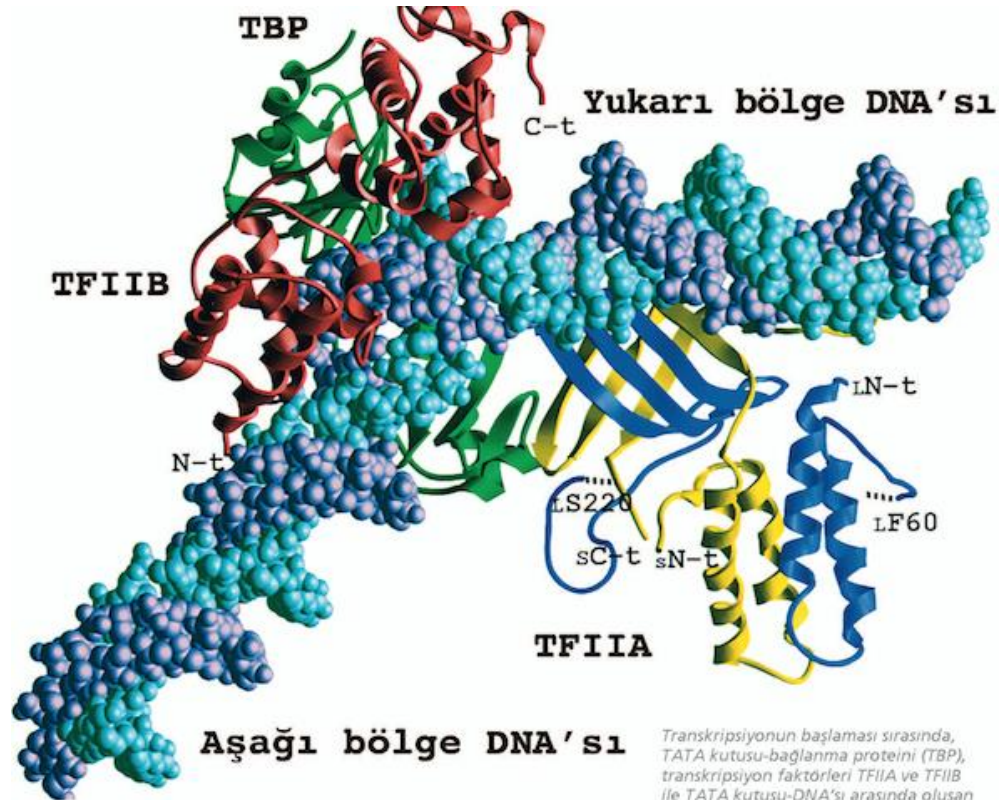


ÖKARYOTLARDA GEN İFADESİNİN DÜZENLENMESİ



Transkripsiyonun başlaması sırasında, TATA kutusu-bağlanma proteini (TBP), transkripsiyon faktörleri TFIIA ve TFIIB ile TATA kutusu-DNA'sı arasında oluşan moleküler kompleks.

Giriş

- Çok hücreli ökaryotlarda gen ifadesinin farklı şekillerde düzenlenmesi, embriyonik gelişim için son derece önemlidir.
- Örn; pankreas hücreleri retinal pigment yapamazken, retinal hücreler de insülin üretmez.
- O halde organizma, farklı hücre tiplerinde farklı gen takımlarını nasıl çalıştırmaktadır?

İZLE



Giriş

- Bu olayın temelinde, genomun özgül kısımlarını etkin hale getiren ve diğer genleri baskılayan mekanizmalar vardır.
- Gen ifadesinin regülasyonu şu şekillerde gerçekleşir:
 - Pozitif regülasyon (transkripsiyonun aktivasyonu)
 - Negatif regülasyon (transkripsiyonun baskılanması)
- Bir genin kendisi yapısal olarak normal olsa bile, yanlış hücre tipinde, yanlış zamanda ve anormal miktarda ifade edilmesi, sağlıksız bir fenotipe neden olabilir.

İZLE



Ökaryotlarda gen regölasyonu prokaryotlardan farklıdır

- Ökaryotlardaki gen regölasyonunun prokaryotlara göre daha karmaşık olmasının çeşitli nedenleri vardır.
- şimdi bu nedenleri sırasıyla inceleyelim.

İZLE



1. neden

- Ökaryotik hücreler daha fazla miktarda genetik bilgi taşır.
- Ökaryotik DNA, histonlarla ve diğer bazı proteinlerle kompleks oluşturmuştur.
- DNA'nın az yoğun (transkripsiyona açık) veya çok yoğun (transkripsiyona kapalı) olması, proteinlerle kompleks oluşturmasına bağlıdır.
- DNA-protein kompleksi, gen regülasyonu için önemli bir açma-kapama düğmesidir.

İZLE



2. neden

- Ökaryotlardaki genetik bilgi birden fazla kromozom üzerinde taşınır.
- Bu kromozomlar, çift katlı çekirdek zarının içinde yer alırlar.

İZLE



3. neden

- Ökaryotlarda transkripsiyon ve translasyon, yer ve zaman açısından birbirinden ayrılmıştır.
- Transkripsiyon çekirdekte olurken, translasyon daha sonra sitoplazmada gerçekleşir.

İZLE



4. neden

- Ökaryotik genlerin transkripsiyon ürünleri, sitoplazmaya aktarılmadan önce moleküler işlemlerden geçirilir.

İZLE



5. neden

- Ökaryotik mRNA'ların yarı ömrü, prokaryotlara göre daha uzundur.
- Prokaryotların çoğu tek hücreli canlılardır.
- Çevresel değişikliklere çok hızlı yanıt vermeleri gerekir.
- Bu organizmaların mRNA'larının daha hızlı bozunması, hızlı cevap oluşturmak için gereklidir.

İZLE



6. neden

- mRNA yapısının daha kararlı olmasından dolayı ökaryotlar, translasyonel seviyedeki kontrolü çok yaygın olarak kullanırlar.

İZLE



7. neden

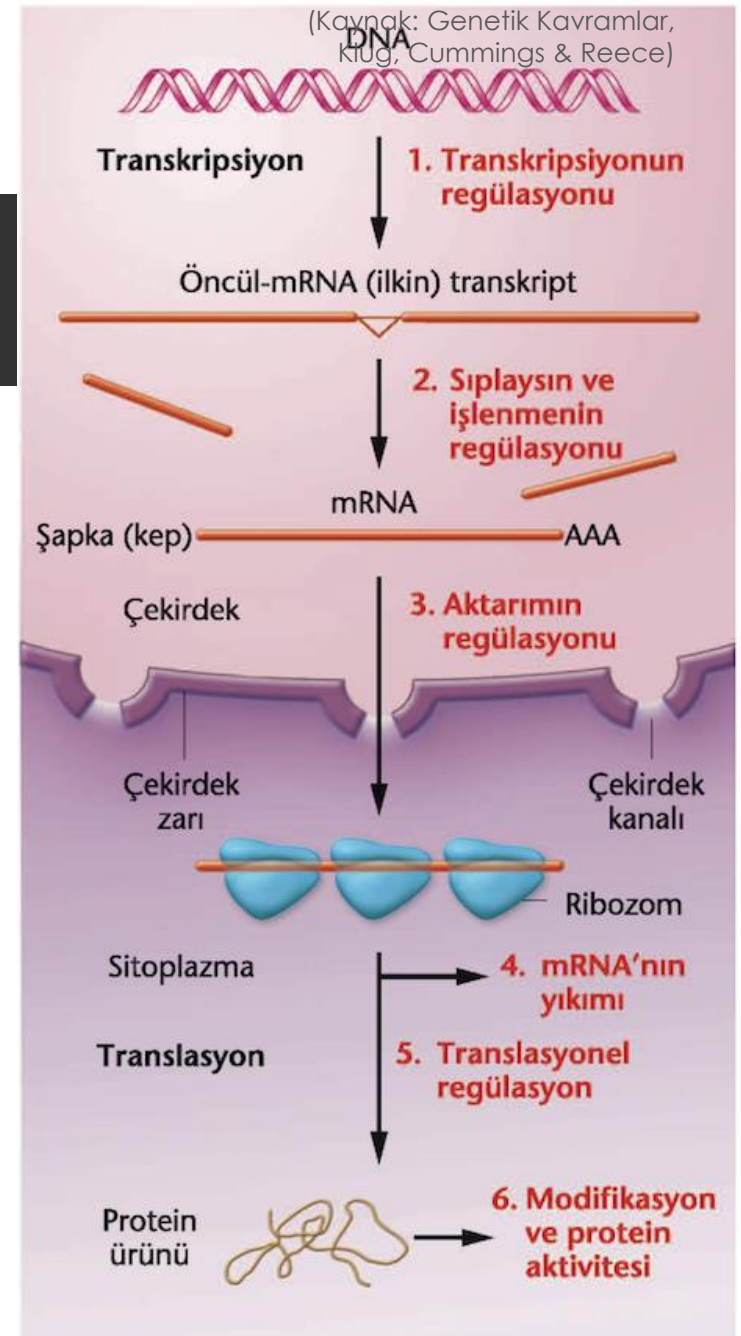
- Ökaryotların çoğu, farklılaşmış hücre tiplerine sahiptir.
- Her hücre, tam bir gen takımına sahiptir.
- Ancak farklı hücre tipleri, farklı proteinler yapmak için farklı gen takımlarını harekete geçirirler.

İZLE



Ökaryotlarda gen ifadesi regülasyonu çok basamaklıdır

- Transkripsiyonel kontrol
- Transkripsiyon sonrası kontrol
- Sitoplazmaya aktarım
- mRNA kararlılığı
- Translasyonel kontrol (örn; hangi mRNA'nın translasyona uğrayacağını seçimi)
- Protein ürünlerinin translasyon sonrası değişimi

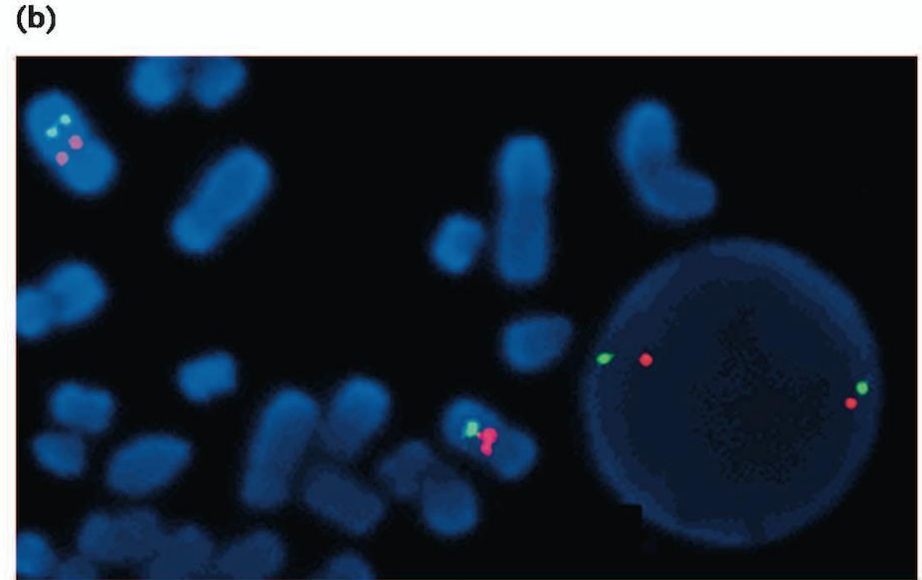
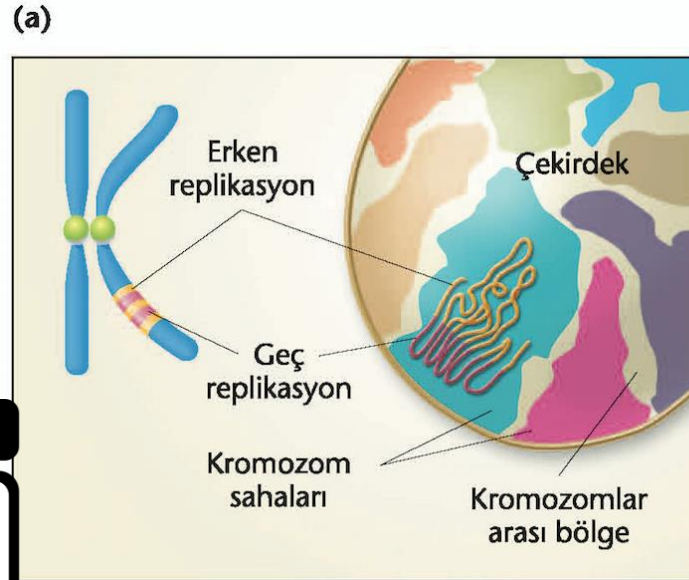


İZLE



Çekirdekteki kromozomların organizasyonu

- Interfaz çekirdeğindeki her kromozom, kromozom sahası (chromosome territory) denilen ve onu diğer kromozomlardan ayıran bir bölgeyi kapsar.

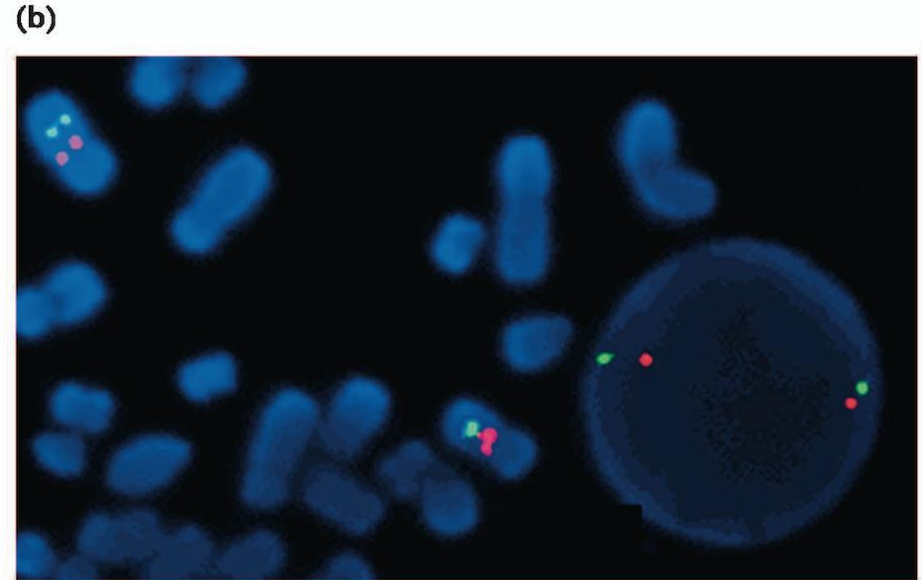
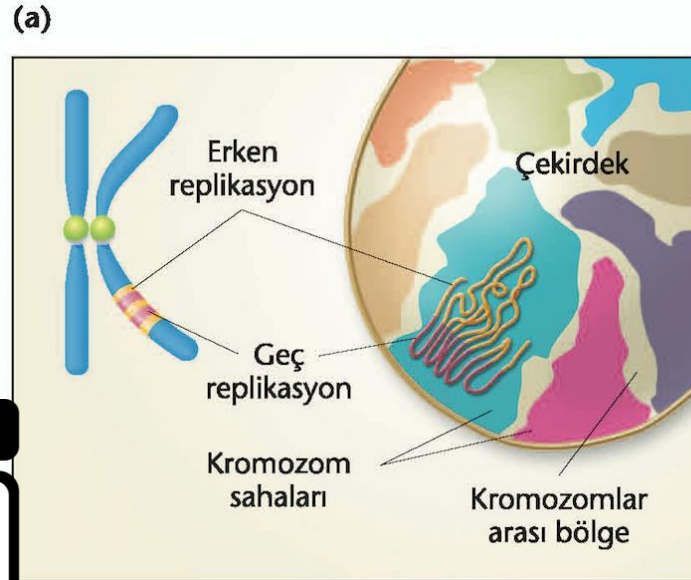


İZLE



Çekirdekteki kromozomların organizasyonu

- Kromozomlar büyükliklerine ve içerdikleri gen yoğunluğuna göre çekirdekte organize olurlar.

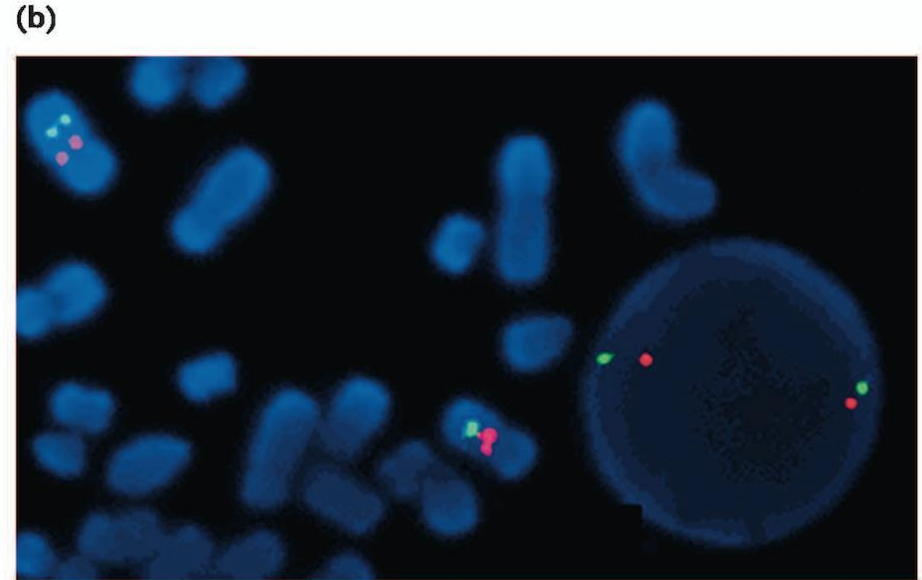
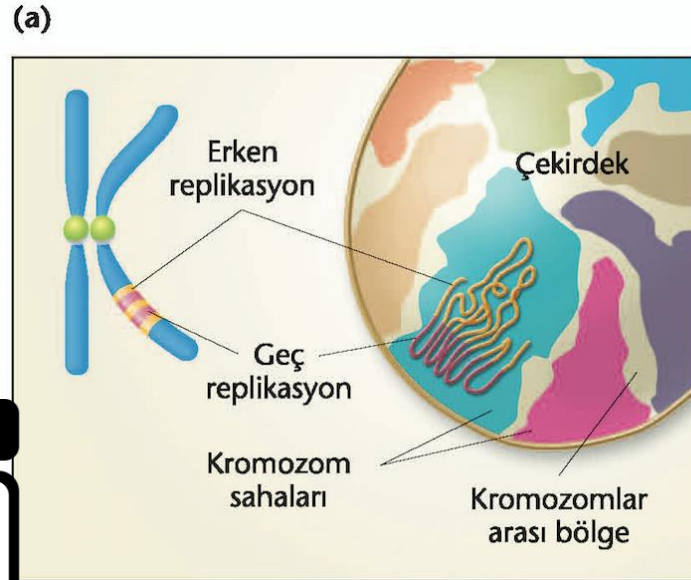


İZLE



Çekirdekteki kromozomların organizasyonu

- Daha az sayıda gen içerenler dış çevrede yerleşirken, daha yoğun olanlar iç bölgelerde bulunur.

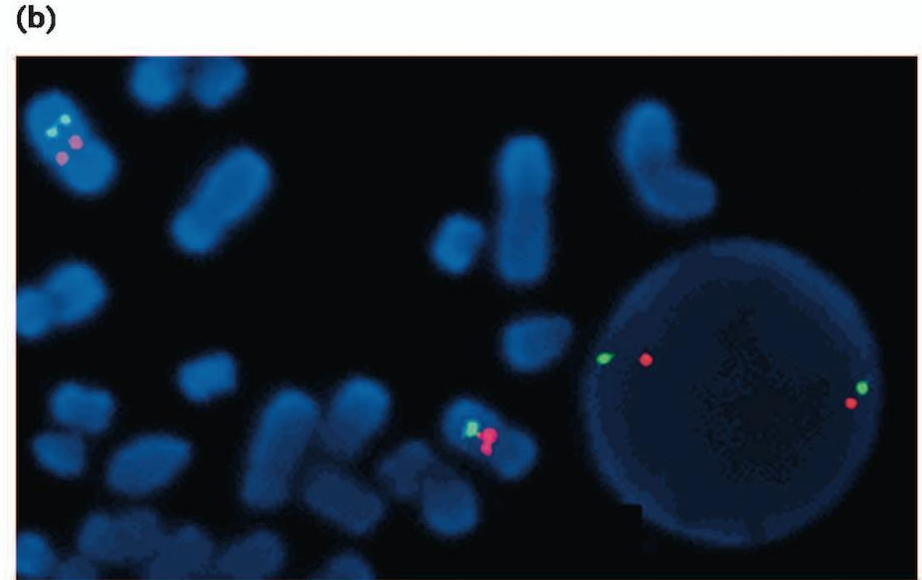
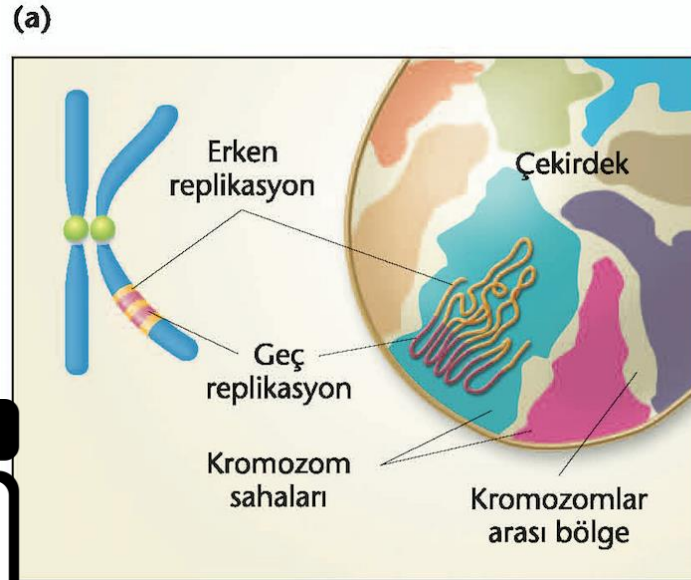


İZLE



Çekirdekteki kromozomların organizasyonu

- Kromozomlar arasındaki bu kanallara, kromozomlar arası bölmeler (interchromosomal regions) adı verilir.

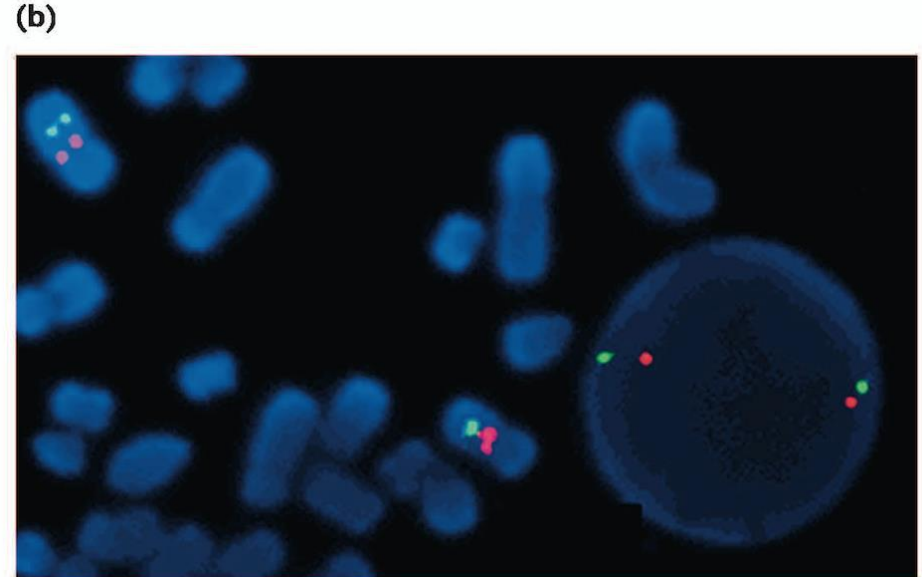
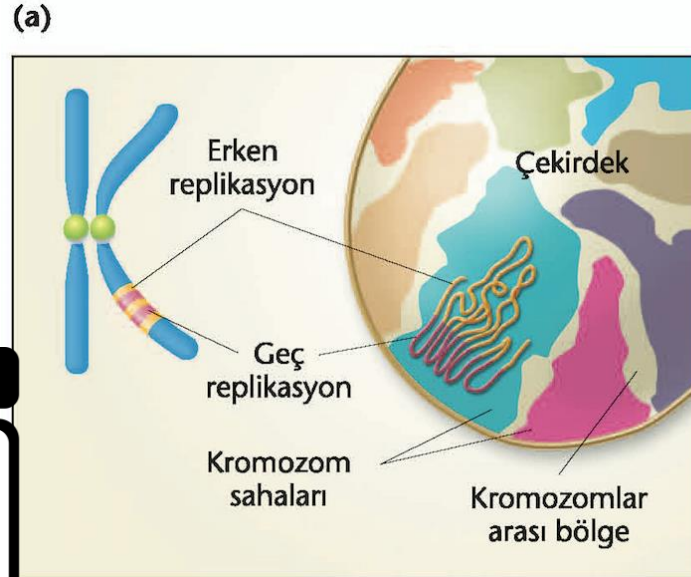


İZLE



Çekirdekteki kromozomların organizasyonu

- Kromozomlar devamlı olarak yeniden düzenlenir.
- Transkripsiyona uğrayan aktif genler, kromozomlar arası bölmelerin sınırlarına doğru konumlanırlar.



İZLE



Çekirdekdeki kromozomların organizasyonu

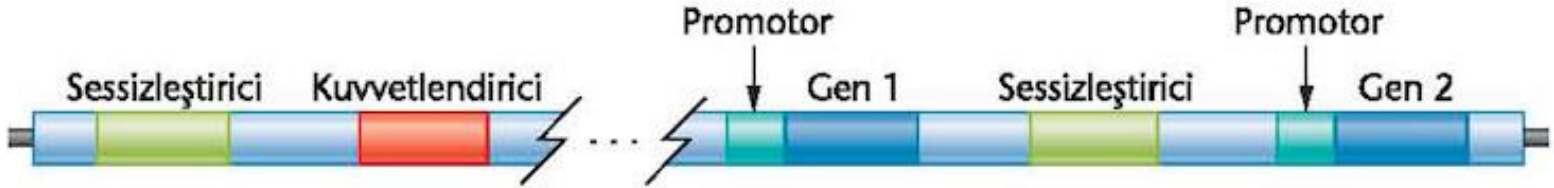
- Bir gen, kromozom sahasının kenarına geldiğinde gen ifadesinin başlaması için iki adım gereklidir:
 - Enzimler tarafından nükleozom yapısının değiştirilmesi, aktivasyonun sağlanması ve promotorun kullanılabilir hale gelmesi
 - Transkripsiyon faktörleri ve RNA polimeraz II gibi faktörleri biraraya getirecek ko-aktivatörlerin bulunması

İZLE



Transkripsiyonun başlaması önemli bir gen regülasyonudur

- Ökaryotik genlerde transkripsiyonu düzenleyen üç adet cis-regülasyon dizisi bulunmaktadır:
 - Promotorlar
 - Sessizleştiriciler (silencers)
 - Kuvvetlendiriciler (enhancers)



ŞEKİL 17-3 Ökaryotik genlerin ifadesi promotor gibi gene yakın düzenleyici elementler ve kuvvetlendiriciler ve sessizleştiriciler gibi transkripsiyon biriminden uzakta olan diziler tarafından kontrol edilir.

İZLE



Promotorların organizasyonu

- Promotorlar, transkripsiyon için tanıma noktası olarak görev yapan nükleotit dizileridir.
- Kontrol ettikleri genlerin hemen başında yer alırlar.
- Genellikle yüzlerce nükleotit uzunluğundadırlar.

İZLE



TATA kutusu

- Çoğu promotor bölge; TATA, CAAT ve GC kutuları gibi çok sayıda element içerir.
- RNA polimeraz II'nin bağlanacağı bölge TATA kutusu olarak adlandırılır.
- TATA kutusuna, öz promotor (core promotor) adı da verilir.
- Transkripsiyonun başladığı ilk noktadan yaklaşık olarak 25-30 baz yukarıda yer alır (-25 ila -30).

İZLE



TATA kutusu

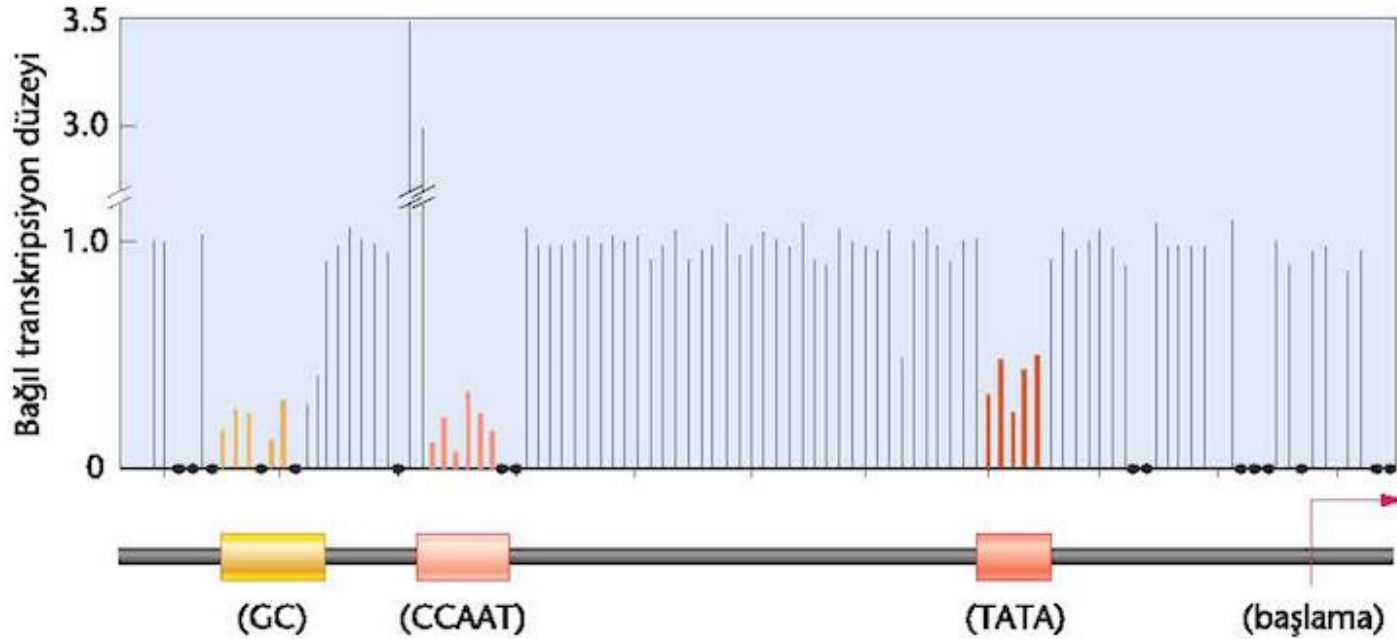
- Genellikle iki yanında AT bakımından zengin 7-8 bç uzunluğunda konsensus diziler bulunur.
- TATA kutusunda meydana gelen mutasyonlar transkripsiyonun etkinlięini dūřürmektedir.

İZLE



TATA kutusu

- Ayrıca bu bölgedeki delesyonlar, transkripsiyonun başlangıç noktasını değiştirebilmektedir.



İZLE



CAAT kutusu

- Birçok promotor ayrıca CAAT kutuları içerir.
- Bu elementler CAAT ya da CCAAT konsensus dizileri içerirler.
- CAAT kutusu genellikle başlama noktasından 70-80 bç yukarısında yer alır.
- CAAT kutusu, proteinlerin DNA'ya bağlandıkları bölgedir.
- Bu nedenle transkripsiyonda çok kritik bir göreve sahiptir.

İZLE



GC kutusu

- GGGCGG konsensus dizisine sahiptir.
- -110 bölgesinde yerleşim gösterir.
- Bu bölge de transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgesi olarak görev yapar.
- Ayrıca kuvvetlendiriciler (enhancers) olarak da rol oynarlar.

İZLE



Promotorlar dinamik yapılardır

- Promotor diziler, yerleşim ve pozisyon açısından değişebilen birimlerdir.
- Promotorların evrensel bileşenleri yoktur.
- Genler; promotor elementlerinin tipi, sayısı, yerleşimi ve yerleşim yönü açısından farklıdır.

İZLE



Promotorlar dinamik yapılardır

(a) SV40 kontrol bölgesi



(b) Timidin kinaz



(c) İnsülin geni



İZLE

17-5 Ökaryotik hücrelerde ifade edilen çeşitli genlerdeki promotor bölgelerinin organizasyonu, kontrol elementlerinin değişken doğası, sayısı ve düzeni gösterilmektedir.



Kuvvetlendiriciler (enhancers)

- Genin her iki tarafında, genden biraz uzakta ya da genin içinde bulunabilirler.
- Yapısal genin yanında buldukları için "cis" regülatörler olarak adlandırılırlar.
- Birçok düzenleyici protein ve transkripsiyon faktörü ile etkileşirler.
- Böylece transkripsiyonun başlama kapasitesini artırabilir ya da promotoru aktif hale getirebilirler.

İZLE



Kuvvetlendiriciler (enhancers)

- Bu diziler içinde negatif regülatörlerin bağlanma bölgeleri bulunabileceği gibi, pozitif regülatörlerin de bağlanma bölgeleri bulunmaktadır.
- Bu nedenle prokaryotların operatör ve aktivatör bölgeleri ile enhansrlar arasında analogi olduğu söylenebilir.
- Ancak enhansrlar yapı ve işlev bakımından daha karmaşıktır.

İZLE



Kuvvetlendiriciler (enhancers)

- Enhansırlar ile promotor dizilerini birbirinden ayıran özellikler şunlardır:
 - Enhansırlar, kontrol ettikleri genin aşağısında, yukarısında ya da içinde bulunabilirler.
 - İşlev üzerinde herhangi bir kritik etki göstermeksizin ters yönlü yerleşim gösterebilirler.
 - Genomun başka bir bölgesine taşınırsa yeni bölgedeki genin transkripsiyonu artar.

İZLE



Immunoglobulin ağır zincir geni (gen içi enhansır)

- Genin içinde bulunan ve bulunduğu geni regüle eden enhansırlara örnek olarak verilebilir.
- Bu enhansır, kodlayıcı iki bölge arasındaki bir intronun içine yerleşmiştir.
- Sadece immunoglobulin genlerinin aktif olduğu hücrelerde aktiftir.

İZLE



β -globin geni (gen dışı enhansır)

- İnsan β -globin ve tavuk timidin kinaz geninde enhansırlar genin dışında bulunur (downstream enhancer).
- Tavuklarda β -globin ve ϵ -globin genleri arasında yer alan enhansır,
 - Embriyonik gelişim sırasında ϵ -globin genini regüle edecek yönde ve
 - Erişkin dönemde ise β -globin genini regüle etmek üzere ters yönde çalışmaktadır.

İZLE



Upstream activator sequences (UAS)

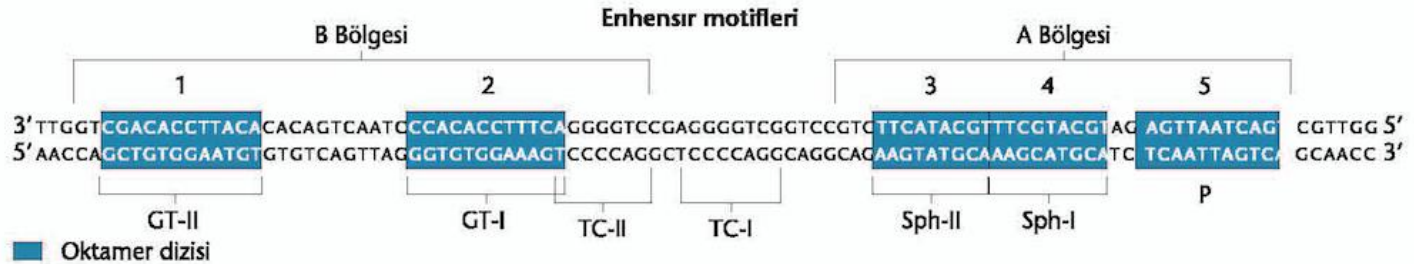
- Mayalarda ise yukarı aktivatör diziler (upstream activator sequences, UAS) bulunmaktadır.
- UAS'lerin enhansırlardan farkı, transkripsiyonun başlama noktasının aşağısında işlev görmemesidir.

İZLE



SV40 virüsünün enhansır dizisi

- Bu virüsün enhansırı, transkripsiyonun başlama noktasından yaklaşık 200 baz yukarıda yer alır.
- Birbirine bitişik 72 bç'lik iki diziden oluşmaktadır.
- 72 bç'lik bölgelerin her biri, transkripsiyonun maksimum oranda olmasını sağlayan beş dizi içerir.

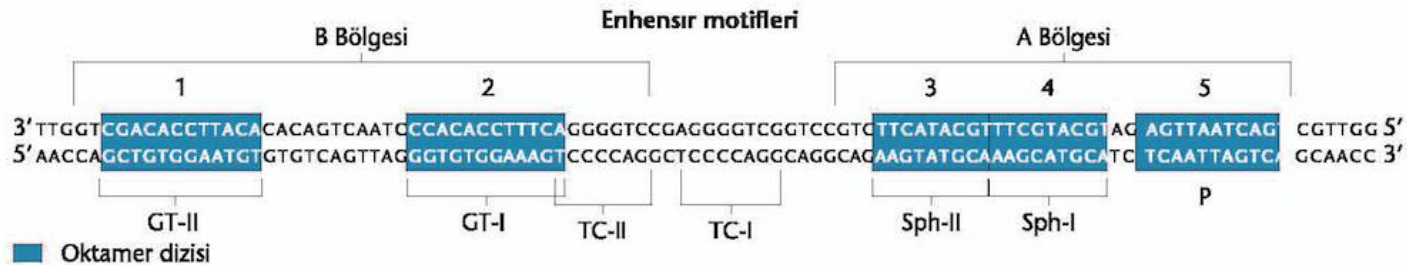


İZLE



SV40 virüsünün enhansır dizisi

- Bu 72 bç'lik bölgelerden birisi ortadan kalktığında, transkripsiyon üzerinde herhangi bir farklılık meydana gelmemektedir.
- Ancak ikisi birden ortadan kalkınca transkripsiyonun etkinliği büyük ölçüde azalmaktadır.



İZLE



Enhansırların çalışma mekanizması

- Enhansırlar, zamana ve dokuya özgül gen ifadesinden sorumludurlar.
- Enhansırların işlev mekanizmalarını iki grup altında toplamak mümkündür:
 - Transkripsiyon faktörleri enhansırlara bağlanır ve kromatinin konfigürasyonunu değiştirir.
 - DNA'yı bükerek ya da halka yapısı oluşturarak, uzaktaki enhansırları ve promotorları, transkripsiyon faktörleri ve polimerazlar ile kompleks oluşturmasını sağlayacak kadar yakınlaştırırlar.

İZLE



Enhansırların alışma mekanizması

- Oluşan yeni konfigürasyon, transkripsiyonu en üst seviyede uyararak RNA sentez oranını artırır.

İZLE



Ökaryotlarda transkripsiyon çok basamaklıdır

- Ökaryotlarda transkripsiyonun aktivasyonu bir seri basamak ile gerçekleşir.
- İlk adım DNA'yı açmak ve kromatinin konfigürasyonunu değiştirmektir.
- DNA açıldıktan sonra transkripsiyon faktörleri RNA polimeraz ile birlikte promotor bölgeye bağlanır.
- Böylelikle transkripsiyon başlama kompleksi oluşur.

İZLE



Kromatinin yeniden şekillenmesi

- Ökaryotlarda DNA, kromatin yapısını oluşturmak üzere histon ve histon olmayan proteinlerle birleşmiştir.
- Interfaz çekirdeğinde bazı kromozom bölgeleri oldukça yoğunlaşmıştır.
- Transkripsiyon açısından hareketsiz olan bu bölgelere heterokromatin adı verilir.
- Bu bölgeler, in vitro koşullarda DNAaz I enzimi ile parçalanmaya karşı dirençlidir.

İZLE



Kromatinin yeniden şekillenmesi

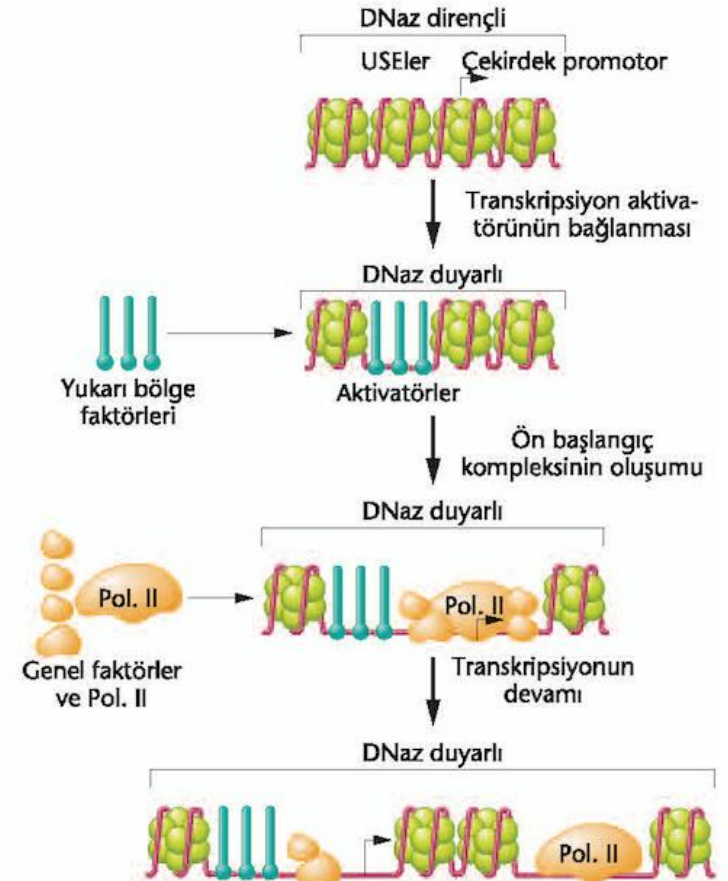
- Ökromatin bölgeler ise açık kromatin yapısındadır ve DNAaz I ile parçalanmaya duyarlıdır.
- Bu bölgelerdeki genler transkripsiyona uğrar.
- Kromozom organizasyonundaki değişiklikler, kromatinin yeniden şekillenmesi (chromatin remodelling) olarak adlandırılır.

İZLE



Kromatinin yeniden şekillenmesi

- Bu olay aşağıdaki işlemler için gereklidir:
 - Polimerazın bağlanması
 - Transkripsiyonun başlaması
 - DNA replikasyonu
 - DNA tamiri
 - DNA rekombinasyonu

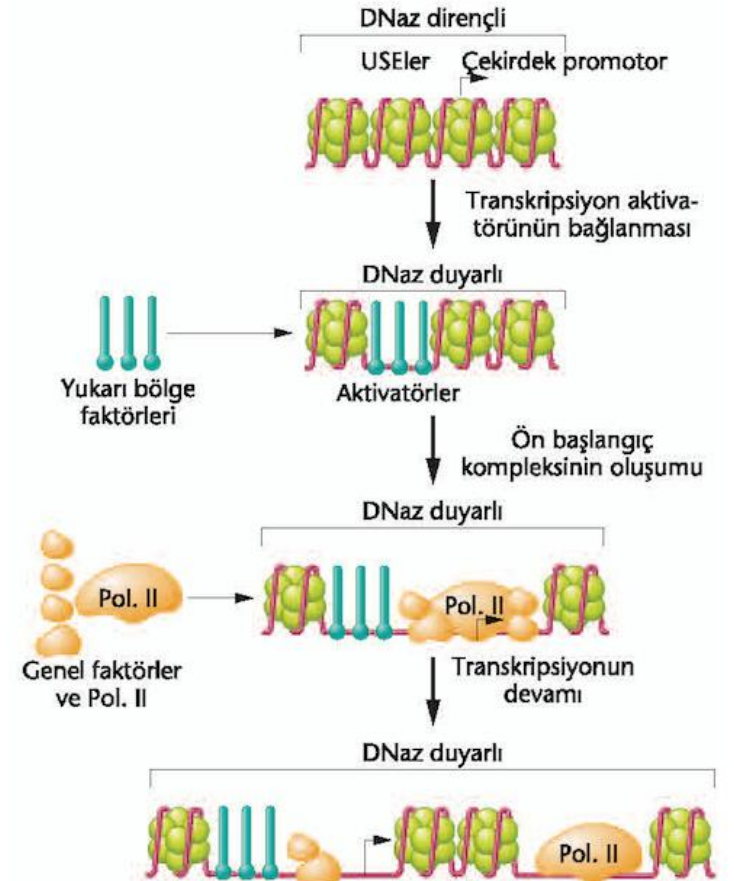


İZLE



Kromatinin yeniden şekillenmesi

- Kromatinin yeniden şekillenmesi tamamlandığında promotor dizileri histonlardan arınmıştır.
- Böylelikle transkripsiyonu başlatacak proteinlere açık hale gelir.



İZLE



Yeniden şekillendirme kompleksleri: SWI/SNF

- Kromatinin yeniden şekillenmesi, ATPaz aktivitesine sahip olan çeşitli protein kompleks grupları ile gerçekleşir.
- Yeniden şekillendirme komplekslerinden en iyi bilineni SWI/SNF kompleksidir.
- 11 alt birimden oluşan büyük bir kompleksdir.
- İlk defa mayalarda tanımlanmış, daha sonra insanlar da dahil diğer ökaryotlarda da yaygın olarak görülmüştür.

İZLE



Yeniden şekillendirme kompleksleri: SWI/SNF

- Alt birimlerden biri, DNA'ya özgül olmayan bir şekilde bağlanmayı sağlayan bir bölge içerir.
- Diğer alt birim ise ATPaz'dır.
- Bu komplekste yer alan proteinler, transkripsiyon uyarıcıları olarak bilinmektedir.

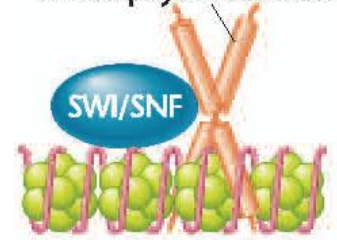
İZLE



Nükleozom yeniden şekillendirme kompleksleri

- Yeniden şekillendirme kompleksi olan SWI/SNF, çeşitli yollarla özgül DNA bölgelerine yönlendirilir:
 - Lösin fermuar bölgeleri içeren transkripsiyon faktörleri bağlanmayı yönlendirebilir (a)
 - Asetilasyonla değişikliğe uğratılan nükleozomun histon bileşenleri SWI/SNF'nin hedefi olabilir (b).
 - Metillenmiş DNA bölgeleri de SWI/SNF için hedef bölgeler olabilir (c).

(a) Lösin fermuar transkripsiyon aktivatörü



(b)



(c)



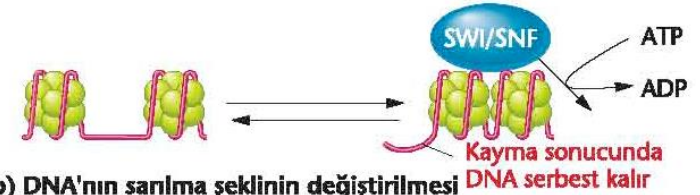
İZLE



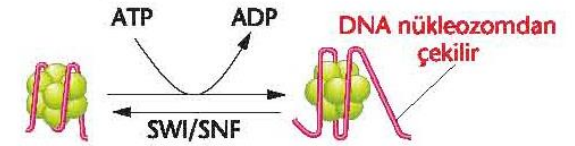
SWI/SNF, nükleozomun yapısını nasıl değiştirir?

- Nükleozom şekillendirme kompleksleri, nükleozom yapısını çeşitli mekanizmalarla değiştirir.
- Nükleozomun DNA üzerinde aşağıya doğru kaymasına neden olur (a).

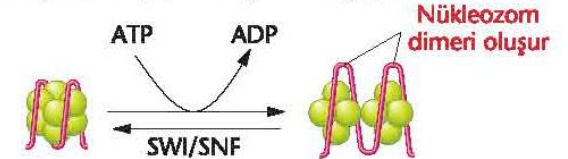
(a) DNA protein temasının değiştirilmesi



(b) DNA'nın sarılma şeklinin değiştirilmesi



(c) Nükleozom çekirdek yapısının yeniden yapılandırılması



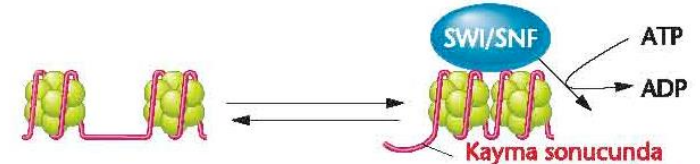
İZLE



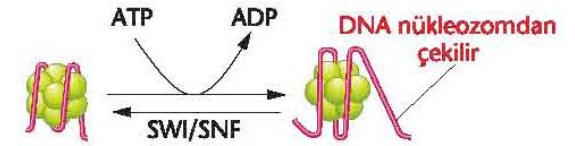
SWI/SNF, nükleozomun yapısını nasıl değiştirir?

- Nükleozom çekirdek partikülü etrafındaki DNA'nın sarılma yolu değiştirilir (b).
- Nükleozom dimeri oluşturulacak şekilde nükleozom çekirdek yapısının kendisi değişir (c).

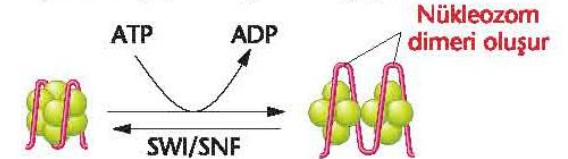
(a) DNA protein temasının değiştirilmesi



(b) DNA'nın sarılma şeklinin değiştirilmesi



(c) Nükleozom çekirdek yapısının yeniden yapılandırılması

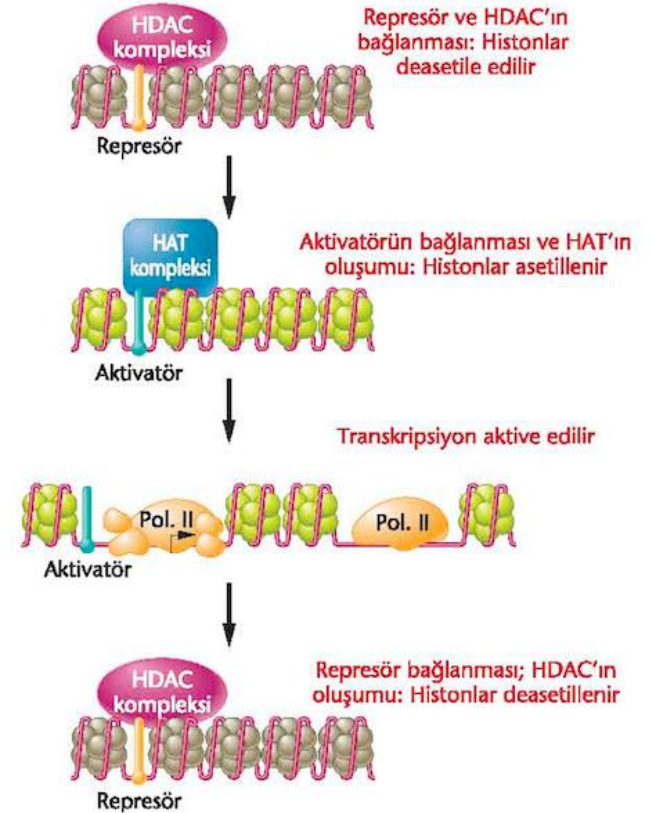


İZLE



Histon modifikasyonu

- Nükleozomlardaki histon bileşenlerinin kimyasal değişiklikleri histon asetil transferaz enzimleri (HAT) tarafından katalizlenir.
- Bu olayda, histon kuyruğundaki bazik aminoasitlere asetat grupları eklenmektedir.
- Bunun sonucunda bazik histon proteini ve asidik DNA arasındaki etkileşim gevşer.

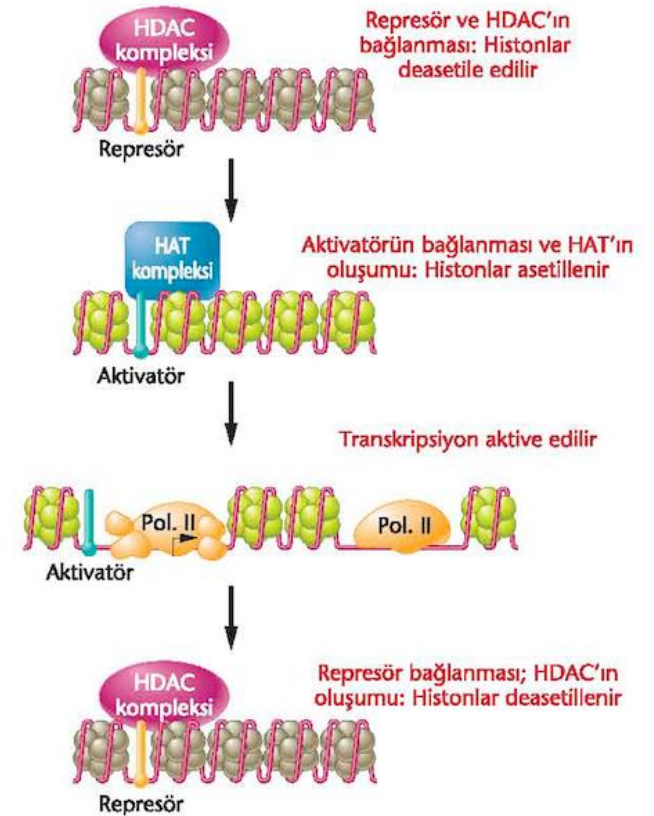


İZLE



Histon modifikasyonu

- Bir bölge asetilasyon yoluyla açılabilir ise, doğal olarak tekrar kapanabilmelidir.
- Bu durumda histon deasetilazlar (HDAC) adı verilen enzimler, asetat gruplarını histon kuyruklarından kaldırır.



İZLE



Yalıtım elementleri (insulators)

- Özgöl proteinleri bağlayan kısa DNA dizileridir.
- Yeniden şekillendirmenin komşu genlere yayılmasını önlemek için barikat görevi görürler.

İZLE



Bazal transkripsiyon kompleksinin oluşumu

- Ökaryotlarda transkripsiyonun kontrolü için, DNA'ya bağlanan proteinler ile, promotor bölgelerinin yakınındaki DNA dizilerinin birbiri ile teması gereklidir.
- Yapılan ayrıntılı çalışmalarla genin yakın bölgesindeki regülatör diziler tanımlanmış, haritalanmış ve nükleotit dizileri belirlenmiştir.

İZLE



Transkripsiyon başlama kompleksinin oluşumu

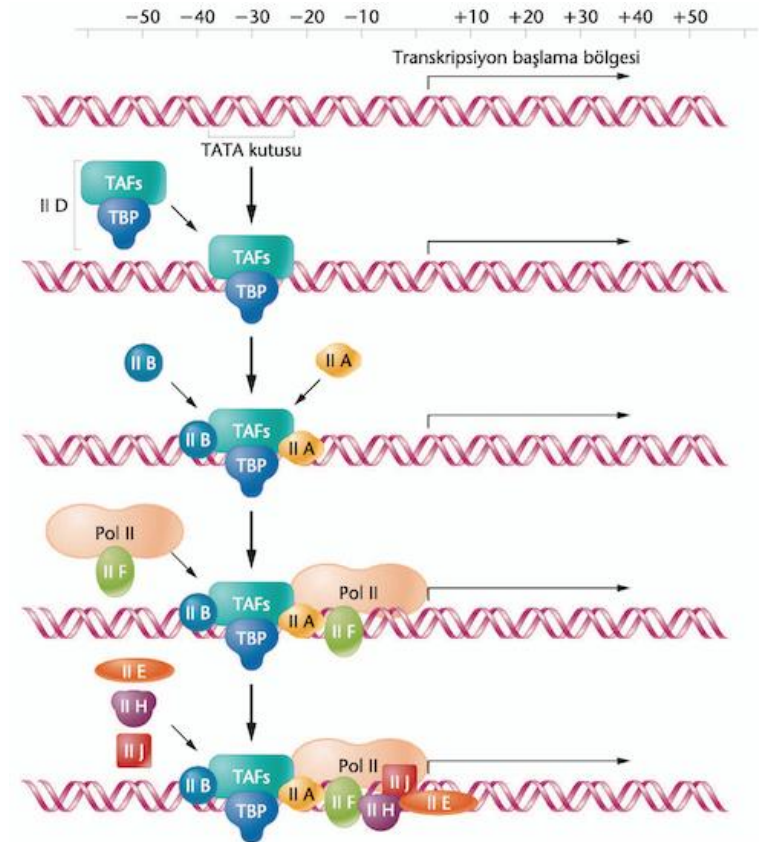
- Bazal veya genel transkripsiyon faktörleri adı verilen bir seri protein, transkripsiyonun başlamasının kontrolü için “trans” olarak etki ederler.
- Bu proteinler, promotor üzerinde son derece özgöl bir biçimde biraraya gelerek transkripsiyon ön başlama kompleksini (pre-initiation complex, PIC) oluştururlar.

İZLE



Transkripsiyon başlama kompleksinin oluşumu

- Böylece RNA polimerazın promotoru tanımasını ve bağlanmasını sağlayacak bir platform oluşturulmuş olur.
- Transkripsiyon kompleksinin oluşumun başlatmak için TFIID adı verilen kompleks, kendi alt birimi olan TBP (TATA bağlanma proteini) ile TATA kutusuna bağlanır.

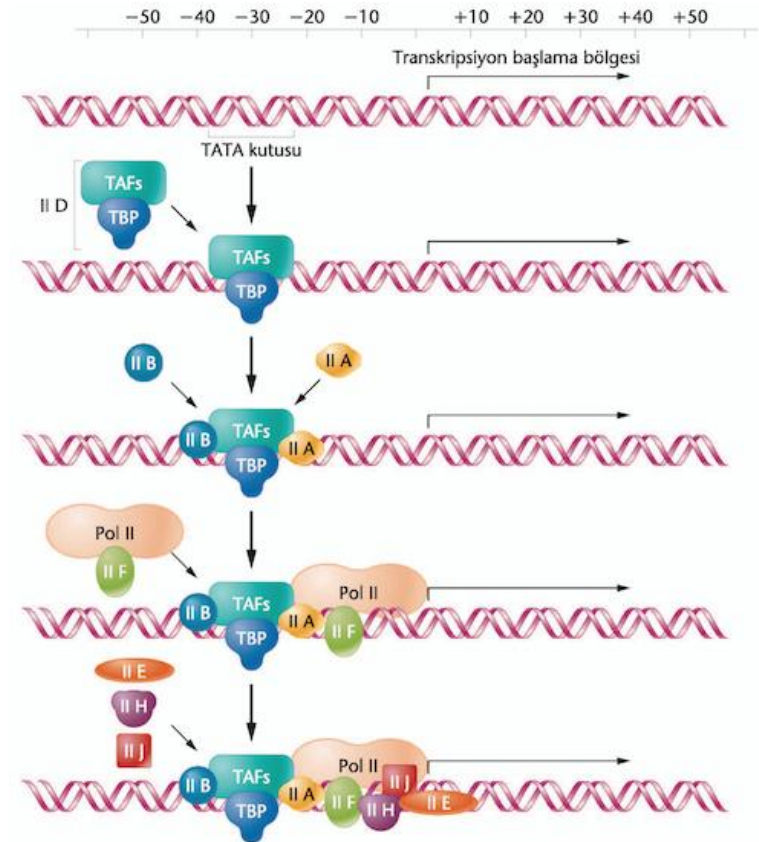


İZLE



Transkripsiyon başlama kompleksinin oluşumu

- TFIID'nin diğer bir alt birimi ise TAF'lardır (TATA asosiyе faktörleri, TATA katılım faktörleri).
- Hem TBP hem de TAF, yaklaşık 20 bç'lik bir DNA bölgesine bağlanırlar.
- Daha sonra başlama kompleksine TFIIB bağlanır.

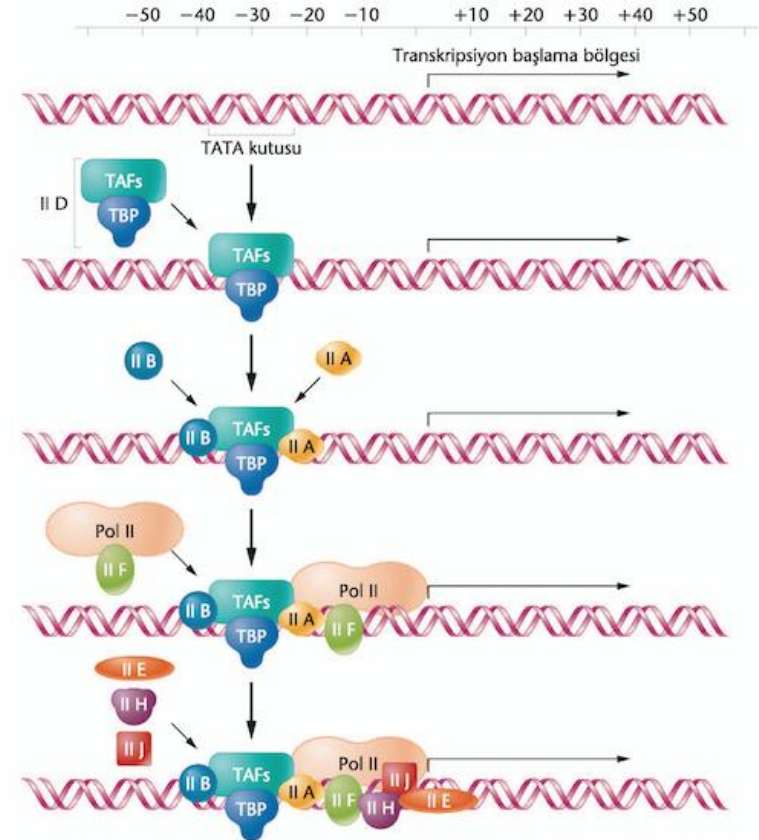


İZLE



Transkripsiyon başlama kompleksinin oluşumu

- Bu protein, TBP ve TATA kutusunun yukarıdaki DNA dizileri ile etkileşime giren bir proteindir.
- Daha sonra yapıya TFIIA, RNA polimeraz II ve TFIIF gibi ilave faktörler bağlanır.

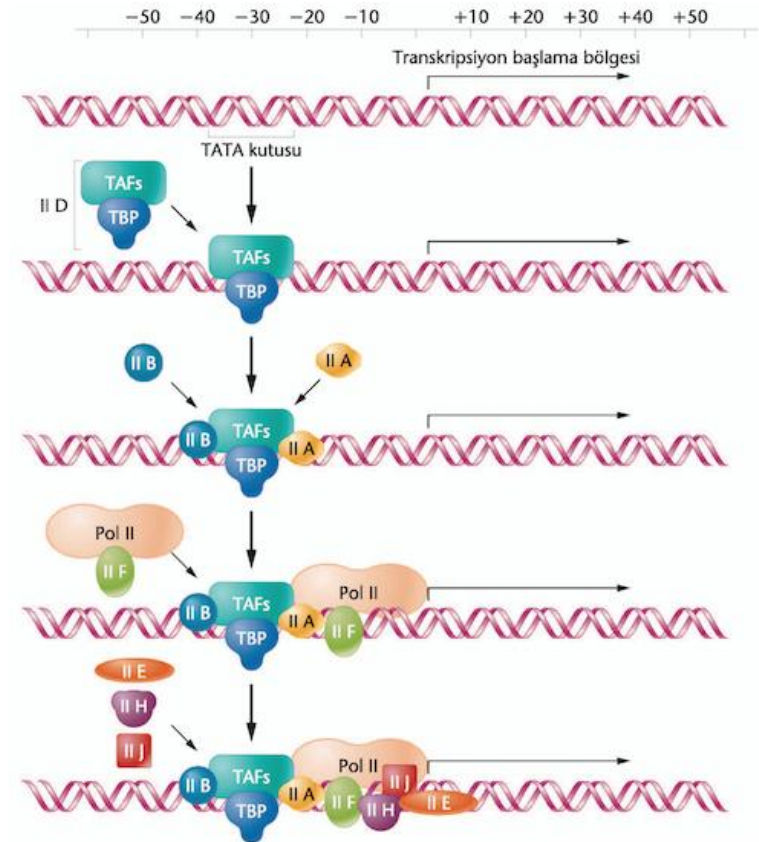


İZLE



Transkripsiyon başlama kompleksinin oluşumu

- Bunu TFII E, TFII H ve TFII J faktörlerinin bağlanması izler.
- Son basamakta RNA polimeraz II TATA kutusunu terk eder ve genin transkripsiyonu başlatılır.



İZLE



Pozitif/negatif faktörler

- TATA kutusuna bağlanan transkripsiyon faktörlerinin yanı sıra, kuvvetlendirici (enhancer) bölgelere bağlanan faktörler de vardır.
- Bu faktörler transkripsiyonun etkinliğini artırırorsa pozitif faktörler olarak adlandırılırlar.
- Eğer transkripsiyonun etkinliğini azaltıyorsa negatif faktörler olarak bilinirler.

İZLE



Pozitif/negatif faktörler

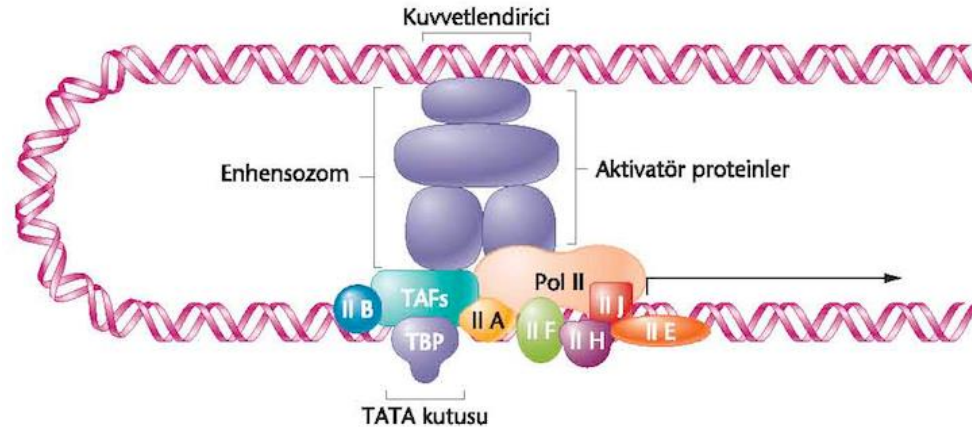
- Bu proteinler, genin ne zaman ve nerede ifade olacağını ve transkripsiyonun oranını kontrol ederler.
- Aktivatörler, transkripsiyon oranını 100 kat artırabilir.

İZLE



Enhansozom (enhanceosome)

- Aktivatörler (pozitif faktörler) kuvvetlendirici (enhancer) dizilere bağlanarak enhansozom adı verilen kompleksleri oluştururlar.
- Enhansozom oluşuktan sonra burdaki proteinler, transkripsiyon kompleksindeki proteinlerle etkileşir.



İZLE



Enhansozom (enhanceosome)

- Aktivatörlerde bu etkileşimi yapmak için iki işlevsel bölge bulunur:
 - Enhansırda bulunan DNA dizilerine bağlanan bölge (DNA bağlanma bölgesi, DNA binding domain)
 - Protein-protein etkileşimi ile transkripsiyonu aktive eden bölge (karşı aktivasyon bölgesi, trans-activation domain).

İZLE



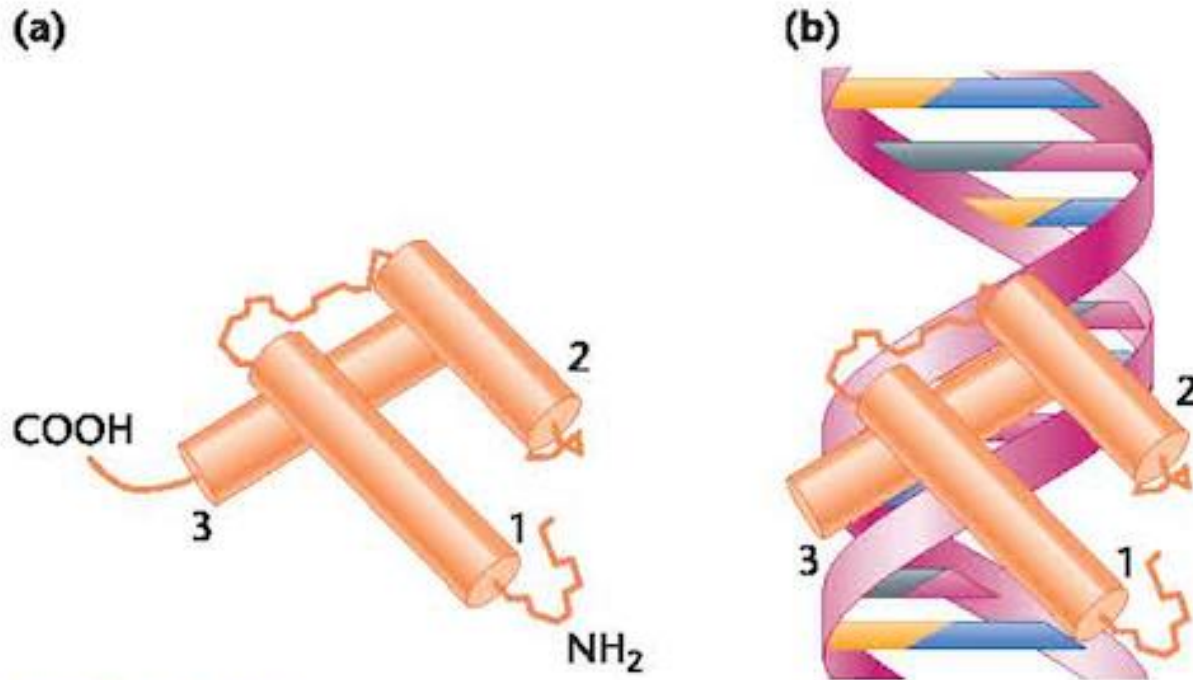
DNA bağlanma domainlerinin eşitleri

- Ökaryotlarda DNA bağlanma domainlerinin üç boyutlu özgöl yapısal şekilleri vardır:
 - Sarmal-dönüş-sarmal modeli (helix-turn-helix, HTH)
 - Çinko parmak modeli (zinc finger)
 - Bazik lösin fermuarı (basic leucine zipper, bZIP)

İZLE



Sarmal-dönüş-sarmal modeli (helix-turn-helix, HTH)

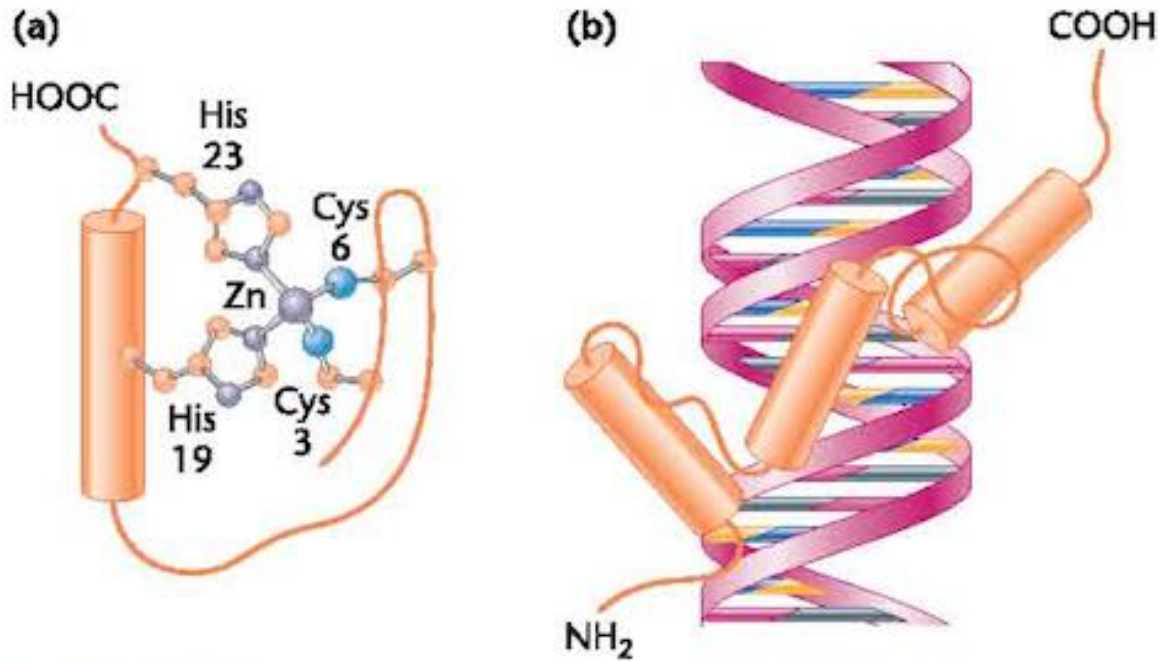


ŞEKİL 17-14 Bir sarmal-dönüş-sarmal ya da homeodoma-
in yapısı (a) proteinin α - sarmal yapılarının oluşturduğu
üç düzlem. (b) bu bölgeler DNA molekülünün oyuklarına
bağlanır.

İZLE



Çinko parmak modeli (zinc finger)

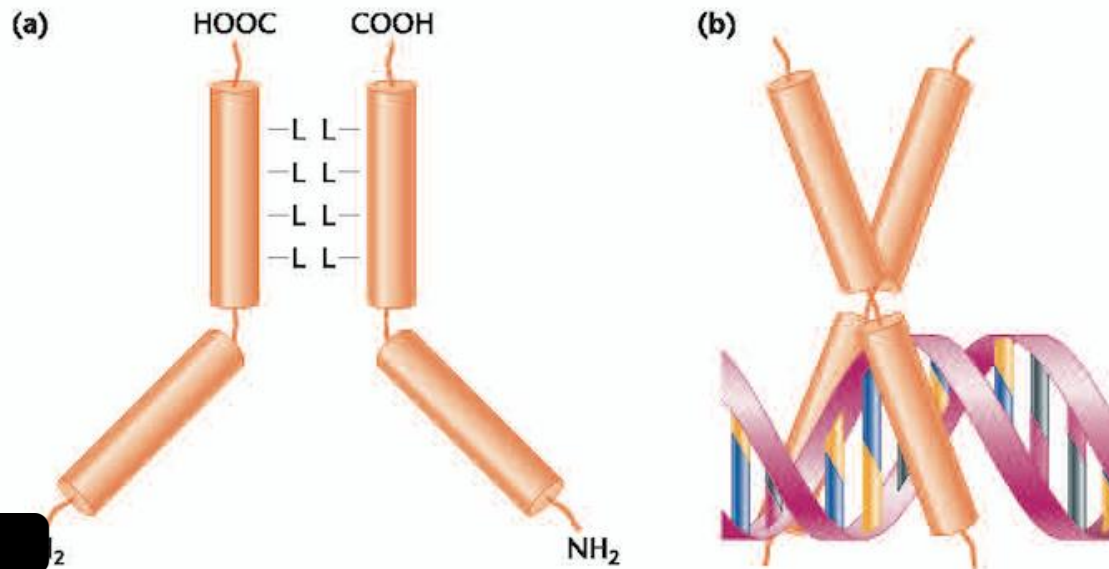


ŞEKİL 17–15 (a) Sistein ve histidin amino asitlerine Zn⁺⁺ atomunun bağlı olduğu bir çinko parmak yapısı. (b) Bu bağlanma, amino asit zincirinin parmağa benzer bir şekilde dışa doğru halka (ilmik) oluşturmasına neden olur.

İZLE



Bazik lösin fermuarı (basic leucine zipper, bZIP)



ŞEKİL 17-16 (a) Karşılıklı gelen iki polipeptit zincirinin α - sarmal uzantılarının, her bir dönüşte birbirleri ile karşılaşan lösin amino asitlerinin oluşturduğu lösin fermuar yapısı. (b) α -sarmal bölge lösin fermuarı oluşturduğu zaman fermuarın dışında kalan kısım 'Y' şeklini kazanır ve DNA'yı makas gibi kavrar.

İZLE



Mayanın gal genlerindeki pozitif uyarılma ve katabolit baskılama

- gal genleri, mayada galaktozun yıkımı için gerekli olan enzimleri şifreleyen genlerdir.
- gal genlerinin ifadesi uyarılabilir.
- Substratı olan galaktozun ortamda bulunup bulunmayışına göre düzenlenir.
- Galaktoz ortamda bulunmadığı durumda gen transkripsiyona uğramaz.

İZLE



Mayanın gal genlerindeki pozitif uyarılma ve katabolit baskılama

- Eğer ortama galaktoz ilave edilirse transkripsiyon hemen başlar ve sentezlenen mRNA miktarı 1000 kat artar.
- gal genleri, ikinci bir kontrol sisteminin, yani katabolit represyonunun kontrolü altındadır.
- gal genlerinin regülatörü olan GAL4'teki bir mutasyon, aktivasyonu önler.

İZLE



Mayanın gal genlerindeki pozitif uyarılma ve katabolit baskılama

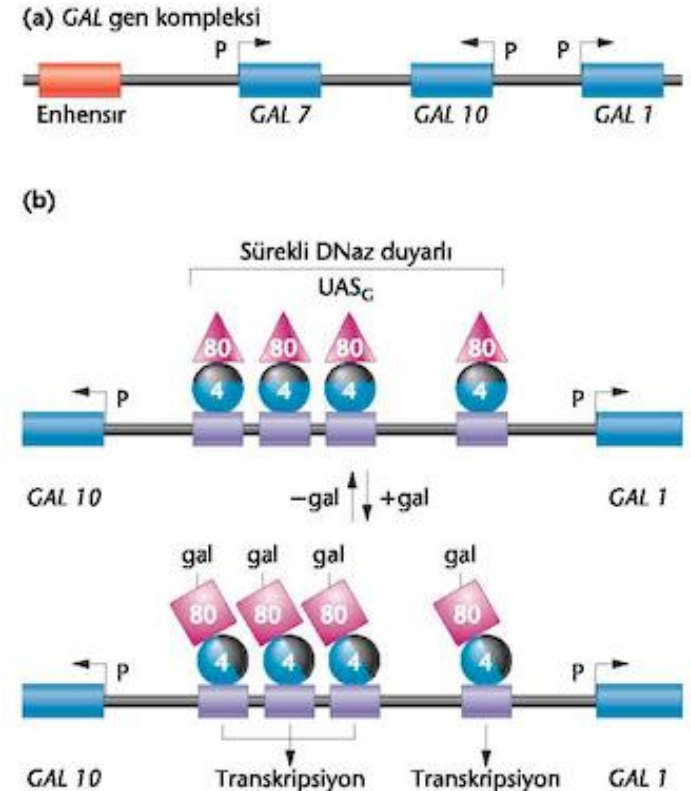
- GAL4 reseptörünün varlığında gen transkripsiyona uğramaktadır.
- Şimdi GAL1 ve GAL10 adlı genlerin nasıl regüle edildiğini inceleyeceğiz.

İZLE



GAL1 ve GAL10 genlerinin regülasyonu

- Bu iki genin transkripsiyonu, UAS_G (upstream activating sequence, yukarı bölge aktive edici dizi) adı verilen 170 bç'lik bir kontrol bölgesi tarafından denetlenir.
- UAS'nin kromatin yapısı açıktır.

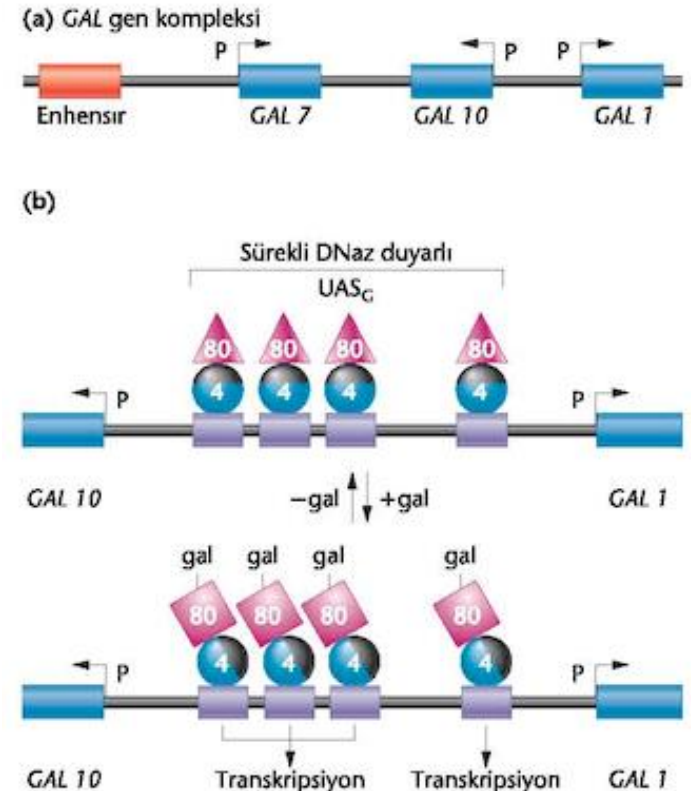


İZLE



GAL1 ve GAL10 genlerinin regülasyonu

- UAS içinde Gal4 proteini (Gal4p) için dört adet bağlanma bölgesi vardır.
- gal genleri aktive olsun ya da olmasın, Gal4p, diğer bir gal geni regülatörü olan Gal80p tarafından negatif olarak kontrol edilir.

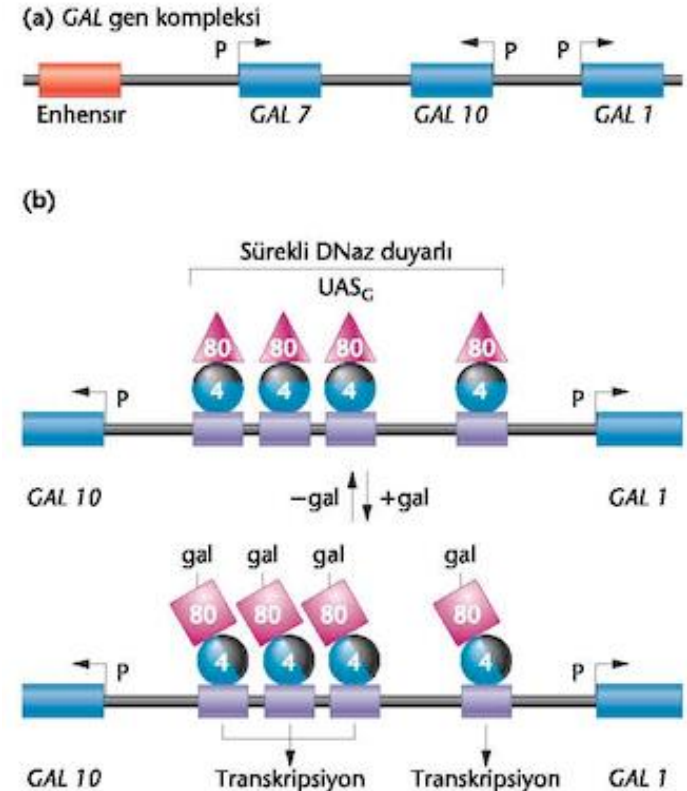


İZLE



GAL1 ve GAL10 genlerinin regülasyonu

- Yandaki şekilde koyu boyanan bölgeler Gal4p'nin aktif bölgeleridir.
- Ortamda galaktoz varken Gal4p'nin aktif bölgeleri açığa çıkar ve böylece uyarılma meydana gelir.

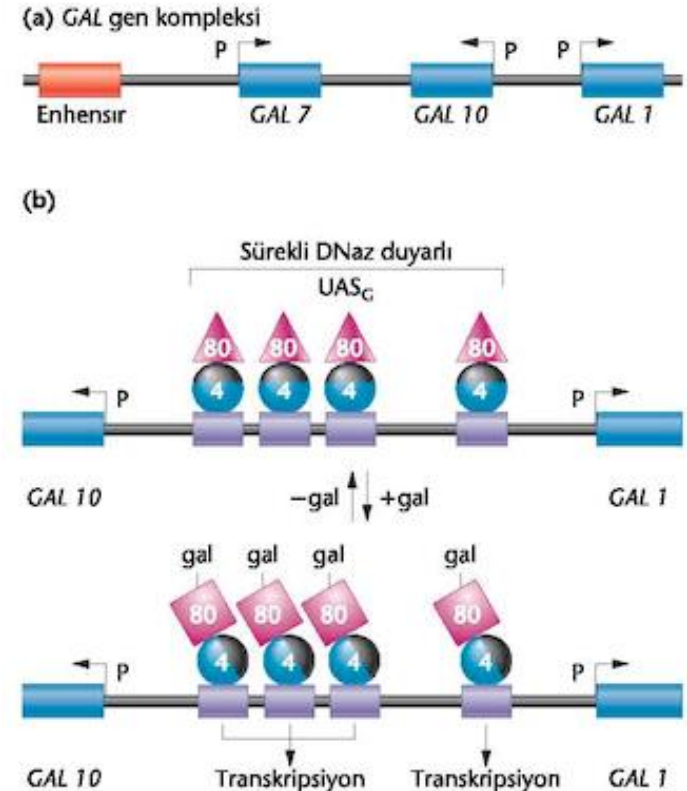


İZLE



GAL1 ve GAL10 genlerinin regülasyonu

- Ortamda galaktoz yokken Gal80p, Gal4p'nin aktif bölgelerini kapatacak şekilde bağlanır.
- Böylelikle Gal4p, GAL1 ve GAL10 genlerinin aktivasyonunu sağlayarak galaktozun metabolize edilmesini gerçekleştirir.

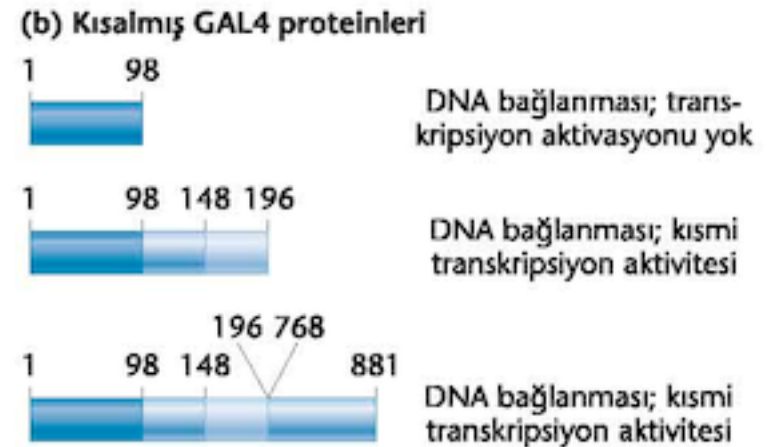
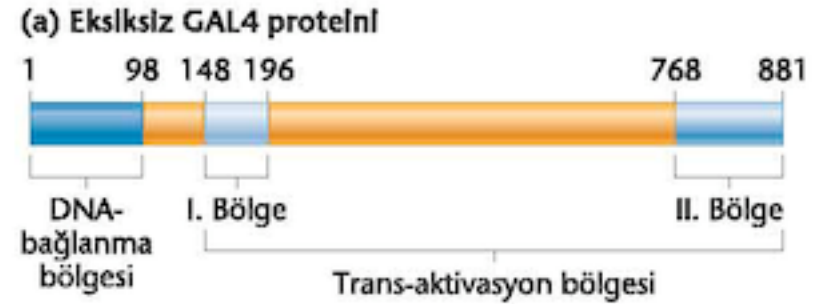


İZLE



Gal4 proteininin moleküler yapısı

- Gal4p'nin üç bölgesi vardır:
 - 1-98 veya 1-147 arası aminoasitler UAS_G 'deki DNA tanıma bölgesine bağlanırlar.
 - 148-196 ve 768-881 arasındaki aminoasitler transkripsiyonel aktivite için gereklidir.
 - 851-881 arasındaki aminoasitler Gal80p'nin bağlanması için gereklidir.



İZLE



DNA metillenmesi

- Replikasyon sonrasında pekçok ökaryotik organizmanın DNA'sı metillenir.
- Bu işlem sırasında enzimler aracılığıyla bazlara ve şekerlere metil grupları eklenir.
- Metillemelerde genellikle sitozinlere metil grupları eklenir.
- Herhangi bir ökaryotik organizmanın genomundaki sitozinlerin yaklaşık % 5'i metillenmiştir.

İZLE



DNA metillenmesi

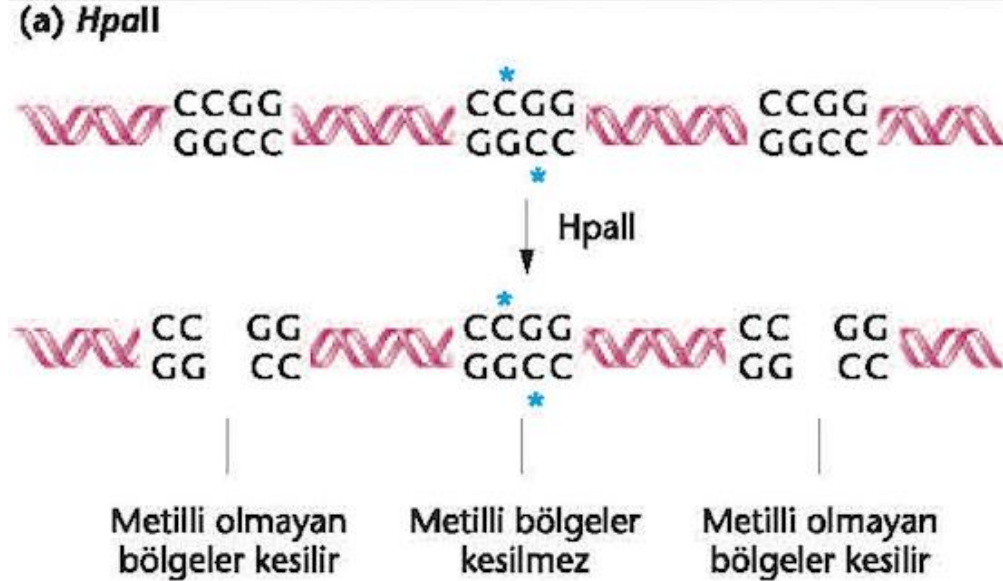
- Ancak metillenme derecesi dokuya özgüdür ve % 2-7 arasında değişiklik gösterir.
- Metillenme, sitozin bazının 5. pozisyonunda olur.
- Böylece metil grubu DNA sarmalının büyük oluğunda çıkıntı yapar ve proteinlerin DNA'ya bağlanmasını engeller.
- Metillenme, genellikle CG çiftleri halindeki sizoninlerde ve her iki zincirde birden gerçekleştirilir.

İZLE



Zincirin metilli olup olmadığının anlaşılması

- DNA'nın metilli olup olmadığı restriksiyon enzim analizi ile saptanabilir.

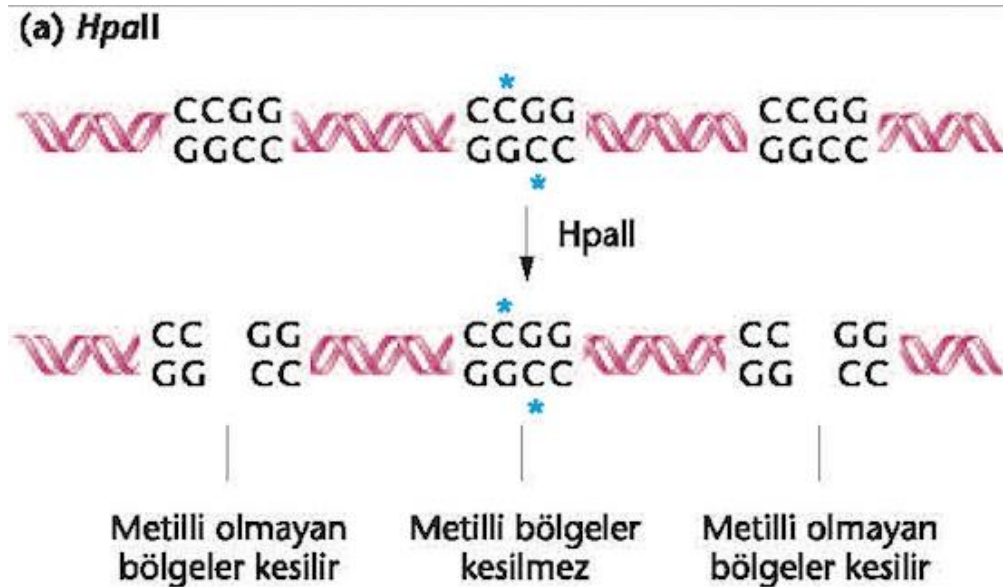


İZLE



Zincirin metilli olup olmadığının anlaşılması

- Restriksiyon enzimi HpaII'nin DNA'yı tanıma ve kesme dizisi CCGG'dir.

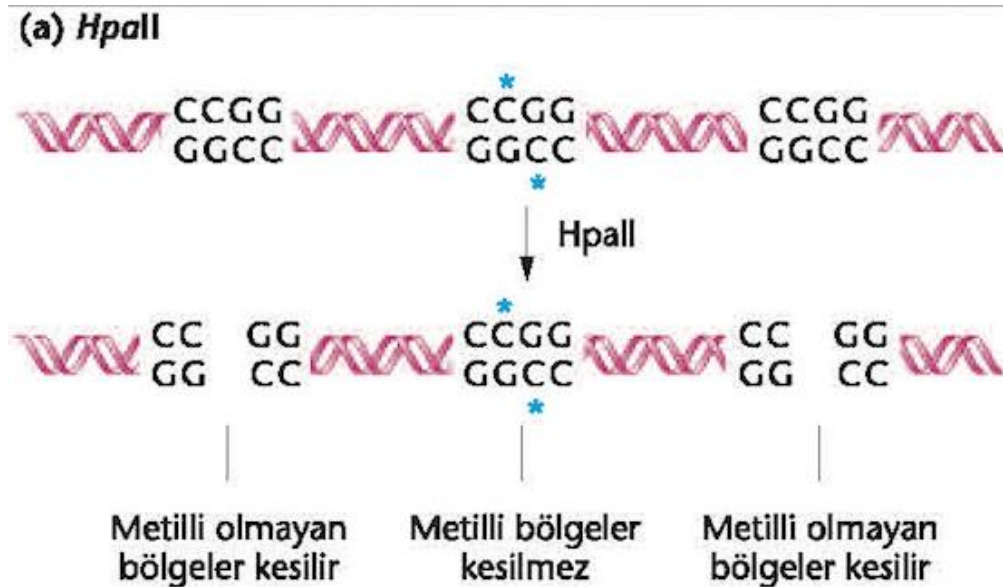


İZLE



Zincirin metilli olup olmadığının anlaşılması

- Ancak ikinci sitozin metillenmişse DNA'yı kesemeyecektir.



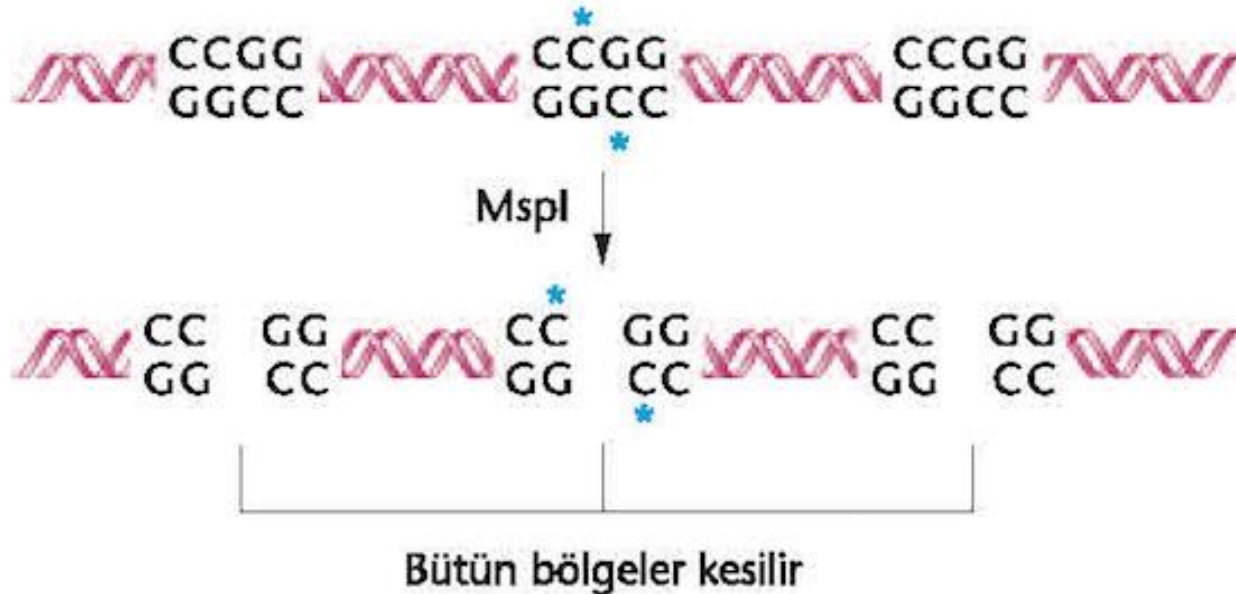
İZLE



Zincirin metilli olup olmadığının anlaşılması

- Diğer bir restriksiyon enzimi olan MspI de aynı CCGG dizisini tanır.

(b) *MspI*



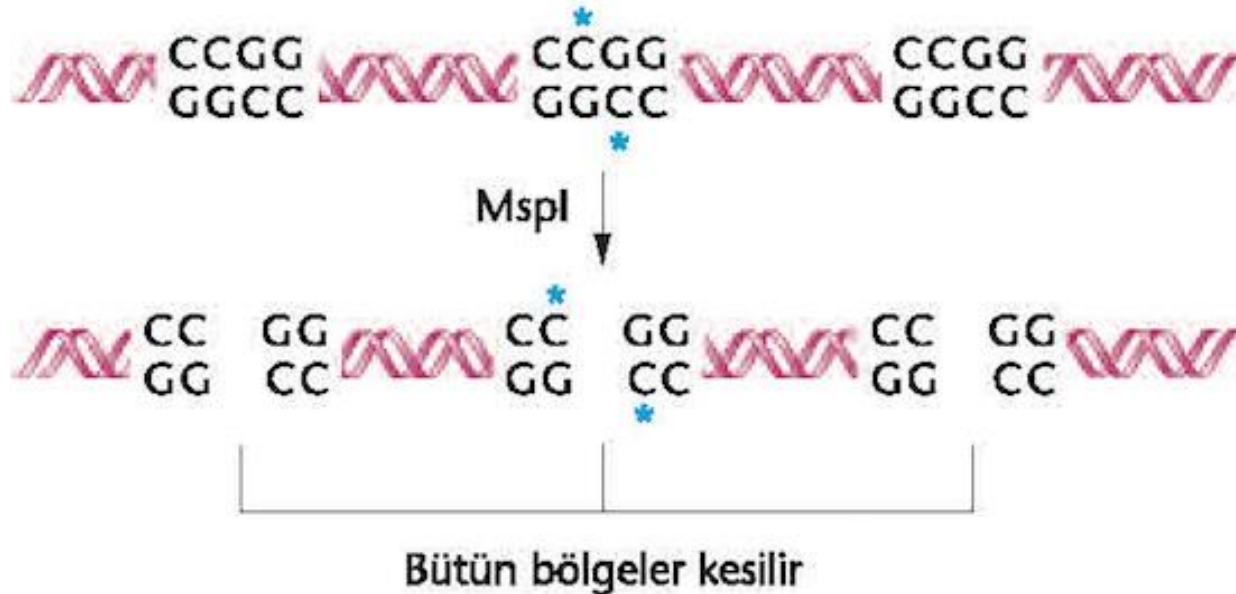
İZLE



Zincirin metilli olup olmadığının anlaşılması

- Ancak bu enzim, ikinci sitozin metilli olsun ya da olmasın kesim yapabilir.

(b) *MspI*



İZLE



Metillenme ile gen ifadesi arasındaki ilişki

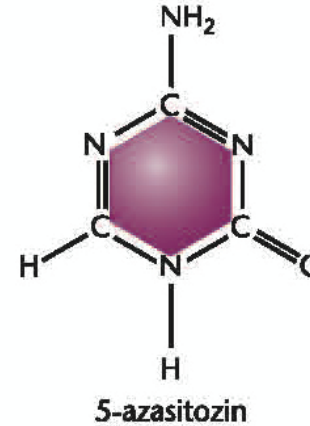
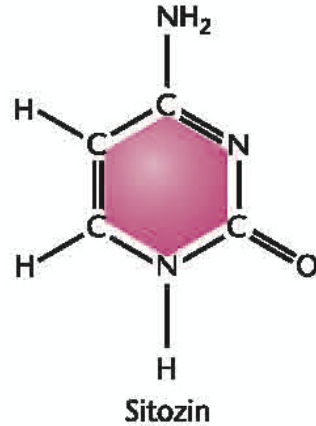
- Bir genin metillenmesi ile ifadesi arasında ters bir ilişki vardır.
- Yani düşük derecede metillenme, yüksek oranda gen ifadesi anlamına gelmektedir.
- Memelilerdeki inaktif X kromozomu, aktif olan X'ten daha yüksek metillenme derecesine sahiptir.
- Metillenme dokuya özgüdür ve bir kere gerçekleşince o dokunun bütün hücrelerine aktarılır.

İZLE



5-azasitidin nükleotiti

- Bir baz analogu olan 5-azasitidin, DNA'da sitozinin yerine girer.
- Bu molekül kimyasal olarak metillenmediği için girdiği bölgelerde metillenme derecesi düşer.

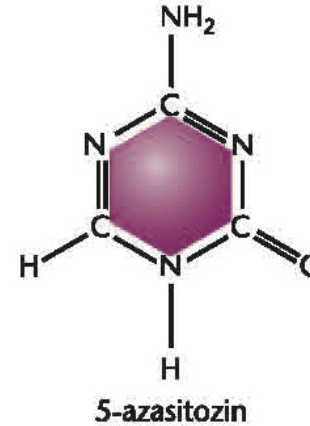
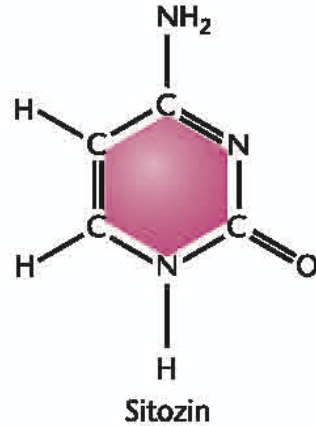


İZLE



5-azasitidin nükleotiti

- Bu molekülün DNA'ya aktarılması gen ifadesini değiştirir.
- Bu olay, inaktif X kromozomu üzerindeki allellerin ifadesini uyarabilir.



İZLE



Orak hücre anemisinin tedavisi

- Orak hücre anemisinin tedavisinde klinik denemelerde 5-azasitidin kullanılmaktadır.
- Embriyogenez sırasında ϵ - ve γ^G -globin genleri ifade olur.
- Fakat doğumdan hemen sonra β -globin sentezinin başlaması ile birlikte bu genler inaktif duruma geçer.
- Hasta bireylerde β -globin geni mutanttır.

İZLE



Orak hücre anemisinin tedavisi

- Bu bireylerde 5-azasitidin tedavisi ile ϵ -globin ve γ^g -globin genlerindeki metillenme oranı düşürülür.
- Böylelikle embriyonik ve fötal genlerin yeniden ifadesi sağlanır.

İZLE



Transkripsiyon sonrası regülasyon

- Pekçok organizmada görülen bir kontrol mekanizmasıdır.
- Ökaryotik hücrelerin çekirdeklerinde sentezlenen RNA molekülleri, translasyon öncesinde bazı değişikliklere uğrar.
- Intron dizileri çıkarılırken, kalan ekzonlar birleştirilir.
- mRNA'nın 5' ucuna bir kep (şapka) ve 3' ucuna poliA kuyruğu takılır.
- Daha sonra bu olgun mesaj sitoplazmaya geçirilir.
- Bu basamakların her biri birer regülasyon basamağıdır.

İZLE



mRNA'nın seçenekli sıplays yolları

- Seçenekli sıplays (alternative splicing) ile tek bir öncül mRNA molekülünden farklı formlarda pek çok olgun mRNA oluşması sağlanır.
- Böylece tek bir genin ifadesi ile, benzer ya da farklı işlevleri olan bir protein ailesi meydana gelir.

İZLE



mRNA'nın seçenekli sıplays yolları

- Küçük değişiklikler;
 - Enzimatik aktiviteyi
 - Reseptör bağlama kapasitesini
 - Hücre içinde proteinin yerleşimini değiştirebilir.

İZLE



mRNA'nın seçenekli sıplays yolları

- Sıplays kalıbındaki değişiklikler ayrıca aşağıdaki süreçlerde son derece önemlidir:
 - Gelişim
 - Apoptozis
 - Sinir sisteminde hücreler arası bağlantılar

İZLE



mRNA'nın seçenekli sıplays yolları

- Sıplaysın doğru yapılmasını etkileyen mutasyonlar birçok genetik hastalığın temelini teşkil eder.
- Seçenekli sıplays, her bir genden meydana gelen protein sayısını artırır.
- Dolayısıyla hücrenin yapabildiği protein sayısı, genomundaki genlerin sayısı ile doğrudan bağlantılı değildir.

İZLE



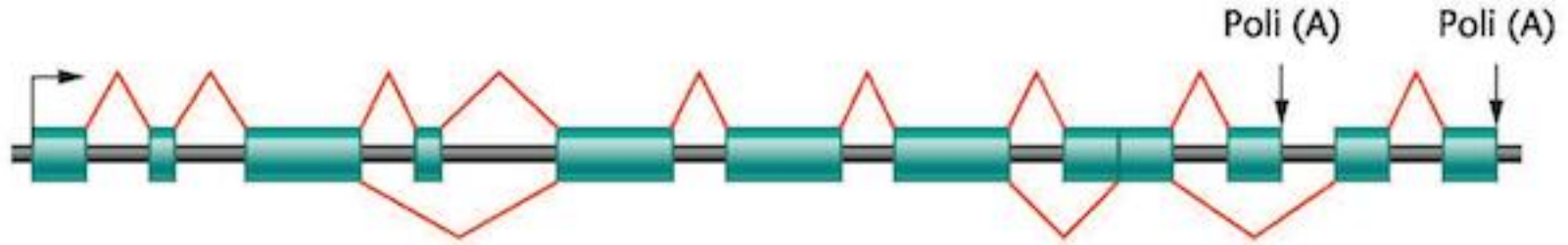
mRNA'nın seçenekli sıplays yolları

- Protein eşitliliği gen sayısına göre önemli oranda fazladır.
- İnsan genomundaki genlerin yaklaşık % 30-60 kadarının seçenekli sıplays yolunu kullandığı tahmin edilmektedir.
- Böylece insan genomundaki 25.000-30.000 genden yüzbinlerce farklı protein oluşabilmektedir.

İZLE



mRNA'nın seçenekli sıplays yolları



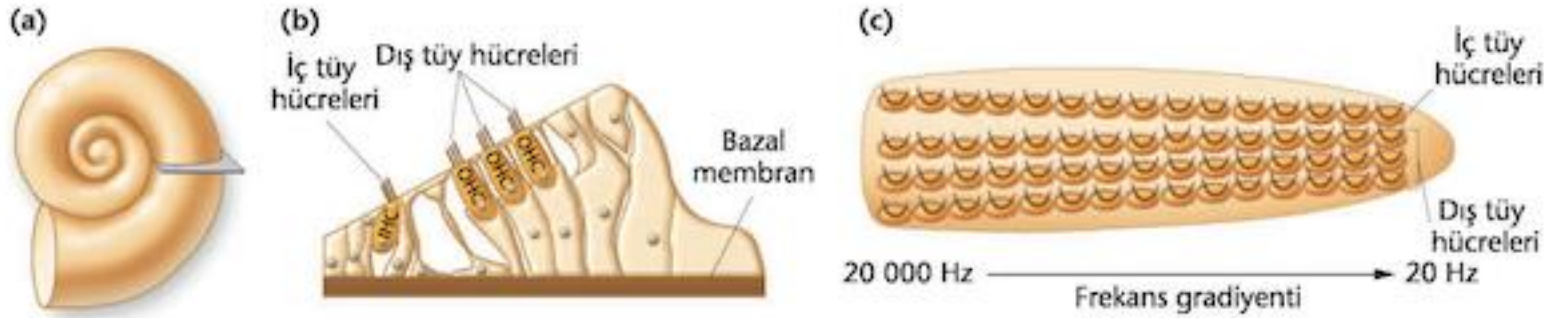
ŞEKİL 17–21 Ökaryotik mRNA'da seçenekli sıplays şekilleri. Ekzonlar silindir şeklinde gösterilmiştir. Normal sıplays şekli ekzonların üstünde, seçenekli sıplays şekilleri ekzonların altında gösterilmektedir. Seçenekli sıplays ile yeni poli (A) bölgesi ve ekzonların eklenebildiğine dikkat edin. Seçenekli sıplays bölgeleri sıklıkla tek bir kopyadan pek çok farklı mRNA'ların oluşmasına neden olacak şekilde çoklu kombinasyonlar halinde kullanılır.

İZLE



Kohlea tüy hücreleri ve işitme

- Kulaklarımız, çevremizdeki sesleri işitmek için binlerce frekans aralığındaki ses dalgalarını algılar.
- İç kulaktaki kohlea'nın bazal membranında dört sıra tüy hücresi bulunur.

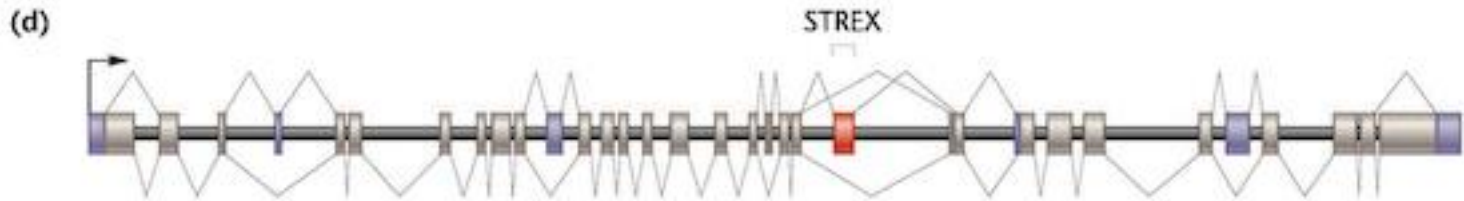


İZLE



Kohlea tüy hücreleri ve işitme

- Her hücre, farklı ve dar bir frekans aralığındaki seslere yanıt verir.
- SLO adlı genden elde edilen öncül mRNA'nın seçenekli sıplaysı ile tüylü hücrelerinin farklı frekansları almak üzere ayarlanması kontrol edilir.

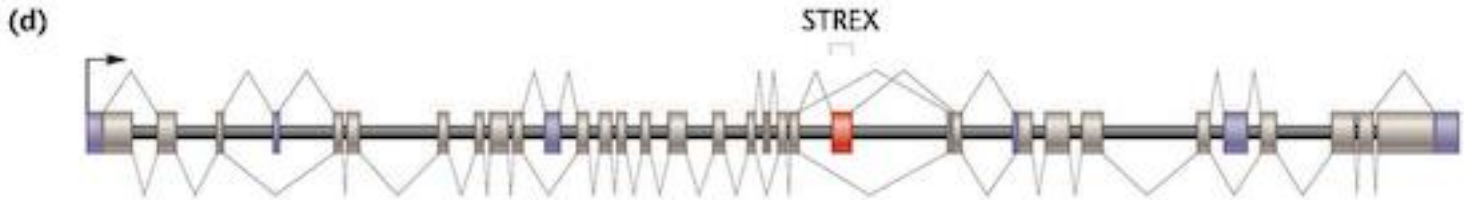


İZLE



Kohlea tüy hücreleri ve işitme

- SLO'dan elde edilen öncül mRNA'da en az sekiz seçenekli sıplays noktası vardır.
- Bu mRNA'daki seçenekli sıplays kombinasyonları ile 500'den fazla farklı mRNA oluşabilir.

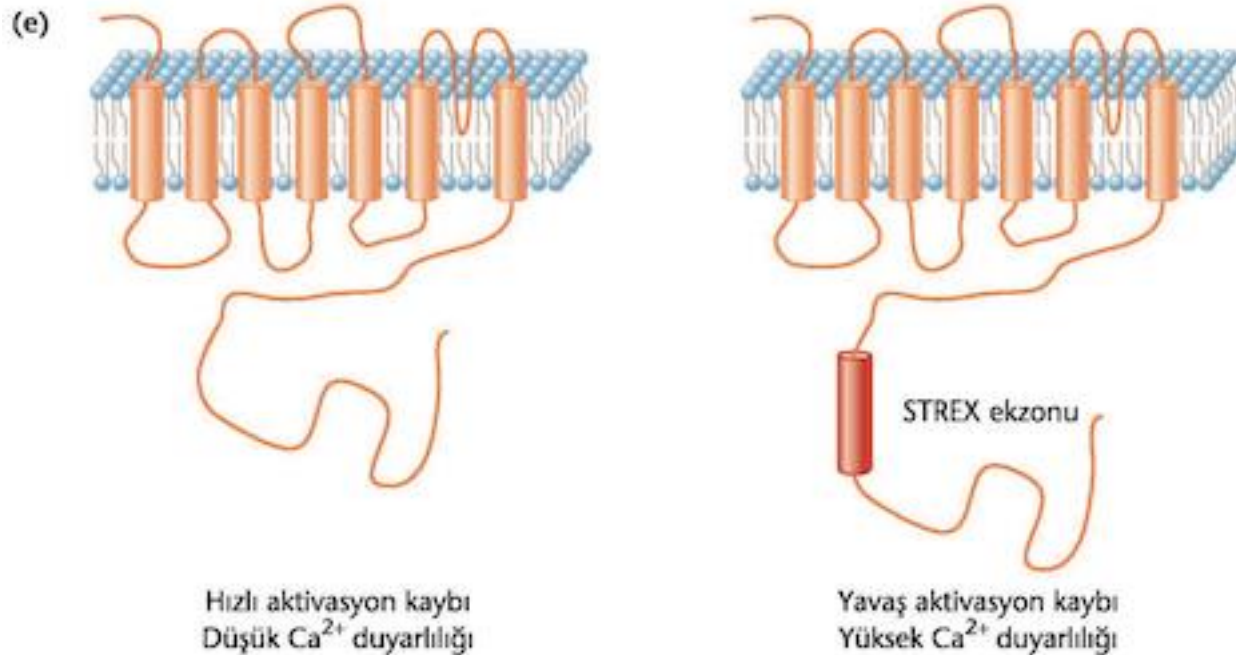


İZLE



Kohlea tüy hücreleri ve işitme

- SLO proteinlerinin bazı şekilleri, çok geniş bir frekans aralığındaki sesleri işitmemizi sağlar.



İZLE



Aynı öncül mRNA'dan kaç farklı polipeptit üretilebilir?

- Bu sorunun cevabı *Drosophila*'daki bir gen ile yapılan çalışmalardan elde edilmiştir.
- Sinir sistemi hücreleri gelişim sırasında birbiri ile doğru bir şekilde temas kurmalıdır.
- *Drosophila*'da bulunan Dscam geni, akson gelişimini yönlendiren, nöronların birbiri ile doğru bağlantı kurmasını sağlayan bir proteini şifreler.

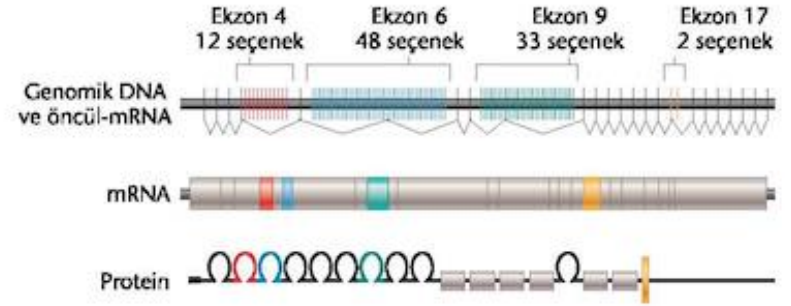
İZLE



Aynı öncül mRNA'dan kaç farklı polipeptit üretilebilir?

■ Dscam öncül mRNA'sındaki;

- Ekzon 4 için 12 seçenek
- Ekzon 6 için 48 seçenek
- Ekzon 9 için 33 seçenek
- Ekzon 17 için 2 seçenek bulunmaktadır.



- Eğer bu seçeneklerin tümü kullanılırsa Dscam geni 38.016 farklı protein oluşturur.

İZLE



'para' geni

- *Drosophila*'ya ait diğer bir uç örnektir.
- Bu gende 13 tane seçenekli ekzon vardır.
- Ayrıca bu yapı, 11 noktada editing (düzeltme) adı verilen transkripsiyon sonrası modifikasyona uğrar.
- Bu işlem transkripsiyondan ve sıplaystan sonra yapılan baz değişimini içermektedir.
- Bu iki işlem birlikte düşünüldüğünde 'para' geninden 1 milyondan fazla farklı transkript oluşturulabilir.

İZLE



'para' geni

- *Drosophila* genomunda yaklaşık 13.000 gen bulunmaktadır.
- Ancak Dscam geninin tek başına 2.5 kat daha fazla protein oluşturabileceği görölmektedir.

İZLE



RNA sessizleştirmesi

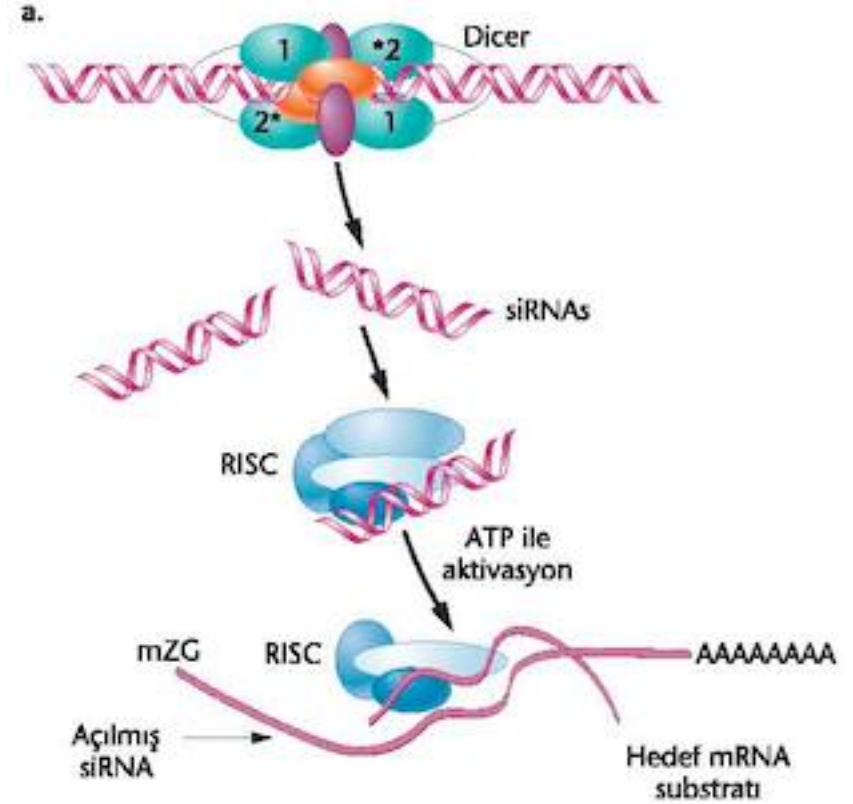
- Bitkilerde keşfedilen 21 nükleotit uzunluğunda kısa RNA molekülleri, sitoplazmadaki mRNA'nın transkripsiyonunu baskılamaktadır.
- Bu yolla sitoplazmik mRNA'nın yıkımını sağlamakta ve gen ifadesini düzenlemektedirler.
- Son zamanlarda, çekirdekte de buna benzer RNA'ların kromatin yapısını değiştirdikleri ve gen sessizleştirmesini sağladıkları gösterilmiştir.

İZLE



RNA müdahalesi (RNA interference) (siRNA)

- En iyi çalışılan RNA sessizleştirme çeşididir.
- Bu süreçte Dicer adı verilen ve RNAaz aktivitesi olan bir protein büyük rol oynar.

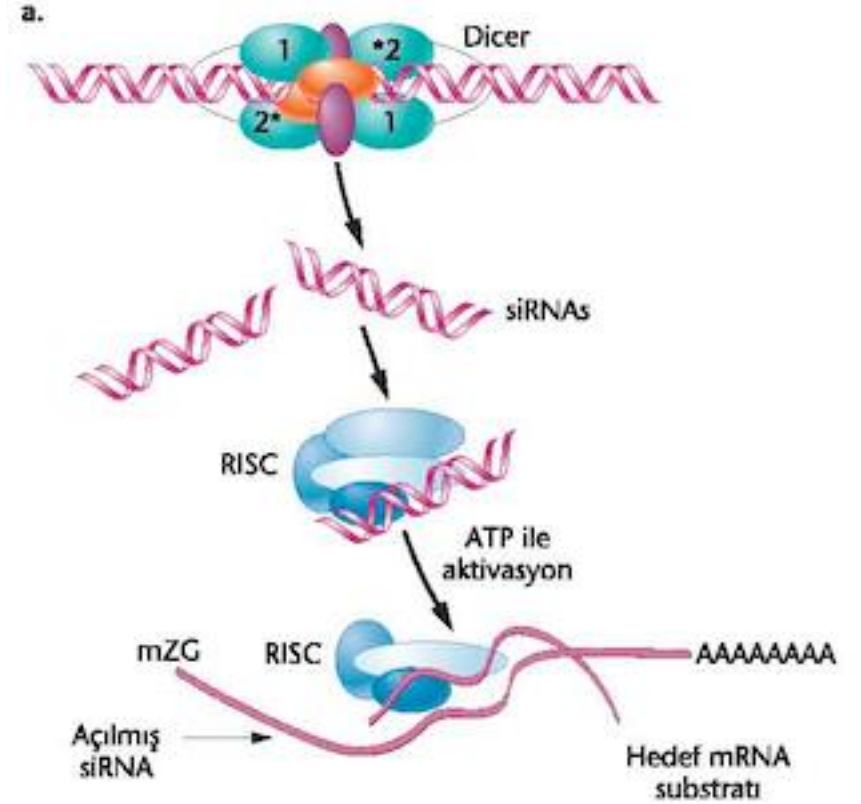


İZLE



RNA müdahalesi (RNA interference) (siRNA)

- Dicer, çift zincirli RNA moleküllerine bağlanır.
- Onları, siRNA'lar adı verilen 21 nükleotitlik moleküllere parçalar.

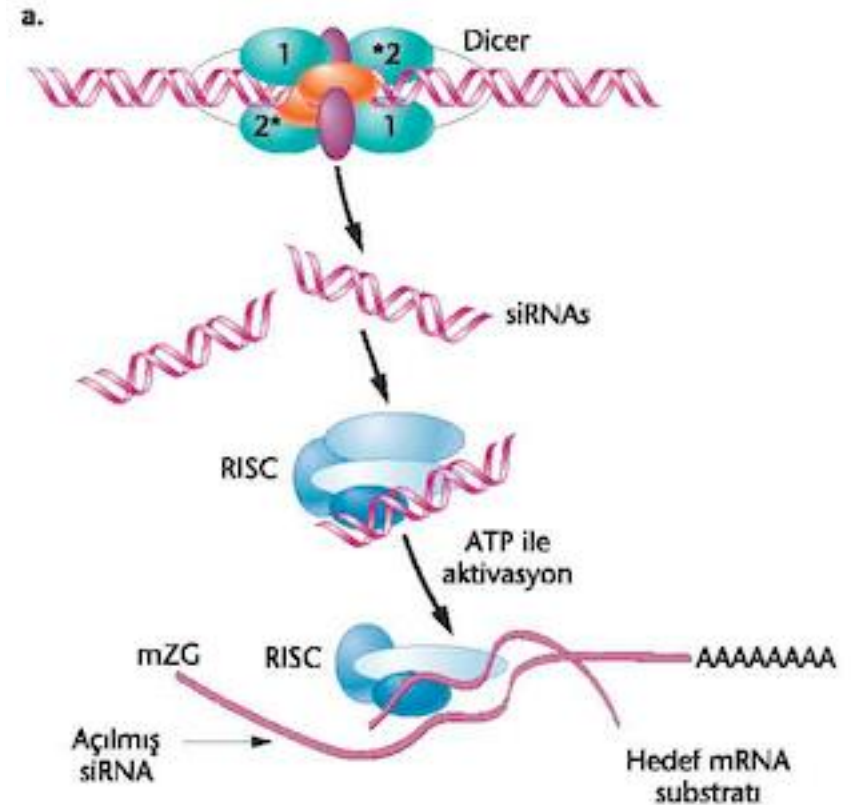


İZLE



RNA müdahalesi (RNA interference) (siRNA)

- Oluşan bu siRNA'lar, RISC kompleksleri tarafından tek zincirli RNA molekülleri haline dönüştürülürler.

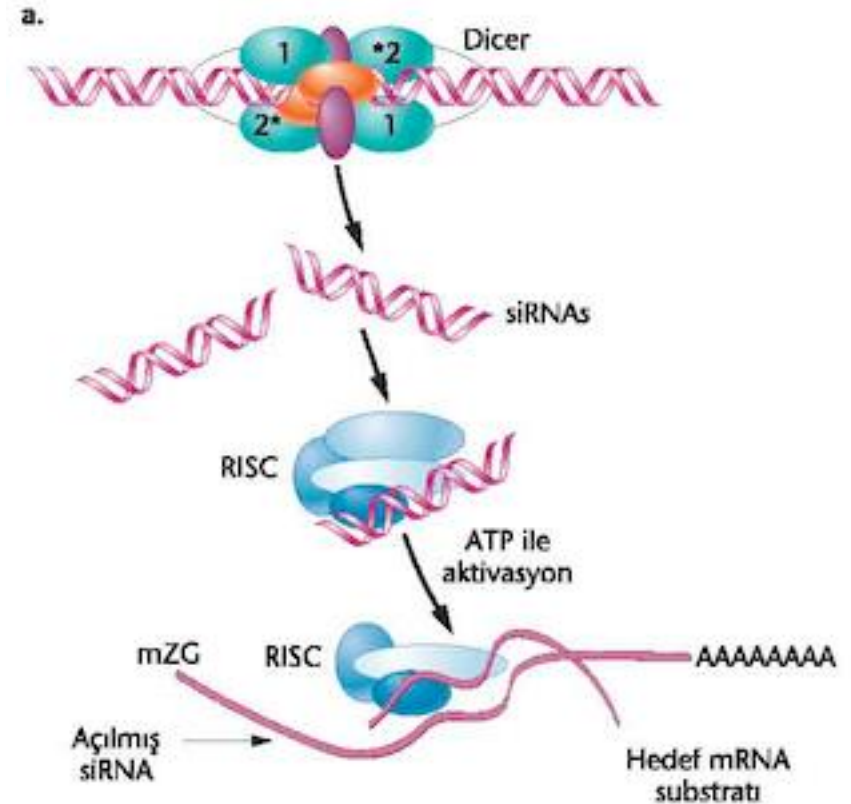


İZLE



RNA müdahalesi (RNA interference) (siRNA)

- Oluşan bu tek zincirli yapılar, mRNA'daki komplementer dizilere bağlanarak, onları, parçalanmak üzere hedef haline getirir.

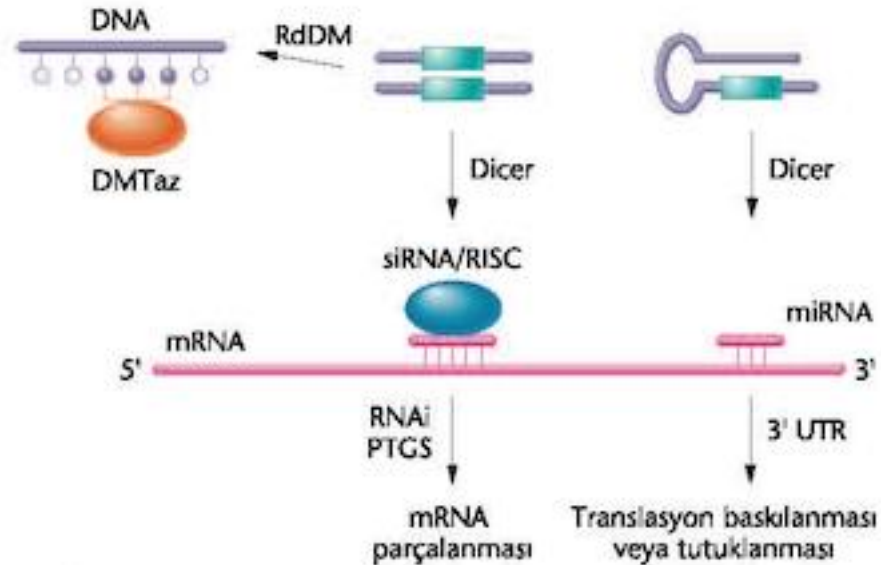


İZLE



MikroRNA (miRNA)

- Dicer aracılığıyla gerçekleştirilen bir başka sessizleştirme yöntemidir.

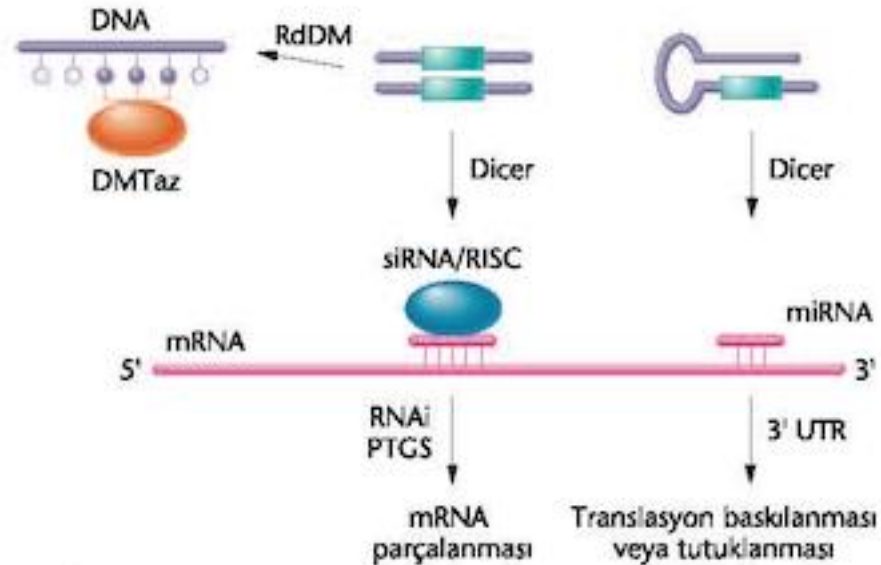


İZLE



MikroRNA (miRNA)

- Kısmi çift zincirli bir RNA molekülü Dicer tarafından işlenerek miRNA oluşturulur.

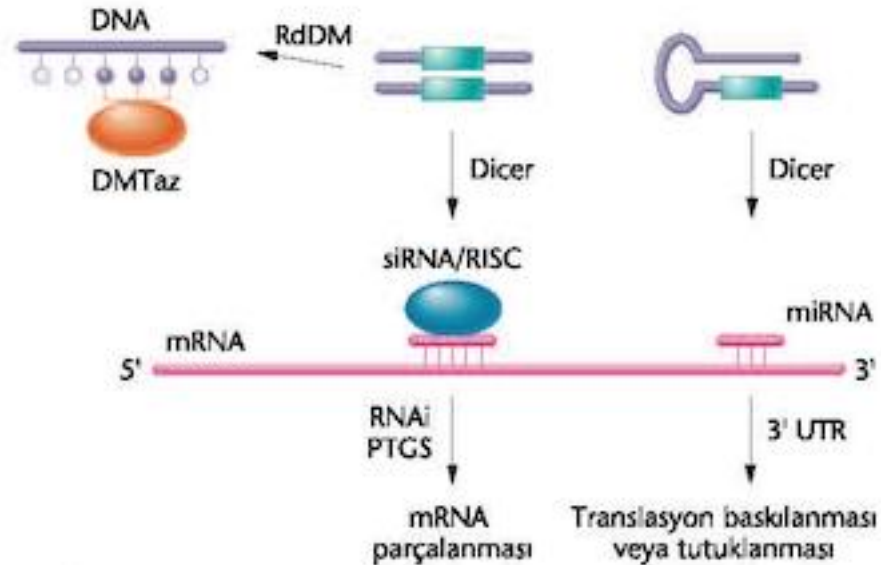


İZLE



MikroRNA (miRNA)

- Bu miRNA, mRNA'nın 3'-translasyona uğramayan bölgesindeki (UTR) eşlenik dizilere bağlanır.

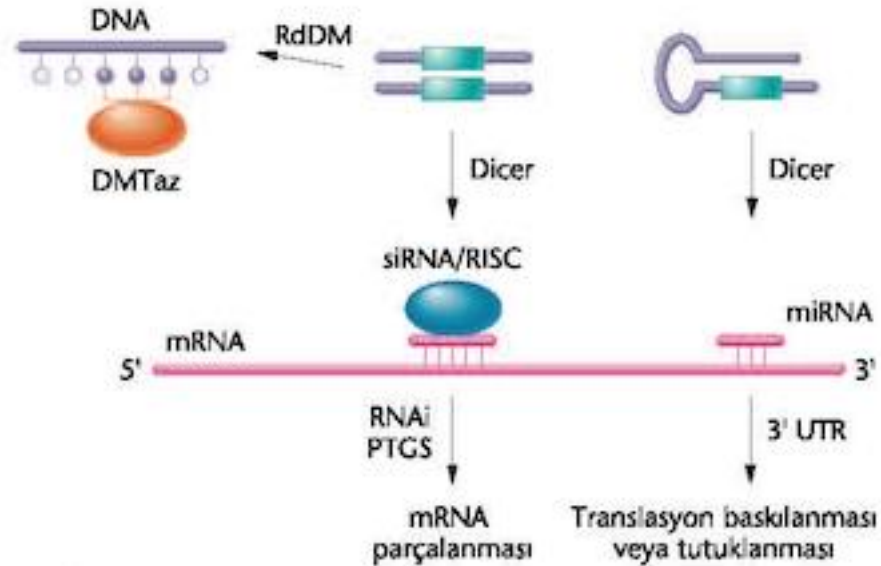


İZLE



MikroRNA (miRNA)

- Bu sayede translasyon engellenir.

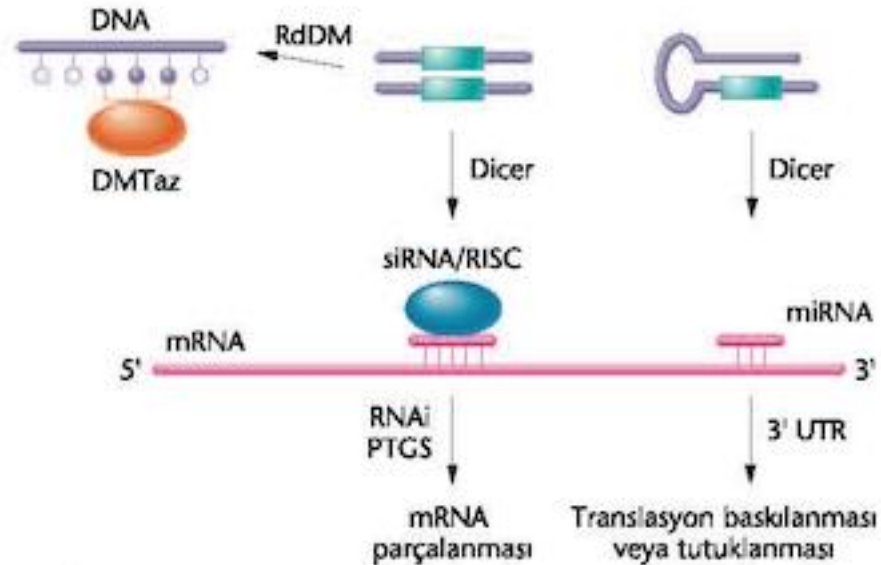


İZLE



RNA tarafından yönlendirilen DNA metilasyonu (RdDM)

- Bu işlemde de yine Dicer aktif rol oynar.

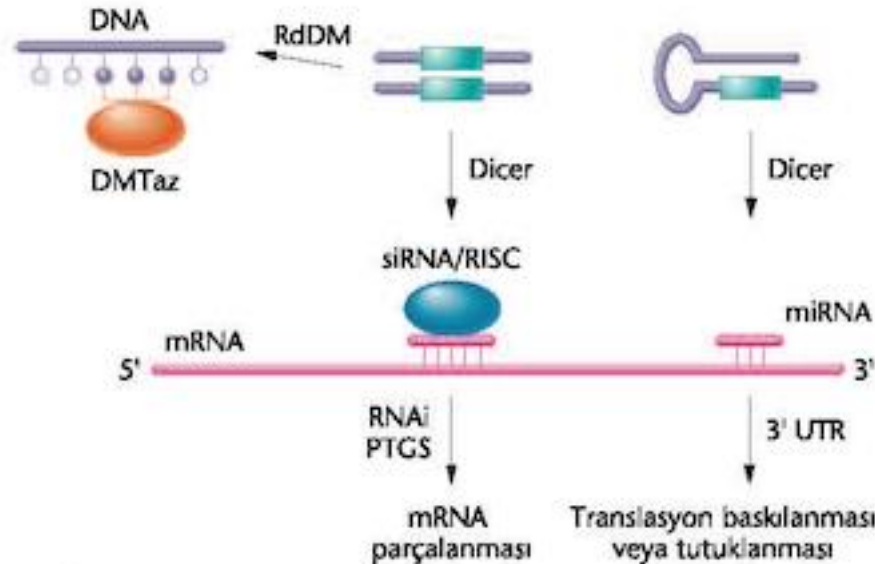


İZLE



RNA tarafından yönlendirilen DNA metilasyonu (RdDM)

- Dicer tarafından işlenen küçük RNA'lar, DNA metil transferaz (DMTaz) ile birleşerek promotor bölgesindeki sitozin bazlarını metiller ve geni sessizleştirir.



İZLE



RNA sessizleştirmesinin önemi

- RNAi, virüslerin istilasına karşı hücreyel savunmada ve transpozonların sessizleştirilmesinde önemli rol oynar.
- Bu diziler ayrıca gelişimin kontrolünde de görev alır.

İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli splayların regölasyonu için bir model

- *Drosophila*'da cinsiyeti, X kromozomlarının otozomal kromozomlara oranı belirler.
- Oran 0.5 (1X:2A) ise erkek bireyler meydana gelir (hatta Y kromozomu olmasa bile).
- Eğer oran 1.0 (2X:2A) ise dişi bireyler oluşur.
- Ara değerlerde ise (2X:3A) ara cinsiyetli (intersex) bireyler oluşur.

İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli sıplaysın regülasyonu için bir model

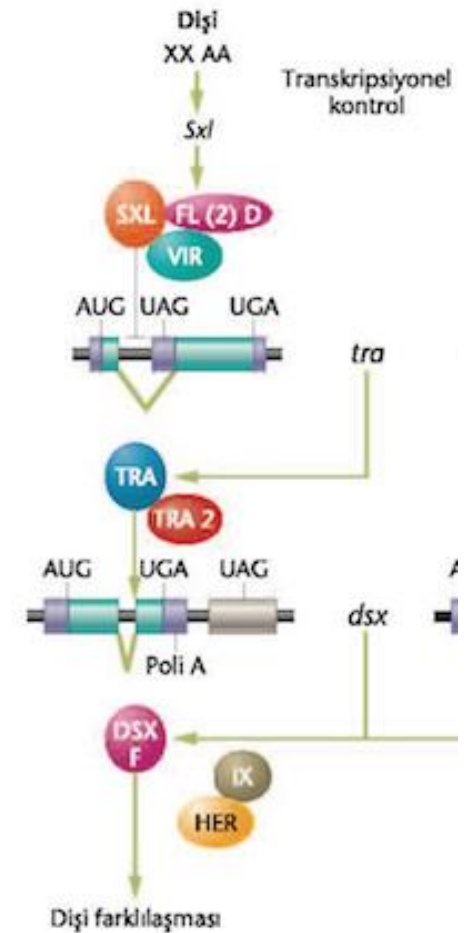
- Kromozom oranları, sıplays olayları zincirini başlatan az sayıdaki gen tarafından ayarlanır.
- Bu gelişim yolunda üç temel gen rol oynamaktadır:
 - Sex-lethal (Sxl)
 - Transformer (tra)
 - Doublesex (dsx)

İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli sıplaysın regülasyonu için bir model

- Dişilerde X:A oranı, Sxl geninin transkripsiyonunu aktive eder.
- Sxl geninin ürünü olan SXL proteini ise tra genine ait öncül mRNA'ya bağlanır.
- Bu yolla sıplays işleminin dişiyeye özgül olmasını sağlar.

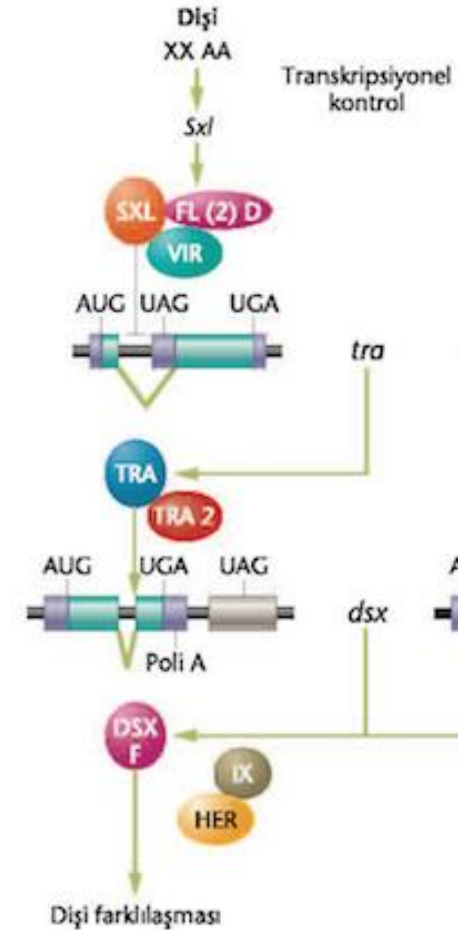


İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli sıplaysın regülasyonu için bir model

- Sentezlenen TRA proteini, TRA-2 proteini ile birlikte dsx öncül mRNA'sına bağlanır.
- Bu bağlanma sonucunda dsx öncül mRNA'sının dişiye özgül bir şekilde sıplays olmasını sağlar.
- Dolayısıyla dişiye özgül sıplays edilen dsx geninden, dişiye özgü DSX-F proteini sentezlenir.

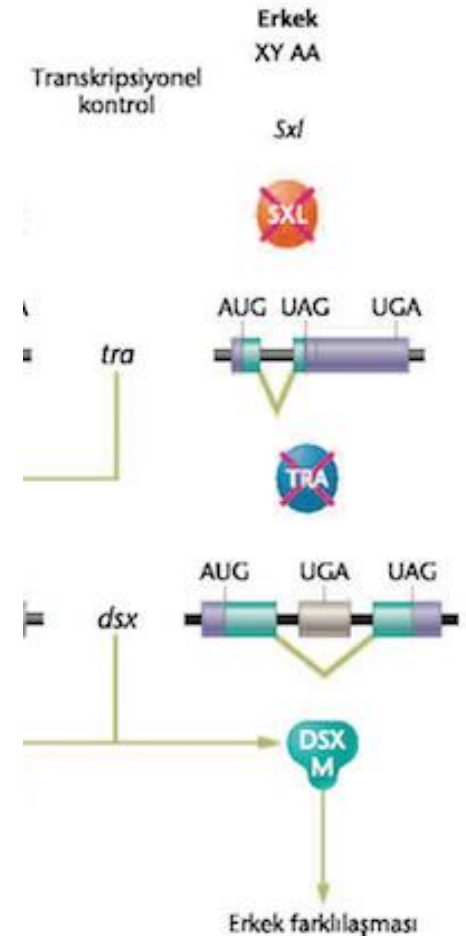


İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli sıplaysın regülasyonu için bir model

- DSX-F proteini, IX proteini ile birlikte hareket ederek erkek cinsiyet oluşum yolunu baskılar.
- Erkeklerde ise X:A oranı SXL'nin aktivitesine neden olmaz.
- Bu durumda tra öncül mRNA'sı erkeğe özgül bir şekilde işlenerek işlevsiz bir TRA proteini oluşturur.

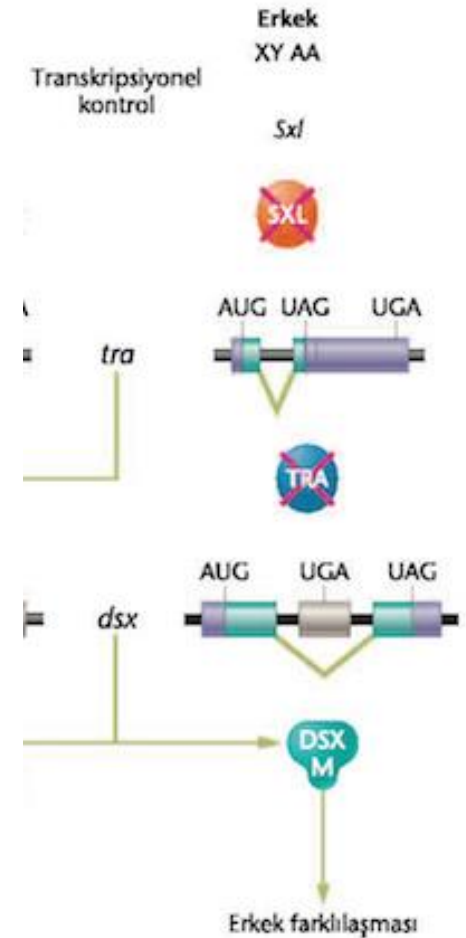


İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli sıplaysın regülasyonu için bir model

- Bunun sonucunda dsx transkripsiyon ürünü de erkeğe özel işlenir.
- Böylelikle erkek cinsel gelişim yolunu aktive eden erkeğe özgü proteinin (DSX-M) sentezi gerçekleşir.



İZLE



Drosophila'da cinsiyetin tayini: Seçenekli sıplaysın reglasyonu için bir model

- Özetle, Sxl geni, dsx RNA ürününün dişiye zgl sıplaysını kontrol ederek cinsiyet gelişim yolunu seçen anahtar gendir.

İZLE



mRNA kararlılığı

- Tüm mRNA moleküllerinin yaşam süreleri oldukça karakteristiktir.
- Sentezlendikten bir süre sonra sitoplazmada parçalanırlar.
- Farklı mRNA moleküllerinin ömürleri de farklıdır.
- Bazıları sentezlendikten sonra birkaç dakika içinde parçalanır.

İZLE



mRNA kararlılığı

- Bazılarının ömrü ise saatler, aylar, hatta yıllarca sürebilir (oositte saklanan mRNA gibi).
- mRNA molekülünün kararlılığı ve buna bağlı olarak yıkım hızı (turnover rate), mRNA'nın nükleotit dizisine özgüdür.

İZLE



Translasyon seviyesinde kontrol

- mRNA kararlılığının diğer bir kontrol mekanizmasıdır.
- Mesajın translasyonu, mRNA'nın kendi kararlılığını kontrol eder.

İZLE



α - ve β - tubulin sentezi

- Translasyon seviyesinde kontrolün en iyi çalışılmış örneğidir.
- Eğer hücre kolçisin adı verilen madde ile muamele edilirse, mikrotubuller hızla bozunur.
- Ortamdaki α - ve β - alt birimlerinin sayısı artar.
- Bu durumda α - ve β - tubulinlerin sentezi belirgin oranda düşer.

İZLE



α - ve β - tubulin sentezi

- Ancak hücreler vinblastin ile muamele edilirse tubulinlerin sentezi artar.
- Aslına bakılırsa vinblastin de mikrotubullerin bozunmasına yol açmaktadır.
- Ancak bu madde, aynı zamanda ortamdaki serbest α - ve β - alt birimlerinin çökmesine neden olarak konsantrasyonlarını azaltmaktadır.

İZLE



α - ve β - tubulin sentezi

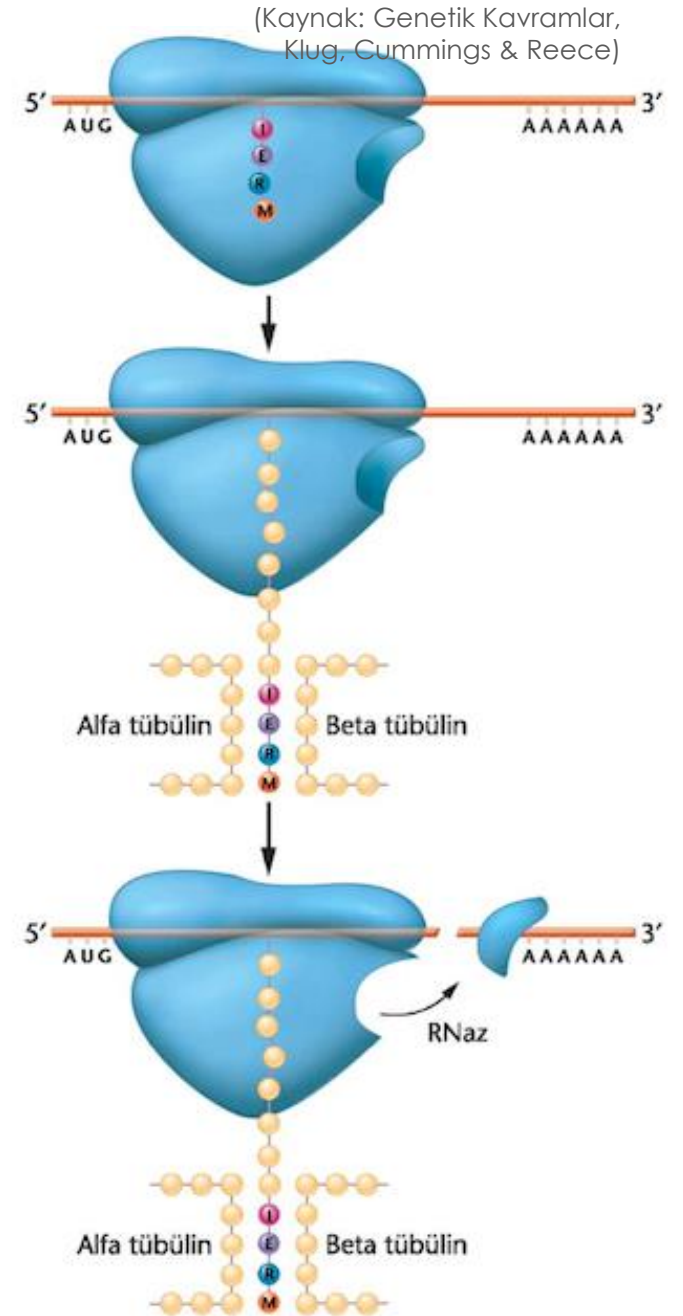
- Düşük konsantrasyonda tubulinlerin sentezi hızlanırken, yüksek konsantrasyonda sentez engellenir.
- Bu tip translasyonel regülasyon, otoregülasyon adı verilir.

İZLE



α - ve β - tubulin sentezi

- Yandaki şekilde, ortamda yoğunluğu artan α - ve β -tubulin alt birimleri, RNAaz'ı harekete geçirerek tubulin mRNA'sının parçalanmasını ve tubulin biyosentezinin durdurulmasını sağlamaktadır.

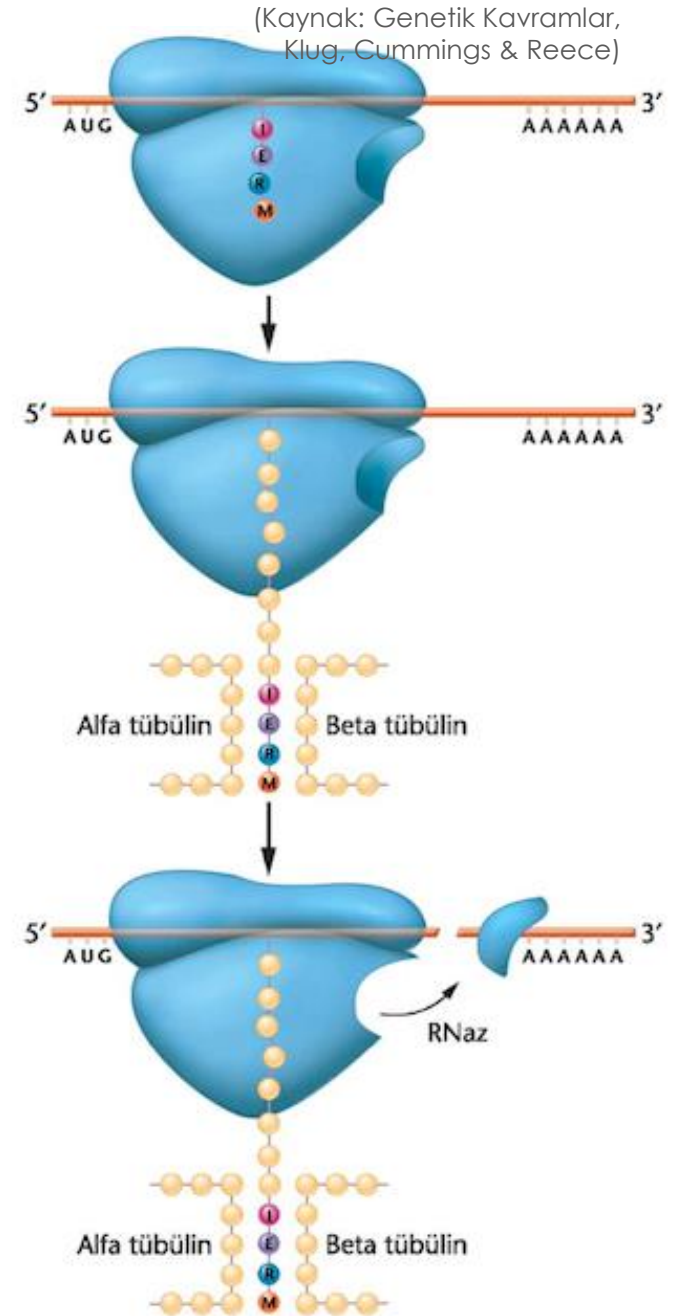


İZLE



α - ve β - tubulin sentezi

- Ortamda serbest α - ve β - altbirim bulunmadığında RNAaz etkin değildir ve tubulin sentezi devam eder.



İZLE

