

8 GEN EKSPRESYONUNUN DÜZENLENMESİ

Bir organizmanın sahip olduğu genlerin tamamı organizmanın hayatı boyunca sürekli olarak ve aynı miktarlarda anlatılmaz (ekspresyonu yapılmaz). Genlerden bazıları ürünlerine sürekli olarak ihtiyaç duyulan genlerdir ve sürekli olarak ekspresyonları yapılır. Bu tip genlere **yapısal genler** denmektedir. Diğer bazı genler organizmaların iç ve dış çevresinden gelen sinyallere uygun olarak ekspresyonları yapılır veya yapılmaz; ekspresyonları yapıyorsa yine bu sinyallere uygun olarak ne kadar yapılacağı da belirlenir. Bu tip genlere de **düzenlenebilir genler** denmektedir. Yine diğer bir grup gen, özellikle gelişmiş ökaryotlarda bireysel gelişme basamaklarının belli zamanlarında ifade edilmektedir (ekspresyonları yapılmaktadır). Bu tip genlerin ekspresyon modelleri gelişme genetiği alanının konusu olup burada söz edilmeyecektir. Bu bölümde, prokaryot ve ökaryotlarda düzenlenebilir genlerin düzenleniş mekanizmaları, bazı örnek modeller üzerinden anlatılacaktır.

8.1 Bakterilerde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

Organizmaların yaşadığı çevrelerdeki bütün şartlar sabit değildir. Değişen çevresel şartlara uyum sağlayarak farklı çevrelerde hayatsal faaliyetlerini sürdürebilirler. Şartlar değiştiğinde yeni şartlarda gerekli olan proteinleri kodlayan genlerin aktivitelerini ayarlarlar. Bu tarz, yani değişen ortam şartlarına göre genlerin aktivitelerinin ayarlanması mikroorganizmalar arasında daha yaygındır.

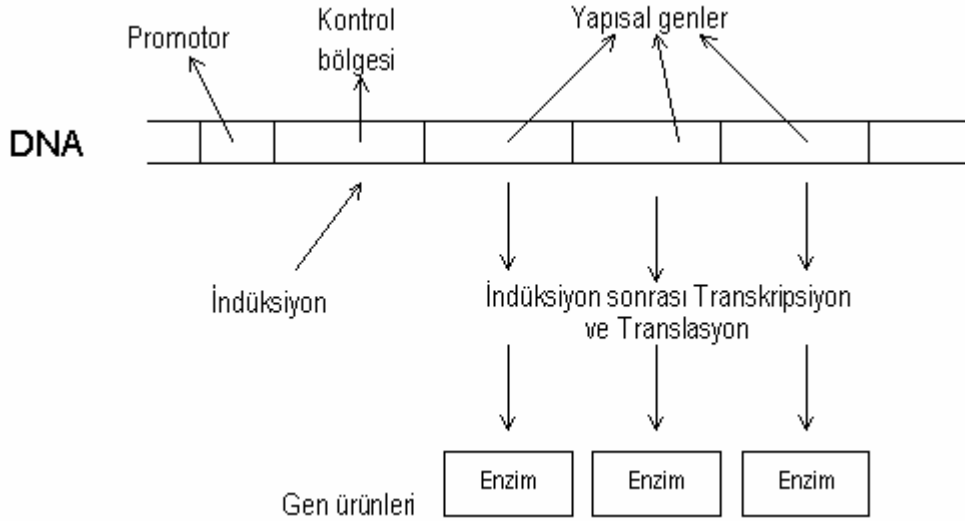
Prokaryotlarda, sentezlenecek gen ürünlerinin hangileri olacağı, gen ekspresyonunu (gen anlatımını) kontrol eden düzenleyici mekanizmalar tarafından belirlenir. Bir hücre veya organizmanın, ihtiyaca göre ekspresyonları kontrol edilen genleri **düzenlenebilir genler** olarak adlandırılır. Düzenlenebilir genlerin ürünleri organizmaya, spesifik şartlar mevcut olduğunda gereklidir. Ancak diğer bir grup gen ürünü hücrede temel hayatsal faaliyetlerin yürütülmesi için gerekli olup gelişmekte olan hücrelerde bu genler daima aktiftir (ekspresyonları gerçekleştirilir). Bu tip genlere **konstitutif (yapısal) genler** denir.

8.1.1 *E.coli* 'de laktoz genlerinin ekspresyonunun düzenlenişi

Ortama bir madde eklendiğinde ekspresyonu (anlatımı) başlatılan genler **indüklenebilir genler** olarak adlandırılır. Bir genin indüksiyonuna neden olan düzenleyici madde **indüser (indükleyici)** olarak adlandırılır. İndüserlerin de dahil olduğu düzenlenebilir genlerin kontrolünde rol alan küçük molekül grubuna **effektörler** denir, yani indüserler effektörler olarak adlandırılan bir molekül grubuna dahildir. Effektörler indükleyici veya baskılayıcı (represör) olarak iş görürler.

Şekil 8.1'de indüklenebilir bir gen bölgesi görülmektedir. Bu DNA bölgesinde indüklenebilir genler vardır. Bu DNA segmentinde promotor bölgesiyle indüklenebilir genler arasında bir kontrol bölgesi vardır. Düzenleme ile ilgili olaylar bu kontrol bölgesinde gerçekleşir. Kontrol bölgesine bağlı durumda bir protein (baskılayıcı protein)

varsa ekspresyon gerçekleşmez. Ortamda indükleyici varsa, baskılayıcı proteinle etkileşir ve kontrol bölgesinden ayrılmasını sağlar. Baskılayıcı protein kontrol bölgesinden ayrıldığında RNA polimeraz promotora bağlanır, transkripsiyon ve translasyon yani ekspresyon gerçekleşir.



Şekil 8.1: İndüklenebilir bir gen bölgesinin organizasyonu

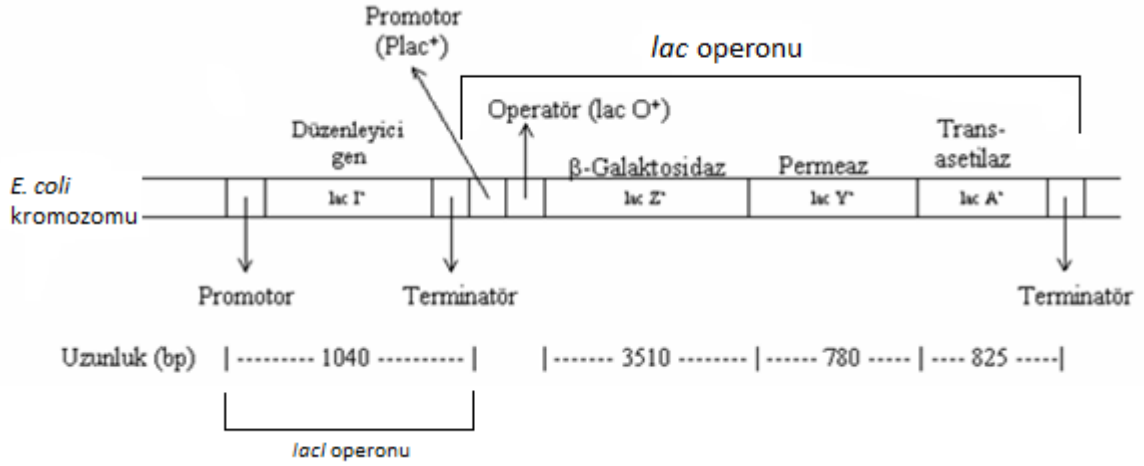
E. coli hücreleri temel mineralleri ve glukoz gibi bir karbon kaynağını içeren besiyerine konduğunda bütün hücresel yapıtaşlarını sentezleyebilirler. Enerji ihtiyacı da glukozun konstitüif olarak sentezlenen enzimler tarafından yıkılması ile sağlanır. Eğer glukoz yerine laktoz gibi diğer bir şeker ortama konulursa bu şekerin metabolizasyonu için (glukoz+galaktoza dönüştürülmesi için) gerekli olan birkaç enzim hızla sentezlenir. Dolayısıyla bu şekerin varlığı, bu enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu indükler. Aynı metabolik yolda görev alan enzimleri kodlayan bazı genlerin ekspresyonunun birlikte düzenlendiği bilinmektedir, bu olay **koordineli indüksiyon** olarak adlandırılır.

Laktoz ortama konduğunda (glukoz yok!) üç enzimin koordineli olarak indüklendiği belirlenmiştir. β -galatosisidaz, laktoz permeaz ve transasetilaz. β -galaktosisidaz *lacZ* geni tarafından kodlanır ve laktozu glukoz ve galaktoza parçalar. Ayrıca laktozun allolaktoz formuna dönüşümünü sağlar. Laktoz permeaz *lacY* geni tarafından kodlanır ve hücre zarından laktozun geçişini sağlar. *lacA* tarafından kodlanan transasetilaz enziminin laktoz metabolizmasındaki rolü tam olarak anlaşılabilmiş değildir.

Laktoz metabolizması enzimlerini kodlayan genlerin ekspresyonunun düzenlenmesi üzerine çalışmalar Jacob ve Monod tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu genleri taşıyan DNA segmenti, düzenleyici bölge ve yapısal gen bölgelerinden meydana gelmiştir. Yapısal gen bölgesinde *lacZ*⁺, *lacY*⁺ ve *lacA*⁺ genleri yer alır. *lacZ*⁺ geninin yukarısında düzenleyici bölge bulunur (Şekil 8.2). Düzenleyici bölgenin başlangıcında bir promotor bölgesi (*P_{lac}*) vardır. Promotor bölgesi ile yapısal gen bölgesi arasında bir operatör bölge (*lacO*⁺) yer alır. Laktoz metabolizması enzimlerinin transkripsiyonunda rol alan, yapısal genler, promotor ve operatör bölgeleri transkripsiyon birimini oluşturur. Bir transkripsiyon birimi operon olarak adlandırılır. Yani *bir veya bir grup genin*

ekspresyonundan sorumlu yapısal gen, promotor ve operatör bölgelerini içeren DNA bölgesi **operon** olarak adlandırılır.

Bakteri hücresinde laktoz bulunmadığında (ortamda yok demektir), laktoz operonunun hemen yukarısında yer alan bir operonun *lacI*⁺ yapısal geni tarafından kodlanan ve baskılayıcı protein denilen bir protein *lacO*⁺ bölgesine bağlanır (Şekil 8.2). Baskılayıcı protein operatöre bağlı iken RNA polimeraz promotora bağlanamaz ve dolayısıyla yapısal genlerin transkripsiyonu engellenmiş olur.



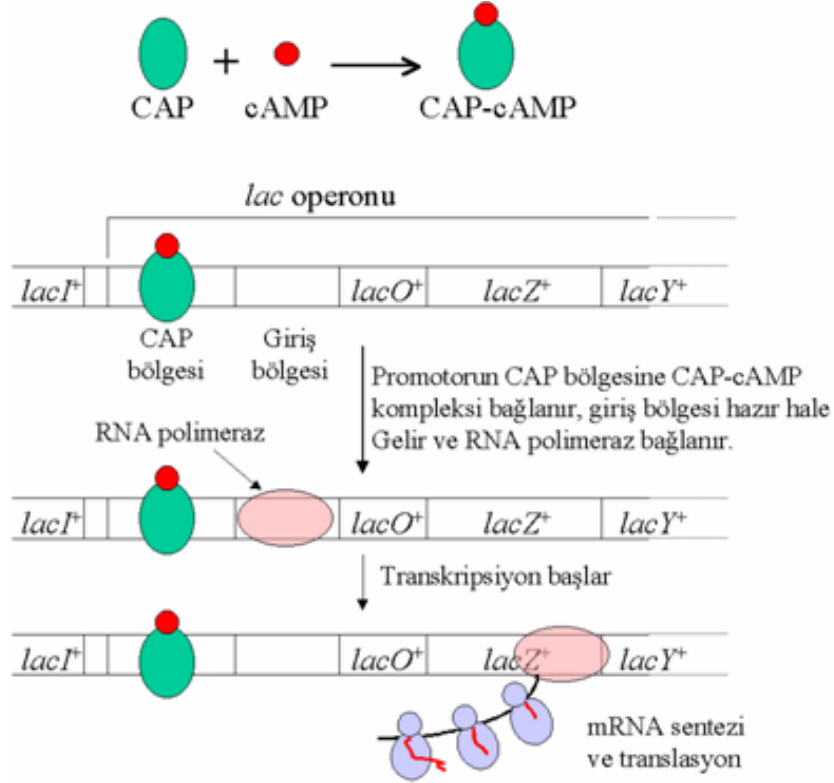
Şekil 8.2: *E. coli lac* genlerinin ve kontrol elementlerinin organizasyonu.

Ortama laktoz verildiğinde permeaz tarafından hücreye alınır. Hücreye alınan bu laktozun az bir kısmı hücrede düşük seviyelerde bulunan β -galaktosidaz tarafından allolaktoza dönüştürülür. Allolaktoz operatörde bağlı bulunan baskılayıcı proteine bağlanır. Bu bağlanma sonucu baskılayıcı proteinin konformasyonu değişir ve operatörden ayrılır. Operatör boş iken RNA polimeraz promotora bağlanır ve yapısal gen bölgesinden mRNA sentezi gerçekleştirilir. Dolayısıyla *lac* operonu genlerinin ekspresyonu allolaktoz (indükleyici) tarafından teşvik edilir, olay **indüksiyon** olarak adlandırılır.

İndükleyici yokluğunda *lac* operonu bir baskılayıcı protein tarafından bloke edildiği için indüksiyon bir negatif kontrol olarak kabul edilir. Jacob ve Monod'un *E. coli lac* operonunun negatif kontrol altında olduğunu söyledikleri modellerini açıkladıktan yıllar sonra, *lac* operonunu aynı zamanda pozitif kontrol altında da olduğu gösterildi. Yani bir düzenleyici sistem, operonun ekspresyonunu başlatır (baskılayıcı protein gibi durdurmaz).

E. coli, bulunduğu ortamdaki en uygun karbon kaynağını tercih eder. Glukoz bu bakteri için en tercih edilen karbon kaynağıdır. Ortamda sözgelimi glukoz+laktoz olduğunda, laktoz mevcudiyetine rağmen *lac* operonu baskılanır. Bu olay **katabolit represyonu** veya **glukoz etkisi** olarak bilinir (Şekil 8.3). Ortamda glukoz yokken (laktoz mevcut) cAMP üretimi uyarılır, cAMP seviyesi yükseldikçe **katabolit gen aktivatör protein (CAP)** denilen bir protein ile cAMP birleşerek bir kompleks oluşturur. CAP-cAMP kompleksi *P_{lac}* bölgesinin içinde yer alan **CAP bağlanma bölgesi** denilen bölgeye bağlanır. Bu bağlanma gerçekleştiğinde, RNA polimerazın *P_{lac}* bölgesine daha güçlü bağlanması sağlanır ve yapısal genlerin ekspresyonu daha hızlı gerçekleştirilir. Ters durumda yani

ortamda glukoz mevcutken (glukoz+laktoz) cAMP seviyesi dolayısıyla CAP-cAMP kompleksi seviyesi düşer, CAP bağlanma bölgesi boşalır. Bu şartlar altında ortamda indükleyici allolaktöz mevcut bile olsa RNA polimeraz promotora çok zayıf olarak bağlanır ve düşük seviyelerde ekspresyon gerçekleşir.



Şekil 8.3: Glukoz duyarlı operonlarda (*lac* operonu gibi) cAMP'nin rolü.

8.1.2 *lac* mutantları

lac operonunda farklı bölgelerde meydana gelen mutasyonlar *lac* genlerinin işleyişini farklı şekillerde etkiler. Bunlardan bazı örnekler şu şekilde özetlenebilir:

lacZ⁻ : Sadece β-galaktosidaz enzim aktivitesi gözlenmez.

lacY⁻ : Sadece laktoz permeaz aktivitesi yoktur.

lacO⁻ : Represör proteinin bağlandığı bölgede meydana gelen bir mutasyondur. Bu mutasyon sonucu operon sürekli olarak çalışır hale gelir yani konstitutif hale gelir (laktoz yokluğu şartlarında durdurulamaz).

lacO^c : Konstitutif operatör mutasyonu. Baskılayıcı protein operatöre bağlanamaz, operon konstitutif olarak çalışır.

lacI⁻ : Represör protein sentezlenemeyeceğinden *lac* operonu sürekli çalışır, yani konstitutiftir.

lacI^s : Süper represör mutasyon. Mutant baskılayıcı protein operatöre kalıcı olarak bağlanır, operon kalıcı olarak baskılanır.

lacA⁻ mutasyonu operonun normal çalışmasını etkilemez.

P_{lac} mutasyonu olması durumunda RNA polimeraz operona bağlanamayacağından operon fonksiyonsuzdur.

E. coli her ne kadar haploit ise de, bazen plazmidler üzerinde veya genomda başka bir yere integre olmuş bir şekilde bir operonun iki kopyası mevcut olabilmektedir. Bu durum **kısmi diploitlik** olarak adlandırılır. Kısmi diploit durumda farklı mutasyon kombinasyonları oluşur. Aşağıda haploit ve kısmi diploit mutasyon kombinasyonlarına bazı örnekler verilmiştir:

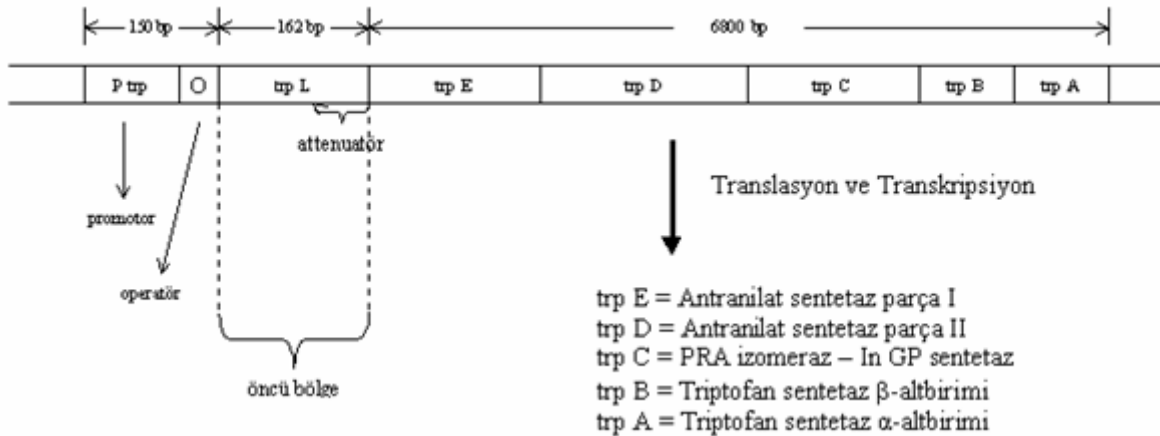
$lacI^- lacO^+ lacZ^+ lacY^+$
 $lacI^+ lacO^- lacZ^+ lacY^+$
 $lacI^+ lacO^+ lacZ^- lacY^+$
 $lacI^+ lacO^+ lacZ^+ lacY^-$

$\frac{lacI^+ lacO^+ lacZ^- lacY^+}{lacI^- lacO^+ lacZ^+ lacY^-}$

8.1.3 *E. coli* 'nin triptofan operonu

Protein sentezi için gerekli bütün amino asitler ortamda mevcut olmayabilir. Böyle bir durumda eksik amino asit metabolik yollarla sentezlenir. Bu tip bir metabolik yolda görevli enzimler operonlar şeklinde organize olmuşlardır. Laktoz operonunun aksine bu tip operonlar, bir amino asit ortamda mevcut olmadığında, transkripsiyona izin verirken ilgili amino asit yeterli seviyede mevcutken, operon baskılanır. Bu tip operonlara **baskılanabilir operonlar** ve olaya **represyon** denir. Baskılanabilir operonlara tipik örnek *E. coli*'nin triptofan operonudur (*trp* operonu).

Triptofan operonunda 5 yapısal gen (*trpA* - *trpE*) vardır. Bu yapısal genler triptofan biyosentez yolunda görev alan enzimleri kodlarlar. Promotor ve operatör bölgeleri sıkı bir şekilde birbirine integre olmuş durumdadır, *trpE* geninin yukarısında yer alır (Şekil 8.4). Promotor-operatör bölgesi ile *trpE* geni arasında öncü bölge denilen bir DNA bölgesi yer alır. Öncü bölgenin nispeten *trpE* genine yakın bölgesi **attenüatör bölge** adını alır ve triptofan operonunun düzenlenişinde önemli rol oynar. Operonun tamamı 7 kb büyüklüğündedir ve beş yapısal geni içeren bir poligenik (polisistronik) mRNA üretilmesini sağlar. Bu mRNA üzerinden gen bölgelerinin her biri proteine dönüştürülür.



Şekil 8.4: *E. coli* triptofan operonunun kontrol bölgeleri ve yapısal genlerinin organizasyonu

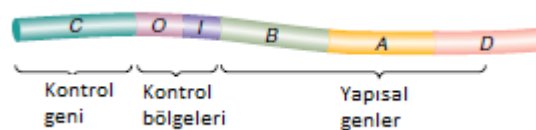
trp operonunun ekspresyonunun kontrolünde iki düzenleme mekanizması rol oynar. Mekanizmalardan biri bir baskılayıcı protein/operatör etkileşimi ile çalışır. Diğeri, bir transkripte (mRNA) yapısal genlerin katılıp katılmayacağına karar vermek esasına göre çalışır.

Operonun uzağında bir DNA bölgesinde yer alan *trpR* geni operonun düzenlenişinde rol alır. Bu genin ürünü **aporepresör protein** adını alır. Ortamda triptofan yoksa veya çok düşük seviyelerde ise aporepresör operatör bölgesine bağlanamaz, RNA polimeraz promotora bağlanır ve yapısal genlerin transkripsiyonu gerçekleştirilir. Eğer ortamda yeterli triptofan varsa aporepresör protein triptofanla birleştikten sonra *trp* operonunun operatör bölgesine bağlanır. Bu durumda yapısal genlerin transkripsiyonu engellenir. Bu olay **represyon** (veya baskılama) olarak adlandırılır. Represyon da bir çeşit negatif düzenleme şeklidir. Represyon yolu ile *trp* operonunun transkripsiyonu 70 kat azaltılabilir.

Triptofan açlığı veya sınırlaması şartlarında ikinci bir düzenleme mekanizması devreye girer. Ağır triptofan açlığı şartlarında *trp* operonu maksimal düzeyde çalıştırılıyorken daha hafif açlık şartlarında maksimal seviyenin altında çalıştırılır. Bu tercih (maksimal ekspresyon veya daha alt düzeyde ekspresyon), operonda oluşturulan transkriptlerin (mRNA'ların) yapısal genleri taşıması veya taşınamaması sağlanarak, gerçekleştirilir. Yapısal genlerin transkripte dahil edilip edilmemesi öncü bölgeden sentezlenecek **öncü polipeptitin** tamamlanıp tamamlanmamasına bağlıdır. Öncü bölge içerisinde yer alan attenüatör bölgede birkaç triptofan kodonu vardır. Ortamda triptofan seviyesi düşükse veya hiç yoksa bu öncü polipeptit tamamlanamaz (triptofan bağlanmadığı için), ve bu şartlar altında yapısal genlerin transkripsiyonu devam eder. Eğer yeterli triptofan mevcutsa öncü polipeptit tamamlanır, tamamlanmış öncü polipeptit mevcutken transkripsiyon öncü bölgede sonlandırılır, yapısal genler mRNA'ya dönüştürülmez. Bu olaya **attenüasyon** denir. Bir hücredeki (*E. coli*) yapısal genleri içeren transkript sayısı ile triptofan miktarı arasında bir ters orantı vardır. Ne kadar az triptofan varsa o kadar çok tam transkript vardır.

8.1.4 İkili pozitif ve negatif kontrol: Arabinoz operonu

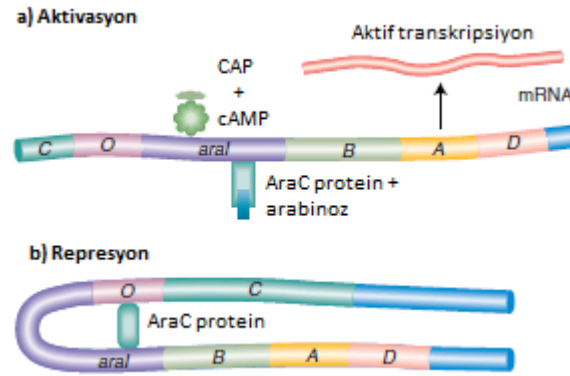
Laktoz operonunda olduğu gibi prokaryotik transkripsiyonun kontrolü sadece pozitif veya sadece negatif kontrol şeklinde olmayıp sıklıkla pozitif ve negatif kontrolün farklı yollarının bir karışımı ve eşleşmesi şeklinde gerçekleşir. Arabinoz operonunun düzenleme mekanizması tek bir DNA bağlanma proteininin ya bir represör ya da bir aktivatör olarak iş görmesine bir örnektir (Şekil 8.5).



Şekil 8.5: *ara* bölgesinin haritası. *B*, *A* ve *D* genleri *I* ve *O* bölgeleriyle beraber *ara* operonunu oluşturur.

Yapısal genler (*araB*, *araA* ve *araD*) arabinoz şekerini yıkan metabolik enzimleri kodlar. Bu üç genin transkripsiyonu tek bir RNA molekülü olarak tek birim şeklinde gerçekleştirilir. Transkripsiyon, başlatıcı bölge olan *araI* tarafından aktive edilir. Bu bölge bir operatör bölge ve bir promotör bölge içerir. *araC* geni operonun bitişiğinde yer alır ve bir aktivatör protein kodlar. Arabinoza bağlandığında bu protein *ara* operonunun transkripsiyonunu aktive eder. Bunu, muhtemelen RNA polimerazın promotöre bağlanmasına yardım ederek yapar. Ayrıca *lac* operonunu düzenleyen CAP-cAMP katabolit represyon sistemi *ara* operonunun ekspresyonunu da düzenler.

Arabinoz varlığında, RNA polimerazın promotora bağlanması ve *ara* operonunun transkripsiyonunu gerçekleştirebilmesi için CAP-cAMP kompleksi ve AraC-arabinoz komplekslerinin her ikisinin de *araI*'ya bağlanması gerekir (Şekil 8.6a). Arabinoz yokluğunda, AraC proteini yeni bir konformasyon alır, *araI* ve ikinci bir operatör olan *araO*'nun her ikisine birden bağlanır. (Şekil 8.6b). Bu bağlanma gerçekleştiğinde transkripsiyona izin vermeyen bir halka oluşur ve *ara* operonu baskılanır. Dolayısıyla AraC proteini biri aktivatör diğeri de represör olarak iş gören iki konformasyona sahiptir. Allosterik efektör olan arabinozun proteine bağlanıp bağlanmamasına bağlı olarak oluşan bu iki konformasyon, operonun *araO* bölgesi içindeki spesifik bir hedef diziyeye bağlanma yeteneğinde değişikliğe neden olur.



Şekil 8.6: *ara* operonunun ikili kontrolü. a) Arabinoz varlığında, AraC proteini *araI* bölgesine bağlanır. CAP-cAMP kompleksi de *araI* bölgesinin bitişiğindeki bir bölgeye bağlanır. Bu bağlanma *araB*, *araA* ve *araD* genlerinin transkripsiyonunu uyarır. b) Arabinoz yokluğunda, AraC proteini *araI* ve *araO* bölgelerinin her ikisine de bağlanır, bir DNA halka yapısı oluşur. Bu bağlanma şekli *ara* operonunun transkripsiyonunu engeller.

8.1.5 Prokaryotik gen ekspresyonunun düzenlenmesinde özel durumlar

Yapısal genlerdeki genetik bilgiyi taşıyan mRNA molekülleri prokaryotlarda transkripsiyonla eşzamanlı olarak protein sentezine de katılır. Yani bir yandan mRNA sentezlenirken bir yandan ribozomlar bu mRNA'ya bağlanarak protein sentezini gerçekleştirir. Bir mRNA'ya çok sayıda ribozom bağlanabilir.

mRNA'ların hücredeki ömürleri çok kısadır. Bunun nedeni değişen şartlara hücrenin daha hızlı adapte olmasını sağlamaktır. Dolayısıyla operonlardan bir mRNA sentezlendiğinde kısa sürede yıkılır. Eğer şartlar hala değişmediyse (sözgelimi hala triptofan açığı varsa veya laktöz mevcutsa) yeni mRNA molekülleri sentezlenir.

Operonların aktiviteleri genellikle sıfırlanmaz. Çok küçük seviyede gen ekspresyonu devam eder. Sözelimi *lac* operonunda baskılayıcı protein laktoz yokluğunda sürekli olarak operatöre bağlı kalmaz. Daha uzun süre bağlı kalır ancak kısa süre için dahi olsa yapıdan (operatörden) ayrıldığı anlarda çok düşük miktarda ekspresyon gerçekleşir. Ayrıca bir operon tarafından kodlanan proteinler ilgili operonun faaliyeti dursa bile belli bir süre, parçalanana kadar hücrede mevcuttur.

Hücresele seviyede (prokaryot) gen ekspresyonunun düzenlenmesinde operon üzeri düzenleme seviyeleri mevcuttur. Bu düzenleme **küresel düzenleme** olarak adlandırılır. Çok sayıda operon içsel ve çevresel sinyallere göre küresel kontrol sistemleri tarafından kontrol edilir. Küresel kontrol sistemlerinin farklı kategorilerini ifade etmek üzere **regülön**, **modülön** ve **stimülön** terimleri kullanılmaktadır.

8.2 Ökaryotlarda Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

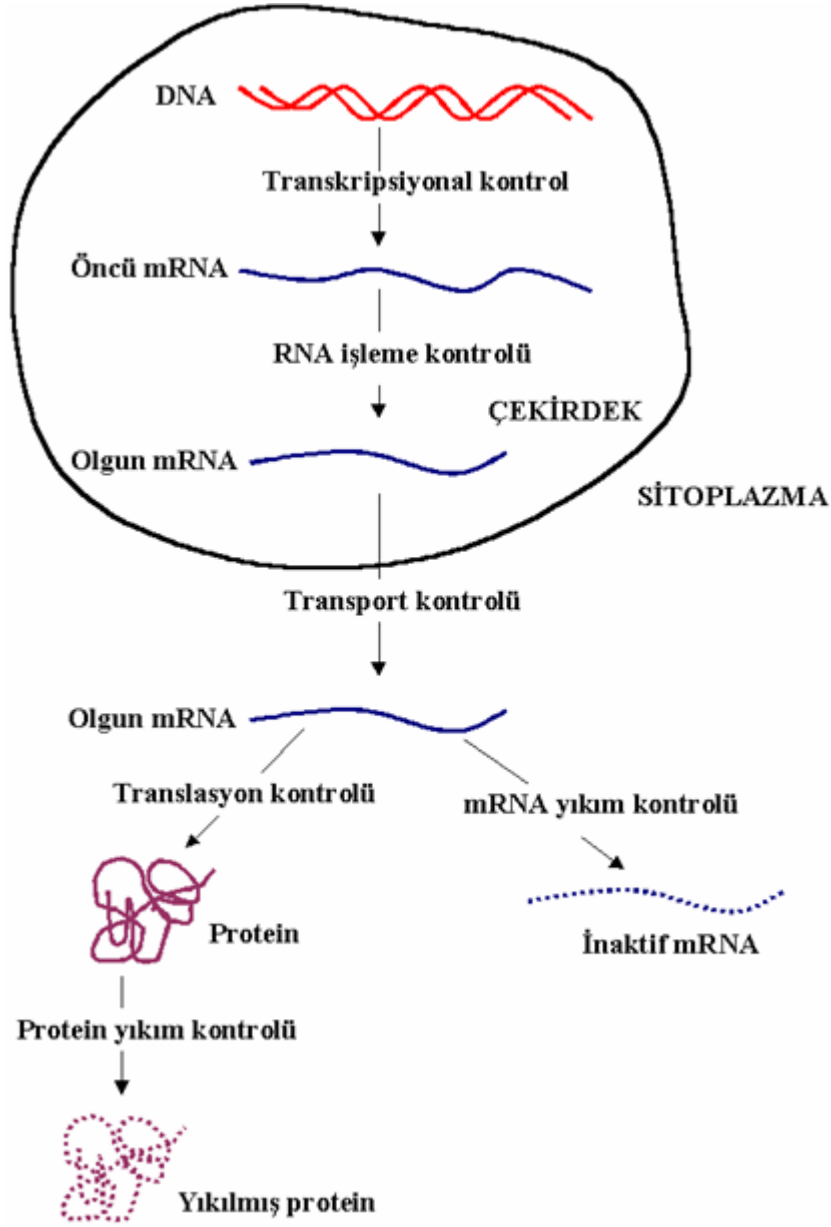
Prokaryotlarda, belli bir fonksiyonu yürüten proteinleri kodlayan genlerin koordineli düzenlenişi, operon modeli ile açıklanmaktadır. Yapılan bütün çalışmalarda ökaryotlarda operonların mevcut olmadığı ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla ökaryotlarda operon modeli dışında diğer yollarla gen ekspresyonu düzenlenir. Ökaryotlarda gen ekspresyonunun düzenlenmesi iki ana kategoriye ayrılarak incelenir.

1. **Kısa dönem düzenlenmesi:** Hücrenin veya organizmanın içinde bulunduğu çevredeki çevresel veya fizyolojik şartlardaki değişime göre bir gen grubunun hızla aktive veya deaktive edilmesidir (ekspresyonun başlatılması veya durdurulması).
2. **Uzun dönem düzenlenmesi:** Hızlı lokal çevresel ve fizyolojik değişikliklere bağlı düzenlenme mekanizmaları dışında kalan mekanizmaları içine alır. Yeni bir organizmanın gelişmesi ve farklılaşması için gerekli olayları kapsar. Bu konu genel olarak **gelişme genetiği** olarak adlandırılır.

8.2.1 Ökaryotlarda gen ekspresyon kontrol seviyeleri

Ökaryotlar prokaryotlardan onlarca kat daha fazla gene sahiptir. Buna bağlı olarak da, düzenlenme şekilleri olağanüstü karmaşıklıktadır. Belli bir zamanda ökaryotik genlerin çok büyük bir kısmı “kapalı” durumdadır. Dolayısıyla ekspresyonu düzenleyen mekanizmalar genomdaki genlerin çoğunun ekspresyonunu kapatabilmelidir. Ayrıca çok sayıda gene karşılık nispeten daha az sayıda düzenleyici protein vardır. Bu az sayıdaki düzenleyici protein yardımıyla binlerce farklı düzenleme şekli oluşturabilirler.

Ökaryotik gen düzenlenişinde iki temel etken başrolü oynar. Bunlardan biri gen bölgelerinin hemen yukarısındaki ve daha uzak noktalarda yer alan **düzenleyici DNA elementleridir**. İkinci etken ise DNA elementlerine bağlanan **düzenleyici proteinlerdir**. Düzenleyici proteinler durdurucu veya güçlendirici olarak görev yaparlar. Ökaryotlarda gen ekspresyonunun kontrolü çok farklı seviyelerde olabilmektedir. Bu seviyeler aşağıda şematize edilmiştir (Şekil 8.7). Bunlardan bazıları daha ayrıntılı olarak incelenecektir.



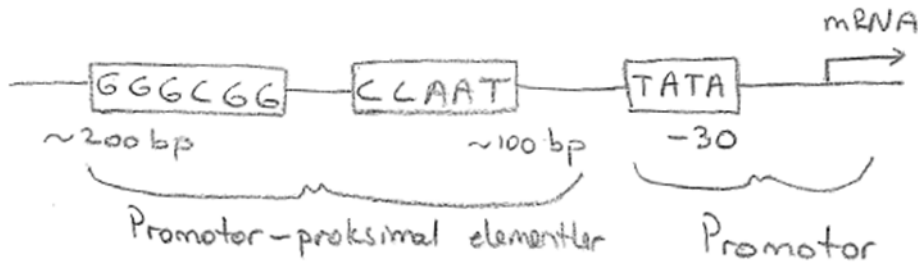
Şekil 8.7: Ökaryotlarda gen ekspresyonunun kontrol edilebileceği seviyeler.

8.2.2 Transkripsiyonel Kontrol

Transkripsiyonel kontrol, bir genin transkripsiyonunun yapılıp yapılmayacağını ve ne kadar yapılacağını belirler. RNA polimeraz II, maksimum hızda RNA sentezlemek için çok sayıda **cis-etkili** element ile birlikte çalışır (cis-etkili, aynı DNA üzerindeki geni etkileyen anlamıdadır). Nisbi durumlarına göre üç farklı cis etkili element vardır.

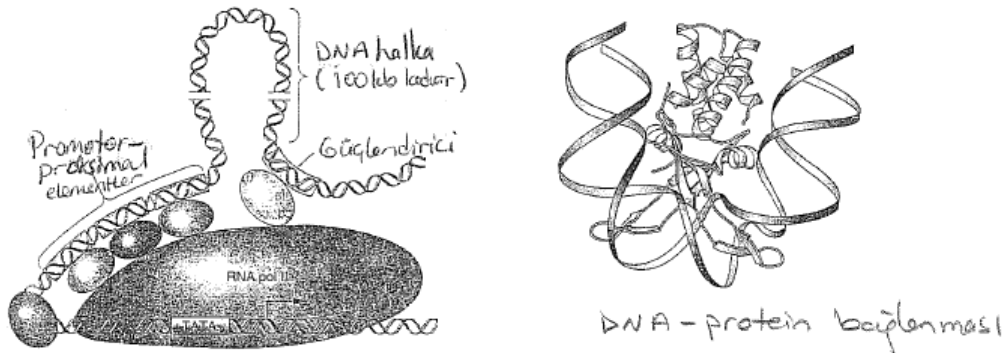
1. **Promotor elementleri:** Transkripsiyon başlama bölgesinin yakınında yer alan DNA elementleridir.
2. **Promotor proksimal elementleri:** Promotor yakınındaki cis-etkili dizilerdir, düzenleyici proteinlerin bağlanma bölgeleridir.
3. **Güçlendirici ve susturucu elementler:** Genlerden uzak bölgelerde bulunan ve düzenleyici proteinlerin bağlandığı elementlerdir (uzak bağımsız elementler).

Promotor ve promotor-proksimal elementler düzenleyici proteinler ve RNA polimeraz II ile kompleks oluşturarak transkripsiyonun başlamasını sağlarlar. Promotor-proksimal elementler promotor yukarısı elementler (UPE) olarak adlandırılırlar (Şekil 8.8). UPE'ler prokaryotların düzenleyici elementlerine benzer, ancak bu bölge ökaryotlarda yeterli etkinlikte bir düzenlenmeyi sağlayamaz. Gerçekte ökaryotlarda bazı genler belli dokularda veya belli sinyaller (hormon, patojen...) alındığında daha fazla anlatılırlar (ekspresyonları yapılır). Bunun başarılmasında, uzak bağımsız elementler görev yapar. **Güçlendiriciler**, proteinlerin bağlandığı, aynı DNA molekülü üzerindeki promotorlardan transkripsiyonu büyük oranda artıran DNA dizileridirler. **Susturucular** ise baskılayıcı proteinlerin bağlandığı ve transkripsiyonu azaltan veya durduran elementlerdir. Eğer bir düzenleyici protein transkripsiyonu aktive ediyorsa **pozitif düzenleyici protein**, durduruyorsa veya azaltıyorsa **negatif düzenleyici protein** ismini alır. Uzak bağımsız cis-etkili elementler UPE'lere benzeler, 50 kb kadar yukarıda veya aşağıda yer alabilirler. Cis-etkili elementlere bağlı düzenleyici proteinlerin kendi aralarındaki veya düzenleyici proteinlerle RNA polimeraz II kompleksi arasındaki etkileşimlerle veya her iki etkileşim birlikte ilgili genin transkripsiyon oranını belirler.



Şekil 8.8: Yüksek ökaryotlardatranskripsiyon başlama bölgesinin yukarı bölgesi.

Uzak güçlendirici ve susturucu elementler, transkripsiyonu nasıl düzenler? Başlama kompleksi oluştuktan sonra bu uzak elemente bağlı bir düzenleyici protein arada bulunan (100 kb kadar olabilen) DNA bölgesinin bir halka şekline gelmesiyle RNA polimeraz II ve diğer UPE bağlı proteinlerle temas kurar. Bu temasın kurulması RNA polimeraz II kompleksinin stabilitesini ve transkripsiyon oranını artırır (Şekil 8.9).



Şekil 8.9: RNA polimeraz II'nin UPE ve güçlendirici elementlerle düzenlenişi.

Transkripsiyon faktörleri (UPE ve uzak düzenleyici elementlere bağlananlar) iki farklı fonksiyon yürütürler: i) DNA'ya özel bir bölgeden bağlanma ve ii) transkripsiyonu

uyarma veya susturma. Dolayısıyla bu proteinler en azından iki domainden meydana gelmeleri gerekir, her domain bu fonksiyonlardan birini yürütür. Bu faktörler incelenerek bu domainlerin DNA'ya bağlanmasını sağlayan bazı özel desenler belirlenmiştir. Bunlar sarmal-dönüş-sarmal deseni, çinko-parmak deseni, sarmal-halka-sarmal deseni ve lösinferruar desendir. Sarmal-dönüş-sarmal bağlanma domaini en iyi bilinen desendir ve DNA'nın pozitif yüklü şeker-fosfat iskeletine bağlanır (Şekil 8.10).



Şekil 8.10: Sarmal-dönüş-sarmal bağlanma domaininin DNA ile etkileşimi.

Düzenleyici proteinler kontrol ettiği gen veya gen grupları için özelleşmiştir. Bu özelleşme, genin ekspresyonunun düzenlenmesinde görev yapan promotor elementlerine bağlanabilme yeteneği ile sağlanır. Belli bir gen için birkaç veya çok sayıda promotor elementi bulunabilir. Şartlara bağlı olarak (!) bu elementlere bir veya birkaç düzenleyici protein bağlanarak, genin ekspresyonu düzenlenir. Farklı genlerin promotor elementlerinin yapısında (DNA dizisi!) farklılıklar vardır. Bu farklılığa bağlı olarak bu elementlere farklı düzenleyici proteinler bağlanır. Promotor elementleri transkripsiyonun başlayıp başlamayacağını belirlerken, güçlendiriciler maksimum ekspresyonu sağlar. Her bir promotor elementi ve güçlendirici özel bir proteinle bağlanarak işlevini gerçekleştirir. Bazı düzenleyici proteinler bütün hücrelerde mevcut iken diğer bazıları belli hücrelerde mevcuttur. Eğer promotor elementlerine ve güçlendiriciye pozitif düzenleyici proteinler bağlanırsa maksimum seviyede transkripsiyon gerçekleşir, eğer promotor elementine sözelimi pozitif düzenleyici protein, güçlendiriciye negatif düzenleyici protein bağlanırsa bu durumda sonuç iki element arasındaki etkileşime bağlıdır. Eğer negatif düzenleyici protein güçlü ise transkripsiyon baskılanır. Bu durumda güçlendirici bir susturucu element olarak iş görür.

Bir grup güçlendirici element (DNA!) ve promotor elementi (DNA!) aynı tip düzenleyici proteine bağlanabilir. İlginç olan toplam hücre proteinleri ile karşılaştırıldığında az sayıda düzenleyici protein çeşidinin olmasıdır. Belli bir düzenleyici protein ile ilişkiye giren farklı tip genlerin transkripsiyonu birlikte yapılabilmektedir. Bu olay **kombine gen düzenlenişi** olarak adlandırılır.

8.2.3 Ökaryotik gen düzenlenmesinde kromatinin rolü

Düzenlenme şekli nasıl olursa olsun ökaryotlarda transkripsiyon faktörlerinin düzenleyici elementlere bağlanabilmesi için bu DNA bölgelerinin "açık" olması gerekir. Yani nükleozomlar şeklinde sarılı olmaması gerekir. O halde bir genin ekspresyonu öncelikle kontrol bölgelerinin nükleozom içinde sarılı olup olmadığına bağlıdır.

Dolayısıyla belli bir gen bölgesi, nükleozom şeklinde sarılarak veya sarılmayarak ekspresyonu kontrol edilebilir. Gen bölgelerinin çok büyük bir çoğunluğu ökromatin bölgelerinde yer alırlar yani “açık” pozisyonadırlar. Heterokromatin bölgeleri ise tekrarlayan dizileri içerir ve “kapalı” DNA dizileridirler. Gen bölgelerinin açık veya kapalı olması gen ekspresyonunun düzenlenmesinde aktif bir rol alır.

Memelilerin dişilerinde X kromozomu inaktivasyonunda X kromozomlardan biri rasgele inaktive edilir, yani heterokromatin haline getirilir. Dolayısıyla bu hücrelerden köken alan vücut hücrelerinde sadece inaktive edilmeyen X kromozomu üzerindeki genin ekspresyonu sonucu bir fenotip oluşur. Dişi kedilerde derilerindeki turuncu-siyah tüylenme, embriyonik gelişim sırasında vücut hücrelerindeki farklı X kromozomlarının inaktivasyonu sonucu oluşur. İnaktive edilmiş bir kromozom (taşıdığı DNA değişmeden kalır) o hücrenin soyundan gelen bütün hücrelerde aynı kalır. Bu olay **epigenetik kalıtım** olarak adlandırılır ve gen fonksiyonunda, DNA baz dizisindeki herhangi bir değişiklikten kaynaklanmayan değişiklikleri ifade eder. (DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın ortaya çıkan kalıtılabilir fenotipik değişiklikleri inceleyen alan *epigenetik* olarak adlandırılır.)

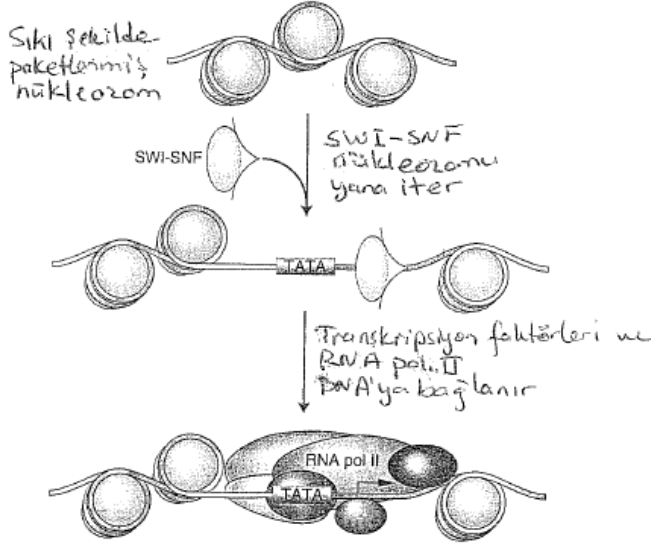
Epigenetik kalıtıma **atasal izleme** (imprinting) de örnek olarak verilebilir. Memelilerde bazı otozomal genler hemizigot (Normalde otozomal genler hemizigot olmaz!). Bu genlerden atalardan birinden gelen gen epigenetik olarak inaktive edilir. Diğer bazı durumlarda heterokromatin bölgelerine yakın bölgelerdeki genlerin sonradan heterokromatin şeklinde sarıldığı, bir bakıma heterokromatin bölgesinin çevreye yayıldığı bilinir. Bu olay **pozisyon etkisi düzensizliği** olarak bilinir.

Atasal izleme, X-kromozomu inaktivasyonu ve pozisyon etkisi düzensizliği olayları, DNA dizisinde değişiklik olmaksızın, gen ekspresyonunun azaltılabileceğini veya susturulabileceğini göstermektedir. Bu durum (epigenetik kalıtım şekli), nükleozom organizasyonunun, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde, dolayısıyla gelişme ve metabolizmada dinamik bir rolü olduğunu göstermektedir. Aktif gen ekspresyonu yapılan ve yapılmayan hücrelerde yapılan araştırmalarda, bir gen bölgesinde, özellikle düzenleyici bölgede, nükleozom pozisyonunun değiştiği belirlenmiştir. Sonuçta nükleozomlar, dinamik yapılar olup organizmanın hayatı boyunca farklı zamanlarda pozisyonları değişebilir. TATA kutusu ve çevresi nükleozom içinde sarılı iken RNA polimeraz II bağlanamaz. Nükleozom başka bir bölgeye yer değiştirince ilgili gen aktive edilir. Nükleozom pozisyonundaki bu değişim **kromatin yeniden modellenmesi** olarak adlandırılır. SWI-SNF adı verilen bir proteinin, belli hücresel şartlarda, nükleozomu iterek bir gene ait kontrol bölgelerinin açığa çıkmasını sağladığı belirlenmiştir (Şekil 8.11). Kromatin yeniden modellenmesi ökaryotik gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir kontrol noktasıdır.

8.2.4 Hayvanlarda gen ekspresyonunun steroid hormonlarla düzenlenmesi

Hormonlar hücrenin bulunduğu çevrenin sabit tutulmasında rol alan kimyasallar olup çeşitli sinyallerle uyarılan hücreler tarafından salgılanıp kan dolaşımı ile ulaştıkları hedef hücreyi uyarırlar. Gen ekspresyonunun düzenlenmesi ile steroid hormonlar arasındaki

ilişki iyi bir şekilde anlaşılmıştır. Bu hormonlar mantarlardan insanlara kadar birçok organizmada fizyolojik düzenlenmede ve gelişmede önemlidirler.



Şekil 8.11: Kromatin yeniden modelleme mekanizması

Steroid hormonlara hidrokortizon, aldosteron, testosteron ve progesteron örnek verilebilir. Bu hormonların hücre içi reseptörlere bağlanarak bazı proteinlerin sentezini indükledikleri bilinmektedir. Bu hormonların reseptörleri organizmanın belli dokularındaki belli hücrelerde mevcut olup diğer dokularda mevcut değildir (Tablo 8.1). Dolayısıyla hormonun etkisi doku spesifiktir, hormonun reseptörüne sahip olan dokularda etkilidir. Bu hormonlar hücreye girdiğinde genellikle transkripsiyonu arttırarak protein sentezini indükler ancak bazı durumlarda mRNA'nın ömrünü uzatarak da bu etkiyi gösterebilmektedir.

Tablo 8.1: Bazı steroid hormonlar, etkili oldukları doku ve indükledikleri proteinler.

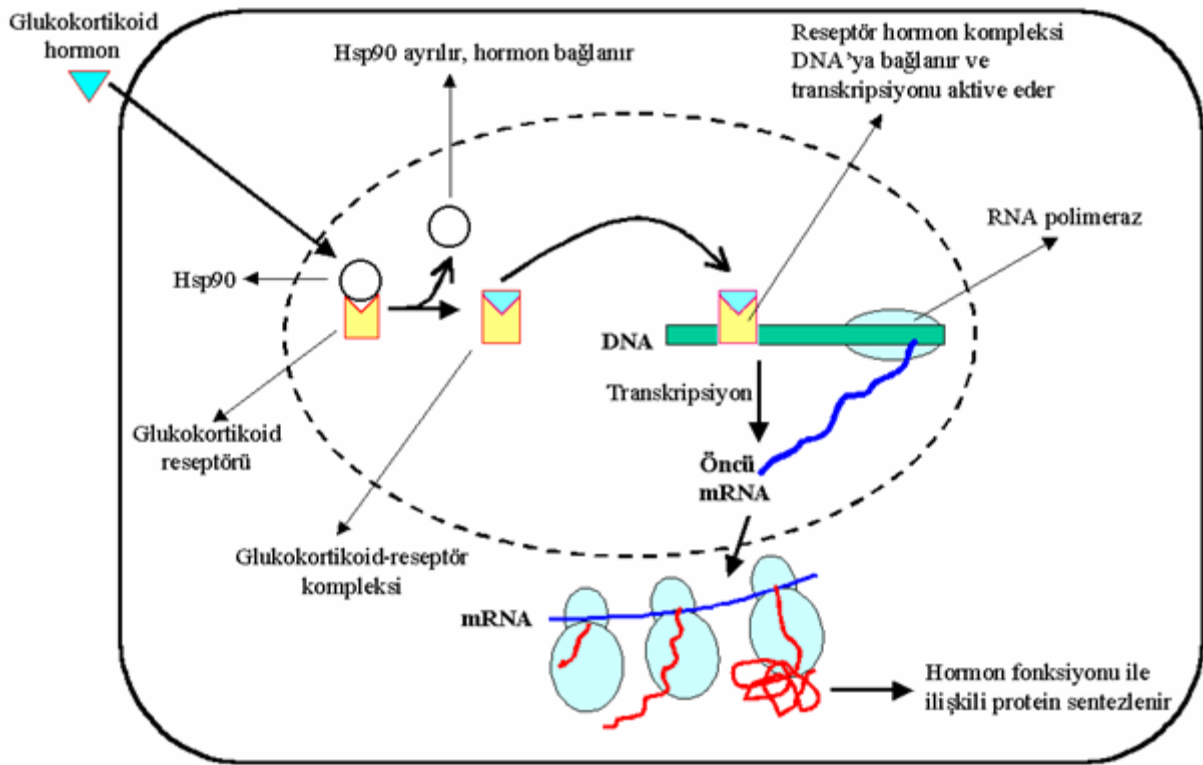
Hormon	Doku	İndüklenen protein
Östrojen	Ovidukt (tavuk)	Ovalbumin, Lizozim
	Pituitar bez (fare)	Prolaktin
Glukokortikoidler	Karaciğer (fare)	Trozin aminotransferaz
	Pituitar bez (fare)	Gelişme hormonu
Testosteron	Karaciğer (fare)	α -Globin

Memeli hücreleri 10 000 ila 100 000 steroid reseptör molekülü taşırlar. Bu protein molekülleri ilgili hormona karşı oldukça duyarlıdırlar. Bütün steroid hormonlar benzer şekilde çalışır. Sözelimi glukokortikoid hormon reseptörü hücrede (fonksiyonel formda sadece çekirdekte) Hsp90 adlı bir proteinle kompleks oluşturmuş şekilde bulunur. Glukokortikoid hormon hücreye girdiğinde Hsp90'ı reseptörden ayırarak, bu reseptöre bağlanır (Şekil 8.12).

Reseptör ile glukokortikoidin birleşmesi sonucu hormon reseptör kompleksi oluşur. Daha sonra bu kompleks reseptör kısmı ile spesifik bir düzenleyici DNA bölgesine bağlanır. İlgili geni aktive eder veya transkripsiyonunu durdurur. Steroid hormonun

eklenmesinden birkaç dakika sonra yeni mRNA molekülleri oluşur ve ilgili protein sentezlenir. Steroid hormon reseptörlerinin DNA'ya bağlanan kısmı genellikle çinko-parmak deseni (zinc-finger motif) gösterir.

Steroid hormonlarla düzenlenebilen bütün genlerin bulunduğu DNA bölgesinde steroid reseptör kompleksinin bağlandığı özel bir bölge mevcuttur. Bu bölge steroid hormon respons (tepki) elementi (HRE) olarak adlandırılır. Farklı tip steroid HRE dizileri mevcuttur. Sözelimi GRE glukokortikoid hormon respons (tepki) elementi; ERE, estrogen hormon respons (tepki) elementi gibi. HRE bölgeleri, genlerin güçlendirici bölgelerinde çoğunlukla çoklu kopyalar şeklinde bulunurlar. HRE bölgesine hormon reseptör kompleksi bağlandıktan sonra nasıl bir mekanizma ile transkripsiyonun kontrol edildiği tam olarak bilinmez ancak farklı HRE bölgelerinin (GRE, ERE...) birbirleri ile ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşimi sonucu bir düzenlenme biçiminin oluştuğu düşünülmektedir.



Şekil 8.12: Memeli hücrelerinde steroid hormon glukokortikoidin gen ekspresyonunun düzenlenmesindeki rolü.

Aynı steroid hormon reseptörüne sahip olmasına rağmen, bazı hücrelerde bu hormonlar farklı gen gruplarını aktive ederler. Bu nasıl gerçekleşir? Promotor elementlerine ve güçlendiricilere sadece steroid-reseptör kompleksi değil diğer birçok düzenleyici protein de bağlanır. Belli bir hücredeki steroid hormonun etkisi diğer düzenleyici proteinlerin durumuna da bağlıdır. Bu nedenle aynı steroid hormon reseptörüne sahip hücrelerde bu hormonlar farklı genlerin ekspresyonunu aktive edebilir.

8.2.5 Ökaryotlarda gen düzenlenmesine genel bakış

Bu bölümde ökaryotlarda gen düzenlenmesi ile ilgili az sayıda mekanizma örnek olarak verilmiştir. Gerçekte bugün için bilinen çok daha fazla sayıda mekanizma mevcuttur. Ökaryotlarda her şeyden önce genler operonlar şeklinde organize olmamıştır. Fakat yine de genlerin ekspresyonu koordineli şekilde gerçekleştirilir.

Ökaryotlarda gen ekspresyonunun düzenlenmesi iki kategoride incelenmek durumundadır: Kısa dönem düzenlenmesi ve uzun dönem düzenlenmesi. Kısa **dönem düzenlenme** transkripsiyonun kontrolü, kromatin yeniden modelleme, öncü RNA işleme, olgun mRNA'nın transportu, mRNA translasyonu, mRNA'nın yıkımı ve protein son ürünün yıkımı seviyelerinde olabilir. **Uzun dönem düzenlenme** ise gelişme ve farklılaşmanın olduğu süreçler boyunca gen ekspresyonunun düzenlenmesini içine alır. Klasik deneylerle farklılaşan ve gelişen hücrelerde bir DNA kaybı olmadığı, genlerin farklı aktiviteleri ile gelişme ve farklılaşmanın gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Dolayısıyla gelişme ve farklılaşma sırasında gen ekspresyonu kısa dönem düzenlenme yöntemleri ile düzenleniyor olmalı, fakat olaylar daha kompleks olmalıdır. Her bir gelişme sürecinde çok fazla sayıda genin düzenlenmesi ve farklılaşan diğer dokularla iletişim kurulması gerekir. Ayrıca bu olaylar sırasında genlerin aktivasyon ve baskılanma zamanlarının ayarlanması gerekir. Örnek, bir hücrenin yapı ve fonksiyonu çok önceden belirlenir, bu belirlenme gelişmenin ileri safhalarına kadar gözlenebilir değildir. Bu tip erken belirleme olayları, genlerin sonradan aktive olmak üzere bir şekilde programlanmasıyla gerçekleştirilir. *Drosophila*'da bazı ilerlemeler sağlandıysa bile ne önceden programlanma olayının esası, ne de gelişme sürecinin zamanlama mekanizmaları omurgalılarda bu gün için iyi bir şekilde anlaşılabilir değildir.