

MOLEKÜLER BİYOLOJİ

DOÇ. DR. MEHMET KARACA

GEN İFADESİNİN DÜZENLENMESİ

DNA Düzeyinde Gen Ekspresyonu Düzenlemesi

Transkripsiyonel Düzeyde Gen Ekspresyonu Düzenlenmesi

Post-transkripsiyonel Düzeyde Gen Ekspresyonu Düzenlenmesi

Translasyonel Düzeyde Gen Ekspresyonu Düzenlenmesi

Post-translasyonel Düzeyde Gen Ekspresyonu Düzenlenmesi

Gen Ekspresyonunun DNA Düzeyinde Düzenlenmesi: kromatinin yeniden modellenmesi

1. DNA'nın topolojik yapısındaki değişiklikler
2. DNA metilasyonu
3. Histon modifikasyonları
4. Nüklezomun değişmesi
5. Diğerleri:
 - (1) Gen delesyonu
 - (2) Gen duplikasyonu
 - (3) DNA'nın yeniden düzenlenmesi
 - (4) Gen amplikasyonu
 - (5) Kimyasal aktivasyonlar
 - (6) Çevresel aktivasyonlar

Transkripsiyonel Düzeyinde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

1. Cis-acting element: DNA fiziki yapısı. DNA sekansının gen bölgesine yakın kısmı olup genin düzenli ifadesi için gereklidir.

(1) Promotör:

a) Öz (Core) Promotör:

b) Promotörün Yakınsal Elementleri:

c) Promotörün Uzaksal Elementleri:

UPE: Promotör Üst Elementleri (upstream promoter elements)

UAS: Üst Aktivasyon Sekansları (upstream activating sequence).

Transkripsiyonel Düzeyinde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

- (2) Terminatör: Bir genin kodlayan bölgesinin son kısımlarında bulunan ve transkripsiyonun sonlandırılması (RNA polimeraz enzimi) için dur (stop) sinyali içeren DNA sekansı.
- (3) Enhanser: Bir genin transkripsiyon düzeyini artırıcı özelliğe sahip DNA sekansıdır.
- (4) Silenser: Bir genin transkripsiyon düzeyini azaltıcı, susturucu özelliğe sahip DNA sekansıdır.
- 5) İnsulatör: Bir genin promotör ve enhanser kısımları arasında bulunan DNA sekansı olup varlığı gen ifadesinin enhanser tarafından artırılmasını azaltılması yönündedir.

Transkripsiyonel Düzeyde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

2. Trans-acting elementler cis-acting elementlere bağlanan ve genellikle proteinlerden ve RNA moleküllerinden oluşan faktörlerdir. Bu faktörler gen ekspresyonlarını düzenlerler.

(a) RNA polimerazlar

(b) Transkripsiyon Faktörleri (Transcription factors, TF)

1) Temel ve Genel Transkripsiyon Faktörleri

2) Spesifik Transkripsiyon Faktörleri

(c) Trans-acting Faktörleri

1) DNA Bağlanma Domeinleri (DBD)

2) Transkripsiyon Aktivasyon Domeinleri (TAD)

Transkripsiyonel Düzeyinde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

DNA Bağlanma Domeinleri (DBD)

- a. Heliks-Dön-Heliks (HTH)
- b. Homeodomein
- c. Lösin Fermuarları
- d. Çinko Parmak
- f. Bromodomein
- g. Kromodomein

Transkripsiyon Aktivasyon Domeinleri

- a) Asitli domeinler
- b) Glutamine-zengin domeinleri
- c) Prolince-zengin domeinleri

Post-transkripsiyonel Düzeyinde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

1. mRNA işlenmesinin düzenlenmesi

Ekson karılımı (shuffling)

Alternatif gen siplising (alterantive splicing)

2. mRNA düzenlenmesi (edisyonu)

3. mRNA ömrü (turnover)

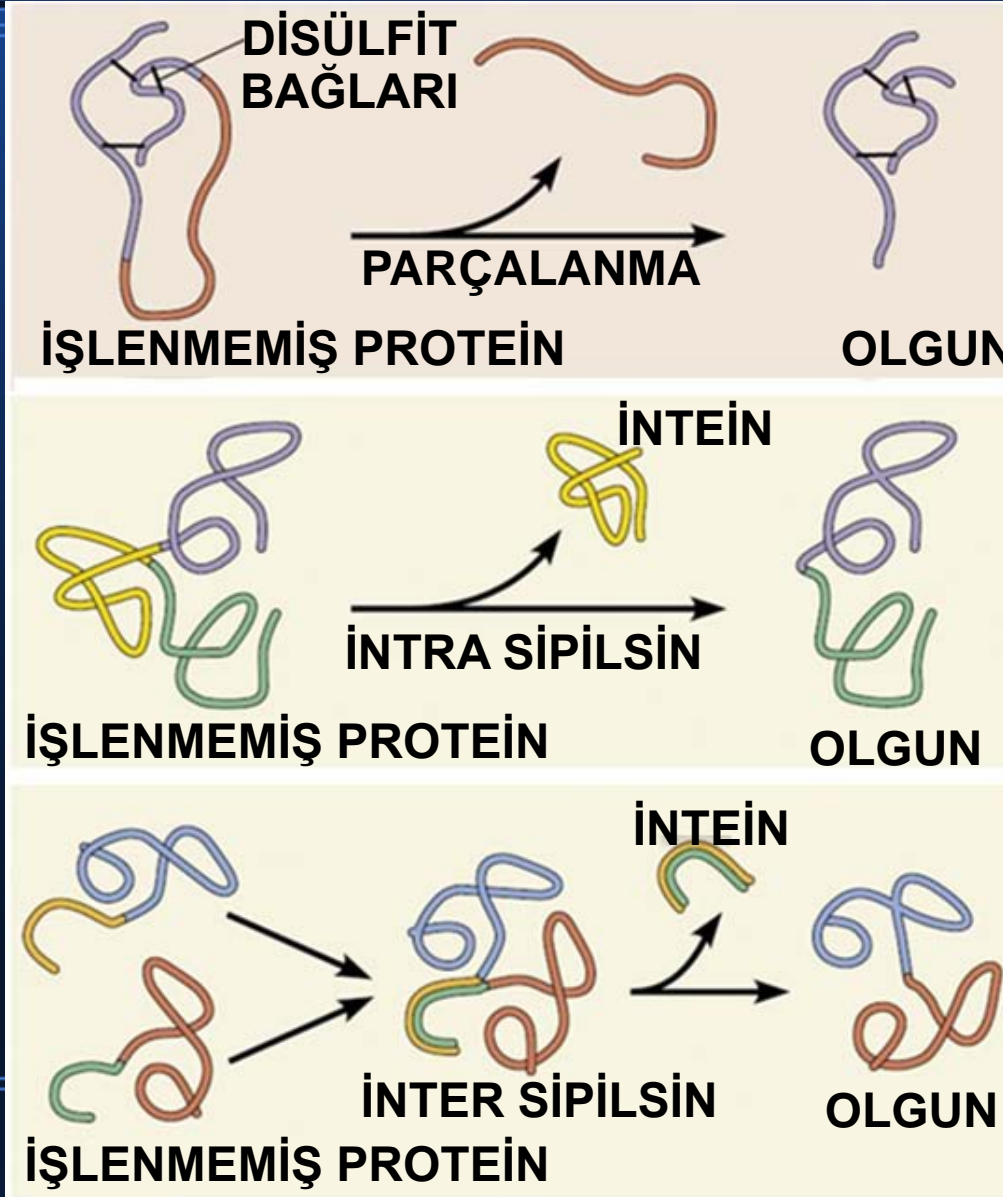
mRNA transferinin kontrolü (transportation control)

RNA interferens (RNAi): miRNA, siRNA

Translasyonel ve Post-translasyonel Düzenlemeler

1. Translasyonun kontrolü: mRNA'nın ribozomlara bağlanmasının önlenmesi
2. Protein işlenmesinin düzenlenmesi
3. Proteinin stabilizesinin düzenlenmesi

POSTTRANSLASYONEL DÜZENLEMELER



Translasyonel ve Post-translasyonel Düzenlemeler

Proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonu:

Translasyon sonunda yeni sentezlenen polipeptit zinciri, biyolojik olarak aktif forma dönüşmek için posttranslasyonel modifikasyonlar denen değişikliklere uğrar.

Zimogenler

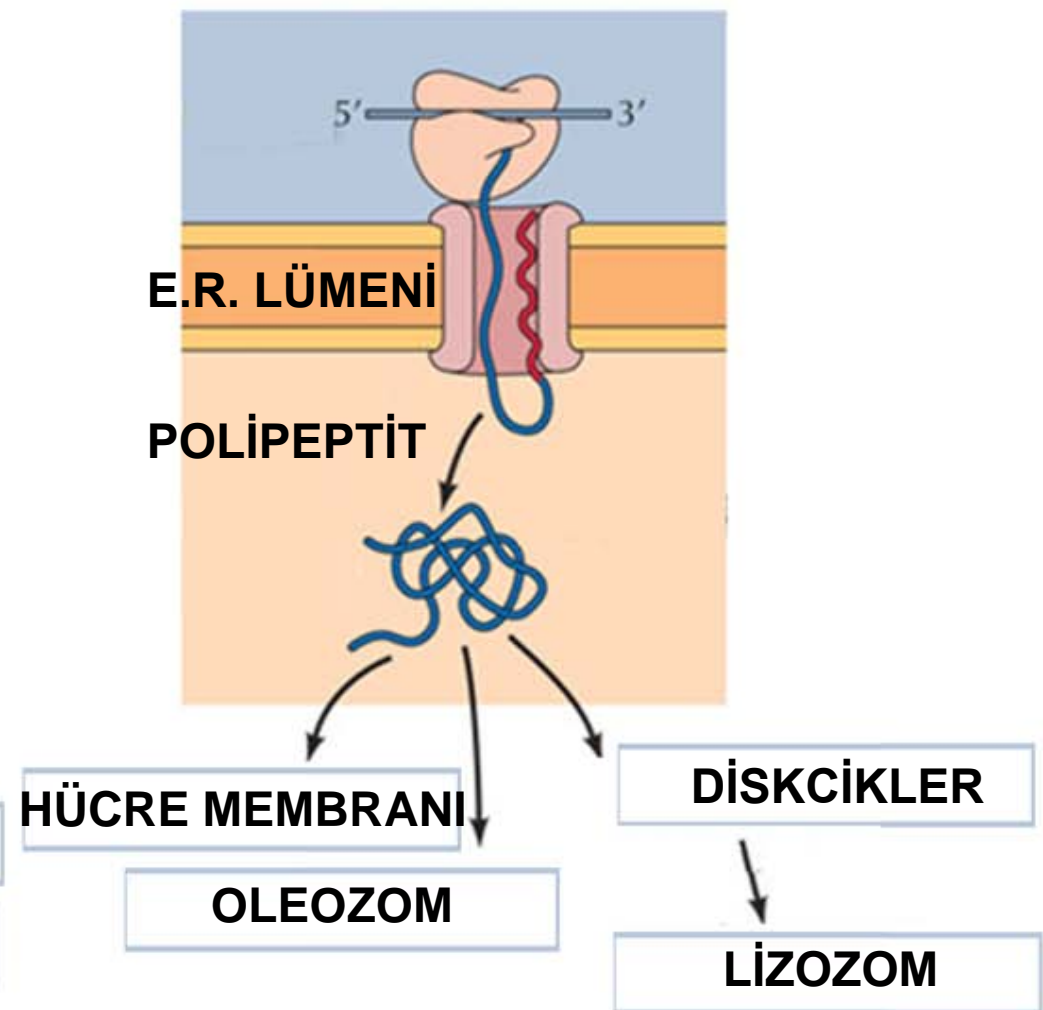
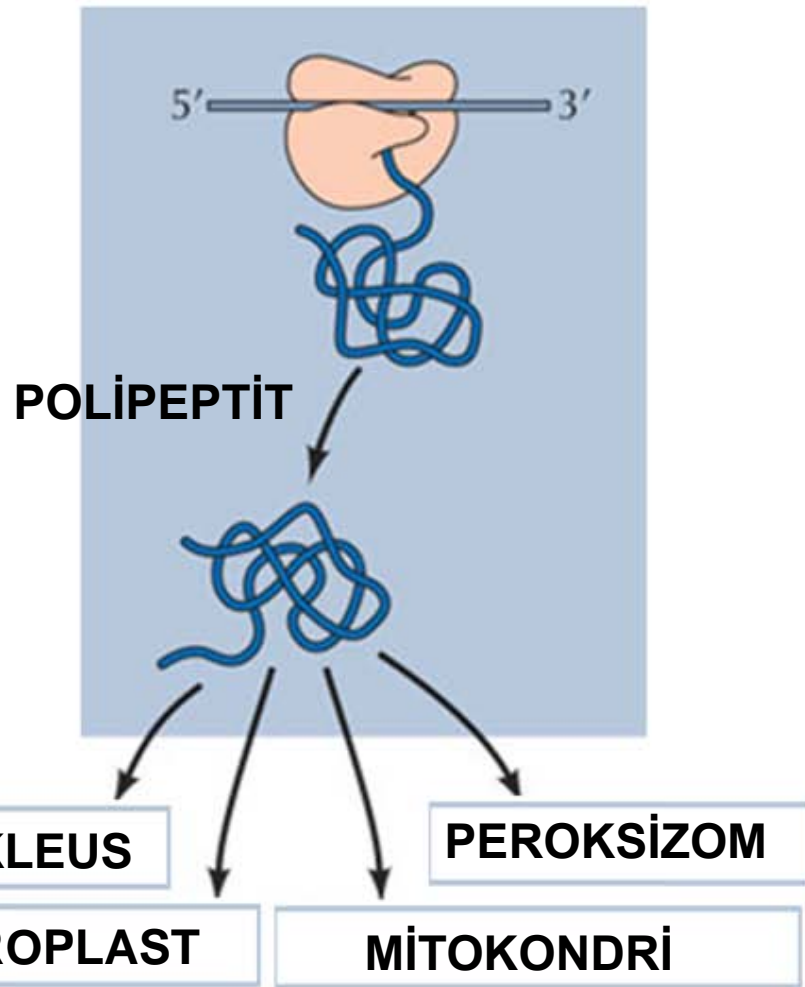
Şaporonlar

Translasyonel ve Post-translasyonel Düzenlemeler

Başlıca posttranslasyonel modifikasyonları:

- 1) Amino-terminal ve karboksil-terminal modifikasyonlar**
- 2) Sinyal dizisinin çıkarılması**
- 3) Bazı özel amino asitlerin modifikasyonu**
- 4) Karbonhidrat yan zincirlerin bağlanması**
- 5) İzoprenil grupların eklenmesi**
- 6) Prostetik grupların eklenmesi**
- 7) Proteolitik işlem**
- 8) Disülfid çapraz bağlarının oluşması**

SİNYAL PEPTİTLER



PROTO-ONKOGEN VE ONKOGEN

Proto-onkogen: mutasyon veya çok fazla aktifleşmesi durumunda onkogene dönüşebilen normal gen.

Onkogen: Protein kodlayan gen olup düzensizliği durumunda kanser başlangıcı ve kanser gelişimi gözlenir.

Tümör baskılayıcı gen (antionkogen): Bir hücrenin kanser olmasını önleyen gene.

DNA Düzeyinde Düzenlemeler

Ökaryotlarda genom paketlenmesi ile tüm genomik yapı nukleus içerisine yerleşmiştir. Bununla birlikte, bu paketlenme DNA'nın replikasyon, transkripsiyon, DNA onarımı ve rekombinasyon gibi biyolojik mekanizmalar için gerekli birçok düzenleyici proteinlere ulaşmasını engeller.

(prokaryotik genler: ON, Ökaryotik Genler OFF)

Nükleozomal kromatinin baskılayıcı yapısı iki yolla aşılr:

1. Histon kuyruğunun asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ubikitinasyon gibi kovalent modifikasyonları,
2. ATP enerjisini kullanan enzimlerle nükleozomal yapısının değiştirilmesi (Örn. Kromatin remodeling kompleks).

DNA DÜZEYİNDE DÜZENLEMELER

Ökaryotik kromatin oldukça dinamik bir makromoleküler yapı içerir.

Kor histon yapısında posttranskripsiyonel modifikasyonlara neden olan kromatin remodeling komplekslerle nükleozom yapısının “kompozisyon yapısında” ya da “lokalizasyonunda” bir dizi değişiklikler olabilir.

Bu değişikliklerle “nükleozomun uzaklaştırılması” ve “yeniden düzenlenmesi” söz konusu olabilir.

HİSTON KODU HİPOTEZİ

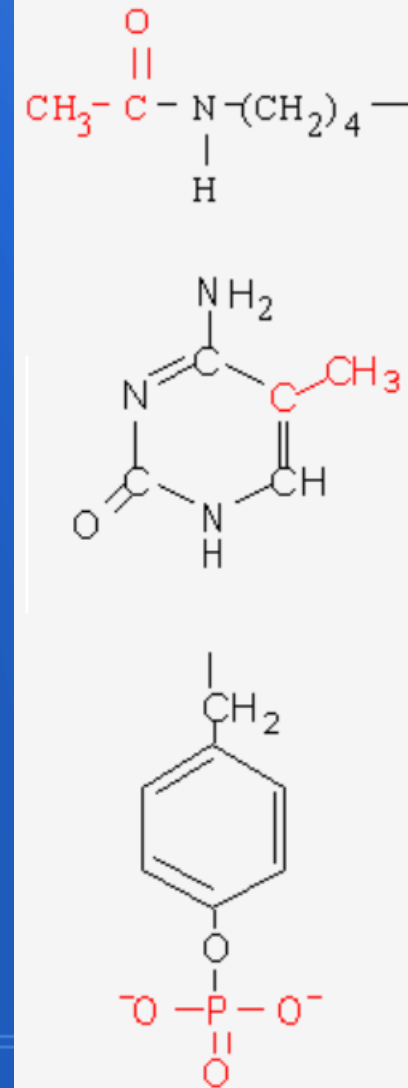
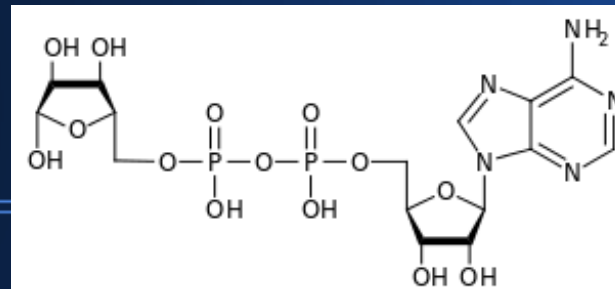
Histon kuyruğunda görülen posttranslasyonel modifikasyonlar spesifik proteinler için bağlanma bölgeleri sağlar. Modifikasyonların kombinasyonu sonucu bir kod (histon kodu) oluşturduğu öne sürülmüştür.

Histonların N-terminal kuyruklarında görülen modifikasyonlar kromatin fonksiyonunu değiştirir.

Histon modifikasyonları gen düzenlenmesi, DNA tamiri ve kromozom kondensasyonu (mitoz) gibi çeşitli biyolojik mekanizmalarda önemlidir.

HİSTON KUYRUKLARINDA GÖRÜLEN MODİFİKASYONLAR

1. Metilasyon
2. Asetilasyon
3. Fosforilasyon
4. Ubikitinasyon
5. SUMOasyon (**Small Ubiquitin-like Modifier**)
6. Sitrülinasyon (Citrulline \Leftarrow Ornitin)
7. ADP-ribozilasyon



HİSTON KUYRUKLARINDA GÖRÜLEN MODİFİKASYONLAR

Asetilasyon:

Aktif transkripsiyon

Telomerlerin sessizleşmesi

DNA tamiri

Ubikitinasyon

Transkripsiyonel aktivasyon

Metilasyon

İnaktif transkripsiyon

Fosforilasyon

DNA tamiri

Mitoz

Sumoilasyon

Transkripsiyonel baskılama

HİSTON MODİFİKASYONLARINDA ENZİMLER

N-terminal kuyruklarda lizinler asetil ya da metil grupları tarafından modifiye edilir.

Lizinelere asetil grubu **HİSTON ASETİL TRANSFERAZ (HAT)** ile eklenir.

Asetil gruplarını uzaklaştırmak için bir dizi **HİSTON DEASETİLAZ (HDAC)** enzimi kullanılır.

HİSTON ASETİLYASYONU

Lisinlerin asetilyasyonu kromatin yapısının gevşemesine neden olur. Çünkü asetil gruplarının lisine eklenmesi bu amino asitlerin pozitif yükünü uzaklaştırır ve bunun sonucunda kuyruğun nukleozoma bağlanma eğilimi azalır.

Böylece asetillenmiş nukleozomlar transkripsiyonel olarak aktif kromozom bölgeleri ile ilişkilidir.

Tersine, deasetillenmiş nukleozomlar transkripsiyonel olarak baskılanmış kromatin ile ilişkilidir.

HİSTON METİLYASYONU

Histonda lizin ve arginin grupları metillenir. Arginin metilasyonu gen aktivasyonunda rol alır. Histon kuyruklarında lizin gruplarının metilasyonu yoğun kromatin yapısı açısından önemlidir. Bu nedenle heterokromatin ve ökromatin bölgelerin sürdürülmesine olanak sağlar.

Histon lizin metilasyonu ökromatin içerisinde gen transkripsiyonunun aktivasyonu ve baskılanmasında düzenleyici rol oynar. Genel olarak H3'ün Lizin-4, -36 ve -79'daki metilasyonu ökromatin ve transkripsiyonel aktivasyon ile ilişkilidir. H3'de Lizin-9 ve -27 ile H4'de Lizin-20'nin metilasyonu heterokromatin ve transkripsiyonel baskılanma ile ilişkilidir.

HİSTON FOSFORİLASYONU

Negatif yüklü fosfat gruplarının histon kuyruğuna eklenmesi, histonun DNA'ya bağlanmasını azaltır.

Örneğin, H3'ün Serin 10'un fosforilasyonu gen aktivasyonu ile ilişkilidir.

Serin amino asitleri fosfat molekülleri ile modifiye olur. Histon H3'ün N-terminal kuyruğunun fosforilasyonu özellikle mitotoik kromozmların sıkıca paketlenmiş kromatinlerinde görülür.

HİSTON UBİKİTİNASYONU

H2A K199'un ubikitinasyonu transkripsiyonel baskılama, H2B'nin ubikitnasyonu transkripsiyonel aktivasyona neden olur.

Histonların modifikasyonu ile oluşan sinyaller küçük protein modülleri tarafından tanınır. Bu modüller daha sonra KOD OKUYUCU KOMPLEKS (CODE READER COMPLEX)'in bir kısmı olarak diğer modüllerle birleşir.

Oluşan bu kompleks kromatin üzerinde özel bir işaret kombinasyonu oluşturarak doğru zamanda uygun biyolojik fonksiyonu gerçekleştirecek protein komplekslerini buraya çeker.

BROMODOMAINLER & KROMODOMAINLER

Kromodomein: 40-50 aminoasit uzunluğunda protein yapısı olup genellikle yeniden modellenen ve değişen kromatinlerle etkileşen proteinlerdeki yapılardır. Transkripsiyonel susturmada önemlidir.

Bromodomein: yaklaşık olarak 110 aminoasitten oluşan protein domeini olup mono asitlenmiş lizin amino asitlerini içeren histonları tanır.

Bromodomein ve kromodomein içeren proteinler heterokromatin oluşumu ve transkripsiyonunu düzenleyen proteinlerdir.

BROMODOMAINLER & KROMODOMAINLER

Örneğin TFIIID, bromodomein içerir. Bu domain transkripsiyon mekanizmasını nükleozom asetilasyon bölgesine yönlendirir.

Böylece asetillenmiş nükleozom ile ilişkili olarak DNA'nın transkripsiyonel aktivitesini arttırır.

Benzer şekilde, nükleozom remodeling kompleksler de yoğun olarak bromodomein içerir.

BROMODOMAINLER & KROMODOMAINLER

Bromodomein içeren proteinler asetillenmiş histonla etkileşir. Bromodomein içeren çok sayıda protein histona özgü asetil transferazlarla (HAT) ilişkilidir. Bu kompleksler asetillenmiş bölgeleri düzenleyerek asetillenmiş kromatin yapısının sürdürülmesini kolaylaştırır.

Kromodomein içeren proteinler metillenmiş histon kuyrukları ile etkileşir. Kromadomein içeren proteinlerin histon kuyruğuna özgü metilasyon yapan enzimlerle işbirliği, metillenmiş nükleozom yapısının devamını sağlar.

HİSTON VARYANTLARI

Histonlar korunmuş ökaryotik proteinlerdir. Bu nedenle nükleozomları oluşturan proteinler tüm ökaryotlarda büyük ölçüde benzerdir. Ancak ökaryotik hücrelerde çeşitli histon varyantları bulunabilir. Bu yapılar standart histonlarla yer değiştirerek alternatif nükleozomlar oluşturur.

Bu nükleozomlar kromozomlarda belli bölgeler oluşturur ya da nükleozomlara spesifik fonksiyonlar sağlarlar.

Birçok histon hücre döngüsünün S fazında sentezlenir ve replikasyon çatalının hemen arkasındaki sentezlenen DNA helikslerinde nükleozomlara girer. Buna karşın, bir çok histon varyantı interfaz boyunca sentezlenir.

HİSTON VARYANTLARI

Histon varyantları sadece nükleozomların varyasyonlarına yardımcı olmaz, aynı zamanda hücrenin posttranslasyonel modifikasyonlarının gelişmesine de olanak sağlar.

H1, H2A , H3 ailelerinin çok sayıda, H2B ailesinin ise az sayıda histon varyantı bulunur.

H4'ün günümüze kadar çok as varyantı belirlenmiştir.

HİSTON VARYANTLARI

Histon varyantları nükleozomun yapısını değiştirerek kromatinde ve DNA'da değişiklik yaparlar.

Histon varyantları çeşitli hücreSEL fonksiyonlarda rol alır:

Transkripsiyonel aktivasyon

Gen sessizleştirme

DNA'nın hasarlara hassas hale gelmesi

Sentromerlerin oluşturulması

HİSTON VARYANTLARI & NÜKLEOZOM FONKSİYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Örneğin, H2Az, H2A'nın tüm ökaryotik hücrelere dağılmış bir varyantıdır ve DNA'nın transkripsiyona alınan bölgeleri ile ilişkilidir.

H2Az histon varyantı nükleozomun baskılayıcı kromatin yapısı oluşumunu engeller ve transkripsiyona daha uygun, kolaylıkla ulaşılabilen bir kromatin yapısı şekillendirir.

HİSTON MODİFİKASYONLARININ FONKSİYONLARI

1. Global Kromatin Ortamlarının Oluşturulması:

Ökromatin (transkripsiyona ulaşabilir)

Heterokromatin (transkripsiyona ulaşamaz)

2. DNA temelli Biyolojik Görevlerin Düzenlenmesi:

Transkripsiyon

DNA tamiri

DNA replikasyonu

vb. fonksiyonların gerçekleşmesi için kromatin
çözülmesine yardımcı olur