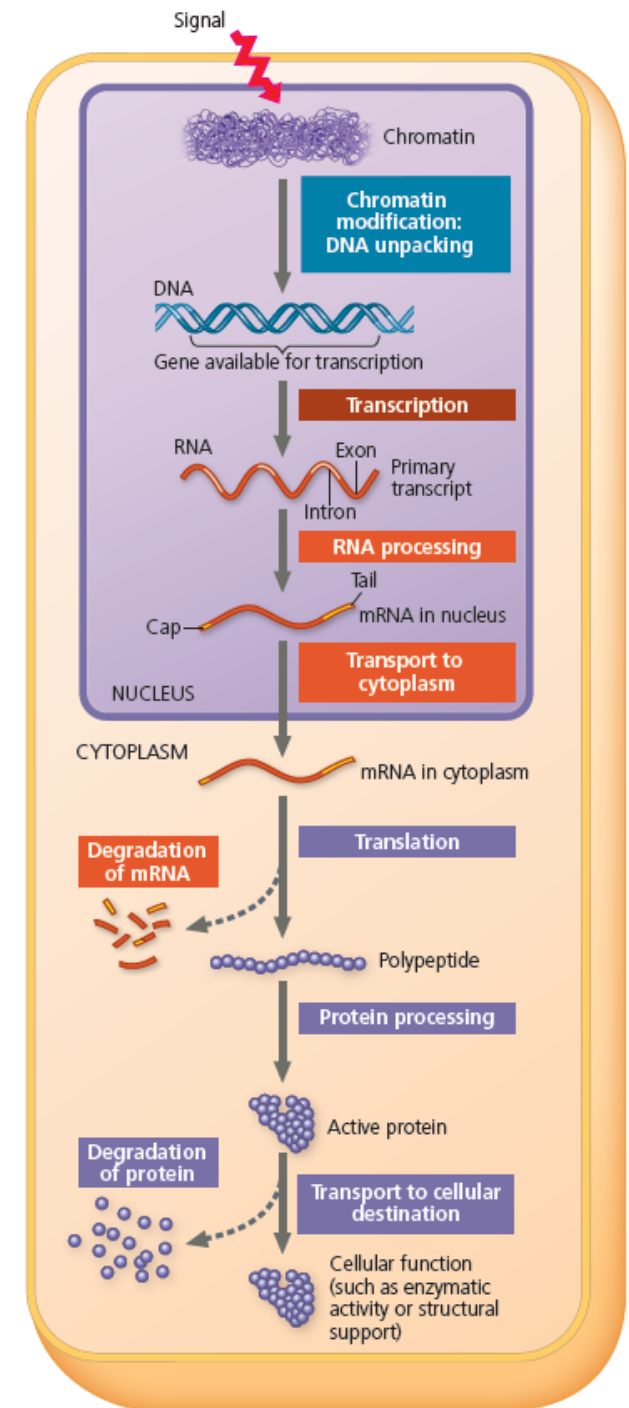
- Tipik bir insan hücresi protein kodlayan genlerinin yalnızca bir bölümünü ifade eder.
- Yüksek düzeyde özelleşmiş hücrelerde ifade edilen gen oranı daha da düşüktür.
- Çoğu hücre aynı genomu taşır ve farklı gen kombinasyonlarını kullanır.
- Bu durum diferansiyel gen ifadesi olarak adlandırılır.

Zamanlama ve Denge

- Bir hücrenin görevi doğru genlerin doğru zamanda çalışmasına bağlıdır.
- Transkripsiyon faktörleri hedef genleri tam zamanda bulmak zorundadır.
- İfade düzeni bozulduğunda ciddi dengesizlikler ve hastalıklar ortaya çıkabilir.
- Bu bağlamda kanser, yanlış düzenlemenin sonuçlarını gösteren bir örnektir.

Kontrol Noktalarının Haritası

- Gen ifadesinin protein kodlayan bir gen için ilerleyişi yandaki şekilde özetlenmiştir.
- Şekilde gösterilen her aşama olası bir kontrol noktasıdır.
- Bu noktalarda ifade açılabilir, kapatılabilir veya hızı ayarlanabilir.
- Düzenleme hem başlatma hem de hızlandırma ya da yavaşlatma boyutlarını içerir.



Transkripsiyon Düzeyinde Düzenleme

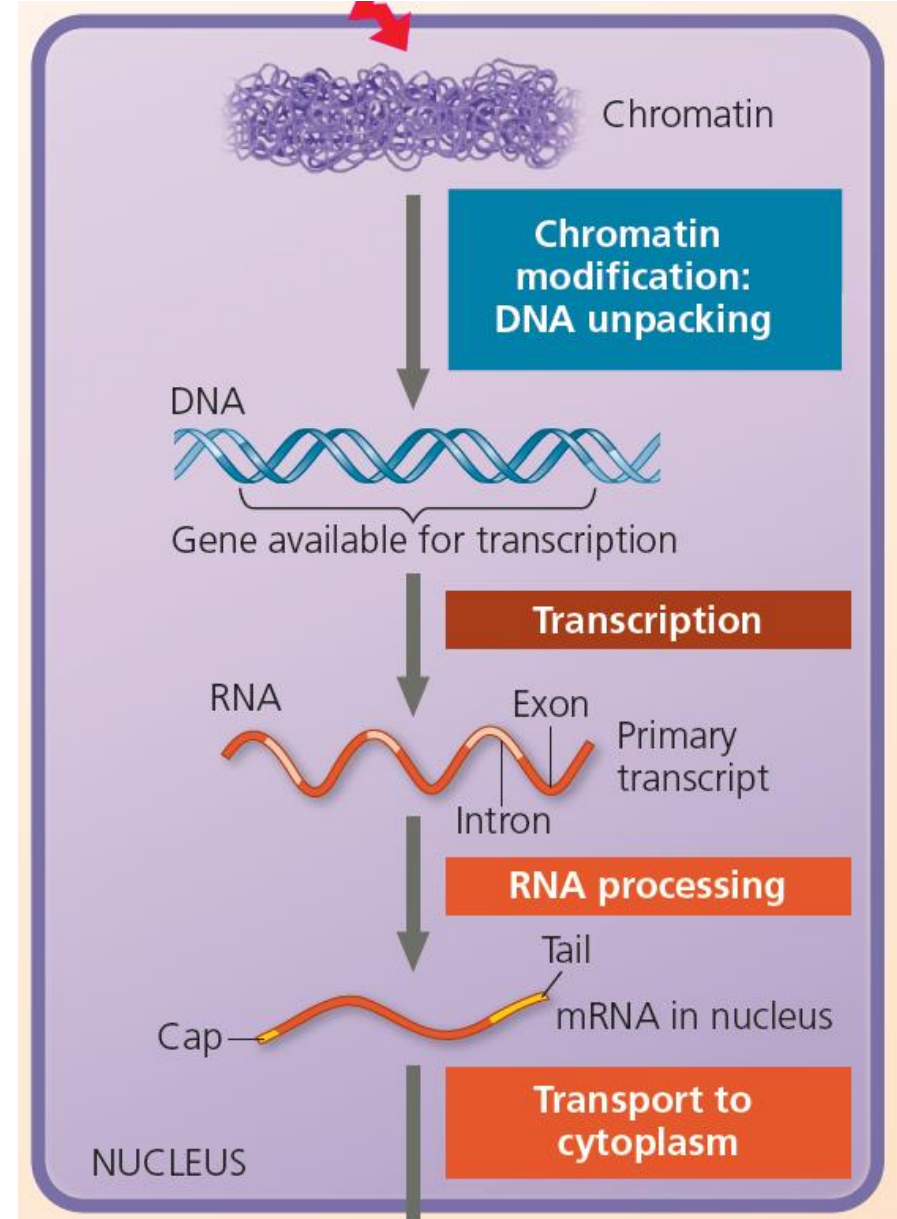
- Pek çok canlıda gen ifadesi sıklıkla transkripsiyon aşamasında kontrol edilir.
- Hücre dışı sinyaller, hormonlar ve diğer işaretçiler bu aşamayı etkileyebilir.
- Ökaryotların yapısal ve işlevsel karmaşıklığı ek kontrol fırsatları sunar.

Teknolojik İlerlemelerin Katkısı

- Son yıllarda geliştirilen DNA teknolojileri düzenleme mekanizmalarını açığa çıkarmıştır.
- Moleküler biyologlar bu araçlarla ökaryotik gen düzenlemesini ayrıntılandırmıştır.
- Artık birden çok aşamadaki kontrolün nasıl kurulduğunu daha iyi anlıyoruz.
- İzleyen slaytlarda önemli kontrol noktaları yakından incelenecektir.

Kromatin Yapısı ve Temel Birim

- Ökaryot DNA'sı proteinlerle birlikte kromatin adı verilen yapı içinde paketlenir.
- Kromatinin temel birimi nükleozomdur.
- Bu paketleme yalnızca sıkıştırma sağlamaz, ifade düzenine de katkı verir.
- Kromatin mimarisi genlerin erişilebilirliğini etkiler.



Promotör Konumu ve İskelet Bağları

- Bir genin promotörünün nükleozom yerleşimine göre konumu transkripsiyonu etkileyebilir.
- DNA'nın kromozom iskeletine tutunduğu bölgeler de erişilebilirliği belirler.
- Uygun konum ifade için bir avantaj, olumsuz konum ise bir engel olabilir.
- Bu uzamsal düzen genin açılıp kapanma olasılığını şekillendirir.

Heterokromatin ve Susturma

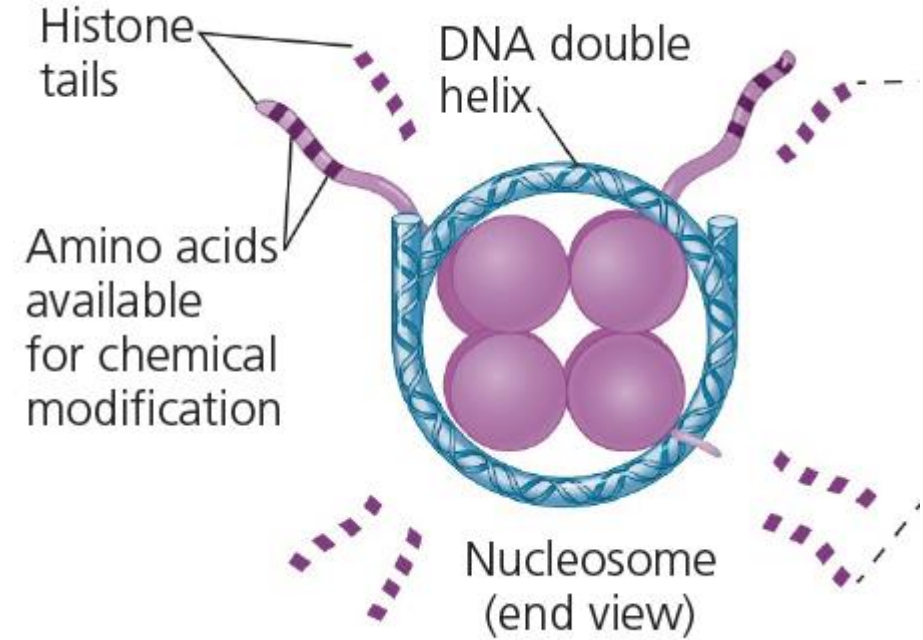
- Heterokromatin yoğun şekilde paketlenmiş bölgeleri ifade edilmez hale getirebilir.
- Bu bölgelerde yer alan genler çoğunlukla sessiz kalır.
- Yoğunluk ve erişim ilişkisi ifadenin temel belirleyicilerindendir.
- Hücre tipi ve gelişim durumu bu yoğunluk desenini değiştirebilir.

Kimyasal Değişiklikler ve Enzimler

- Histon proteinlerindeki kimyasal değişiklikler kromatin yapısını etkiler.
- DNA nükleotidlerinde yapılan kimyasal değişiklikler de ifadeyi yönlendirir.
- Bu değişiklikleri özgül enzimler katalizler.
- Sonuçta kromatin durumu gen ifadesinin açma kapama kararlarına yansır.

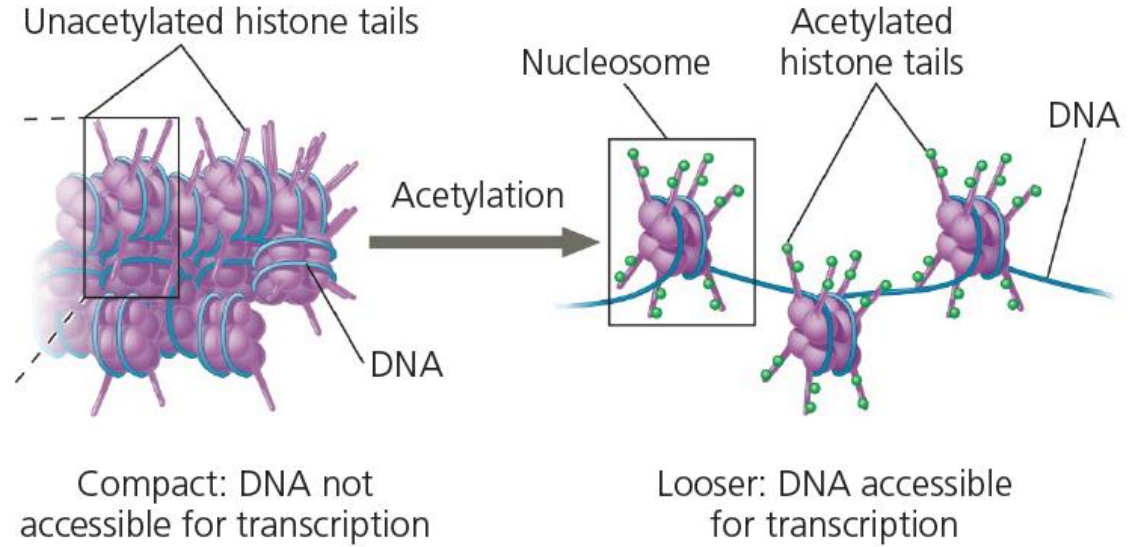
Kromatin Düzenlenmesi: Büyük Resim

- Ökaryotların tümünde görülen histonlara yapılan kimyasal değişiklikler, gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde doğrudan rol oynar.
- Nükleozomdaki her histon proteininin N-uç kısmı dışarıya doğru uzanır ve bu kısımlar histon kuyrukları olarak adlandırılır.
- Histon kuyrukları, kromatini değiştiren çeşitli enzimler için erişilebilirdir.
- Bu değişiklikler, DNA'nın transkripsiyon makinesine ne kadar açık olduğunu etkiler.



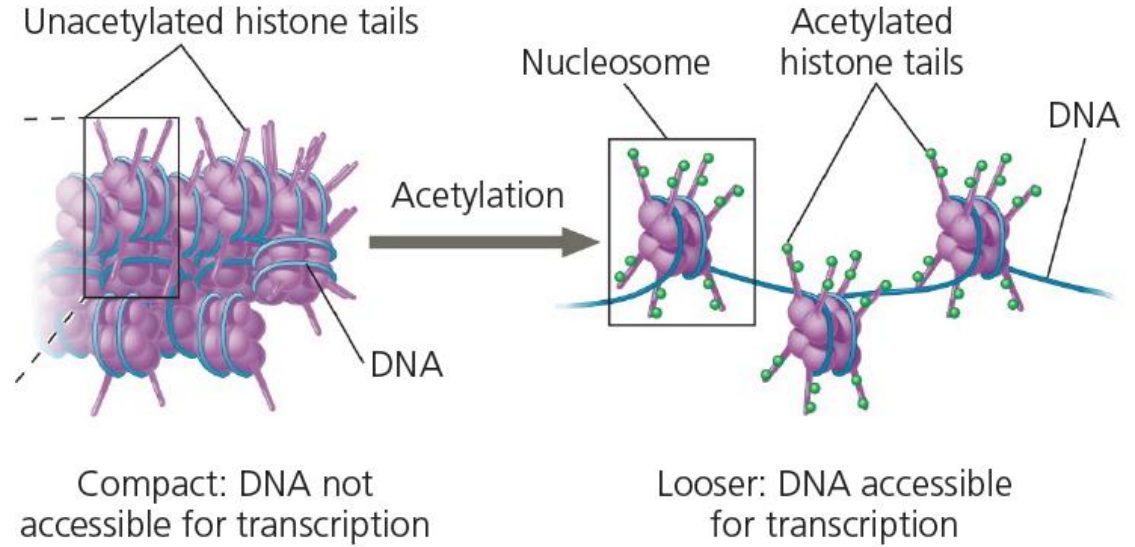
Histon Kuyruklarına Kimyasal İşaretler

- Modifiye edici enzimler histon kuyruklarına asetil, metil ve fosfat gibi belirli grupları ekleyebilir veya çıkarabilir.
- Asetilasyon, histon kuyruğundaki bir amino aside asetil grubunun eklenmesidir.
- Bu süreç, çoğunlukla kromatin yapısını gevşeterek transkripsiyonu kolaylaştırır.
- Belirli bir kimyasal grubun eklenmesi, kromatini başka yollarla değiştiren enzimler için yeni bağlanma yüzeyleri oluşturabilir.



Asetilasyon ve Metilasyonun Etkileri

- Histon asetilasyonu genelde kromatini açar ve transkripsiyonu teşvik eder.
- Histonlara metil gruplarının eklenmesi çoğu zaman kromatin yoğunlaşmasına ve transkripsiyonun azalmasına yol açar.
- Aynı kimyasal işaret, bağlanan proteinlere göre farklı sonuçlar doğurabilir.
- Böylece hücre, gen ifadesini ince ayarla yönetir.



DNA Metilasyonu: Genel Özellikler

- Histonlar yerine DNA'nın kendisi de belirli bazlar üzerinde metillenebilir ve bu genellikle sitozinde olur.
- DNA metilasyonu bitkiler, hayvanlar ve mantarların çoğunda görülür.
- İnaktif DNA bölgeleri aktif transkripsiyon bölgelerine göre daha fazla metillenme eğilimindedir.
- İnaktive edilmiş memeli X kromozomu bu duruma tipik bir örnektir.

Gen Düzeyinde Metilasyon ve İfade

- Tek tek genlerin DNA'sı, o genlerin ifade edilmediği hücrelerde genellikle daha fazla metillenir.
- Fazladan metil gruplarının kaldırılması, bu genlerden bazılarının tekrar açılmasını sağlayabilir.
- Böylece metilasyon düzeyi ile gen ifadesi arasında işlevsel bir ilişki kurulur.
- Hücre farklı durumlara bu kimyasal işaretleri değiştirerek yanıt verebilir.

Metilasyonun Sürdürülmesi ve Hücresel Bellek

- Bir kez metillenen genler, aynı bireyde ardışık hücre bölünmeleri boyunca çoğunlukla bu durumlarını korur.
- DNA replikasyonundan sonra bir iplikte metil işareti varsa enzimler yeni oluşan doğru ipliği de metiller.
- Böylece metilasyon desenleri yavru hücrelere aktarılır ve farklı dokular, embriyon gelişimi sırasında yaşananların kimyasal bir kaydını tutar.
- Bu kalıcılık, hücre kimliğinin korunmasına yardım eder.

Genomik Baskılanma ve Metilasyon

- Bu şekilde sürdürülen metilasyon desenleri, memelilerdeki genomik baskılanmayı açıklar.
- Gelişimin başında belirli genlerin anne ya da baba allelinin ifadesi metilasyonla kalıcı biçimde düzenlenir.
- Bu olgu, hangi ebeveyne ait allelin aktif kalacağını belirler.

Epigenetik Kalıtımın Tanımı

- Kromatin üzerindeki bu değişiklikler DNA dizisini değiştirmez fakat sonraki hücre kuşaklarına aktarılabilir.
- Nükleotid dizisini içermeyen mekanizmalarla aktarılan özelliklerin kalıtımı epigenetik kalıtım olarak adlandırılır.
- DNA'daki mutasyonlar kalıcıyken kromatin değişiklikleri geri döndürülebilir.
- Örneğin DNA metilasyon desenleri, gamet oluşumu sırasında büyük ölçüde silinir ve yeniden kurulurlar.

Epigenetik Bilginin Önemi

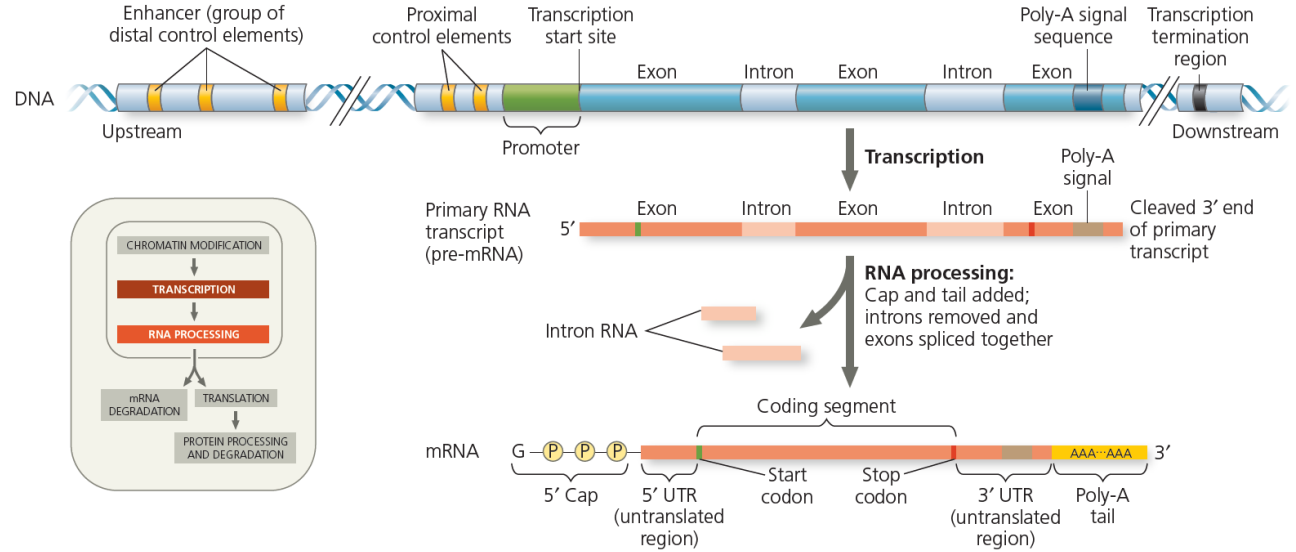
- Araştırmalar, gen ifadesinin düzenlenmesinde epigenetik bilginin önemine dair kanıtları artırmaktadır.
- Aynı genoma sahip tek yumurta ikizlerinin birinde genetik temelli bir hastalık görülürken diğerinde görülmemesi epigenetik farklılıklarla ilişkilendirilebilir.
- Bazı kanserlerde normal DNA metilasyon örüntüleri bozulur ve uygunsuz gen ifadesi ile birliktelik gösterir.
- Kromatin yapısını değiştiren enzimler, ökaryot hücrelerde transkripsiyonun düzenlenmesinde temel bileşenlerdir.

Transkripsiyonun Başlatılmasının Kontrolü

- Kromatin değiştirici enzimler, DNA'nın transkripsiyon makinesine bağlanabilirliğini artırıp azaltarak ifadenin ilk kontrol katmanını sağlar.
- Bir genin kromatini ifade için en uygun hâle geldiğinde, düzenlemenin bir sonraki büyük adımı transkripsiyonun başlatılmasıdır.
- Ökaryotlarda bu süreç, DNA'ya bağlanan ve RNA polimerazın bağlanmasını kolaylaştıran ya da engelleyen proteinleri içerir.
- Süreç ökaryotlarda daha karmaşıktır ve ilerlemeden önce bir ökaryotik genin yapısını kısaca gözden geçirmek yararlı olacaktır.

Ökaryotik Genin Genel Organizasyonu

- Tipik bir ökaryotik gen ve onu kontrol eden DNA bölümleri bir bütün hâlinde çalışır.
- Promotörün “upstream” ucunda transkripsiyon başlatma kompleksi toplanır ve RNA polimeraz II pre-mRNA sentezine başlar.
- RNA’ya 5’ kap eklenmesi, poli-A kuyruğu takılması ve intronların çıkarılmasıyla olgun mRNA’yı oluşturulur.
- Kontrol elementleri ile onlara bağlanan transkripsiyon faktörleri farklı hücre tiplerinde ifadenin hassas kontrolünü sağlar.



Genel ve Özel Transkripsiyon Faktörleri

- Transkripsiyon faktörleri iki gruptur; tüm genlerde görev yapan genel faktörler ve belirli genlerde görev yapan özel faktörler.
- Özel transkripsiyon faktörleri promotöre yakın ya da ondan uzaktaki kontrol elementlerine bağlanabilir.
- Bu ayrım, genlerin hangi zamanda ve nerede yüksek düzeyde ifade edileceğini belirlemede temel rol oynar.

Genel Faktörlerin Promotördeki Rolü

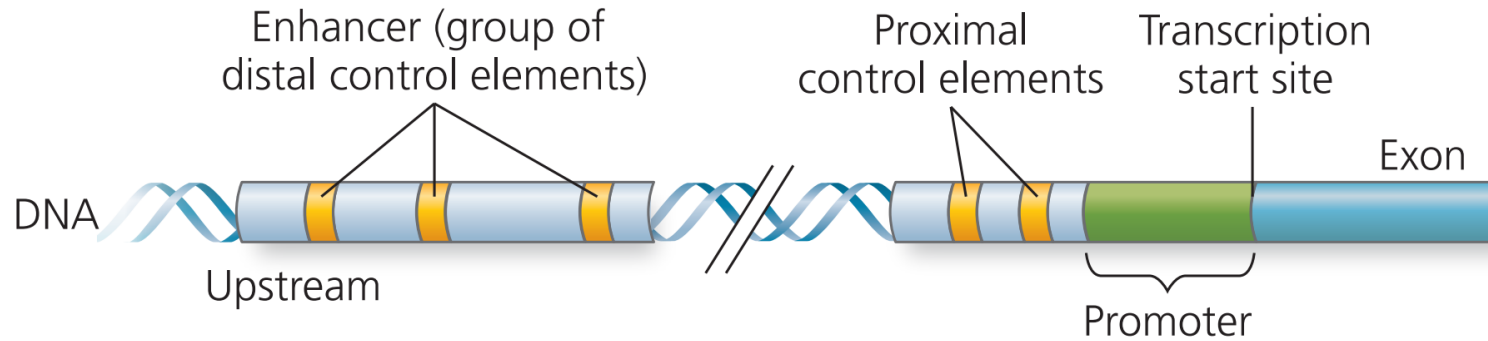
- Ökaryotik RNA polimeraz II transkripsiyona başlamak için transkripsiyon faktörlerinin yardımına ihtiyaç duyar.
- Bazı genel faktörler promotördeki TATA kutusuna bağlanır, çoğu ise diğer proteinler ve RNA pol II ile etkileşir.
- Protein-protein etkileşimleri başlatma kompleksinin kurulması ve polimerazın kalıp boyunca ilerlemesi için kritiktir.

Bazal İfade ve Yüksek Düzey İfade

- Genel faktörlerin ve RNA pol II'nin etkileşimi çoğu düzenlenen gen için düşük başlatma hızına yol açar.
- Uygun zaman ve yerde yüksek düzeyde ifade, kontrol elementleri ile özel transkripsiyon faktörlerinin etkileşimine bağlıdır.
- Bu ayrım, düzenlenen genlerin bazal ve uyarılmış ifade hâllerini açıklar.

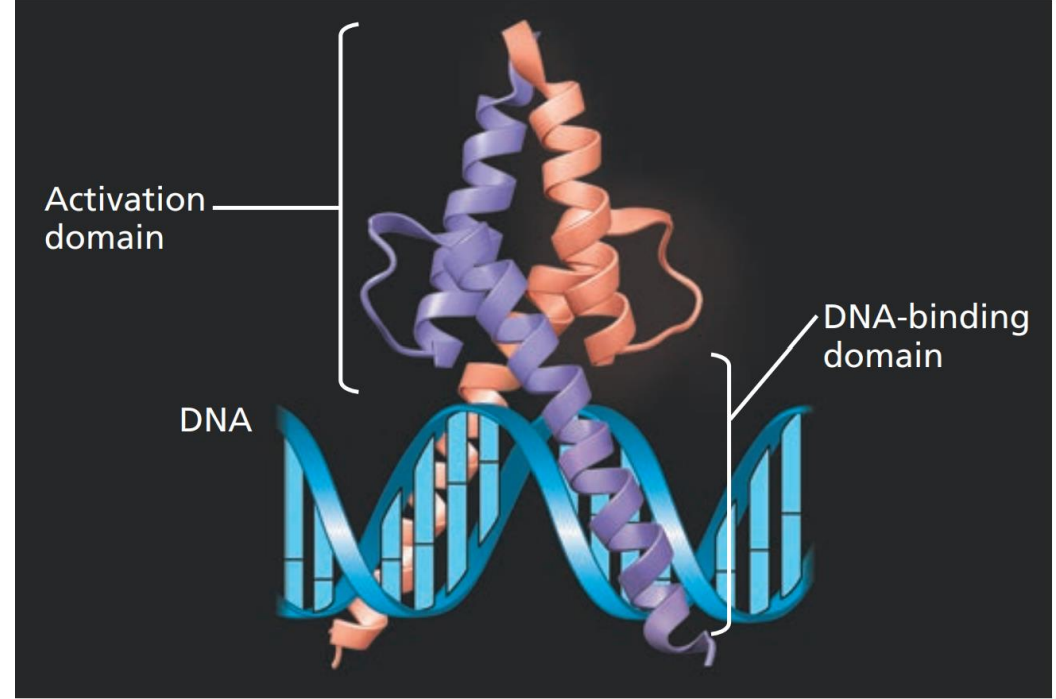
Proksimal ve Distal Kontrol Elementleri

- Proksimal kontrol elementleri promotöre yakın konumlanır; metinde bunlar promotörden ayrı değerlendirilir.
- Distal element kümeleri olan enhancer'lar binlerce nükleotid uzakta, promotörün her iki tarafında ya da bir intron içinde bulunabilir.
- Bir genin birden fazla enhancer'ı olabilir ve her enhancer genellikle yalnızca o genle ilişkilidir.



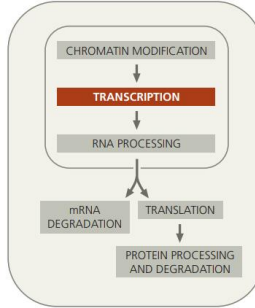
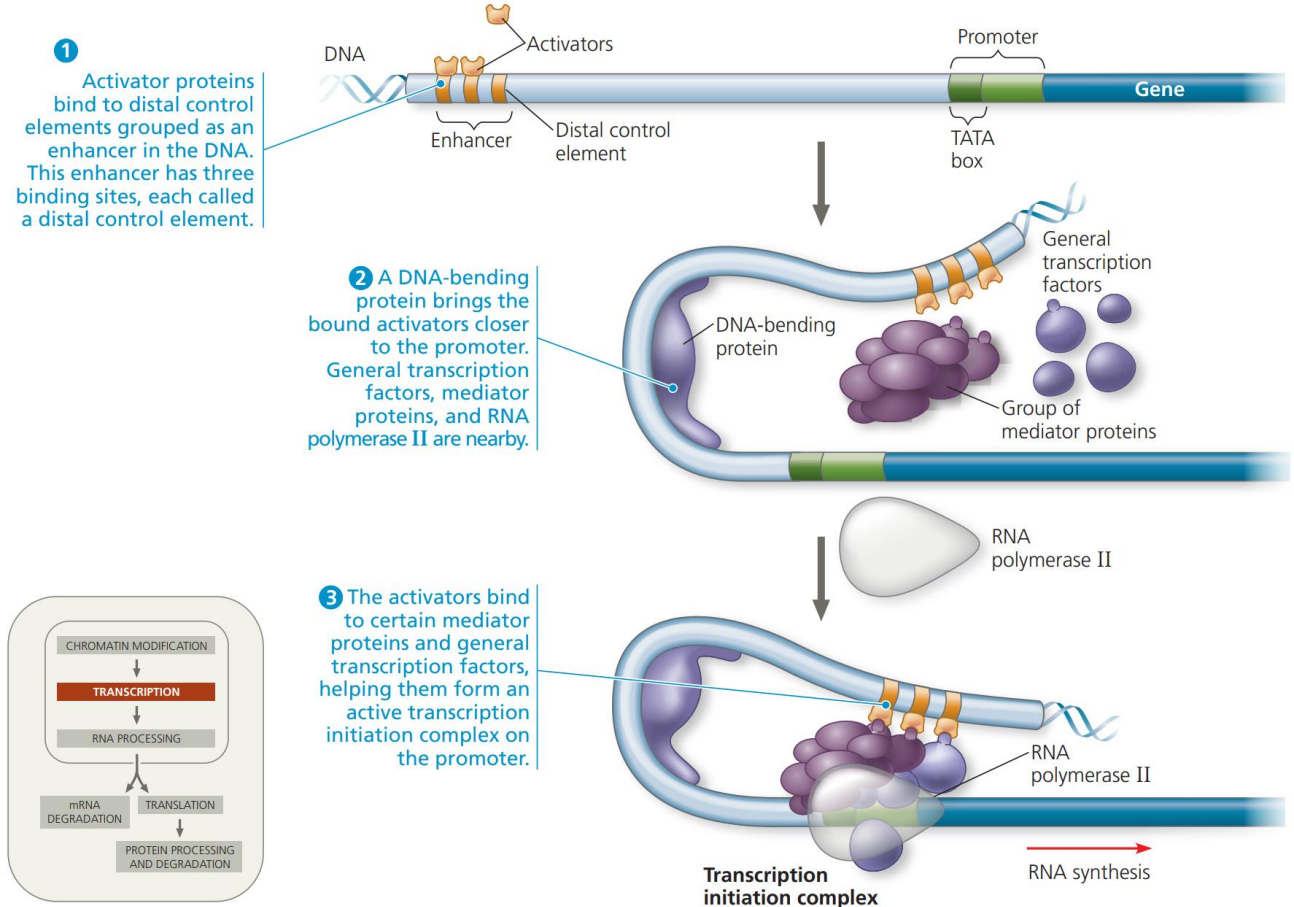
Aktivatörler ve İşlevsel Alanları

- Özel transkripsiyon faktörleri aktivatör ya da baskılayıcı gibi davranarak enhancer'lardaki kontrol elementlerine bağlanır.
- Birçok aktivatörde DNA'ya bağlanan bir alan ile bir veya daha fazla aktivasyon alanı birlikte bulunur.
- Aktivasyon alanları düzenleyici proteinleri ve transkripsiyon makinesinin parçalarını bir araya getirerek ifadeyi güçlendirir.



Uzak Enhancer'ın Promotöre Etkisi

- Protein aracılı DNA bükülmesi, uzak enhancer'a bağlı aktivatörleri aracı protein grubuna yaklaştırır.
- Aracı proteinler promotördeki genel faktörlerle temas kurarak başlatma kompleksinin toplanmasını ve konumlanmasını kolaylaştırır.
- Enhancer ve promotör, aradaki uzun DNA mesafesine rağmen özgül biçimde bir araya getirilir.



Baskılayıcıların Doğrudan Etkileri

- Bazı baskılayıcılar kontrol elementlerine bağlanarak aktivatörün DNA'ya bağlanmasını doğrudan engeller.
- Diğer baskılayıcılar aktivatörle etkileşerek onun DNA'ya bağlanma kapasitesini bozar.
- Bu etkileşimler gen ifadesinin azaltılmasına yol açar.

Kromatin Üzerinden Dolaylı Düzenleme

- Bazı aktivatörler, hedef promotör yakınında histonları asetilleyen proteinleri toplayarak transkripsiyonu kolaylaştırır.
- Bazı baskılayıcılar, histonlardan asetil gruplarını kaldıran proteinleri toplayarak ifadeyi azaltır; bu durum susturma olarak anılır.
- Kromatin düzenleyici proteinlerin toplanması, ökaryotik hücrelerde baskılamanın en yaygın mekanizmasıdır.

Kombinatoryal Kontrolün Temeli

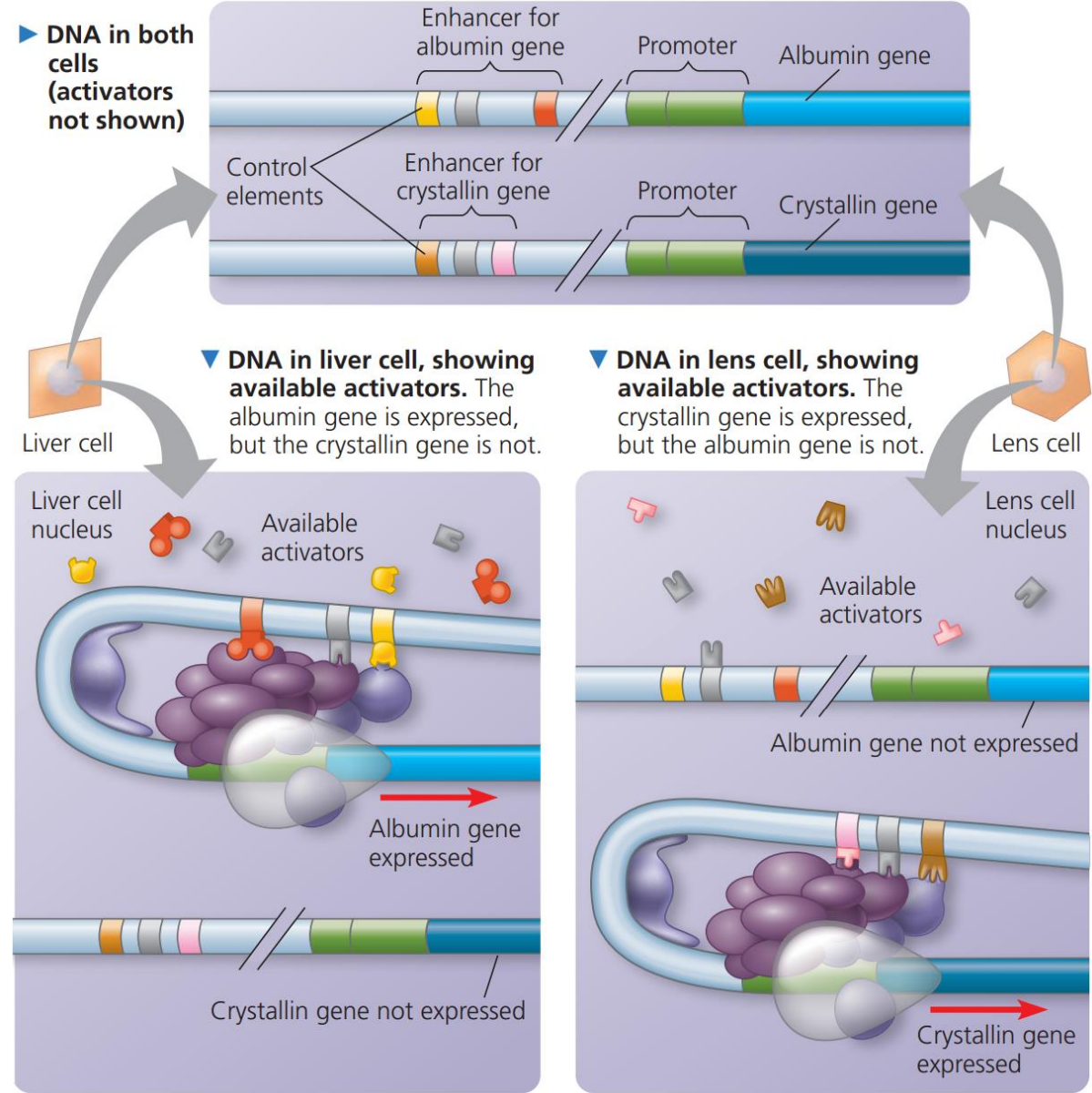
- Ökaryotlarda transkripsiyonun hassas kontrolü, aktivatörlerin DNA kontrol elementlerine bağlanmasına dayanır.
- Kontrol elementlerinde tamamen farklı dizi sayısı şaşırtıcı biçimde azdır, kısa diziler pek çok gende tekrar eder.
- Ortalama bir enhancer yaklaşık on kontrol elementinden oluşur ve her element bir ya da iki özgül faktörü bağlar.
- Tek bir elementten çok, bir genle ilişkili enhancer'daki elementlerin özel kombinasyonu ifadenin düzenlenmesinde belirleyicidir.

Az Sayıda Diziyle Sonsuz Kombinasyon

- Sınırlı sayıda kontrol dizisi olsa da çok sayıda kombinasyon üretilebilir.
- Her kombinasyon yalnızca uygun aktivatör proteinleri mevcut olduğunda transkripsiyonu etkinleştirir.
- Bu uygunluk belirli bir gelişim zamanında ya da belirli bir hücre tipinde sağlanır.

Hücre Tipine Spesifik Transkripsiyon

- Farklı hücre tipleri aynı genlere sahip olsa da, yalnızca kendilerine özgü proteinleri üretir.
- Bu durum, hücrede bulunan özgü transkripsiyon faktörlerinin etkisiyle gerçekleşir.
- Albümin geni sadece karaciğer hücrelerinde, kristalin geni ise sadece mercek hücrelerinde aktive edilir.
- Her genin kendine özgü kontrol elementleri ve bu elementlere bağlanan aktivatör proteinler vardır.



Koordineli Kontrolün Bakterilerdeki Karşılığı

- Bakterilerde ilişkili işlevli genler çoğu zaman tek bir promotör altındaki operonlarda kümelenir.
- Operon tek bir mRNA üretir, genler birlikte ifade edilir, proteinler eşzamanlı oluşur.
- Bu çalışma düzeni klasik olarak ökaryotlarda bulunmaz, yalnızca birkaç istisna vardır.
- Bu fark, ökaryot ve prokaryot gen düzenleme stratejilerinin ayrımını gösterir.

Ökaryotlarda Dağılık Genlerde Koordineli Ekspresyon

- Aynı metabolik yolun enzimlerini kodlayan genler farklı kromozomlara dağılmış olabilir.
- Koordine ifade, her genin belirli bir kontrol elementleri kombinasyonunu taşımasına bağlıdır.
- Çekirdekteki aktivatör proteinleri bu kontrol elementlerini tanır ve eşzamanlı transkripsiyonu destekler.
- Genomdaki konumdan bağımsız olarak aynı sinyale yanıt veren genler birlikte aktive edilebilir.

Kimyasal Sinyallerle Koordine Düzenleme

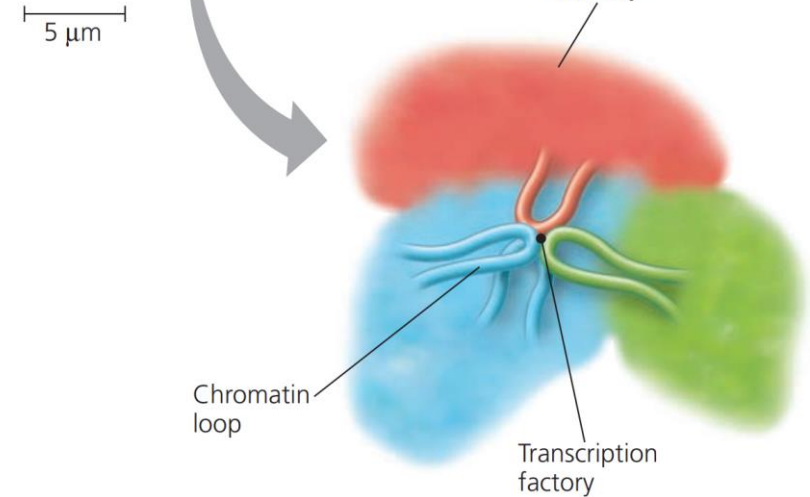
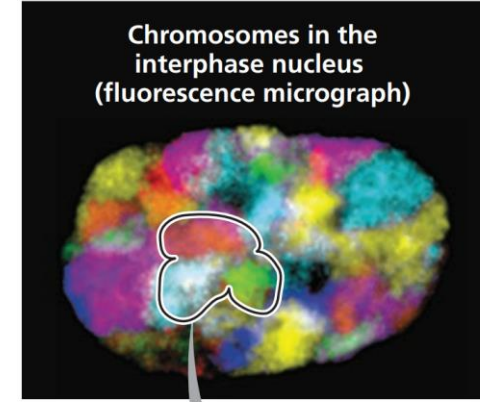
- Steroid hormonlar hücreye girer, özgül bir reseptöre bağlanır ve aktivatör gibi davranan bir kompleks oluşturur.
- Bu hormonun uyardığı her gen, kompleksin tanıdığı bir kontrol elementine sahiptir, örnek olarak uterusu östrojenle hücre bölünmesini uyaran genler verilebilir.
- Nonsteroid hormonlar ve büyüme faktörleri hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanır, özgül transkripsiyon faktörlerini etkinleştiren yolları tetikler.
- Aynı kontrol element setine sahip genler, aynı kimyasal sinyallerle birlikte aktive olur.

Evrimsel Yaygınlık

- Aynı sinyal setlerinin çoklu gen gruplarını uyarması, koordineli düzenlemenin geniş yayılımını gösterir.
- Bu düzenleme biçiminin evrimsel süreçte erken dönemde ortaya çıktığı düşünülür.
- Farklı organizmalarda benzer prensiplerin görülmesi bu yorumu destekler.

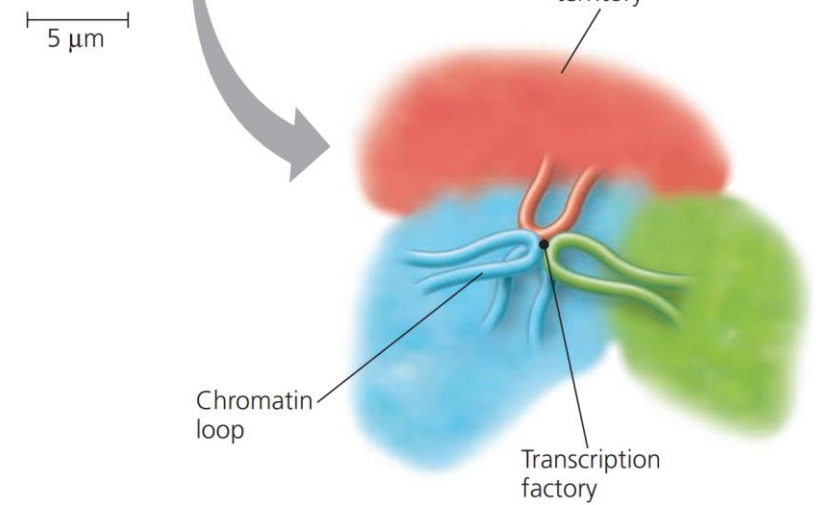
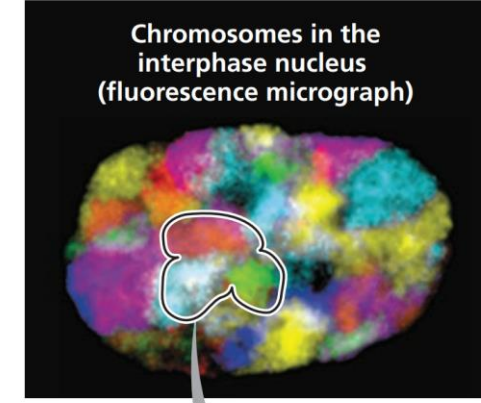
Çekirdek Mimarisi ve Kromozom Bölgeleri

- İnterfaz çekirdeğinde her kromozom ayrı bir bölge kaplar.
- Kromozomlar bütünüyle izole değildir, bölgeler arası ilişkiler mevcuttur.
- Genom yapısının mekânsal düzeni gen ifadesiyle bağlantılı bir boyut kazanır.
- Bu bakış, amorf kromatin yumağı görüşünün yerini tanımlı mimariye bırakır.



Kromatin Halkaları ve Transkripsiyon Fabrikaları

- Kromozom konformasyon yakalama teknikleri, interfazda birbirleriyle ilişkilenen bölgeleri belirlemeye olanak verir.
- Bireysel kromozom bölgelerinden çıkan kromatin halkaları çekirdekte belirli noktalara uzanır.
- Farklı kromozomlardan halkalar, RNA polimerazlar ve ifade proteinlerince zengin alanlarda toplanabilir.
- Bu toplanma bölgeleri transkripsiyon fabrikaları olarak adlandırılır ve ortak işlevler için uzmanlaşmış alanlar olarak düşünülür.



Konumsal Yeniden Düzenleme ve Güncel Araştırmalar

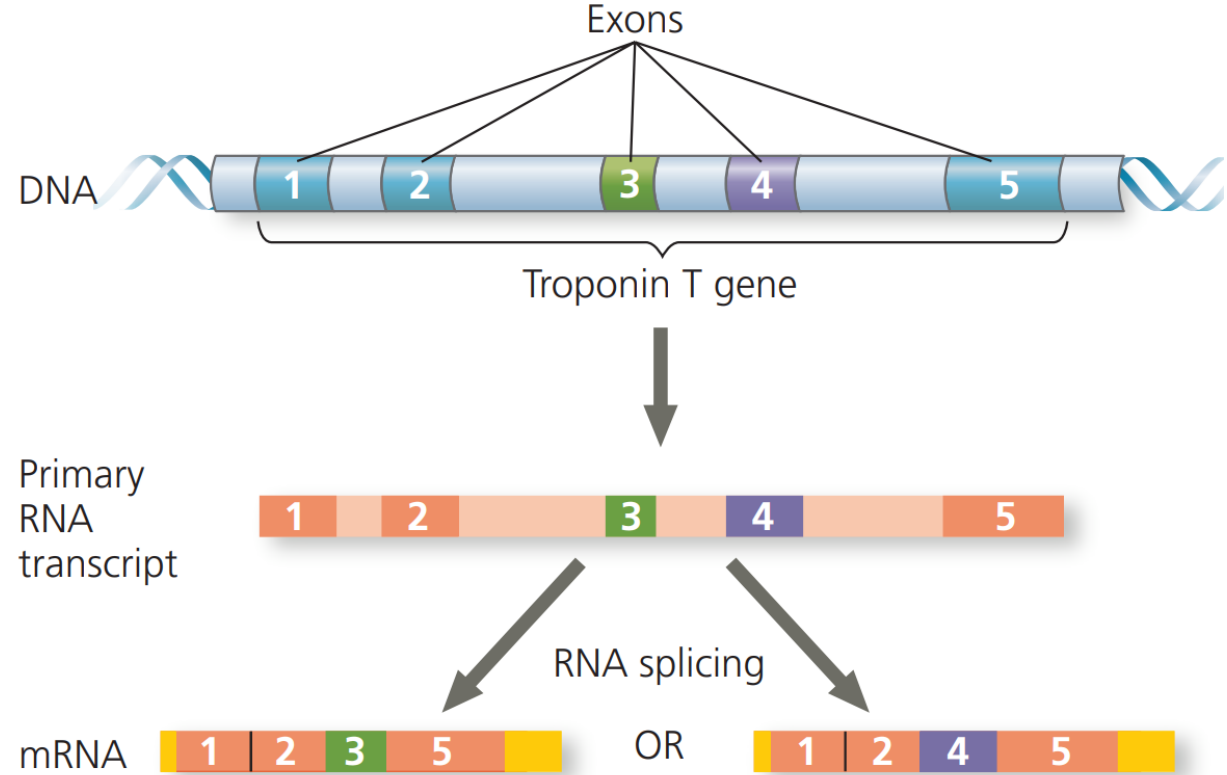
- İfade edilmeyen genler çoğu kez çekirdeğin dış kısımlarında, ifade edilenler ise iç bölgede yer alır.
- Belirli genlerin kendi bölgelerinden iç kesimlerdeki transkripsiyon fabrikalarına taşınması, transkripsiyona hazırlığın bir parçası olabilir.
- Tek bir transkripsiyon fabrikasının ne kadar süre yaşadığı net değildir, bu konu araştırılmaktadır.
- 2014'te duyurulan 4D Nucleome programı bu dinamik çekirdek yapısına ilişkin soruları derinlemesine incelemeyi amaçlar.

Gen İfadesinin Sadece Transkripsiyon Değildir

- Bir genin ifadesi en sonunda hücrenin ürettiği işlevsel protein miktarıyla ölçülür.
- RNA'nın sentezlenmesi ile proteinin hücredeki etkinliği arasında pek çok basamak bulunur.
- Transkripsiyon sonrası pek çok aşamada çalışan düzenleyici mekanizmalar vardır.
- Bu mekanizmalar, transkripsiyon kalıplarını değiştirmeden çevresel değişimlere hızlı ince ayar sağlar.

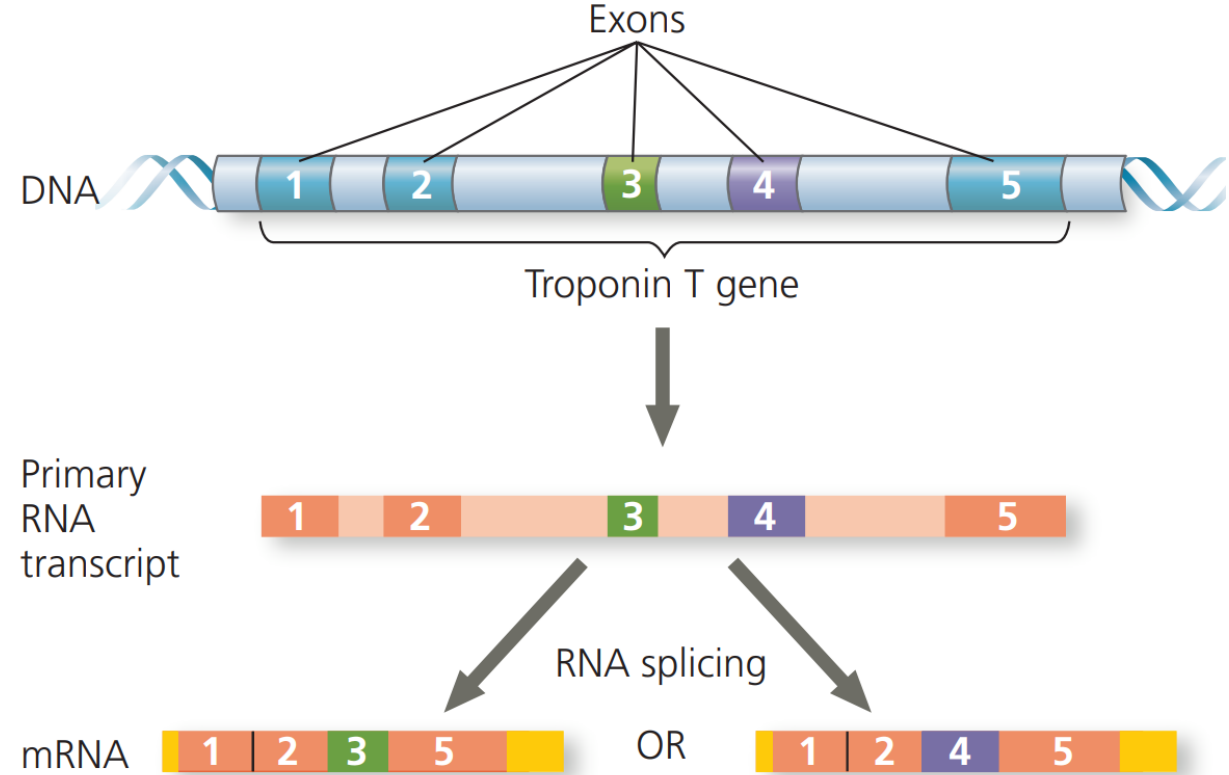
Çekirdekte RNA İşleme ile Kontrol

- Ökaryotlarda RNA işlemesi ve olgun RNA'nın sitoplazmaya taşınması, prokaryotlarda olmayan ek düzenleme fırsatları sunar.
- Alternatif RNA splicing ile aynı birincil transkriptten farklı mRNA'lar üretilebilir.
- Hücre tipine özgü düzenleyici proteinler, birincil transkript üzerindeki belirli dizilere bağlanarak intron ve ekzon seçimlerini yönlendirir.



Alternatif Splicing Örnekleri

- Yandaki figürde troponin T geninde iki ilişkili proteinin üretimi gösterilmiştir.
- *Drosophila*'da bir gen, farklı hücre dışı alanlara sahip yaklaşık 19.000 membran proteini oluşturabilecek kadar çok alternatif ekzona sahiptir.
- Bu alternatif mRNA'ların en az 17.500'ü gerçekten sentezlenir ve her gelişmekte olan sinir hücresi yüzeyinde benzersiz bir kimlik işareti üretir.
- Bu benzersiz işaretler, sinir sistemi gelişirken hücrelerin aşırı benzeşmesini önlemeye yardım eder.



Az Gen, Çok Protein Paradoksu

- İnsanlarda gen sayısının nematod, bir hardal bitkisi ya da bir deniz şakayığı ile benzer bulunması beklenmedik olmuştur.
- Alternatif splicing, bu şaşırtıcı düşük gen sayısını açıklamak için öne sürülen güçlü bir açıklamadır.
- İnsanlarda protein kodlayan genlerin yüzde doksanından fazlası muhtemelen alternatif splicing işlemine uğrar.
- Bu yaygınlık, olası insan protein çeşitliliğini çok artırır ve biçimsel karmaşıklıkla daha iyi ilişkilendirilebilir.

Translasyonu Başlatmanın Ayarlanması

- Gen ifadesi translasyon düzeyinde, en sık olarak başlatma aşamasında düzenlenir.
- Bazı mRNA'larda 5' ya da 3' UTR bölgelerine bağlanan düzenleyici proteinler ribozomun tutunmasını engelleyerek başlatmayı baskılar.
- 5' cap ve poli A kuyruğu, ribozom bağlanması açısından kritik öneme sahiptir.

Hücre Genelinde Translasyonel Kontrol

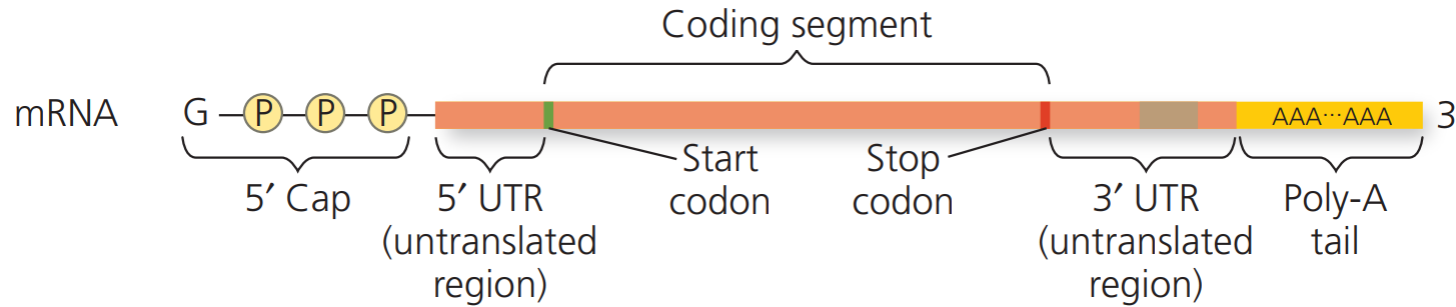
- Ökaryot hücrelerde tüm mRNA'ların translasyonu, başlatma faktörlerinin etkinliğinin artırılıp azaltılmasıyla eşzamanlı biçimde düzenlenebilir.
- Yumurtalarda depolanmış mRNA'ların translasyonu, döllenmeden hemen sonra başlatma faktörlerinin ani etkinleşmesiyle tetiklenir.
- Bazı bitkiler ve algler karanlıkta mRNA depolar ve ışık geldiğinde translasyon düzenekleri yeniden devreye girer.

mRNA'nın Ömrü ve Protein Üretim Deseni

- Sitoplazmadaki mRNA'ların yaşam süresi, hücrenin hangi proteinleri ne düzeyde üreteceğini güçlü biçimde etkiler.
- Bakteri mRNA'ları birkaç dakika içinde enzimlerle parçalanır ve bu hız, çevresel değişimlere çabuk uyumu kolaylaştırır.
- Çok hücreli ökaryotlarda mRNA'lar saatler, günler hatta haftalar boyunca yaşayabilir ve hemoglobin mRNA'ları uzun ömürlü olup tekrar tekrar translasyona uğrar.

3' UTR Sinyalleri ve Kararlılık

- mRNA'nın ne kadar süre sağlam kalacağını etkileyen diziler çoğunlukla 3' UTR bölgesinde yer alır.
- Kısa ömürlü bir büyüme faktörü mRNA'sından alınan bir dizinin, kararlı bir globin mRNA'sının 3' ucuna eklenmesi hızlı yıkıma yol açmıştır.
- Yakın yıllarda, mRNA'yı parçalayan ya da ifadesini engelleyen başka yolların da bulunduğu anlaşılmıştır.



Yeni Keşfedilen RNA Düzenleyiciler

- Son dönemde tanımlanan bazı RNA sınıfları, gen ifadesini birden çok düzeyde hassas biçimde ayarlar.
- Bu düzenleme yolları, mRNA'nın parçalanmasını ya da translasyonunun engellenmesini kapsayabilir.
- Ayrıntılar, bu konuyu izleyen bölümde daha kapsamlı biçimde ele alınacaktır.

Translasyon Sonrası Kontrolün Genel Çerçevesi

- Gen ifadesini kontrol etmenin son fırsatları translasyon sonrasında ortaya çıkar.
- Pek çok ökaryotik polipeptit, işlevsel proteine dönüşmeden önce işlenmek zorundadır.
- Örneğin, başlangıçtaki insülin polipeptidinin (proinsülin) kesilmesi aktif hormonun oluşmasını sağlar.
- Kimyasal değişiklikler ve hücre içi hedefe taşınma gibi adımların her birinde düzenleme gerçekleşebilir.

Protein İşleme ve Kimyasal Değişiklikler

- Birçok protein, işlev kazanmak için translasyon sonrası kimyasal değişikliklerden geçer.
- Düzenleyici proteinler, fosfat gruplarının geri dönüşümlü eklenmesiyle etkinleşir ya da baskılanır.
- Hayvanlarda hücre yüzeyine gidecek proteinler şeker grupları kazanır.
- Bu değişiklikler, proteinin doğru çalışması için gereklidir.

Proteinlerin Doğru Adrese Taşınması

- Hücre yüzeyi dahil pek çok hedefe yönlenecek proteinlerin taşınması gerekir.
- Taşınma süreci gerçekleşmeden birçok protein işlevini yerine getiremez.
- Bu yönlendirme ve hedefleme basamaklarında da düzenleme olabilir.

Seçici Yıkım ve Proteazomlar

- Proteinlerin hücrede ne kadar süre çalışacağı seçici yıkımla sıkı biçimde kontrol edilir.
- Hücre döngüsünü düzenleyen siklinler gibi bazı proteinlerin kısa ömürlü olması gerekir.
- Hücre, yıkımı işaretlemek için hedef proteine küçük bir protein olan ubiquitin ekler.
- Proteazom adı verilen büyük kompleksler, ubiquitinlenmiş proteinleri tanır ve parçalar.

ncRNA'lar ve Gen İfadesinin Kontrolü

- İnsan genomunda protein kodlayan DNA yalnızca yaklaşık % 1.5'i oluşturur.
- Uzun süre "junk DNA" olarak görülen bölgelerin büyük kısmının transkribe edildiğine dair veriler birikmiştir.
- Tüm genomu kapsayan büyük bir çalışma, genomun yaklaşık yüzde 75'inin belirli bir zamanda transkribe olduğunu göstermiştir.
- Bu bulgular, protein kodlamayan (non-coding) RNA'ların (ncRNA'lar) önemli bir paya sahip olabileceğini düşündürür.

ncRNA'ların Ortaya Koyduğu Paradigma Değişimi

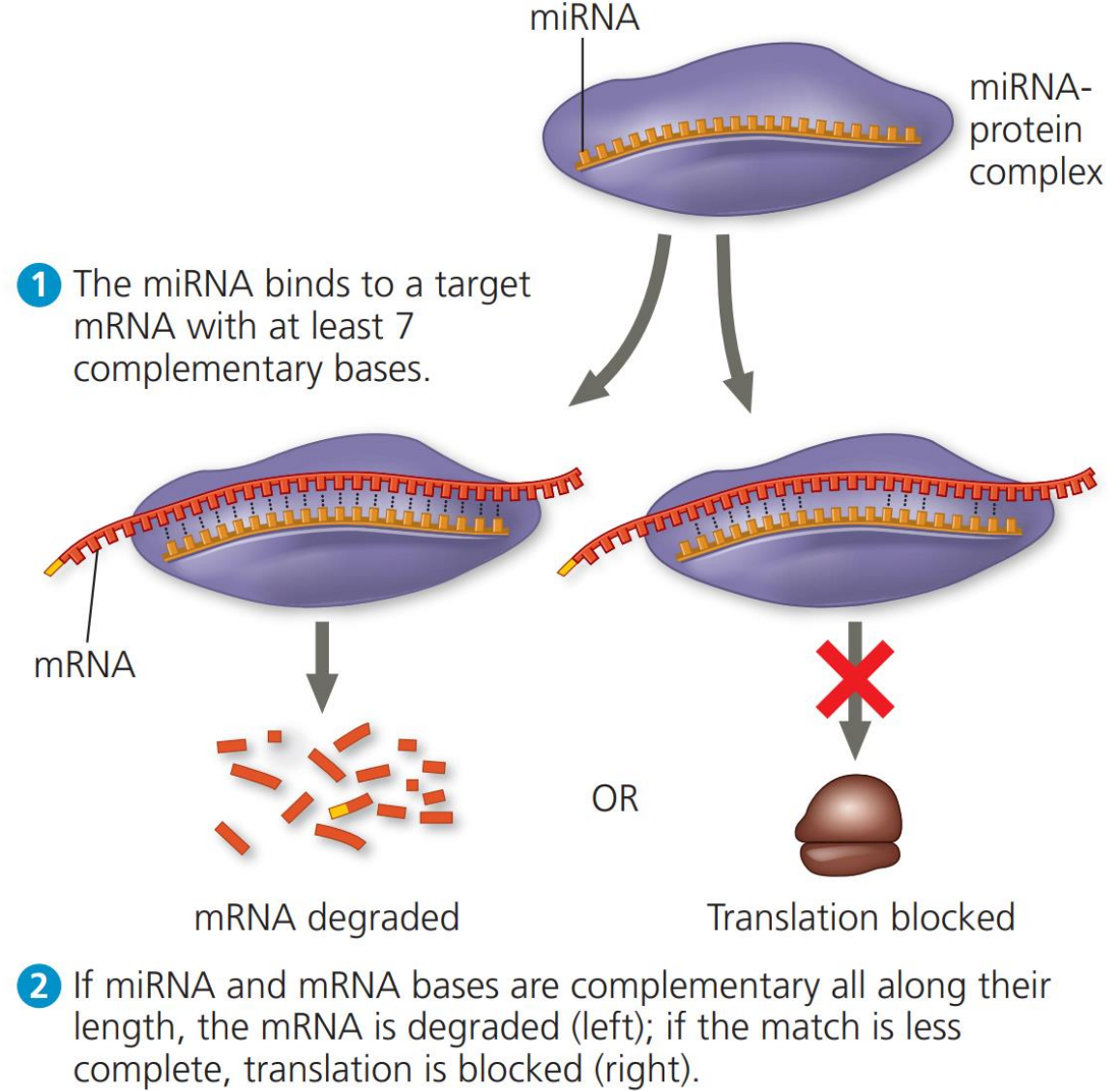
- Hücrede gen ifadesini düzenleyen büyük ve çeşitli RNA topluluğu giderek daha iyi tanımlanmaktadır.
- Yalnızca mRNA'ların en önemli RNA'lar olduğu yönündeki eski görüş gözden geçirilmektedir.
- Bu, alana yeni giren öğrencilerin canlı biçimde tanık olduğu bir düşünce değişimidir.
- Bulgular her geçen gün ncRNA'ların biyolojik rollerine yeni örnekler ekler.

Küçük ncRNA'lar ve Düzenlemenin Düzeyleri

- Küçük ve büyük ncRNA'lar, mRNA translasyonu ve kromatin değişiklikleri dahil pek çok noktada düzenleme yapar.
- Küçük ncRNA'ların önemi, keşiflerinin kısa süre içinde büyük etki yaratmasıyla vurgulanmıştır.
- Bu düzenleme yolları, gen ifadesini farklı aşamalarda hassas biçimde şekillendirir.

miRNA'lar ile Hedefe Yönelik Baskılama

- 1993'ten bu yana tanımlanan mikroRNA'lar, mRNA'lardaki tamamlayıcı dizilere bağlanabilen kısa tek iplikçikli RNA'lardır.
- Daha uzun bir öncül RNA, hücresel enzimlerle yaklaşık 22 nükleotitlik tek iplikçikli bir miRNA'ya işlenir ve proteinlerle kompleks oluşturur.
- miRNA, en az 7–8 nükleotitlik tamamlayıcılık içeren mRNA'lara bağlanmayı sağlar.
- Hedef mRNA'ya parçalanır ya da daha seyrek olarak translasyonu bloke edilir.



miRNA'ların Yaygınlığı ve Etki Alanı

- İnsan genomunda yaklaşık 1500 kadar miRNA geninden söz edilmektedir.
- En az insan genlerinin yarısının ifadesinin miRNA'lar tarafından düzenlenebileceği tahmin edilmektedir.
- Bu geniş kapsam, miRNA'ları hücrel düzenlemede merkezi bir konuma yerleştirir.
- Keşiflerinin kısa sürede bu alanı dönüştürmesi dikkat çekicidir.

siRNA'lar ve RNA İnterferans

- siRNA'lar, boyut ve işlev bakımından miRNA'lara benzer ve benzer proteinlerle kompleks kurabilir.
- Hücreye siRNA öncülleri verildiğinde, hücresel düzenek bunları işleyerek ilişkili dizileri susturan siRNA'lara dönüştürür.
- siRNA'ların yol açtığı gen ifadesi engellenmesi RNA interferans (RNAi) olarak adlandırılır.
- RNAi, gen işlevlerini incelemek için laboratuvarı yaygın bir araç olarak kullanılır.

RNAi Yolunun Olası Kökenleri

- Bazı virüslerin çift iplikçikli RNA genomları vardır.
- Hücresel RNAi yolunun, bu tür enfeksiyonlara karşı doğal bir savunma olarak evrilmiş olabileceği düşünülmektedir.
- Bununla birlikte, RNAi'nin virüs dışı hücresel genlerin ifadesini de etkileyebilmesi farklı bir kökene de işaret edebilir.
- Ayrıca memeliler dahil birçok tür, küçük RNA'lara dönüşebilen kendi uzun çift iplikçikli RNA öncüllerini üretir.

Küçük RNA'ların Etki Aşamaları

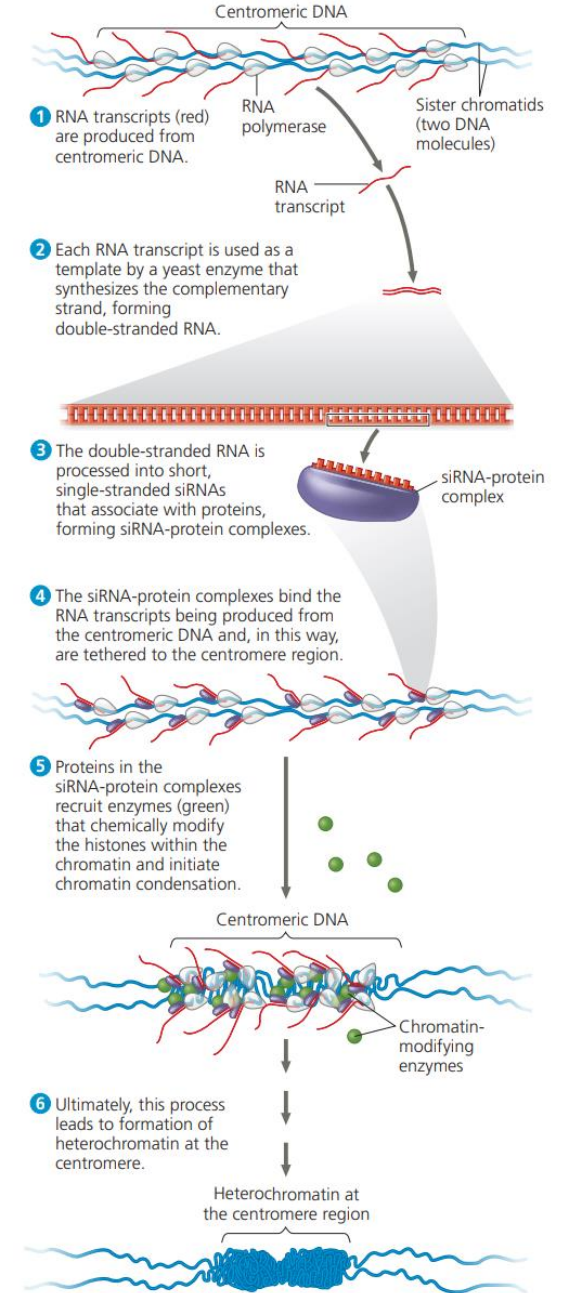
- Üretilen bu küçük RNA'lar, yalnızca translasyon aşamasını değil başka aşamaları da etkileyebilir.
- Böylece gen ifadesi, transkripsiyondan protein düzeyine kadar birden fazla basamakta ince ayar görür.
- ncRNA'ların çeşitliliği, hücrenin uyum yeteneğini artırır.

ncRNA'lar ve Kromatin Düzenlenmesi

- Bazı kodlamayan RNA'lar kromatin yapısını yeniden şekillendirerek gen ifadesini etkiler.
- Bu durumun iyi çalışılmış bir örneği, mayada sentromer bölgesinde heterokromatin oluşumudur.
- Hücre döngüsünün S evresinde sentromer gevşer, replikasyon sonrası yeniden yoğunlaşması gerekir.

Mayada siRNA gereksinimi

- Bazı maya türlerinde sentromerde heterokromatinin yeniden kurulması için hücreye özgü siRNA'lar zorunludur.
- Sürecin başlangıcı tam aydınlanmamış olsa da genel model üzerinde uzlaşşı vardır.

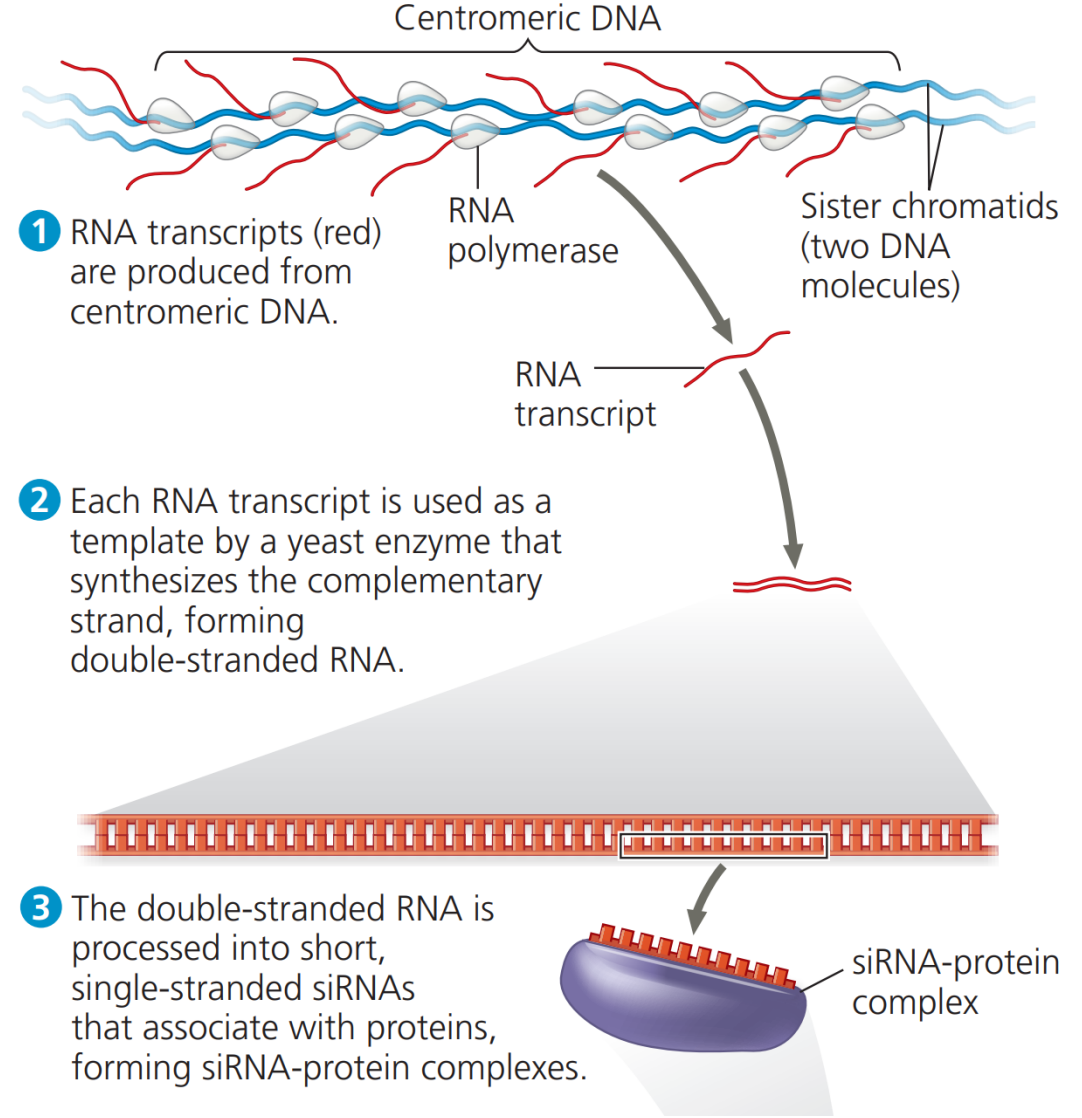


siRNA Sistemi Nasıl İşbirliği Yapar?

- Mayadaki siRNA sistemi diğer ncRNA'lar ve kromatin düzenleyici enzimlerle etkileşir.
- Bu etkileşim sentromer kromatinini yoğunlaştırarak heterokromatine dönüştürür.
- Böylece mitoz hazırlığı için gerekli sıkı paketlenme sağlanır.

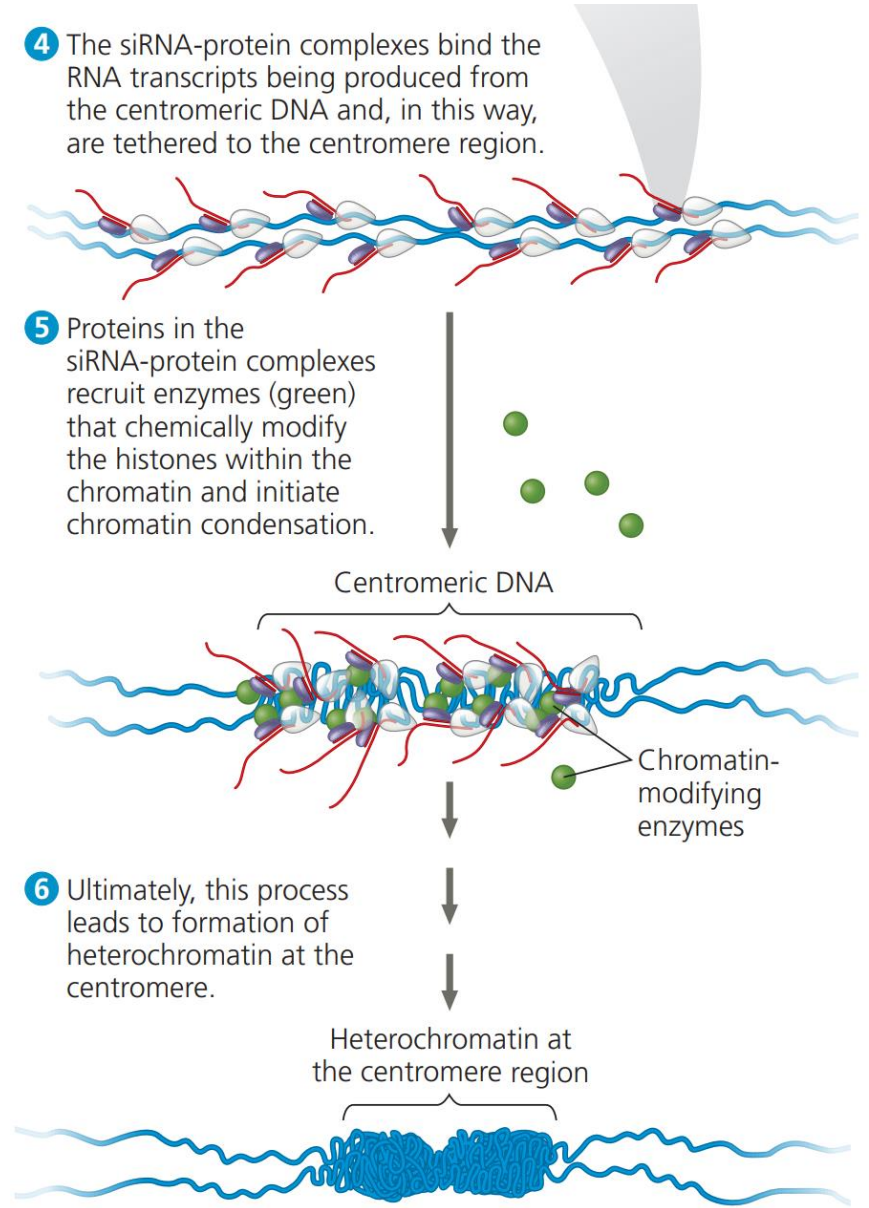
siRNA Sistemi Nasıl Çalışır?

- RNA transkriptleri (kırmızı), sentromerik DNA'dan üretilir (1).
- Her bir RNA transkripti, tamamlayıcı ipliği sentezleyen ve çift sarmallı RNA oluşturan bir maya enzimi tarafından şablon olarak kullanılır (2).
- Çift sarmallı RNA, proteinlerle birleşerek siRNA-protein kompleksleri oluşturan kısa, tek sarmallı siRNA'lara işlenir (3).



siRNA Sistemi Nasıl Çalışır?

- siRNA-protein kompleksleri, sentromerik DNA'dan üretilen RNA transkriptlerine bağlanır ve bu şekilde sentromer bölgesine bağlanır (4).
- siRNA-protein komplekslerindeki proteinler, kromatin içindeki histonları kimyasal olarak değiştiren ve kromatin yoğunlaşmasını başlatan enzimleri (yeşil) harekete geçirir (5).
- Sonuç olarak, bu süreç sentromerde heterokromatin oluşumuna yol açar (6).



Memelilerde Durum Belirsizliđi

- Çoğu koşulda memeli hücrelerinde siRNA'ların bulunduğu bilinmez.
- Sentromer DNA'sının yoğunlaşma mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır.
- Bu süreçte başka küçük ncRNA'ların yer alabileceği düşünölmektedir.

piRNA'lar ve Heterokromatin

- Yeni tanımlanan piwi-etkileşimli RNA'lar yani piRNA'lar heterokromatin oluşumunu uyarır.
- Genomdaki transpozonların ifadesini engelleyerek onları susturur.
- Genellikle 24–31 nükleotid uzunluğunda olup tek iplikli uzun bir öncülden işlenir.

piRNA'ların Eşey Hücrelerindeki Rolü

- Birçok hayvanda piRNA'lar eşey hücrelerinde vazgeçilmezdir.
- Gamet oluşumu sırasında uygun metilasyon örüntülerinin yeniden kurulmasına yardımcı oldukları düşünülür.
- Bu işlev, genom kararlılığı ve gen ifadesi düzeni için kritik kabul edilir.

Uzun Kodlamayan RNA'lar (lncRNAs)

- 200 nükleotitten yüz binlere uzanan uzun kodlamayan RNA'lar özgül hücre tiplerinde ve zamanlarda ifade edilir.
- Bu RNA'lar yüksek düzeylerde bulunabilir ve farklı işlevler üstlenir.
- Örnek bir lncRNA, X kromozomu inaktivasyonundan sorumludur.

XIST ve X Kromozomu İnaktivasyonu

- XIST geninin transkriptleri inaktive edilecek X kromozomuna bağlanıp onu kaplar.
- Bu bağlanma tüm kromozomun heterokromatine yoğunlaşmasına yol açar.

lncRNA'ların İskele İşlevi Olasılığı

- Bazı bulgular lncRNA'ların DNA, protein ve diğer RNA'ları bir araya getiren bir iskele gibi davranabildiğini düşündürür.
- Bu birliktelikler kromatini yoğunlaştırabilir.
- Bazı durumlarda ise düzenleyici bölgeleri aracı proteinlerle promotöre yaklaştırarak gen ifadesini doğrudan etkinleştirebilir.

Küçük ncRNA'ların Evrimsel Önemi

- Küçük ncRNA'lar gen ifadesini pek çok basamakta ve çeşitli yollarla düzenler.
- Bakterilerde virüslere karşı savunma sistemi olarak da kullanılır.
- Bakteriyel ncRNA'ların ökaryotlardakilerle ilişkisi henüz net değildir.

Karmaşıklık ve ncRNA Çeşitliliği

- Ek düzenleme katmanları, biçimsel karmaşıklığın evrimine olanak sağlayabilir.
- Genomdaki farklı miRNA sayısının artmasıyla morfolojik karmaşıklığın arttığı öne sürülmüştür.
- Bu öneri hâlen değerlendirilmektedir ancak kavramsal olarak destek görmektedir.

ncRNA'ların Köken Sırası ve Çeşitliliği

- Türler arası karşılaştırmalar önce siRNA'ların, ardından miRNA'ların ve daha sonra yalnızca hayvanlarda piRNA'ların evrildiğini düşündürür.
- miRNA türleri yüzlerle ifade edilirken piRNA türleri on binler düzeyindedir.
- Bu geniş piRNA repertuarı çok incelikli bir gen düzenlemesi potansiyeli sunar.

Gelişimde ncRNA Etkisi

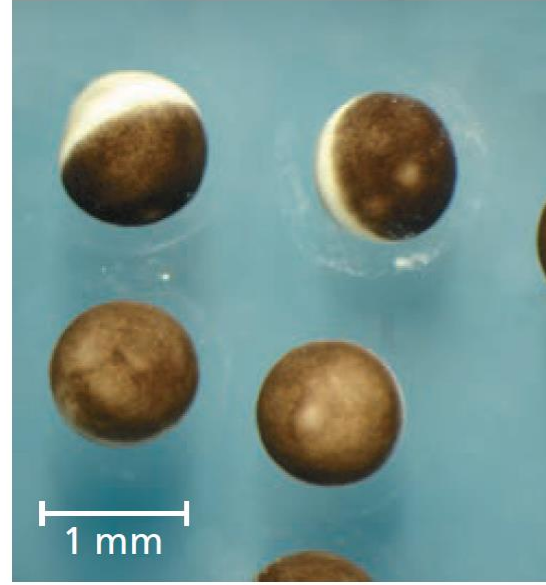
- ncRNA'ların pek çoğu embriyonik gelişimde önemli roller üstlenir.
- Gelişim, son derece hassas düzenlenmiş gen ifadesinin örnek alanıdır.
- Bu nedenle ncRNA temelli düzenleme gelişimsel süreçlerin merkezinde görülür.

Çok Hücreli Canlılarda Farklı Gen İfadesi

- Tek bir zigot zamanla yapı ve işlevi farklı çok sayıda hücre tipine dönüşür.
- Hücreler dokuları, dokular organları, organlar ise sistemleri oluşturur ve tüm organizma üç boyutlu bir düzen içinde şekillenir.
- Bu kısımda, gelişimi orkestre eden gen ifadesi düzenlenmesine odaklanacağız.
- Amaç, gelişimin “gen düzenleme programı”nın temel ilkelerini anlaşılır bir akışla aktarmaktır.

Üç Temel Süreç: Bölünme, Farklılaşma, Morfogenez

- Yandaki kurbağa örneği, zigottan iribaş formuna uzanan çarpıcı dönüşümü gösterir.
- Hücre bölünmesi, ardışık mitozlarla hücre sayısını hızla artırır.
- Hücre farklılaşması, hücrelerin özgül yapı ve işlevler kazanmasıyla ilerler.
- Morfogenez, organizmanın biçiminin ve yapılarının oluşum sürecidir ve üç boyutlu düzenin kurulmasını sağlar.



(a) Fertilized eggs of a frog



(b) Newly hatched tadpole



Süreçlerin Ortak Zemini: Hücresel Davranış ve Gen İfadesi

- Bu üç süreç, hücrelerin şekil, hareketlilik ve diğer özelliklerindeki kontrollü değişimlere dayanır.
- Bir hücrenin etkinlikleri, hangi genleri ifade ettiğine ve hangi proteinleri ürettiğine bağlıdır.
- Organizmadaki hemen tüm hücreler aynı genomu taşır.
- Farklı hücre tipleri, genlerin farklı düzenlenmesi sonucu ortaya çıkar ve buna “diferansiyel gen ifadesi” denir.

Farklı Aktivatör Setleri Nasıl Oluşur?

- Karaciğer ve göz merceği hücrelerinde gen ifadesinin nasıl ayrıştığını önceki slaytlarımızda görmüştük.
- Her tam farklılaşmış hücre tipi, gereksinim duyduğu genleri açan özgül aktivatör karışımlarına sahiptir.
- Tüm bu hücreler ortak bir zigottan mitozlarla türediğine göre, farklı aktivatör setleri nasıl ortaya çıkar sorusu gündeme gelir.
- Yanıt, gelişim sırasında adım adım işleyen bir gen düzenleme programında yatar.

Anne Kökenli Bilgi

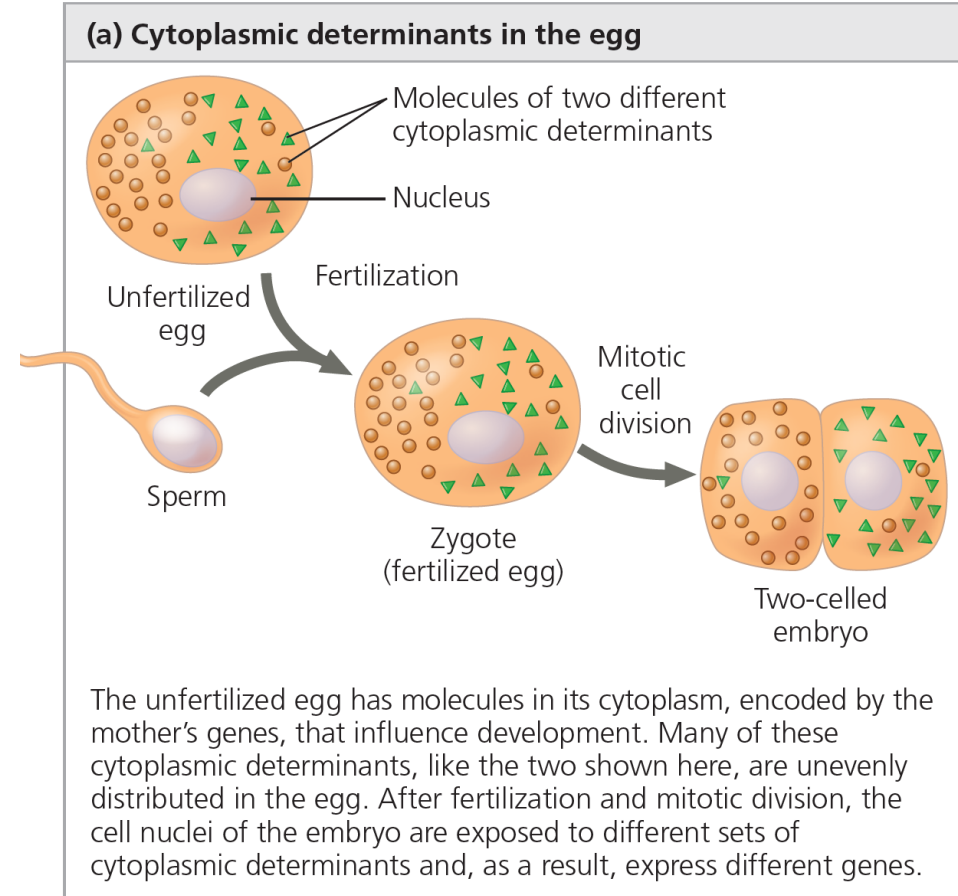
- Yumurtaya anne hücreleri tarafından yerleştirilen maddeler, bölünmeler ilerledikçe işletilen sıralı bir gen düzenleme programını başlatır.
- Bu program, embriyonik gelişim boyunca hücrel farklılaşmayı koordine eder.
- Önce erken embriyoda hücreler arasındaki ilk farkların nasıl oluştuğunu ele alacağız.
- Ardından, farklılaşmanın belirli bir hücre tipine nasıl yol açtığını kas gelişimi örneği üzerinden göreceğiz.

Hücreye “Hangi Genleri Açacağını” Söyleyen İki Bilgi Kaynağı

- Bir hücrenin gelişim yolu, hangi genleri ifade ettiğine göre belirlenir.
- Gelişim boyunca hücreye yol gösteren iki ana bilgi kaynağı bulunur ve türler arasında bunların göreceli önemi değişebilir.
- *İlki*, yumurtanın sitoplazmasındaki anne kökenli bileşenlerdir.
- *İkincisi*, embriyo içindeki komşu hücrelerden gelen çevresel sinyallerdir.

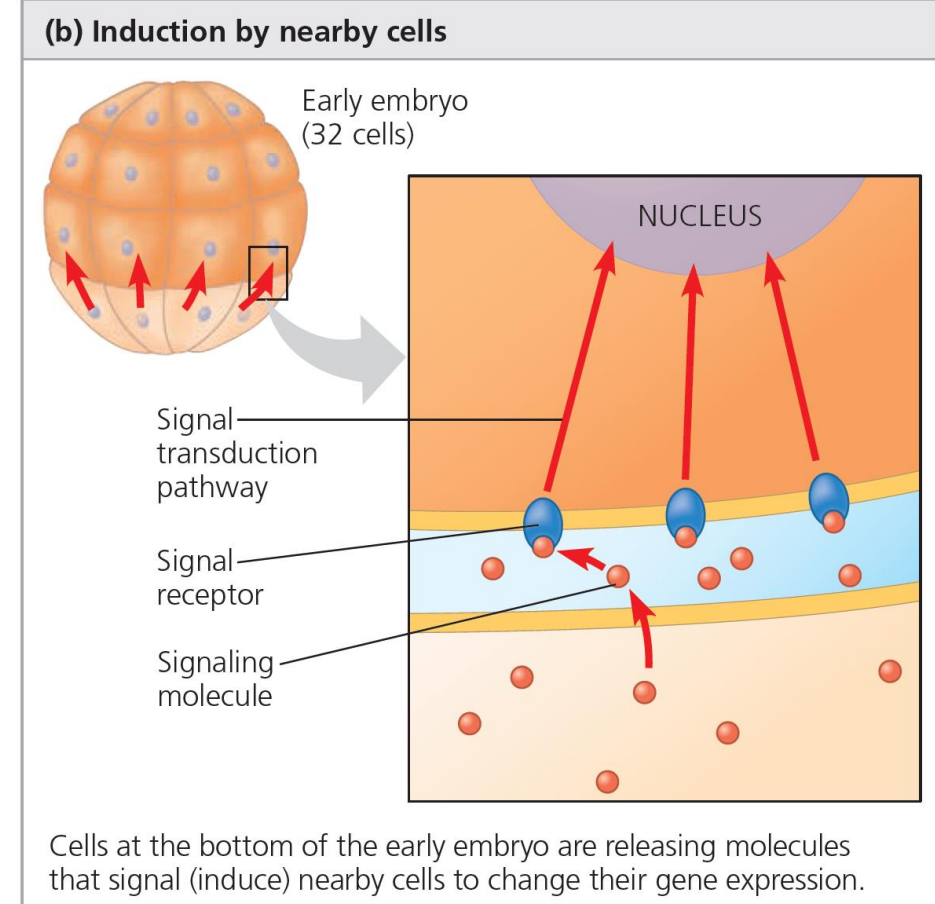
Sitoplazmik Belirleyicilerle İlk Farklılıkların Kurulması

- Yumurtanın sitoplazması, annenin DNA'sından türeyen RNA'lar ve proteinler gibi bileşenleri içerir.
- Sitoplazma homojen değildir; mRNA, proteinler, diğer maddeler ve organeller düzensiz dağılmış durumdadır.
- Bu anne kökenli maddeler erken gelişim seyrini etkiler ve “sitoplazmik belirleyiciler” olarak adlandırılır.
- Döllenme sonrası mitozlar sitoplazmayı farklı hücrelere paylaştırır; her çekirdek farklı belirleyici bileşimlerle karşılaşır ve bu bileşim, gen ifadesini yönlendirerek hücrenin yolunu şekillendirir.



İndüksiyon: Komşu Hücrelerden Gelen Yönlendirme

- Hücre sayısı arttıkça çevresel bilgi giderek daha etkili hale gelir.
- Komşu embriyonik hücrelerle yüzey temasları ve salgılanan büyüme faktörlerinin bağlanması hedef hücreleri etkiler.
- Bu etki “indüksiyon” olarak adlandırılır ve reseptörler ile hücre içi sinyal bileşenleri aracılığıyla gen ifadesinde değişikliklere yol açar.
- Hücreler arası etkileşimler böylece özgül gen programlarını tetikleyerek çok sayıda uzmanlaşmış hücre tipinin ortaya çıkmasını sağlar.



Farklılaşmanın Ardışık Programı

- Hücreyi uzmanlaşma yoluna sokan en erken değişimler moleküler düzeyde başlar ve ilk bakışta mikroskopla seçilemez.
- “Belirlenme” bir embriyonik hücrenin geri dönüşsüz biçimde belirli bir hücre tipine yönelmesidir.
- Belirlenme tamamlandıktan sonra hücre başka bir konuma aktarılrsa bile normal kaderine uygun şekilde farklılaşır.
- “Farklılaşma” ise hücrenin bu belirlenmiş kaderi görünür yapı ve işlev değişimleriyle gerçekleştirmesidir.

Belirlenmeden Farklılaşmaya Giden Yol

- Doku ve organlar şekillenirken hücreler yapı ve işlev bakımından giderek daha belirgin biçimde ayrışır.
- Bu ayrışmanın temelinde gen ifadesindeki düzenli ve ardışık değişimler yer alır.
- Yeni hücreler öncüllerinin bölünmesiyle oluşurken farklı gen setleri sıralı biçimde devreye girer.
- Farklılaşmanın pek çok adımı düzenlenebilir olsa da en yaygın kontrol noktası transkripsiyondur.

Moleküler İşaretler: Dokuya Özgü Proteinler

- Farklılaşma, dokuya özgü proteinleri kodlayan genlerin ifadesiyle ayırt edilir.
- Bu proteinler yalnızca ilgili hücre tipinde bulunur ve hücreye karakteristik yapı ile işlev kazandırır.
- Farklılaşmanın ilk kanıtı bu proteinlere ait mRNA'ların ortaya çıkmasıdır.
- Zamanla mikroskopik düzeyde yapı değişimleri de belirginleşir.

Örnekler: Albümin, Kristalin ve Kas Hücresi Programı

- Daha önce de ifade ettiğimiz üzere, transkripsiyonel düzenleme sayesinde karaciğer hücreleri albümin, mercek hücreleri ise kristalin üretiminde uzmanlaşır.
- Omurgalı iskelet kası hücreleri tek plazma zarı içinde çok çekirdekli uzun lifler hâlinindedir.
- Bu hücrelerde miyozin ve aktinin kas dokusuna özgül varyantları yüksek düzeydedir.
- Sinir hücrelerinden gelen sinyalleri algılayan zar reseptörleri de yoğun bulunur.

Kas Soyuna Giriş: Miyoblastlara Doğru

- Kas hücreleri, kıkırdak ya da yağ hücresi gibi farklı seçeneklere açık embriyonik öncüllerden gelişir.
- Belirli koşullar bu öncülleri kas hücresi oluşumu yoluna iter ve belirlenme gerçekleşir.
- Mikroskopta henüz değişmemiş görünseler bile bu aşamadaki hücreler artık “miyoblast”tır.
- Miyoblastlar kısa sürede kasa özgül proteinleri yoğun üretir ve kaynaşarak olgun çok çekirdekli kas liflerini oluşturur.

Deneyssel Kanıt: “Ana Düzenleyici Genler”

- Kültürde büyütülen embriyonik öncüllerde tek tek genler ifade ettirilerek farklılaşma tepkileri incelenmiştir.
- Bu yaklaşım, hücreleri iskelet kasına yönlendiren bir dizi “ana düzenleyici gen”in tanımlanmasını sağlamıştır.
- Kas hücresinde belirlenmenin moleküler temeli bu genlerden bir ya da birkaçının ifadesine dayanır.
- Sonuç, kas programını başlatan ve sürdüren koordineli bir gen ağıdır.

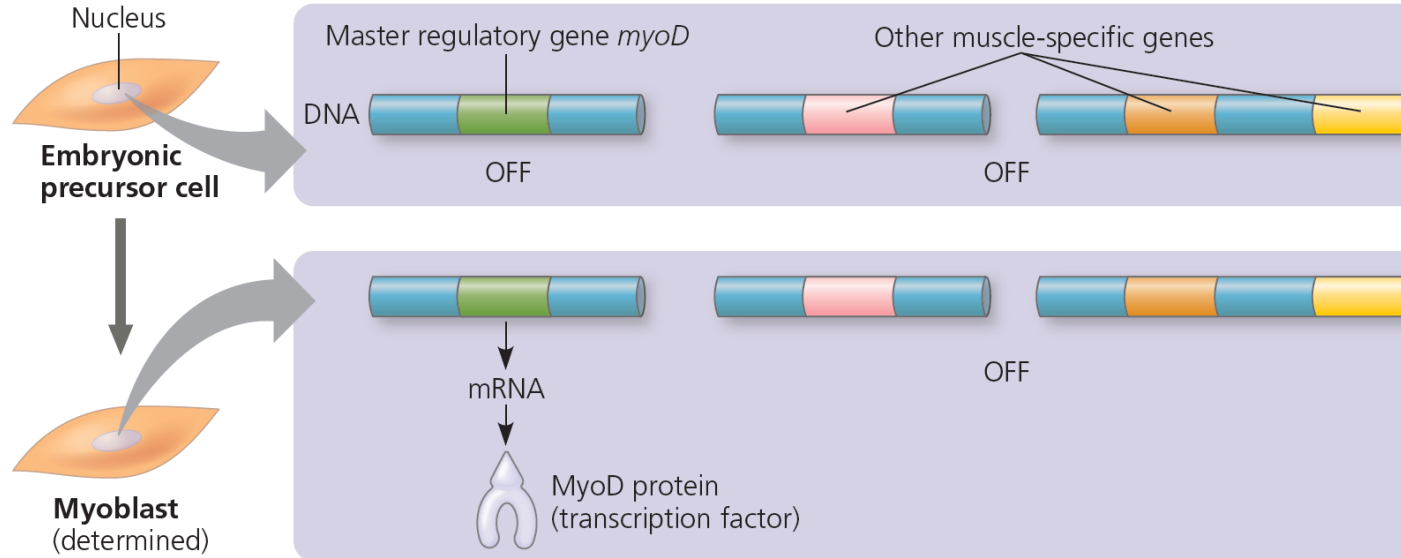
MyoD Üzerine Odaklanma

- MyoD, kas hücre hattı için “ana düzenleyici” kimliğini hak eden bir gendir.
- MyoD proteini bazı tam farklılaşmış yağ veya karaciğer hücrelerini bile kas hücrelerine dönüştürebilir.
- Her hücre tipi yanıt vermez çünkü kas genlerinin etkinleşmesi yalnızca MyoD’ye değil belirli bir düzenleyici protein kombinasyonuna bağlıdır.
- Artan deneysel bulgular, MyoD benzeri düzenleyicilerin belirli bölgelerde kromatini açarak yeni gen kümelerine erişimi sağladığını düşündürür.

MyoD'un İşleyişi:

Adım 1-Belirleme

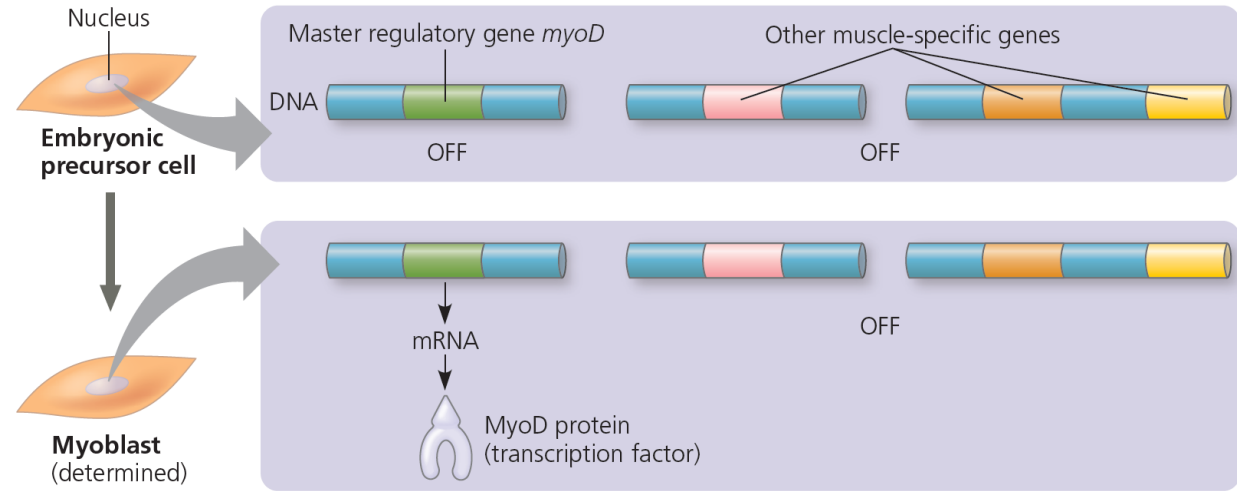
- Diğer hücrelerden gelen sinyaller, MyoD adı verilen ana düzenleyici genin aktivasyonuna yol açar ve hücre, aktivatör görevi gören spesifik bir transkripsiyon faktörü olan MyoD proteinini üretir.
- Artık miyoblast olarak adlandırılan hücre, geri dönüşümsüz bir şekilde iskelet kası hücresi haline gelmeye kararlıdır.



MyoD'un İşleyişi:

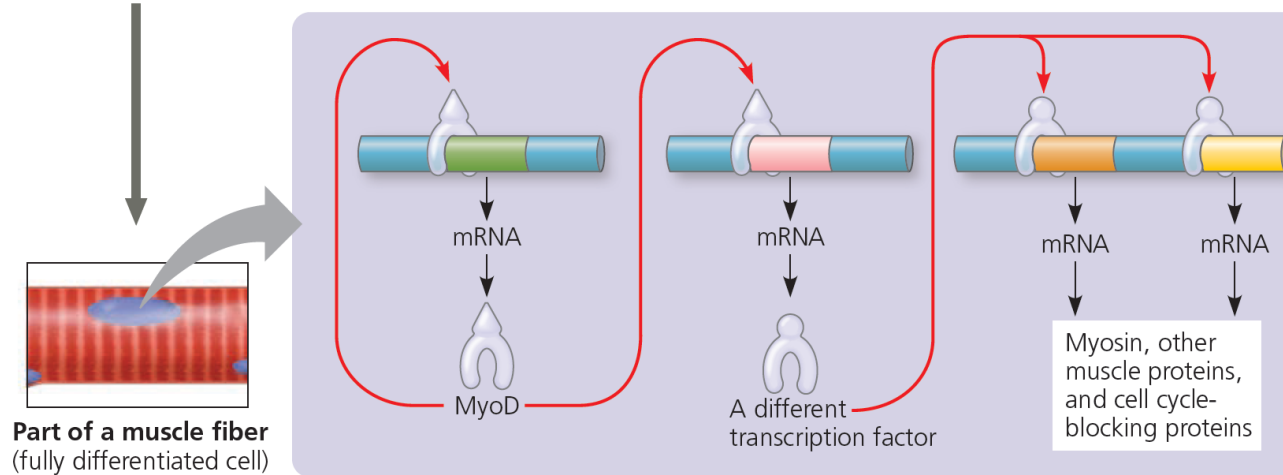
Adım 1-Farklılaşma

- MyoD proteini, kendi genini daha fazla uyarır ve diğer kaslara özgü transkripsiyon faktörlerini kodlayan genleri aktive eder.
- Bu faktörler de kas proteinleri için genleri aktive eder.
- MyoD ayrıca hücre döngüsünü bloke eden genleri de aktive ederek hücre bölünmesini durdurur.
- Bölünmeyen miyoblastlar, kas lifleri olarak da adlandırılan olgun çok çekirdekli kas hücrelerine dönüşmek üzere birleşir.



Son Adım: Yapısal Proteinlerin Eşik Aşımı

- İkincil transkripsiyon faktörleri, miyozin ve aktin gibi kasın ayırt edici proteinlerini kodlayan genleri etkinleştirir.
- Böylece kas lifine özgü mekanik özellikler kazanılır ve hücre işlevsel hâle gelir.
- Bu basamaklı düzen, kas farklılaşmasında moleküler bir zamanlama programı oluşturur.



Büyük Resim: Farklılaşmadan Vücut Planına

- Döllenmiş yumurtada başlatılan farklı gen ifade programları, sonunda farklılaşmış hücre ve dokuları ortaya çıkarır.
- Ancak organizmanın etkili çalışması için tüm bu farklılaşmanın üzerine genel vücut planının yerleşmesi gerekir.
- Bir sonraki aşamada vücut planının moleküler temelleri incelenecek ve örnek olarak *Drosophila melanogaster* ele alınacaktır.
- Böylece hücresel farklılaşmanın organizma düzeniyle nasıl bütünleştiği netleşecektir.

Vücut Planının Kurulması

- Canlıda doku ve organların doğru yerlere yerleşmesini sağlayan sürece desen oluşumu denir.
- Bu düzen, sitoplazmik belirleyiciler ve indüktif sinyallerin birlikte etkisiyle kurulur.
- Hücreler, konumsal bilgiyi bu ipuçlarıyla alır ve gelecekteki sinyallere nasıl yanıt vereceklerini buna göre belirler.

Erken Embriyoda Eksensel Kurulum

- Hayvanlarda desen oluşumu, embriyonun erken döneminde ana eksenler belirlenirken başlar.
- İki beyinli simetriye sahip hayvanlarda baş–kuyruk, sağ–sol ve sırt–karın eksenleri organlar görünmeden önce kurulur.
- Sitoplazmik belirleyiciler ve indüktif sinyaller bu eksenlerin konum bilgisini sağlar.

Klasik Embriyolojiden Çıkarımlar

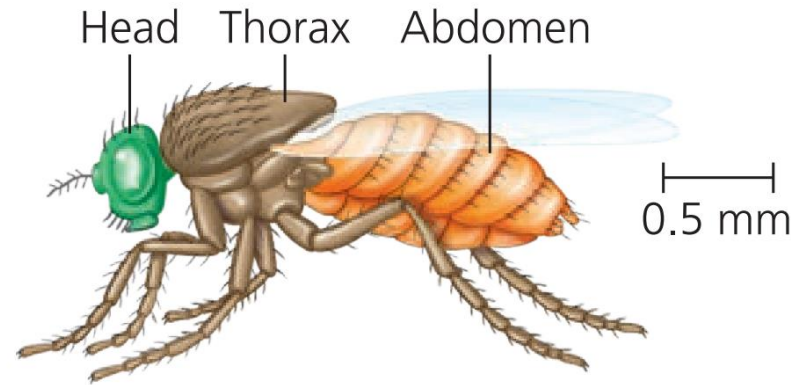
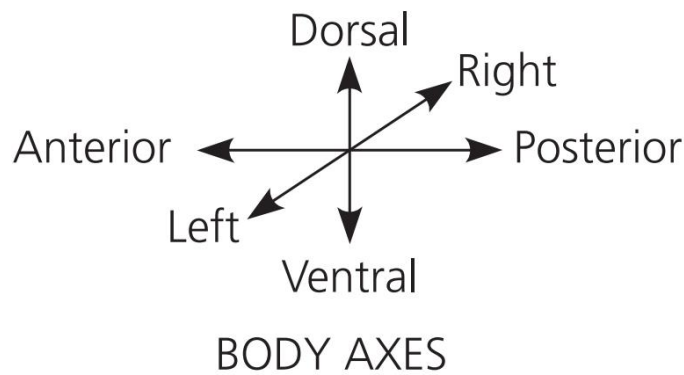
- 20. yüzyılın ilk yarısında ayrıntılı anatomik gözlemler ve doku manipölasyonları yapıldı.
- Bu çalışmalar gelişimin mekanizmalarını anlamak için temel oluşturdu.
- Ancak desen oluşumunu yöneten özgül moleküller bu dönemde tanımlanamadı.
- Moleküler düzeyde açıklama için genetik yaklaşıma ihtiyaç duyuldu.

Genetik Yaklaşımın Doğuşu

- 1940'larda *Drosophila* üzerinde mutantların incelenmesiyle genetik yaklaşım benimsendi.
- Bu yöntem gelişimin genler tarafından kontrol edildiğini açıkça gösterdi.
- Moleküler konumun belirlenmesinde yer alan özgül öğelerin rolleri ortaya kondu.
- *Drosophila* çalışmaları, insan dahil birçok tür için ortak ilkeleri aydınlattı.

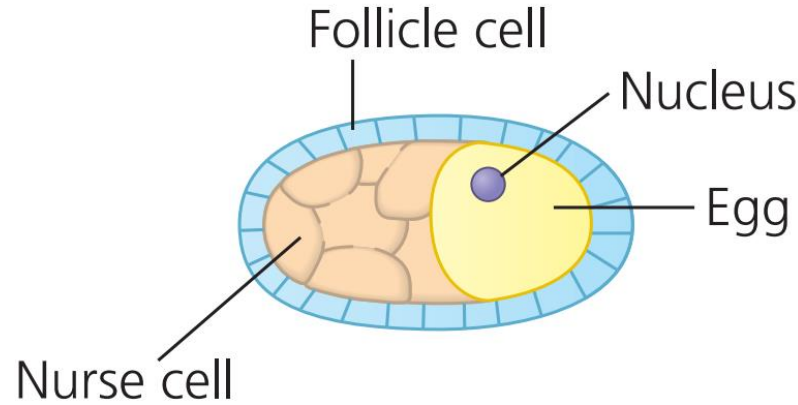
Drosophila'nın Modüler Beden Planı

- Meyve sineklerinde ardışık segmentlerden oluşan baş, toraks ve abdomen bulunur.
- *Drosophila*'da baş–kuyruk, sırt–karın ve sağ–sol eksenleri belirgindir.
- Döllenmeden önce bile, sitoplazmik belirleyiciler ön–arka ve sırt–karın eksenlerine ilişkin bilgi sağlar.
- Odak, ön–arka eksenini kuran moleküller üzerindedir.



Yumurta Gelişimi ve Destek Hücreleri

- Yumurta, ovaryumda besleyici (hemşire) hücrelere komşu ve folikül hücreleriyle çevrili olarak gelişir.
- Besleyici hücreler adından da anlaşılacağı üzere besin, mRNA ve gerekli maddeleri sağlar ve yumurta kabuğunu oluşturur.
- Bu süreç, ileri gelişim için gerekli içeriğin yumurtaya aktarılmasını güvence altına alır.

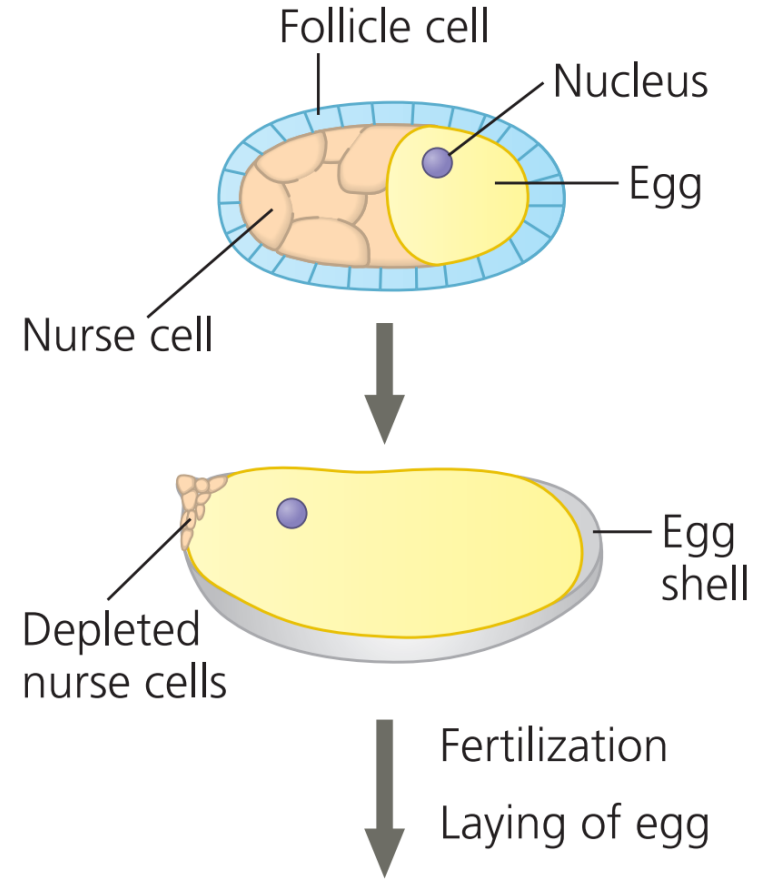


Drosophila Yaşam Döngüsünün Özeti

- Döllenme ve yumurtanın bırakılmasından sonra segmentli bir larva oluşur.
- Larva üç evre geçirir ve ardından pupa evresinde başkalaşım gerçekleşir.
- Erişkin sinek, segmentli beden planını dışa vurur.

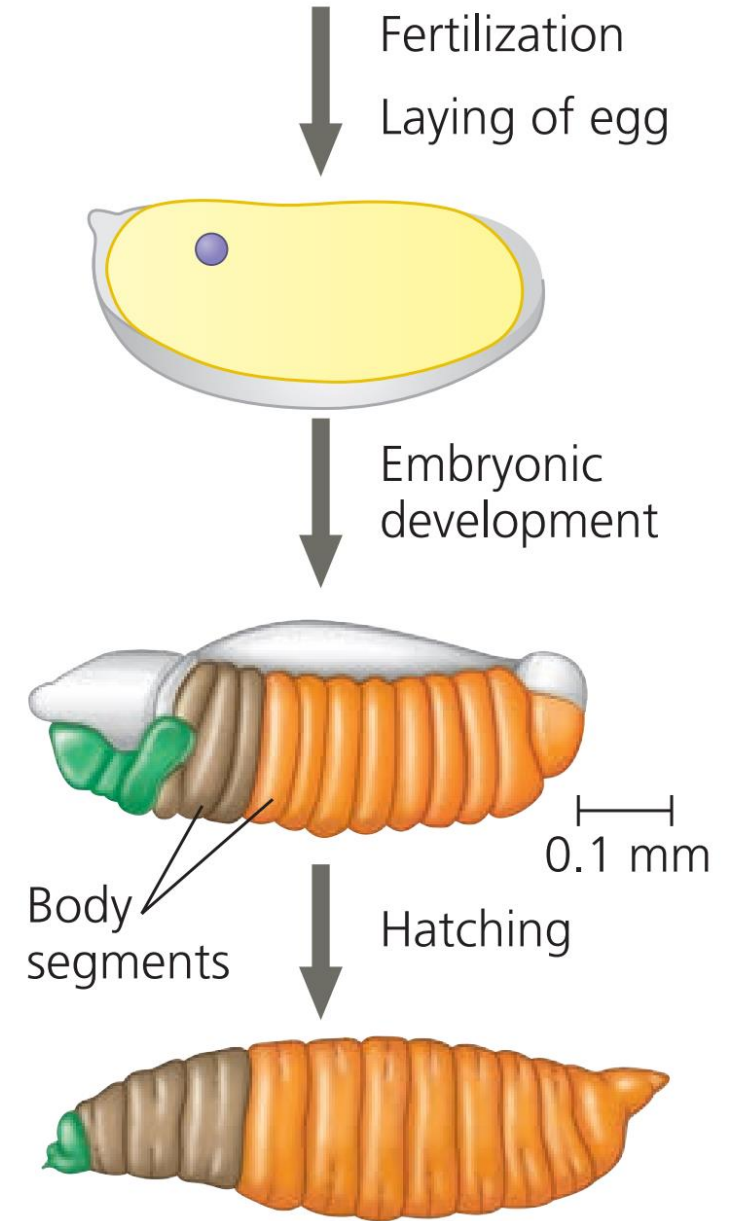
Drosophila Yaşam Döngüsünde Neler Olur?

- Yumurtalık foliküllerinden birinde (yumurtalıktaki birçok folikülünden biri) gelişen yumurta (sarı), destek hücreleri (folikül hücreleri) ile çevrilidir.
- Gelişmekte olan yumurta, diğer destek hücreleri (hemşire hücreler) tarafından sağlanan besin ve mRNA'larla büyür.
- Sonunda olgun yumurta, folikül hücreleri tarafından salgılanan yumurta kabuğunu doldurur.



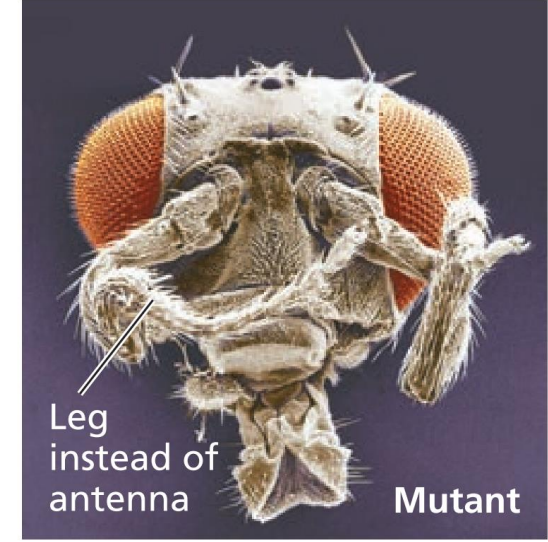
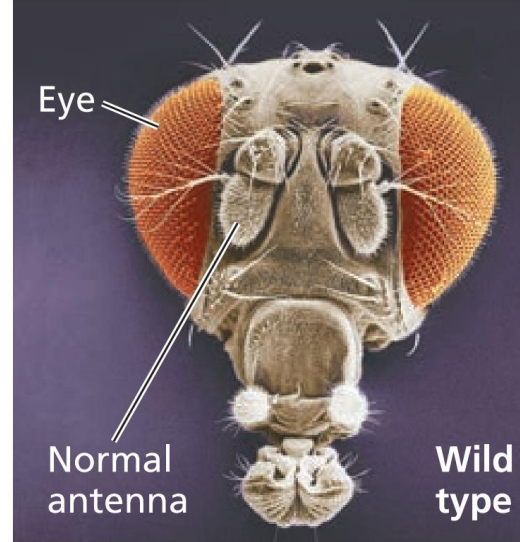
Drosophila Yaşam Döngüsünde Neler Olur?

- Yumurta, dişinin içinde döllenir ve ardından yumurtlanır.
- Yumurta, segmentli bir embriyoya dönüşür.
- Embriyo, üç aşamadan oluşan bir larvaya dönüşür.
- Üçüncü aşamada, larvanın yetiştikine dönüştüğü bir pupa oluşur.



Lewis ve Homeotik Genler

- Edward B. Lewis, anormal kanat ve bacak yerleşimli mutantlarla çalıştı.
- Mutasyonları genetik harita üzerinde konumlandırarak kusurları belirli genlerle ilişkilendirdi.
- Homeotik genlerin, geç embriyo, larva ve erişkinde desen oluşumunu düzenlediği gösterildi.
- Bu bulgular genlerin gelişimi yönlendirdiğine dair somut kanıt sağladı.



Erken Segmentasyonun Genetik Taraması

- Nüsslein-Volhard ve Wieschaus, segment oluşumunu etkileyen genleri sistematik olarak taradı.
- Çok sayıda genin bulunması ve embriyonik ölümcüllük önemli zorluklar yarattı.
- Araştırmacılar resesif mutasyonları taşıyan heterozigot hatlarla bu engeli aştı.
- Eksen oluşumunda anne genlerinin rolü nedeniyle annenin genleri de incelendi.

Tarama Stratejisinin Mantığı

- Mutajen uygulanmış sinekler çaprazlanarak yavrular tarandı.
- Segmentasyon veya eksen kusurları olan embriyo ya da larvalar seçildi.
- Ön–arka eksen kuran genleri bulmak için iki başlı veya iki kuyruklu uç örnekler arandı.
- Bu yaklaşım, maternal genlerin doğru uçların kurulmasındaki gerekliliğini ortaya koydu.

Keşiflerin Kapsamı ve Haritalama

- Embriyonik desen oluşumu için yaklaşık 1200 gen gereklidir.
- Normal segmentasyon için yaklaşık 120 gen temel gruplara ayrılarak belirlendi.
- Genler kromozomlar üzerinde yerleştirildi ve laboratuvarında izole edildi.
- Bu çalışmalar erken desen oluşumunun ayrıntılı bir moleküler resmini sağladı.

Eksenlerin Kurulmasının Temeli

- *Drosophila*'da beden eksenlerini ilk kuran ögeler yumurtadaki sitoplazmik belirleyicilerdir.
- Bu belirleyiciler annenin genleri tarafından kodlanır ve yumurtaya daha ovaryumdayken yerleştirilir.
- Erken eksen kurulumu sonraki gelişim adımlarının yönünü belirler.
- Konu ilerleyen slaytlarda 'bicoid' örneğiyle somutlaştırılacaktır.

Maternal Etki Genleri Nedir?

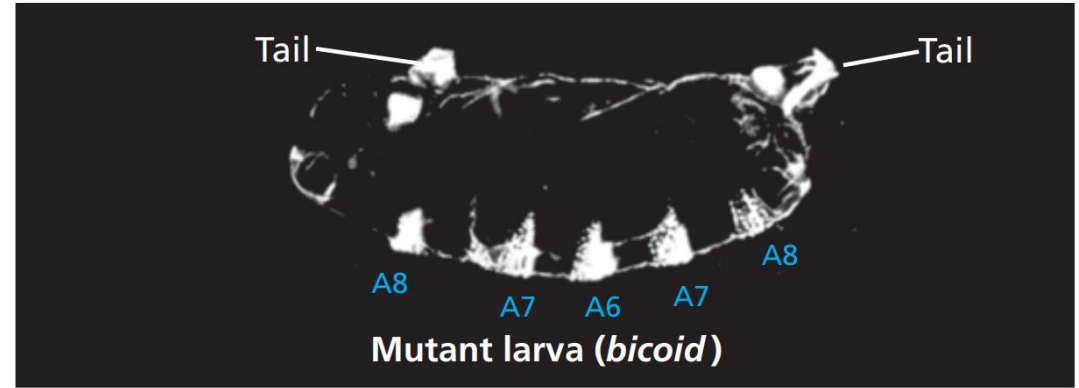
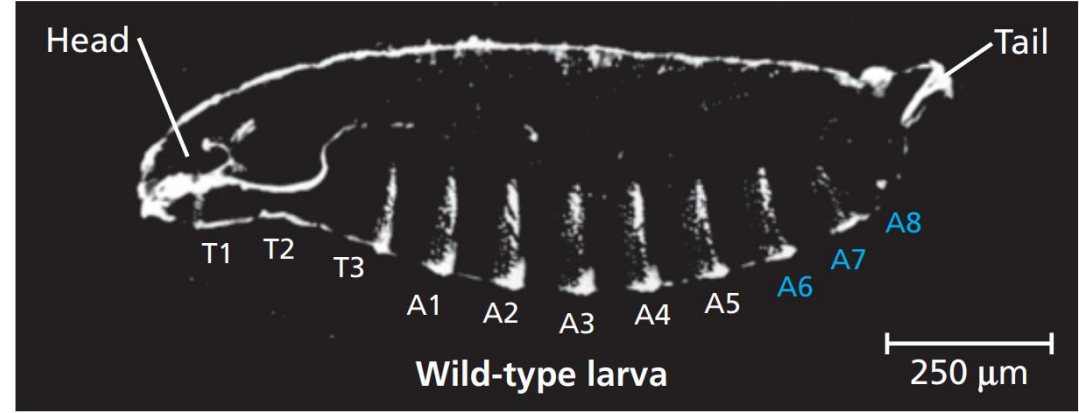
- Annenin genomundaki mutasyonlar, yavrunun kendi genotipinden bağımsız olarak yavruda fenotipe yansır.
- Bu gen ürünleri mRNA ya da protein halinde gelişimden önce yumurtaya taşınır.
- Mutant anne hatalı ya da eksik ürün oluşturduğunda yumurtalar kusurlu olur ve doğru gelişemez.
- Bu çerçeveye “maternal etki genleri” tanımını doğurmuştur.

Yumurta Polaritesi ve Eksen Grupları

- Maternal etki genleri yumurtanın ve dolayısıyla canlının yönelimini belirler.
- Bir grup ön–arka eksenini, bir başka grup sırt–karın eksenini kurar.
- Bu genlerdeki mutasyonlar çoğunlukla embriyonik ölümlerle sonuçlanır.
- Bu nedenle erken gelişimde işlevleri kritiktir.

Bicoid'e Giriş

- Bicoid adlı maternal genin ürününün ön ucu kurduğu gösterilmiştir.
- İki mutant bicoid alleleline sahip anne, ön yarısı eksik yavrular verir.
- Bu durumda her iki uçta da arka yapılar görülür.

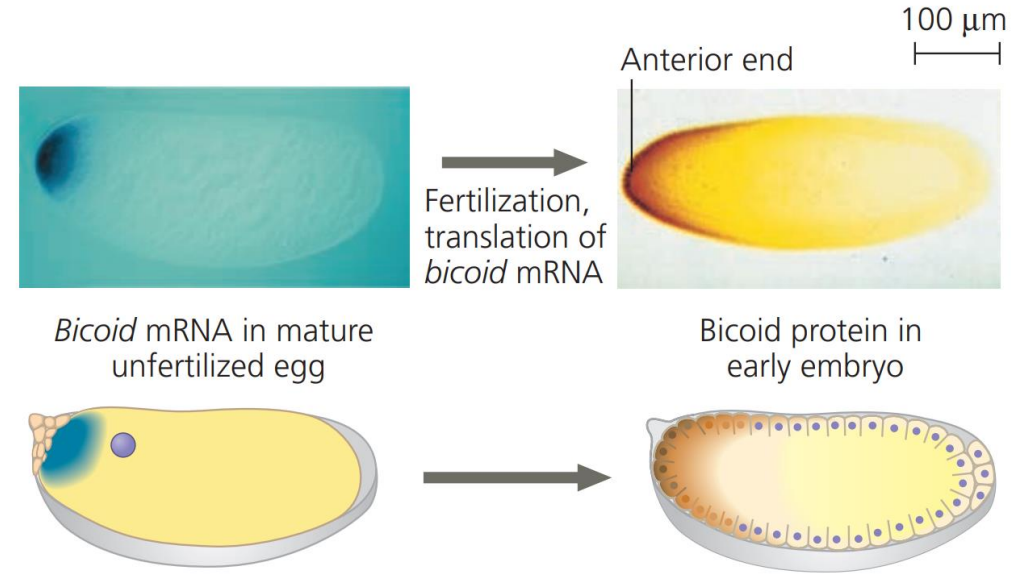


Morfogen Gradyanı Hipotezi

- Erken embriyoda morfogen adlı maddelerin gradyanları eksenleri ve biçimi kurabilir.
- Bicoid proteininin ön uçta yoğunlaşıp arkaya doğru azaldığı öngörülmüştür.
- Bu yaklaşım, ön ucu belirleyen özgül bir morfogen fikrini sınar.
- Hipotez bicoid üzerinden deneylerle test edilmiştir.

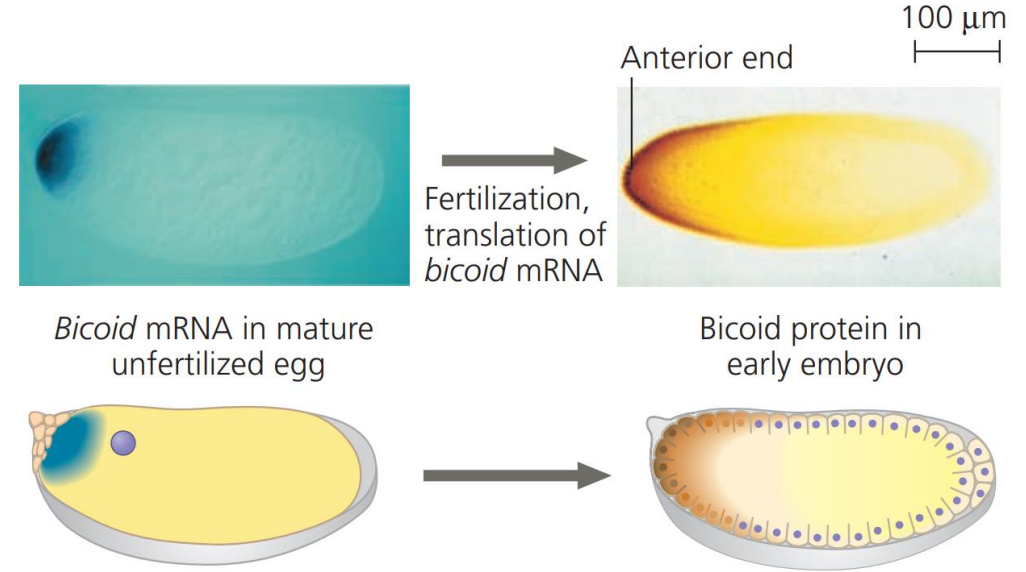
Bicoid mRNA'sının Konumu

- Olgun yumurtada bicoid mRNA'sı uç düzeyde ön uçta yoğun bulunur.
- Döllenmeden sonra bu mRNA proteine çevrilir ve protein arkaya doğru diffüze olur.
- Erken embriyoda ön uçta en yüksek, arkaya doğru azalan bir Bicoid gradyanı oluşur.



Fonksiyonun Doğrudan Testi

- Saf bicoid mRNA'sı erken embriyolara farklı bölgelere enjekte edilmiştir.
- Translasyon sonrası oluşan protein, enjeksiyon bölgesinde ön yapıların oluşmasına yol açmıştır.
- Bu bulgu bicoid proteininin ön ucu belirlediği yorumunu destekler.
- DeneySEL kanıt hipotezle tutarlı bir tablo sunar.

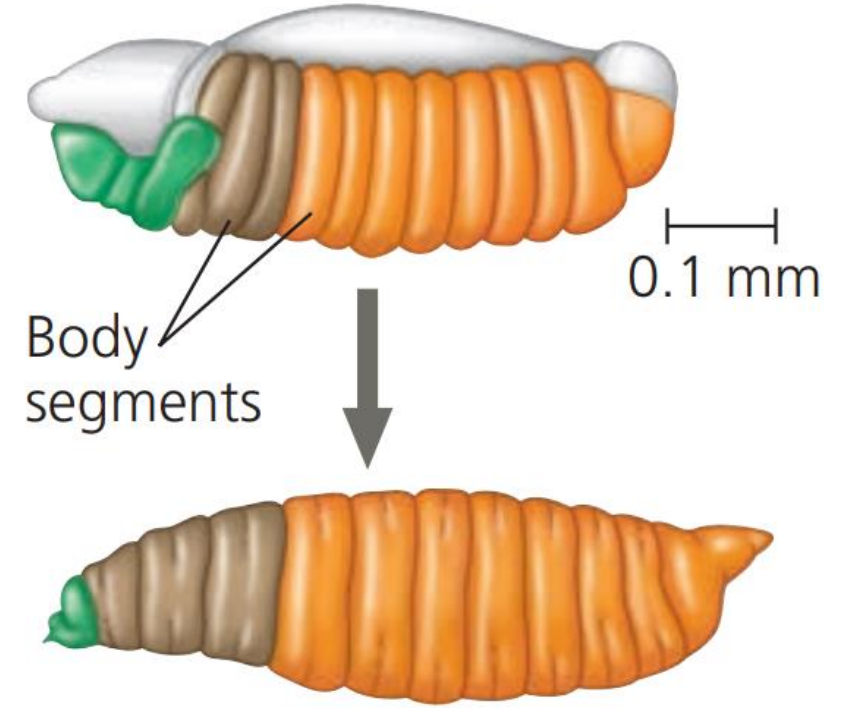


Bulguların Önemi

- Desen oluşumunun en erken adımlarında gerekli özgül bir proteinin kimliği açıklığa kavuşmuştur.
- Yumurta içindeki farklı bölgelerin farklı gelişim yollarına nasıl yönlendirildiği anlaşılmıştır.
- Annenin başlangıç evrelerindeki belirleyici rolü güçlü biçimde ortaya konmuştur.
- Morfogen gradyanlarının kutup ve konumu belirleyebildiği ilkesi pekişmiştir.

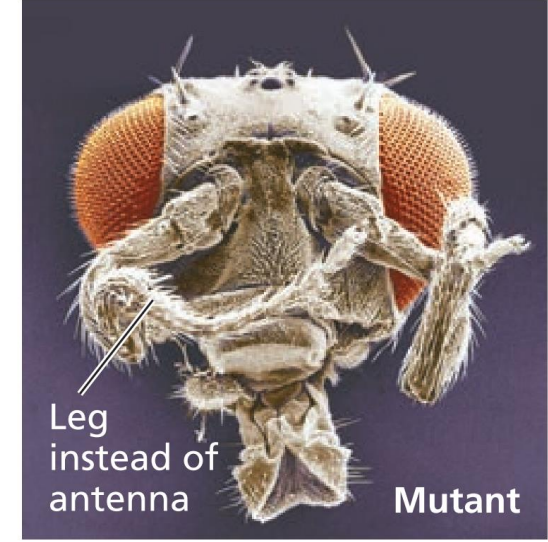
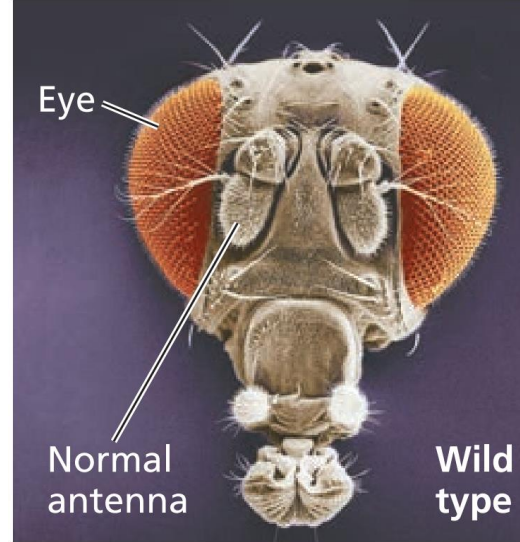
Embriyonik Program ve Desenin İncelmesi

- Embriyo kendi genleriyle daha ince ölçekte konumsal bilgiyi işler.
- Doğru yönelimli belirli sayıda segment kurulur ve her segmentin karakteristik yapıları tetiklenir.
- Geç adımlarda görevli genlerdeki bozukluklar erişkin desende anormalliklere yol açar.



Başlangıç Öyküsü: Evo-Devo'ya Giden Yol!

- Yanda baş kısmından bacak çıkan sinek tek bir homeotik gen mutasyonunun sonucudur.
- Bu gen bir anten proteini üretmez, başka genleri düzenleyen bir transkripsiyon faktörünü kodlar.
- Gelişim sırasında düzenlemedeki bir arıza anten yerine bacak gibi yanlış konumlu yapılar oluşturabilir.



Gözlemin Açtığı Kapı: Evo-Devo'nun Doğuşu

- Gelişimdeki düzenleme değişikliklerinin vücut biçiminde büyük farklılıklar yaratabilmesi evrime katkı ihtimalini gündeme getirdi.
- Bu düşünce çizgisi evrimsel gelişim biyolojisi olarak bilinen “evo-devo” alanının doğmasına yol açtı.

Yumurtadan Organizmaya: İnce Ayarlı Bir Program

- Döllenmiş yumurtadan çok hücreli bir organizmaya dönüşüm ardışık ve uyumlu bir gen düzenleme programıyla yürür.
- Program, doğru yerde farklılaşma genlerini açarken diğer genleri kapalı tutacak biçimde dengelenir.
- Organizma tam geliştiğinde bile gen ifadesi benzer bir hassasiyetle düzenlenmeye devam eder.

Kanser ve Gen İfadesi Ayarı

- Bu son kısımda, yalnızca birkaç genin ifadesindeki belirli değişimlerin kansere nasıl yol açabildiğine odaklanacağız.
- Bu yaklaşım, gen düzenlemesindeki ince ayarın bozulmasının sonuçlarını somut bir örnekle göstermeyi amaçlar.

Kanser ve Hücre Döngüsü Kontrolü

- Kanser, hücrelerin büyümeyi sınırlayan kontrol mekanizmalarından kaçmasıyla karakterizedir.
- Gen ifadesinin moleküler temellerini öğrendikten sonra bu süreci daha yakından incelemeye hazırız.
- Gelişim, bağışıklık yanıtı ve diğer süreçlerdeki düzenleme ağları kanserde yanlış çalıştığında hastalık ortaya çıkar.

Kanserle İlişkili Gen Türleri

- Hücre büyümesi ve bölünmesini düzenleyen genler arasında büyüme faktörleri, bunların reseptörleri ve sinyal yolak bileşenleri bulunur.
- Bu genlerde somatik mutasyonlar kansere yol açabilir.
- Değişimin nedeni rastlantısal mutasyonlar ya da kimyasal karsinojenler, yüksek enerjili radyasyon ve bazı virüsler olabilir.

Onkogenlerin Keşfi ve Proto-onkogenler

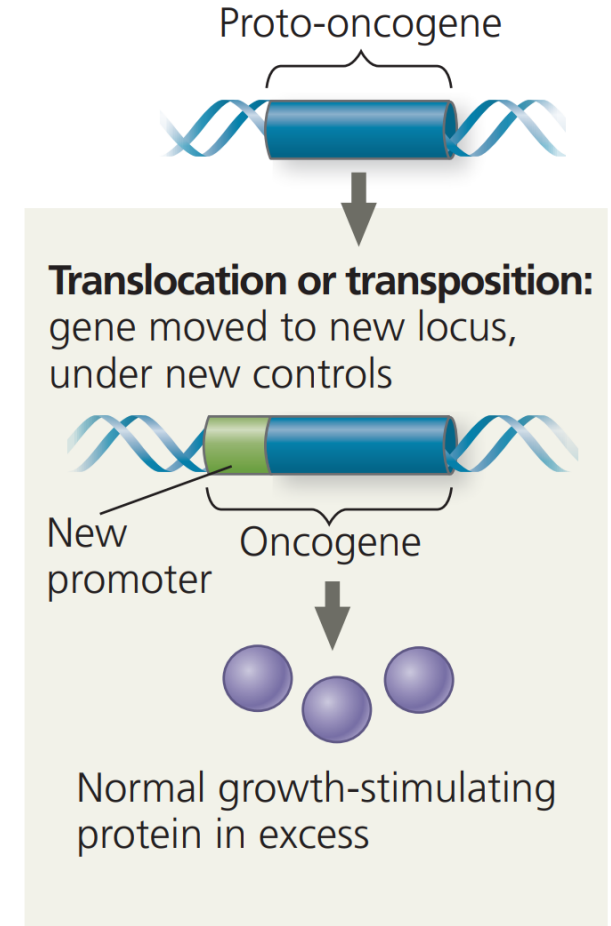
- Kanser araştırmaları bazı virüslerde tümör oluşturunu onkogenleri ortaya çıkardı.
- Daha sonra bu viral onkogenlerin yakın karşılıkları insanlar ve diğer hayvanların genomlarında da bulundu.
- Bunların hücrelerdeki normal karşılıkları proto-onkogen olarak adlandırılır ve normal büyüme ile bölünmeyi uyarıcı proteinleri kodlar.

Proto-onkogenden Onkogene: Genel İlkeler

- Onkogen, protein miktarında artışa ya da tek tek protein moleküllerinin etkinliğinde yükselmeye yol açan genetik değişimle ortaya çıkar.
- Bu dönüşümü açıklayan üç ana kategori vardır.
- Bunlar; genom içinde DNA hareketi, proto-onkogenin amplifikasyonu ve kontrol ögesi ya da genin kendisindeki nokta mutasyonlarıdır.

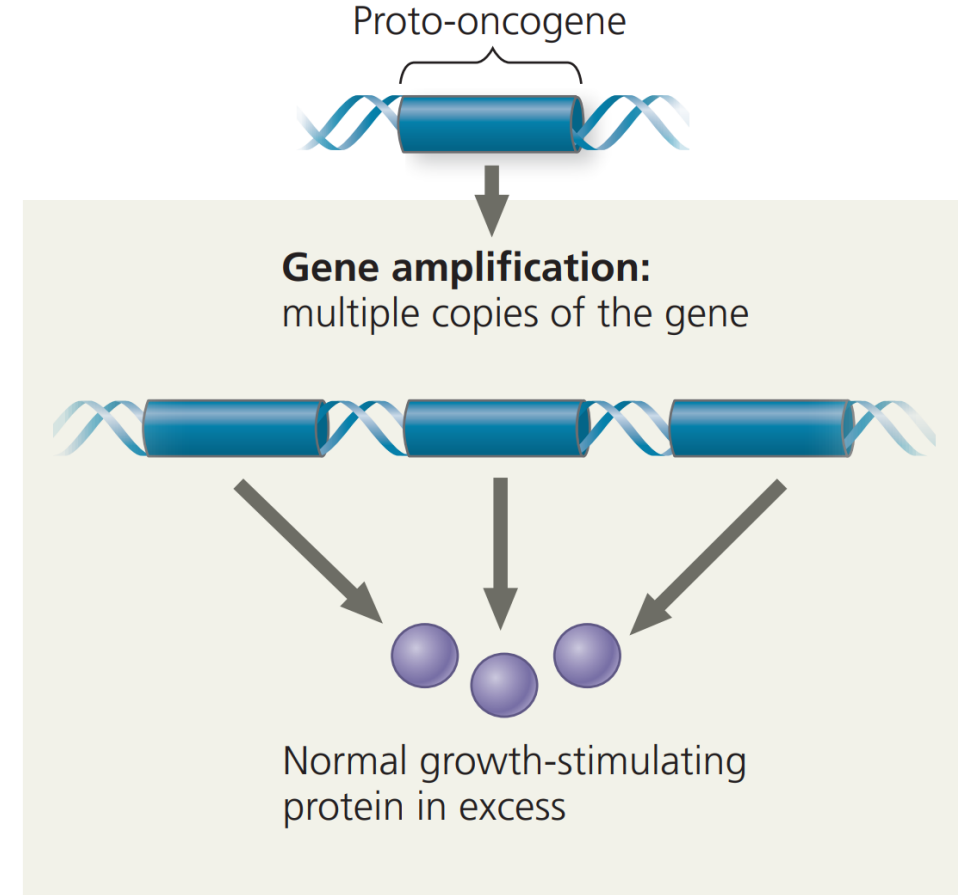
Mekanizma 1: DNA'nın Yer Değiştirmesi ve Translokasyon

- Kanser hücrelerinde kromozom kırılmaları ve yanlış birleşmeler sık görülür, parçalar farklı kromozomlara taşınabilir.
- Transloke olan proto-onkogen çok etkin bir promotör ya da başka bir kontrol öğesinin yakınına gelirse transkripsiyonu artabilir.
- Bu artış proto-onkogeni onkogene dönüştürebilir.



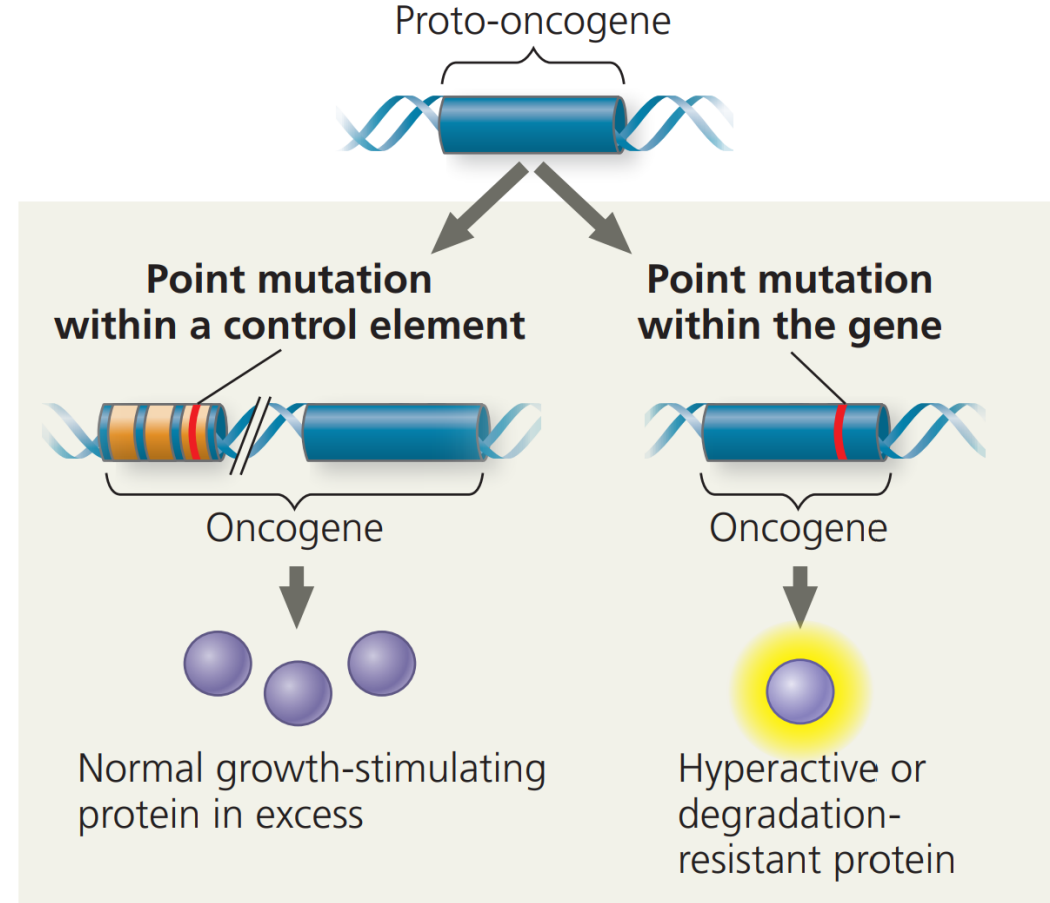
Mekanizma 2: Gen Amplifikasyonu

- Amplifikasyon, tekrarlayan gen duplikasyonlarıyla hücredeki proto-onkogen kopya sayısını artırır.
- Kopya sayısındaki artış protein üretimini yükseltir ve anormal hücre döngüsü uyarımına zemin hazırlar.



Mekanizma 3: Nokta Mutasyonları

- Promotör ya da enhancer bölgelerdeki nokta mutasyonları gen ifadesini artırabilir.
- Kodlama dizisindeki mutasyonlar daha aktif ya da yıkıma daha dirençli proteinlere yol açabilir.
- Bu değişimler hücre döngüsünün anormal uyarılmasını tetikleyebilir.



Tümör Baskılayıcı Genler: Büyümeyi Frenleyen Sistemler

- Hücreler, bölünmeyi engelleyen proteinler kodlayan tümör baskılayıcı genler de taşır.
- Bu proteinlerin normal etkinliğindeki azalma baskının kaybına ve büyümenin hızlanmasına katkı sağlayabilir.
- Böylece kontrolün yokluğu yoluyla kanserleşme süreci desteklenmiş olur.

Tümör Baskılayıcı Proteinlerin İşlevleri

- Bazıları hasarlı DNA'yı onarır ve kansere yol açabilecek mutasyonların birikmesini önler.
- Bazıları hücrelerin birbirine ya da hücre dışı matrikse tutunmasını düzenler, doğru tutunma normal dokularda kritiktir.
- Diğerleri hücre döngüsünü inhibe eden sinyal yollarının bileşenleridir ve bu işlev kanserlerde sıklıkla devre dışı kalır.

Sinyal Yolaklarında Bozulma ve Kanser

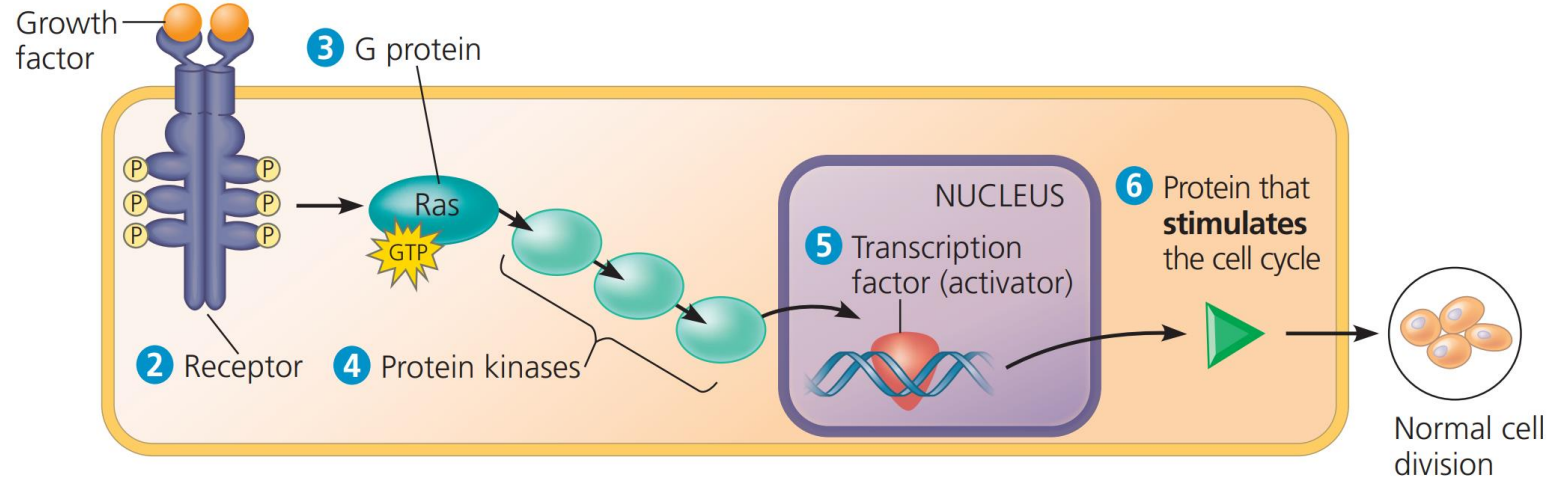
- Birçok proto-onkogen ve tümör baskılayıcı genin ürünü hücre içi sinyal iletiminde görev yapar.
- Normal hücrelerde bu proteinler uyumlu biçimde çalışır ve hücre döngüsünü dengede tutar.
- Kanserde aynı ağın bazı noktalarında işlev bozulur ve kontrol kaybı ortaya çıkar.

Odak Noktalarımız Ras ve p53

- İki kilit genin ürünlerine yakından bakacağız.
- Ras proto-onkogeninde meydana gelen mutasyonlar insan kanserlerinin yaklaşık yüzde 30'unda görülür.
- p53 tümör baskılayıcı genindeki mutasyonlar ise yüzde 50'nin üzerindedir.

Ras Nedir ve Nasıl Çalışır?

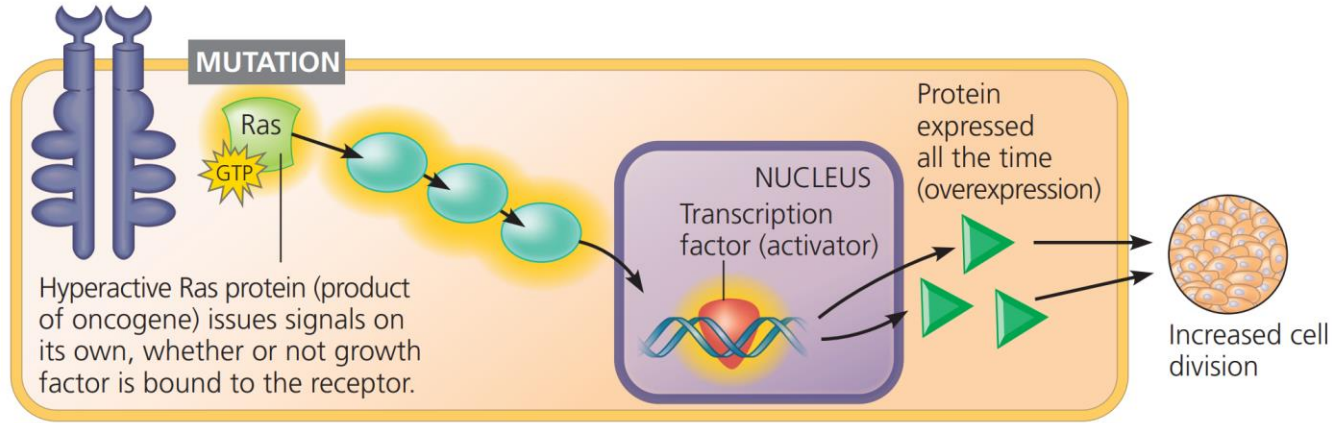
- Ras bir G proteini olup plazma zarındaki büyüme faktörü reseptöründen protein kinaz yolağına sinyal taşır.
- Yolun sonunda hücre döngüsünü uyararak bir proteinin sentezi gerçekleşir.
- Normalde bu yol ancak uygun büyüme faktörüyle tetiklenir.



(a) Normal cell cycle–stimulating pathway.

Hiperaktif Ras ve Aşırı Bölünme

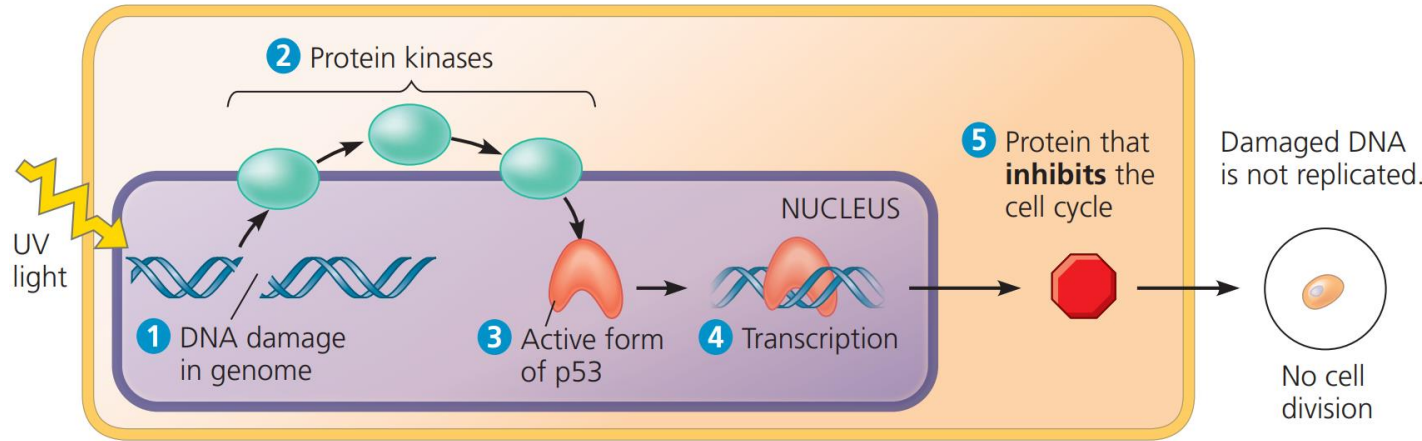
- Ras genindeki belirli mutasyonlar büyüme faktörü yokken bile yolağı çalıştıran hiperaktif Ras üretimine yol açabilir.
- Yolun herhangi bir basamağındaki aşırı aktif ya da fazla miktardaki protein benzer sonucu doğurur.
- Ortaya çıkan tablo gereğinden fazla hücre bölünmesidir.



(b) Mutant cell cycle-stimulating pathway.

p53'ün Hücre Döngüsünü Baskılayan Yolu

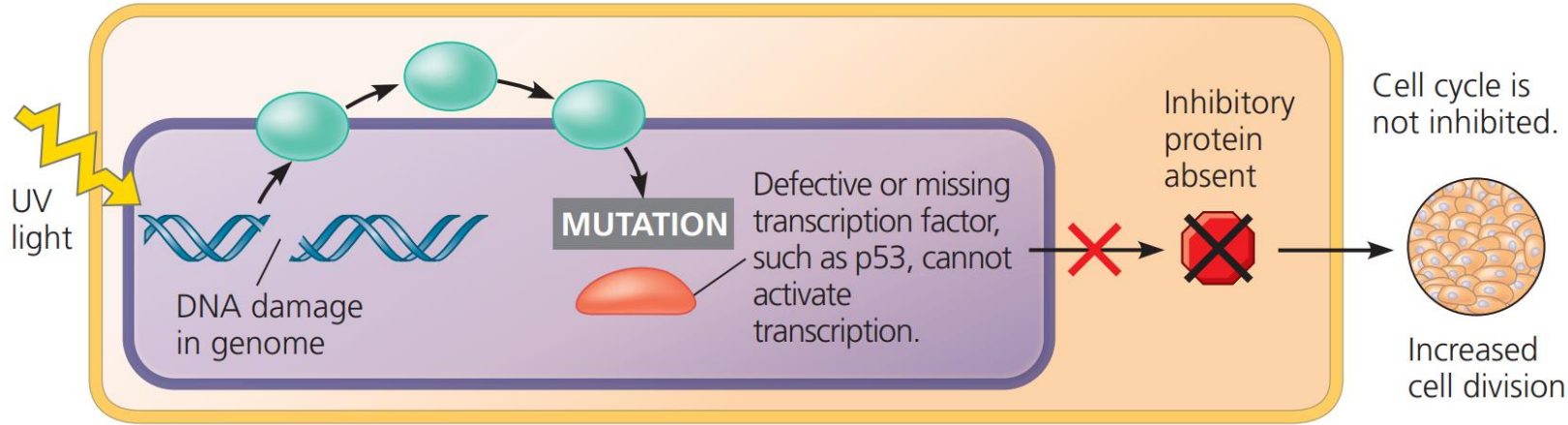
- Hücre içi bir sinyal bazı proteinlerin sentezini artırır ve hücre döngüsünü baskılar.
- Bu sinyal çoğu zaman UV gibi etkenlerle oluşan DNA hasarıdır.
- Yol çalıştığında onarım tamamlanana dek döngü durur ve tümör oluşum riski azalır.



(a) Normal cell cycle-inhibiting pathway

p53 Neden Kritik?

- p53 özgül bir transkripsiyon faktörü olup hücre döngüsünü inhibe eden proteinlerin sentezini destekler.
- p53'ün devre dışı kalması ya da Ras'ın aşırı etkinliği aşırı büyümeye ve kansere yol açabilir.
- Bu nedenle p53 tümör baskılayıcı gen olarak tanımlanır.



(b) Mutant cell cycle-inhibiting pathway

p53'ün Koruyucu Rolü

- DNA hasarı olduğunda p53 etkinleşir ve birçok genin düzenlenmesini başlatır.
- Sıklıkla p21 genini aktive eder ve p21, siklin bağımlı kinazlara bağlanarak hücre döngüsünü durdurur.
- p53 ayrıca bazı miRNA'ların ifadesini artırır, onarım genlerini açar ve hasar onarılamazsa apoptozu tetikler.

p53'ün Eksildiği Hücrelerde Mutasyon Birikim Riski

- p53 olmayan ya da kusurlu hücrelerde mutasyonlar birikebilir ve hücre birçok bölünmeden sağ çıkabilir.
- Bu durum kanserleşme olasılığını artırır.
- p53'ün çok yönlü işlevleri normal hücrede karmaşık ama koruyucu bir düzeni işaret eder.

Filler ve p53 Kopya Sayısı

- Fillerde kanser sıklığı insanlara göre belirgin biçimde düşüktür.
- Genom dizilemeleri fillerde p53 geninden 20 kopya, insanlarda ise tek kopya bulunduğunu göstermiştir.
- Düşük kanser oranı ile artmış p53 kopya sayısı arasındaki ilişki daha fazla araştırılmayı hak etmektedir.

Şemaların Güncel Durumu ve Bilinmeyenler

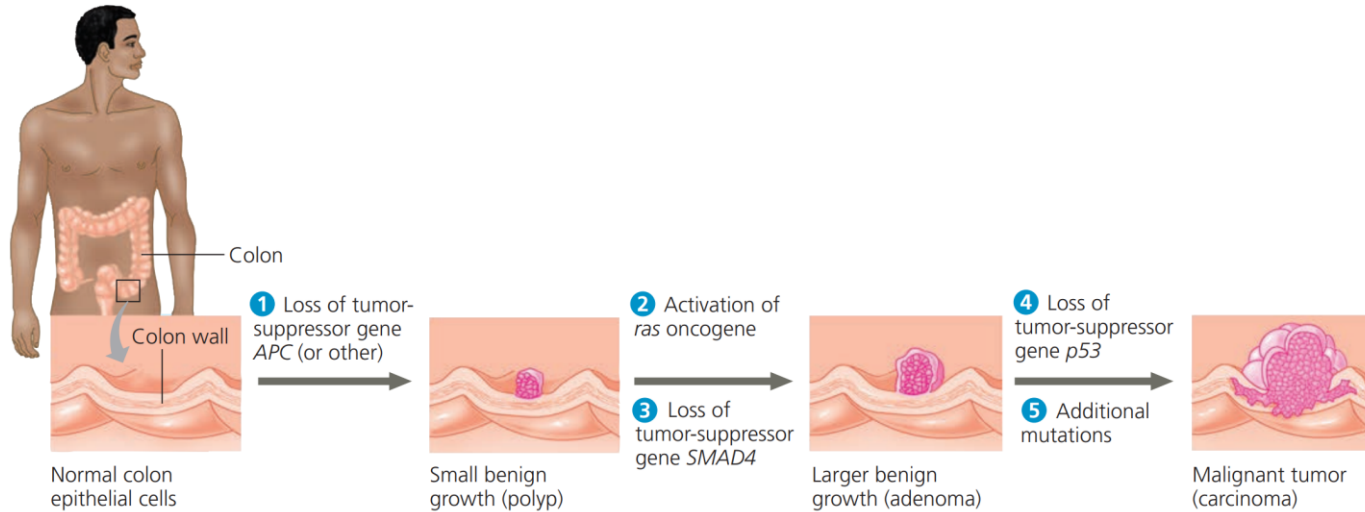
- Ras ve p53 hakkında anlattıklarımız, mutasyonların kansere katkısına dair geçerli bir çerçeve sunmaktadır.
- Yine de belirli bir hücrenin ne şekilde kanserleştiğini tam olarak bilmiyoruz.
- DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve miRNA desenlerinin normal ve kanser hücrelerinde farklılaştığı gösterilmiştir.

Çok Basamaklı Kansерleşme Modeli

- Tam gelişmiş bir kanser hücresi için birden fazla somatik mutasyon gerekir.
- Yaşla birlikte kanser sıklığının artması mutasyon birikimini düşündürür.
- Bu model en iyi anlaşılmış örneklerden biri olan kolorektal kanser ile desteklenir.

Kolorektal Kanserin Aşamaları

- Kolon ve rektumu etkileyen bu hastalıkta her yıl yaklaşık 140 bin yeni vaka ve 50 bin ölüm bildirilmektedir.
- Süreç genellikle polip ile başlar, polip hücreleri normal görünse de olağandan sık bölünür.
- Tümör büyür, zamanla malignleşebilir ve mutasyonlar kademeli olarak birikir.



Moleküler Değişimlerin Deseni

- İlerleme sırasında proto-onkogenler onkogene dönüşür ve tümör baskılayıcı genler devre dışı kalır.
- Ras onkogeni ve mutasyona uğramış p53 genine sık rastlanır.
- Tam kanseröz fenotip için DNA düzeyinde yaklaşık yarım düzine değişiklik gerekir.

Baskı Kaybı ve Baskın Etki Ayrımı

- Tümör baskılayıcı genlerdeki mutant alleller genellikle resesiftir ve çoğu durumda iki kopyanın da etkisizleşmesi gerekir.
- Onkogenlerin çoğu ise baskın etki gösterir.
- Bu ayrım tedavi stratejilerinin düşünülmesinde önem taşır.

Tarama ve Ölüm Oranları

- Kolorektal kanserde süreç anlaşıldığı için polipleri saptayıp almak amacıyla rutin taramalar önerilir.
- Son yirmi yılda artan taramalar ve daha iyi tedavilerle mortalite oranı düşmüştür.
- Benzer iyileşmeler diğer kanserlerde de görülmektedir.

Dizileme ve Kişiselleştirilmiş Tedavi

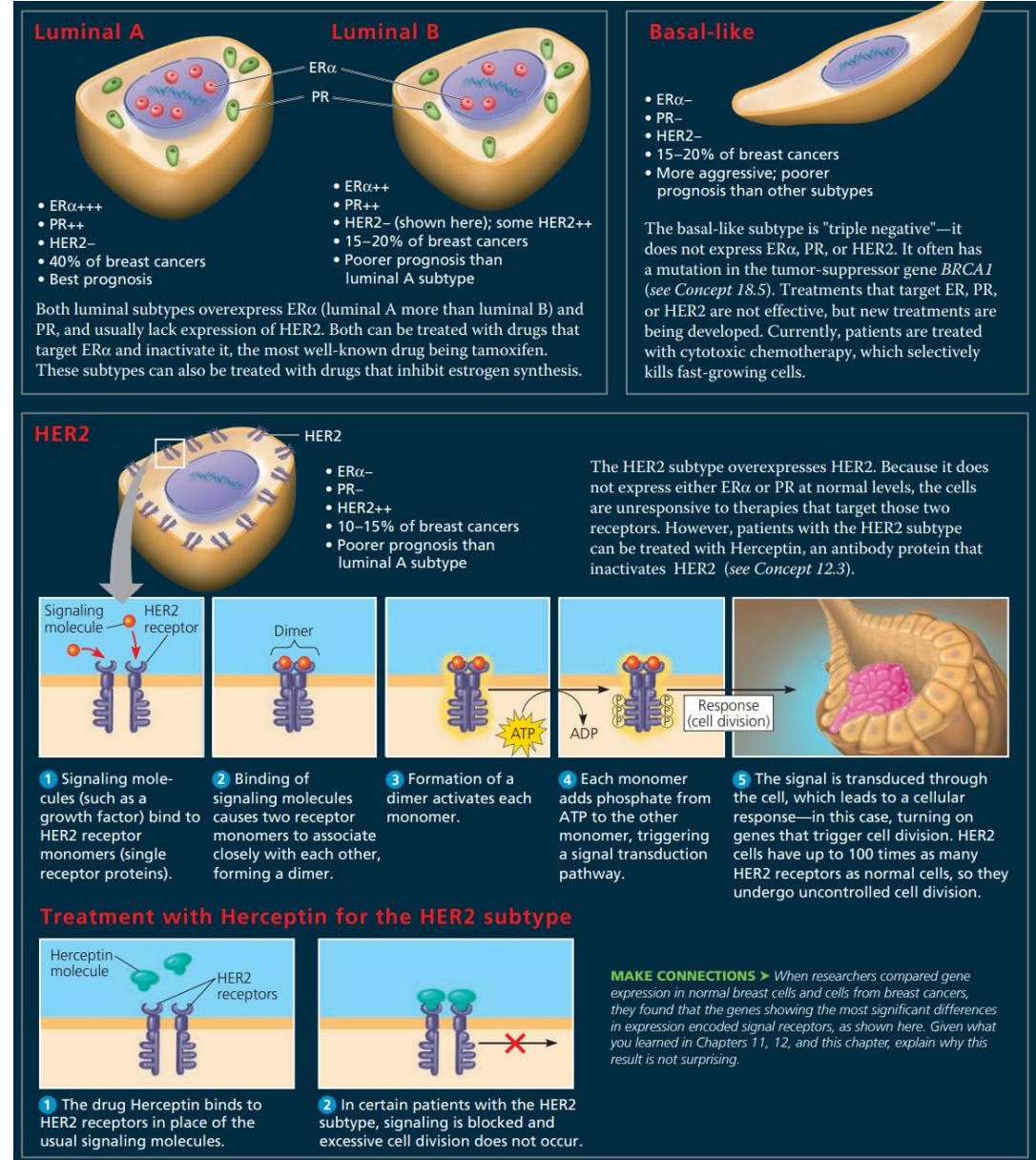
- DNA ve mRNA dizileme çalışmaları farklı tümör tiplerinin gen ifadesini karşılaştırmayı mümkün kılar.
- Aynı tip kanserin bireyler arasındaki farklılıkları da bu yolla ortaya konur.
- Elde edilen veriler tümörün moleküler özelliklerine dayalı kişiselleştirilmiş tedavilere kapı açar.

Meme Kanserinde Yaygınlık ve Sorun

- Meme kanseri Amerika Birleşik Devletleri'nde ikinci en yaygın kanserdir ve kadınlarda ilk sıradadır.
- Her yıl 230 binden fazla kadın etkilenir ve 40 bin ölüm görülür, dünya genelinde 450 bin ölüm bildirilmektedir.
- En büyük sorun tümörlerin heterojen olmasıdır.

Genomik Alt Tipler ve Klinik Uygulama

- 2012'de The Cancer Genome Atlas Network, genomik yaklaşımla dört ana meme kanseri tipi tanımlamıştır.
- Günümüzde meme tümörlerinde belirli sinyal reseptörleri için tarama rutindir.
- Bu bilgiler hasta ve hekimlerin daha bilinçli tedavi kararları vermesine yardımcı olur.



Kanserde Kalıtsal Yatkınlığın Mantığı

- Bir kanser hücresinin oluşması için birden fazla genetik değişiklik gerekir ve bu durum, kanserin ailelerde neden görülebildiğini açıklar.
- Onkogen ya da tümör baskılayıcı genin mutant bir allelini kalıtımla almak, gerekli mutasyonlara bir adım daha yaklaştırır.
- Genetikçiler, yaşamın erken dönemlerinde saptanabilsin diye kalıtsal kanser allelleri tanımlamaya çalışır.
- Örneğin kolorektal kanserlerin yaklaşık yüzde 15'inde kalıtsal mutasyonlar rol oynar.

Kolorektal Kanserde APC'nin Yeri

- Bu kalıtsal olguların önemli bir kısmında APC adlı tümör baskılayıcı gen etkilenir.
- APC, hücre göçü ve adezyonunun düzenlenmesi dahil hücre içinde birden çok işleve sahiptir.
- Aile öyküsü olmasa bile kolorektal kanserlerin yüzde 60'ında APC geninde mutasyon vardır.

APC'de Çift Allel Kaybının Önemi ve Belirteç Arayışı

- Aile öyküsü olmayan bireylerde APC işlevinin kaybı için her iki allelde de yeni mutasyonların birikmesi gerekir.
- Kolorektal kanserlerin yalnızca yüzde 15'i bilinen kalıtsal mutasyonlarla ilişkilendirilebildiği için, risk öngörüsü sağlayacak “belirteçler” üzerinde çalışmalar devam etmektedir.
- Amaç, yatkınlığı daha doğru saptayarak erken tanı olanağını güçlendirmektir.

Meme Kanserinde Kalıtsal Bileşen

- Meme kanserinin yaygınlığı ve önemi, mirasın rolünün erken dönemden beri araştırılmasına yol açtı.
- Hastaların yaklaşık yüzde 5–10’unda güçlü kalıtsal yatkınlık kanıtı bulunur.
- Mary-Claire King, uzun soluklu çalışmasıyla BRCA1 mutasyonlarının artmış meme kanseri duyarlılığıyla ilişkisini ikna edici biçimde gösterdi.
- Kalıtsal meme kanserlerinin en az yarısında BRCA1 ya da BRCA2 mutasyonları vardır ve DNA dizileme testleri bu değişimleri yakalayabilir.

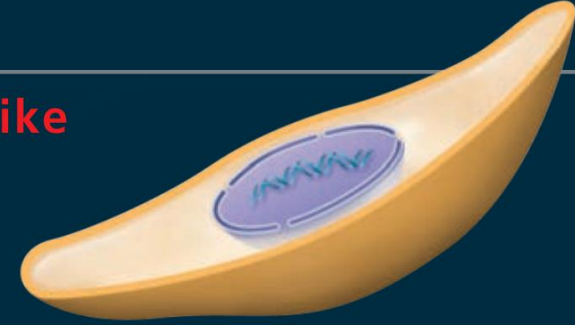
BRCA1 İçin Risk Olasılıkları

- Tek mutant BRCA1 allelini kalıtımla alan bir kadının 50 yaşından önce meme kanserine yakalanma olasılığı yüzde 60'tır.
- Normal allel açısından homozigot bireylerde bu olasılık yüzde 2 düzeyindedir.
- Bu karşıtlık, kalıtsal bir değişikliğin riski ne kadar yükseltebildiğini somut biçimde gösterir.

BRCA Genlerinin İşlevsel Rolü

- BRCA1 ve BRCA2, normal allelleri koruyucu etki gösteren ve mutant allelleri resesif davranan tümör baskılayıcı genler olarak kabul edilir.
- BRCA1 mutasyonları, bazal-benzeri meme kanserlerinin genomlarında sık görülür.
- Her iki proteinin de DNA hasarı onarım yollarında görev aldığı düşünülür.
- BRCA2, başka bir proteinle birlikte çift sarmal kırıklarının onarımına yardım eder ve bu işlev, genom bütünlüğünün korunmasında kritiktir.

Basal-like



- ER α -
- PR-
- HER2-
- 15–20% of breast cancers
- More aggressive; poorer prognosis than other subtypes

The basal-like subtype is "triple negative"—it does not express ER α , PR, or HER2. It often has a mutation in the tumor-suppressor gene *BRCA1* (see Concept 18.5). Treatments that target ER, PR, or HER2 are not effective, but new treatments are being developed. Currently, patients are treated with cytotoxic chemotherapy, which selectively kills fast-growing cells.

DNA Hasarı, Çevresel Etkenler ve Erken Tanı Yaklaşımları

- DNA kırıkları kansere katkıda bulunabildiğinden, güneş ışığındaki UV ve sigara dumanındaki kimyasallar gibi DNA'ya zarar veren etkenlerden kaçınmak riski azaltmaya yardımcı olur.
- Genomik temelli analizler, erken tanıya ve tümördeki kilit genlerin ifadesini hedefleyen tedavilere zemin hazırlar.
- Bu doğrultudaki yaklaşımların, uzun vadede kanserden ölüm oranlarını düşürmesi beklenir.

Virüslerin Kanserdeki Rolüne Genel Bakış

- Kanserle ilişkili genlerin incelenmesi, normal gen düzeninin bozulmasının hastalığa nasıl yol açtığını anlamamıza katkı sağlar.
- Mutasyonların yanı sıra çeşitli tümör virüsleri de insanlar dahil farklı canlılarda kansere neden olabilir.
- 1911'de Peyton Rous'un tavuklarda kansere yol açan bir virüsü göstermesi, bu alandaki erken ve çığır açan bulgulardandır.
- Virüsler, insan kanserlerinin yaklaşık yüzde 15'inde rol oynar.

İnsan Kanserleriyle İlişkili Virüs Örnekleri

- Epstein–Barr virüsü, enfeksiyöz mononükleozun etkenidir ve özellikle Burkitt lenfoması dahil bazı kanserlerle ilişkilendirilir.
- Papillomavirüsler serviks kanseriyle bağlantılıdır.
- HTLV-1, erişkin tip bir lösemiye neden olur.
- Bu örnekler, viral etkenlerin onkogeneze farklı yollardan eşlik edebildiğini gösterir.

Virüsler Gen Düzenini Nasıl Bozar?

- Viral genomun hücre DNA'sına entegrasyonu, hücreye bir onkogen “katabilir”, bir tümör baskılayıcıyı kesintiye uğratabilir ya da bir proto-onkogeni onkogene dönüştürebilir.
- Bazı virüsler p53 gibi tümör baskılayıcı proteinleri etkisizleştiren proteinler üretir ve hücreyi kansere daha yatkın hale getirir.
- Entegrasyon sonrası gen düzeninin çeşitli biçimlerde bozulması, tümörleşme sürecini hızlandırabilir.
- Virüsler güçlü biyolojik ajanlardır ve ayrıntılarını bir sonraki bölümde bulacaksınız.

Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

