

GENLER VE GENOMLAR

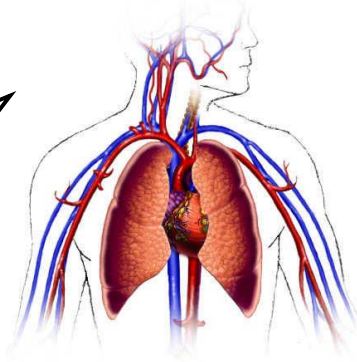
SUNUM PLANI

- * Giriş
- * Ökaryot genlerin yapısı
- * Kodlamayan diziler
- * Kromozomlar ve kromatin

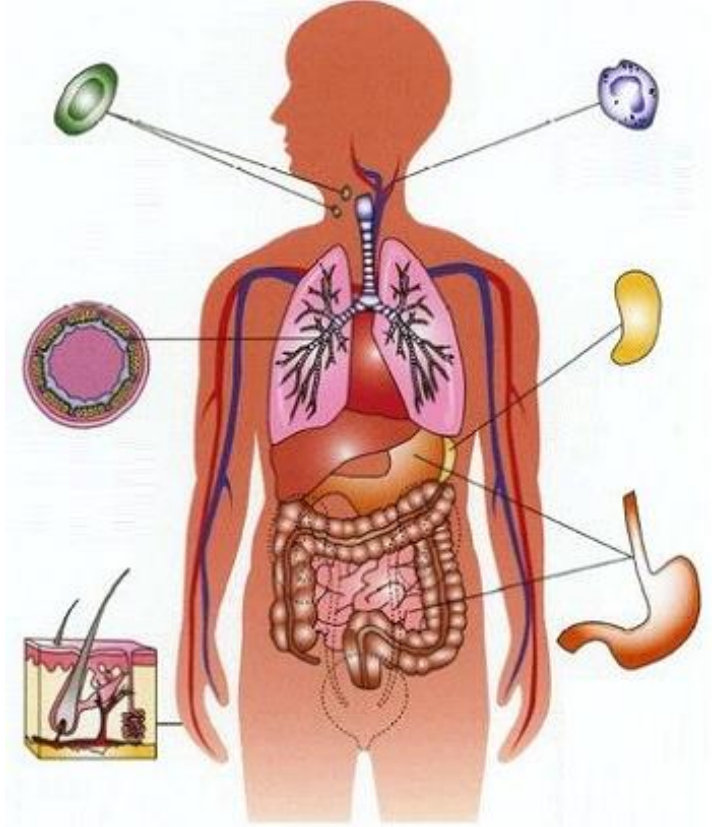
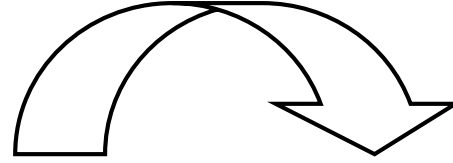
Dersin amacı



doku ve organlar

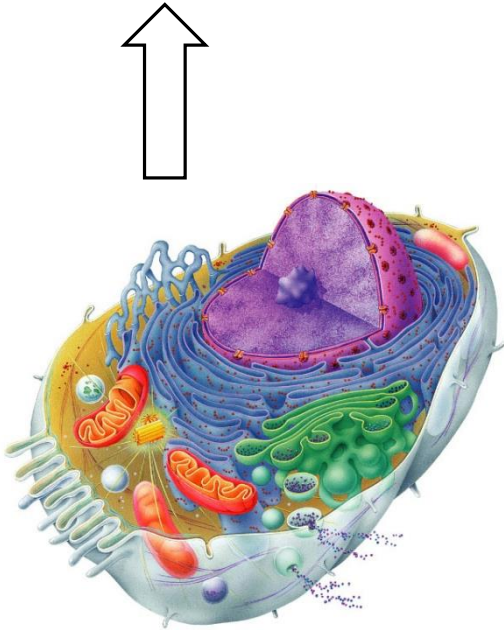


sistemler



insan

30-70 trilyon hücre



hücre

Giriş

Genetik materyal olarak DNA, tüm hücresel aktiviteleri yöneten ve çok hücreli organizmalarda gelişimsel planı belirleyen genetik yönergeler serisine benzetilebilir.. Bu nedenle gen yapısının ve işlevinin anlaşılması hücrelerin moleküler biyolojisinin anlaşılması için temel şarttır.

Gen klonlamanın gelişimi bilim insanlarına karmaşık ökaryotik genomları parçalarına ayırmak ve ökaryotik genlerin işlevlerini incelemek imkanı vererek büyük bir adım atılmasını sağlamıştır. Son olarak DNA dizilemedeki gelişmeler bizi yüzlerce bakteri, maya, birçok bitki ve insan da dahil olmak üzere bir çok canlının genomunun tüm diziliminin bilinmesi gibi heyecan verici bir noktaya getirmiştir.

Giriş

Genom dizileme projelerinin sonuçlarının, gelecekte birçok yıl boyunca moleküler ve hücresel biyolojideki araştırmaları stimüle etmesi beklenmektedir.

Böylece insan hastalıklarının nedenlerinin ve oluşma mekanizmalarının daha iyi anlaşılacağı, yeni ve etkili tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirileceği tahmin edilmektedir.

Ökaryot genlerin yapısı

Çoğu ökaryot genomu prokaryotlardan daha büyük ve daha karmaşıktır. Ancak büyüklük her zaman daha karmaşık olduğu anlamına gelmez. Örneğin semender ve zambak genomları insan genomundan daha büyüktür..

Ayrıca ökaryotik genomlardaki gen sayısı ile genom büyüklüğü ya da biyolojik karmaşıklık arasında basit bir ilişki yoktur.. Örneğin insan genomu E.coli genomundan 1000 kat büyük olmasına rağmen ancak 5 kat daha fazla gen içerir. Yine A.thaliana'nın genomu insanınkinin % 5 i kadar olmasına rağmen insandan daha fazla gen (26000) içerir..

Bir paradoks gibi görünen bu durumlar; ökaryot genomlarının, genellikle küçük miktarda protein kodlayan gen ve büyük miktarda protein kodlamayan DNA dizilerinden oluştuklarının bulunmasıyla açıklığa kavuşmuştur..

İntronlar ve eksonlar

Moleküler olarak bir **gen**, bir RNA veya bir polipeptit olabilen işlevsel bir ürün oluşturacak şekilde eksprese olan bir DNA bölgesi olarak tanımlanabilir..

Ökaryotlardaki kodlamayan DNA nın bir kısmı **genler arasındaki** uzun DNA dizileridir ki bunlar aralayıcı diziler olarak adlandırılır..

Ökaryot **genlerinin içinde** de büyük miktarda kodlamayan DNA dizileri bulunur ki bunlar da intronlar olarak adlandırılır.. İntronlar, eksonlar olarak adlandırılan kodlayan dizilerin aralarında yer alır..

Intronlar ve eksonlar

Intronlar ilk kez 1977 de insan hücre kültürlerinde adenovirüs replikasyonunun incelendiği çalışmalarda bulunmuştur.

Adenovirüsler gen ifadesi çalışmak için uygun modellerdir...

Adenovirüs mRNA larını tanımlamak için bir yaklaşım; elektron mikroskopunda RNA-DNA hibritlerini inceleyerek karşılık gelen viral genlerin yerlerini saptamaktır...

İntronlar ve eksonlar

Adenovirüslerde intronların bulunmasından kısa bir süre sonra ökaryot hücrelerin klonlanmış genlerinde benzer gözlemler yapıldı. Örneğin fare globin geninin kodlayan bölgesinin iki intron ile bölünmüş olduğu ortaya konuldu.

Birçok ökaryot geninin intron-ekson yapısı çok karmaşıktır ve intron dizilerindeki DNA miktarı sıklıkla eksonlardakinden daha fazladır...

Intronlar ve eksonlar

Intronlar karmaşık ökaryotların çoğu geninde mevcuttur, ancak evrensel değildir. Örneğin histon genlerinin hemen hemen hiçbirinde intron yoktur, yani intronlar ökaryot hücrelerinde gen işlevi için şart değildir...

Intronların büyük kısmı hücresel bir ürün sentezlemez, ama çok az bir kısmı işlevsel RNA veya proteinler kodlarlar. Ancak intronlar alternatif kesip ekleme gibi önemli bir gen regülasyon mekanizmasında dolaylı olarak rol oynarlar...

Intronlar ve eksonlar

Intronların ayrıca ekson karma adı verilen bir olayla farklı genlerin protein kodlayan bölgeleri arasında rekombinasyonu kolaylaştırarak evrimde önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir...

Intronların evrimsel kökeni tartışma konusudur. Bir olasılık intronların evrimde erken dönemde prokaryot ve ökaryot hücreler ayrılmadan önce var olduğudur...

Alternatif hipoteze göre intronlar evrimde daha ileri dönemde, DNA dizilerinin sürekli protein kodlama dizisi olarak oluşmuş olan genlere katılmasıyla ortaya çıkmış olabilir...

İntronların rolleri

Her ne kadar intronlar olgun mRNA dan kesilip çıkarılırsalar da intronların başka pek çok önemli biyolojik görevleri bulunmaktadır.. İlk olarak bir çok intron aslında fonksiyonel ürünler kodlar ki bunlar protein veya kodlamayan RNA lar olabilir..

Bu genler iç içe genler olarak bilinir ve bir gen daha büyük bir genin intronunda yer alır.. Bu tür genler ilk kez drozofilada tanımlanmıştır ve bu organizmada protein kodlayan genlerin %5 ini oluşturmaktadır.. İnsan genomunda iç içe genler daha az görülür ve 150 atne bu tür gen tanımlanmıştır.

Intronların rolleri

Intronlar ayrıca gen ekspresyonunu kontrol eden düzenleyici diziler içerir.. Bir organizmadaki tüm hücreler aynı genlere sahip olduğuna göre gen ekspresyonunun düzenlenmesindeki farklılıklar hücreler arasındaki farktan sorumlu olmalıdır..

İşte gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan transkripsiyonel düzenleyici dizilerin bir kısmı da intronların içinde yer almaktadır.

Intronlardaki dizilerin bir kısmı ise splaysda rol oynar ve alternatif splays mekanizmasıyla aynı genden farklı proteinlerin sentezlenmesini düzenler..

Kodlamayan diziler

Protein kodlayan genler, intronları da dahil olmak üzere insan genomunun **%36 sını** oluşturmaktadır. Benzer durum diğer ökaryot genomlarında da vardır.. İnsan genomunun ve diğer ökaryot genomlarının **geri kalan kısmı** çok sayıda farklı tip dizilerden oluşur.. Bu diziler protein kodlamamalarına rağmen son zamanlardaki araştırmalarda fonksiyonel oldukları ortaya konmuştur.. Bu dizilerin rol ve aktiviteleri tam olarak anlaşılamamasına rağmen görünüşe göre pek çoğu **gen düzenlenmesinde** rol oynamaktadır. Bazı diğerleri ökaryotik genomların **evriminde** rol oynamış, yine diğer bir kısmı ise ökaryotik **kromozomların yapı** ve replikasyonunda görev almaktadır.. Kodlamayan diziler, genomdaki büyüklüğü ve henüz tam olarak belirlenememiş farklı aktiviteleri nedeniyle **ökaryotik genomların karmaşıklığından** sorumludur ve ancak bu dizilerin fonksiyonlarının ortaya çıkarılmasıyla yüksek bitki ve hayvanların gelişim ve davranışlarını anlamamız mümkün olabilecektir..

Kodlamayan RNA lar

İnsan genomundaki fonksiyonel elemanlara dair bilgilerimiz, 2012 yılında büyük çaplı bir proje olan ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) sayesinde önemli oranda artmıştır.. ENCODE projesinin amacı insan genomundaki farklı dizilerin fonksiyonları tanımlamaktı..

Bu projede 147 farklı hücre hattı, RNA ya transkribe olan tüm dizilerin karakterizasyonunu amaçlayan büyük ölçekli RNA dizileme (RNA-seq) de dahil olmak üzere çeşitli yöntemler aracılığıyla analiz edildi..

Bu kapsamlı analizin beklenmeyen bir sonucu insan genomunun %75 inin transkribe olduğuydu. Bu genomun protein kodlayan genler ile açıklanabileceğinden çok daha büyük bir bölümüydü ve bu bulgular kodlamayan RNA ların gen düzenlenmesindeki yaygın rollerinin farkına varılmasına yol açtı..

Kodlamayan RNA lar

tRNA ve rRNA gibi bazı kodlamayan RNA lar uzun zamandan beri bilinmekte olup protein sentezinde anahtar roller oynamaktadırlar.. Diğer kodlamayan RNA lar pre-mRNA ların kesilip eklenmesinde ve ribozomal RNA ların işlenmesinde görev alırlar..

Son zamanlarda gen düzenlenmesinde rol oynayan iki tip kodlamayan RNA daha keşfedilmiştir: (1) kısa çift iplikli RNA lar tarafından gerçekleştirilen RNA interferans (RNAi) ve (2) uzun kodlamayan RNA (lncRNA) lar..

Kodlamayan RNA lar

RNAi 1998 de keşfedilmiştir ve hücreler tarafından mRNA nın degradasyonunu ve translasyonunu kontrol eden bir mekanizmadır.

RNA interferansta rol oynayan kodlamayan RNA lara mikro RNA (miRNA) lar denir. miRNA ların öncülleri saç tokası biçiminde katlanan 70-130 nükleotitlik RNA molekülleridir. Bu öncül moleküller droza ve dayzır adlı nükleazlar tarafından kesilerek yaklaşık 22 bç uzunluğunda çift iplikli RNA lar oluşturulur. miRNA nın bir ipliğinin RNA ile indüklenen susturucu kompleks (RISC)'e katılmasıyla miRNA RISC'i komplementer mRNA ya yönlendirir. Bu kompleks mRNA nın yıkımını uyararak translasyonu engeller.

Kodlamayan RNA lar

İnsan genomunda bazıları protein kodlayan genlerin intronlarında yerleşik 1000 kadar miRNA geni bulunmaktadır. Her bir miRNA nın 100 kadar farklı mRNA yı hedefleyebileceği tahmin edilmektedir, böylece protein kodlayan genlerimizin yarısı kadarı miRNA lar tarafından düzenleniyor olabilir..

Biyolojik rolleri henüz tam olarak anlaşılmış olmamakla birlikte miRNA ların erken embriyonik gelişim, sinir sistemi, kas, kalp, akciğer ve bağışıklık sisteminin gelişimi gibi gelişimsel süreçlerde önemli roller oynadıkları gösterilmiştir.

Ayrıca miRNA ların hücre çoğalması ve sağ kalımı düzenledikleri de gösterilmiş olup, anormal ekspresyonlarının kalp hastalığı ve çok sayıda farklı kanser gelişiminde rol oynadıkları da bulunmuştur..

Kodlamayan RNA lar

Gen düzenlenmesinde rol oynayan diğer kodlamayan RNA grubu 200 nükleotidden daha uzun olan **uzun kodlamayan RNA (lncRNA)**lardır..

X kromozom inaktivasyonu fenomeni lncRNA fonksiyonlarının ilk örneklerinden birisidir..

İnsan da ve pek çok hayvanda dişiler iki X kromozomuna sahipken erkekler bir X ve bir Y kromozomuna sahiptir.. X kromozomunda, çok daha küçük olan Y kromozomunda bulunmayan 1000 kadar gen bulunur. Bu yüzden X kromozomu genlerinin çoğu dişilerde erkeklerden iki kat fazla kopya olarak bulunur.. Bu farklılığa rağmen X kromozomu genlerince kodlanan proteinlerin çoğunluğu erkek ve dişi hücrelerde eşit miktarlarda bulunur. Bu durum, dişi hücrelerindeki iki X kromozomundan birisindeki genlerin çoğunun gelişimin erken evrelerinde bir kompensasyon mekanizmasıyla susturulmasıyla/ inaktivasyonu ile sağlanır..

X kromozom inaktivasyonunda kilit eleman *Xist* olarak bilinen 17 kb uzunluğunda bir lncRNA'dır. *Xist* RNA, X kromozomlarından birisine bağlanarak ve buradaki genlerin transkripsiyonunu engelleyerek onu inaktive eder.

Kodlamayan RNA lar

Xist gibi birkaç örnek daha önce biliniyor olsa da lncRNA ların memeli hücrelerindeki ekspresyonlarının boyutu ancak ENCODE projesiyle anlaşılmıştır: 50 000 den fazla lncRNA..

Ve son zamanlarda yapılan çalışmalarda, pek çok lncRNA'nın gen ekspresyonunun fonksiyonel düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir.

ENCODE ayrıca çoğunun rolü henüz belirlenememiş olan yaklaşık 9000 küçük kodlamayan RNA tanımlamıştır.

Tekrarlayan diziler

Kompleks ökaryot genomlarının büyük bir kısmı genom başına yüzbinlerce kopya olarak bulunan yüksek tekrarlı DNA dizilerinden oluşur..

Bu diziler ilk kez, hücresel DNA ların denatüre fragmanlarının tekrar birleşme hızları üzerine yapılan çalışmalarda belirlenmiştir...

Tekrarlayan DNA dizileri

TABLO 4.1 İnsan Genomunda Tekrarlanan Diziler

Dizi tipi	Kopya sayısı	Genomun yüzdesi
Basit dizili tekrarlar ^a	>1,000,000	~%10
Retrotranspozonlar		
LINE'ler	850,500	%21
SINE'ler	1,500,000	%13
Retrovirus gibi unsurlar	450,000	%8
DNA transpozonlar	300,000	%3

^a Basit-tekrar dizilerinin kapsamı insan genomundaki heterokromatin yüzdesinden tahmin edilmektedir.

Gen dublikasyonları ve psödogenler

Ökaryot genomların büyük boyutuna katkıda bulunan başka bir faktör bir çok genin, bir kısmı genellikle işlevsel olmayan, çok sayıda kopya olarak bulunmasıdır.

İşlevsel olan gen kopyalarına örnekler; rRNA ve histon genleridir.

Diğer bir örnek birbiriyle ilişkili genlerden oluşan gen aileleridir. Gen ailelerinin atalardan gelen orijinal bir genin dublikasyonu ve ailenin farklı üyelerinin daha sonra evrim sürecinde mutasyonlar sonucunda birbirinden ayrılmasıyla oluştuğu düşünülmektedir. Örnek; hemoglobinin α ve β aileleri gibi..

Gen dublikasyonları ve psödogenler

Ancak bekleneceği gibi tüm mutasyonlar gen işlevini geliştirmez. Bunun yerine bazı gen kopyalarında bir işlevsel gen ürünü oluşturma yeteneğinin kaybıyla sonuçlanan uzun süreli mutasyonlar da mevcuttur.

Örneğin insan α ve β globin geni ailelerinin her birinde mutasyonlarla inaktive olmuş iki gen bulunur ki bu tip işlevsel olmayan gen kopyalarına psödogenler denir. Psödogenlerin, işlevsel bir ürün vermeyen evrim kalıntıları olduğu düşünölmektedir.

Gen dublikasyonları ve psödogenler

Gen dublikasyonları iki farklı mekanizmayla oluşabilir:

(1) DNA'nın bir parçasının **replikasyon yoluyla dublikasyonu** ve bu DNA dizisi bloğunun genomda yeni bir yere transferi ile..

(2) mRNA'nın ters transkripsiyonu ve daha sonra cDNA kopyasının yeni bir kromozomal bölgeye entegrasyonu ile.. Bu tip dublikasyon işlenmiş mRNA vasıtasıyla meydana geldiğinden yeni oluşan dublike gende regülatör diziler ve intron dizileri bulunmaz. Bu nedenle meydana gelen psödogene **işlenmiş psödogen** denir.

Kromozomlar ve kromatin

Ökaryot hücrelerin genomları prokaryotlardan farklı organize olmuşlardır.

Prokaryot genomları genellikle çembersel DNA molekülleridir ve tek bir kromozomda bulunur. Ökaryotların genomları ise her biri bir «doğrusal DNA molekülü» oluşturan çok sayıda kromozomdan oluşur.

Değişik türler arasında kromozomların sayısı ve şekilleri farklı olsa da temel yapıları tüm ökaryotlarda aynıdır..

KONU İLE İLGİLİ ALT BAŞLIKLAR

Kromatin [nükleozom (200 bç), nükleozom kor partikülü (146 bç), kromatozom (166 bç), ökromatin, heterokromatin] Sentromerler, Telomerler .

Ökaryotik hücrelerin kromozom sayıları

Organizma	Genom büyüklüğü (haploit) (Mb)	Kromozom sayısı (haploit)
S.cerevisiae	12	16
Cıvık mantar (Dictyostelium)	70	7
A.thaliana	125	5
Mısır	2200	10
Soğan	15 000	8
Zambak	50 000	12
C.Elegans (nematot)	97	6
Drozofila	180	4
Kurbağa	3000	18
Akciğerli balık	50 000	17
Tavuk	1200	39
Fare	3000	20
İnek	3000	30
Köpek	3000	39
İnsan	3000	23

Kromozomlar ve kromatin

Ökaryotik hücrelerin DNA sı, nükleusta küçük bazik proteinler olan histonlar tarafından gevşek veya sıkı halde paketlenmiş olarak bulunur.

Çoğu ökaryotik DNA nın büyüklüğü düşünülduğünde bu görev oldukça önemlidir. Örneğin bir insan hücresinde DNA nın toplam açılmış uzunluğu yaklaşık 2 m dir ve bu DNA sadece 5-10 mikron çapındaki bir çekirdeğe sığması gerekmektedir...

KONU İLE İLGİLİ ALT BAŞLIKLAR

Kromatin [nükleozom (200 bç), nükleozom kor partikülü (146 bç), kromatozom (166 bç), ökromatin, heterokromatin] Sentromerler, Telomerler .

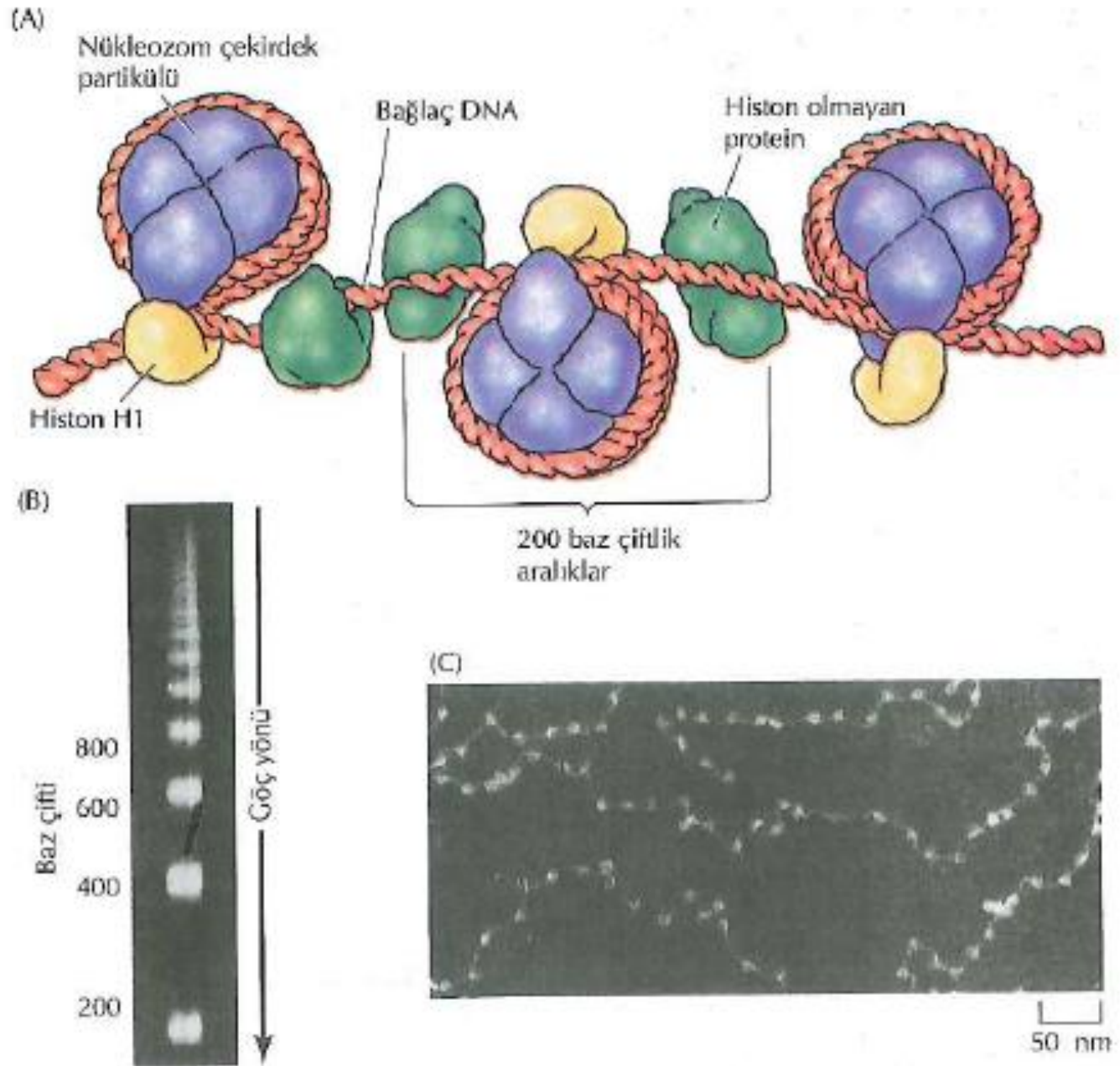
Kromatin

Ökaryot DNA ve proteinlerden oluşan komplekslere kromatin adı verilir.

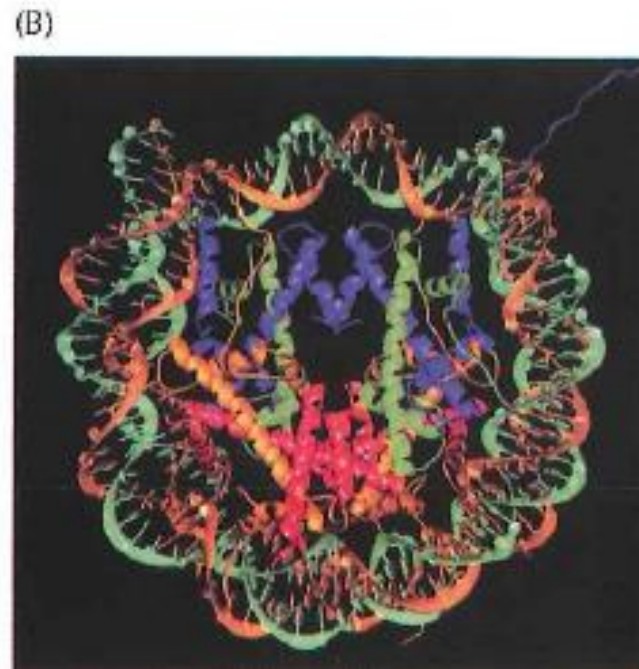
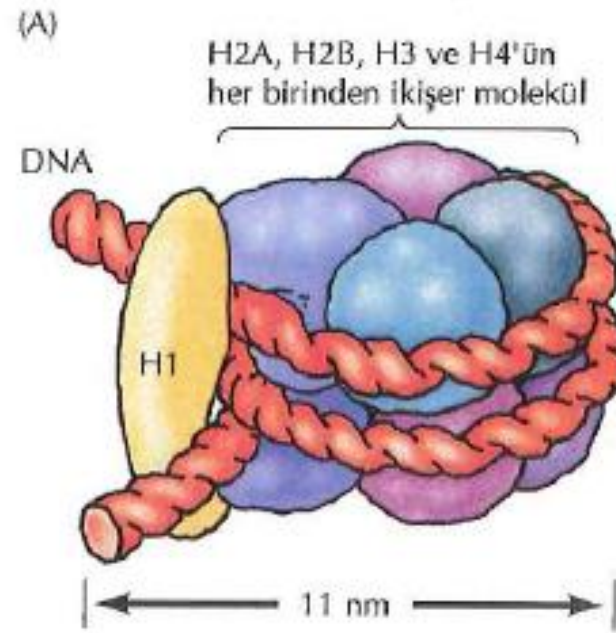
Kromatinin temel proteinleri, negatif yüklü DNA molekülüne bağlanmayı kolaylaştıran bazik amino asitleri yüksek oranda bulunduran küçük proteinler olan histonlardır.. 5 temel tip histon vardır:H1, H2A, H2B, H3 ve H4. Farklı ökaryot türleri arasında çok benzerlik vardır.

Histonlar ökaryot hücrelerde çok bol miktarda bulunan proteinlerdir ve oluşturdukları kütle hücrenin DNA sına hemen hemen eşittir. Kromatin ayrıca yaklaşık olarak eşit kütle oluşturacak şekilde çok çeşitli histon dışı kromozomal proteinleri kapsar. Bu proteinlerin binden fazla tipi vardır ve DNA replikasyonu ve gen ifadesi dahil çeşitli aktivitelerde rol oynar.

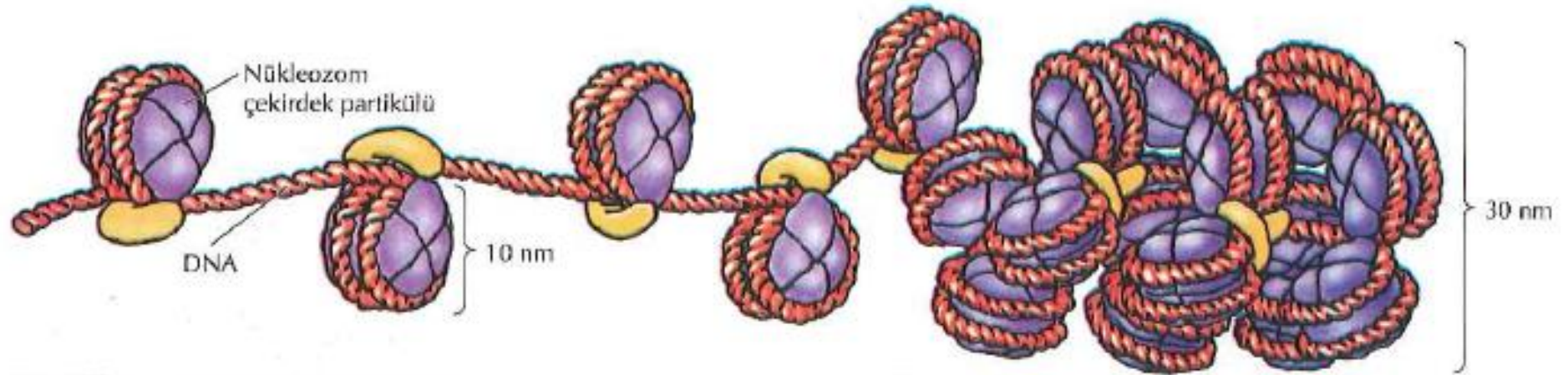
Kromatin



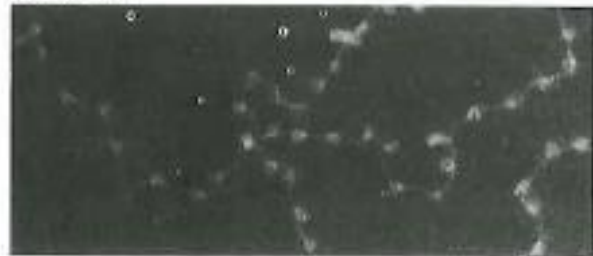
Kromatin



Kromatin



10 nm lif



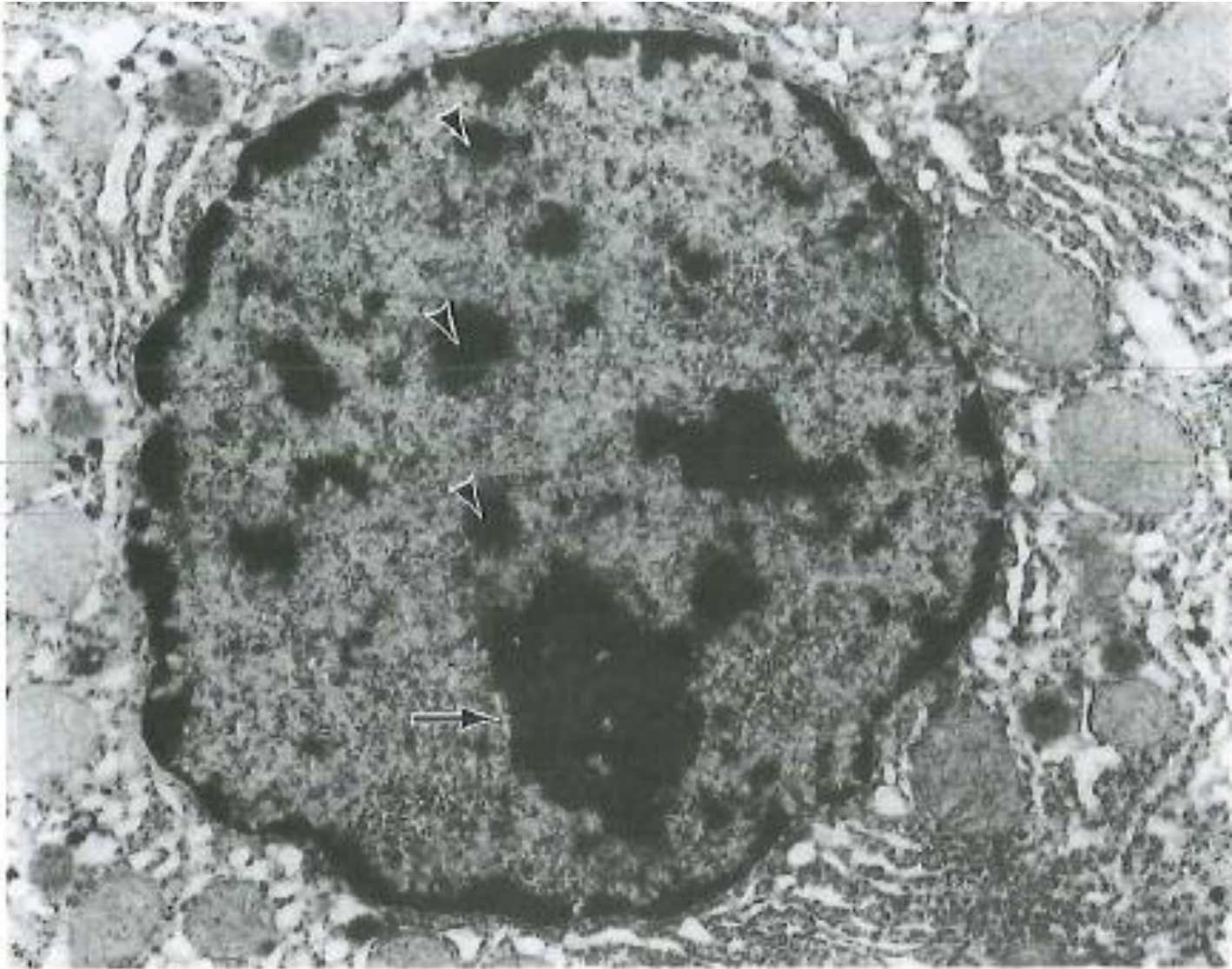
100 nm

30 nm lif



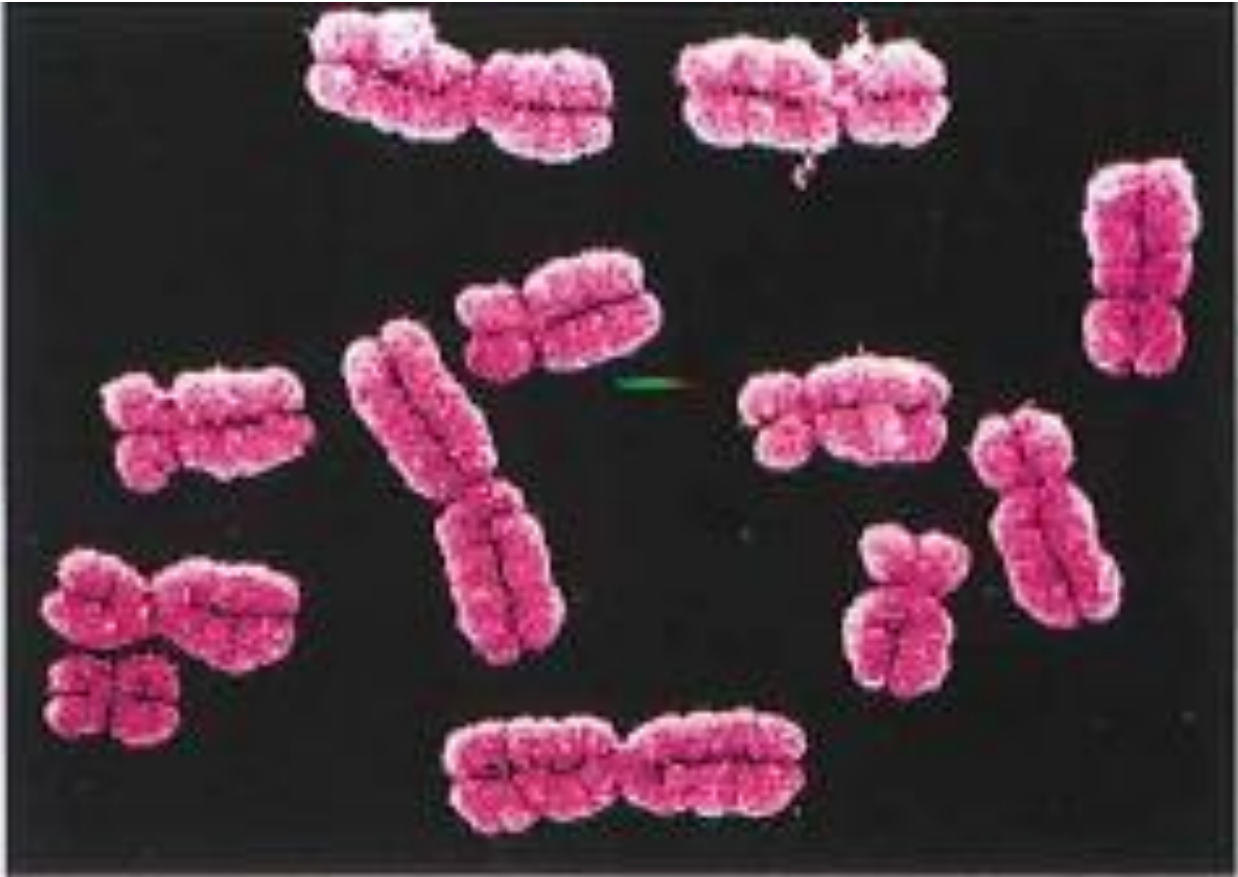
100 nm

Kromatin



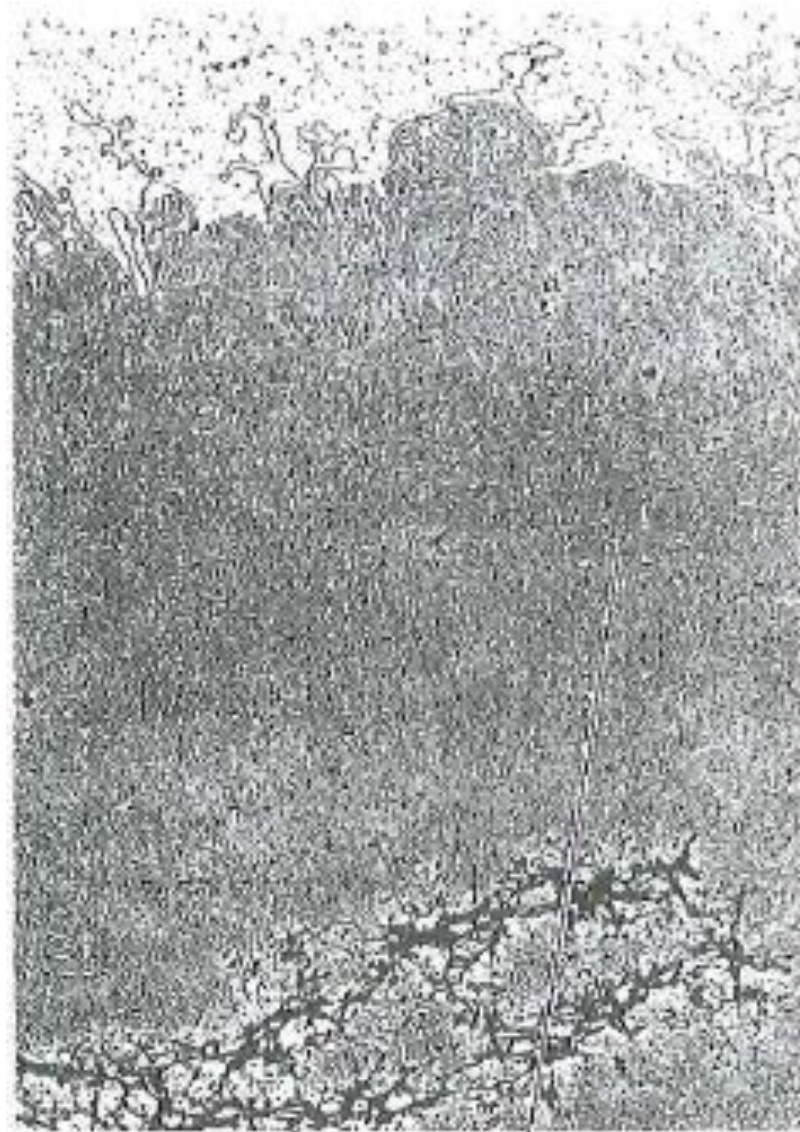
1 μ m

Kromatin



10 μm

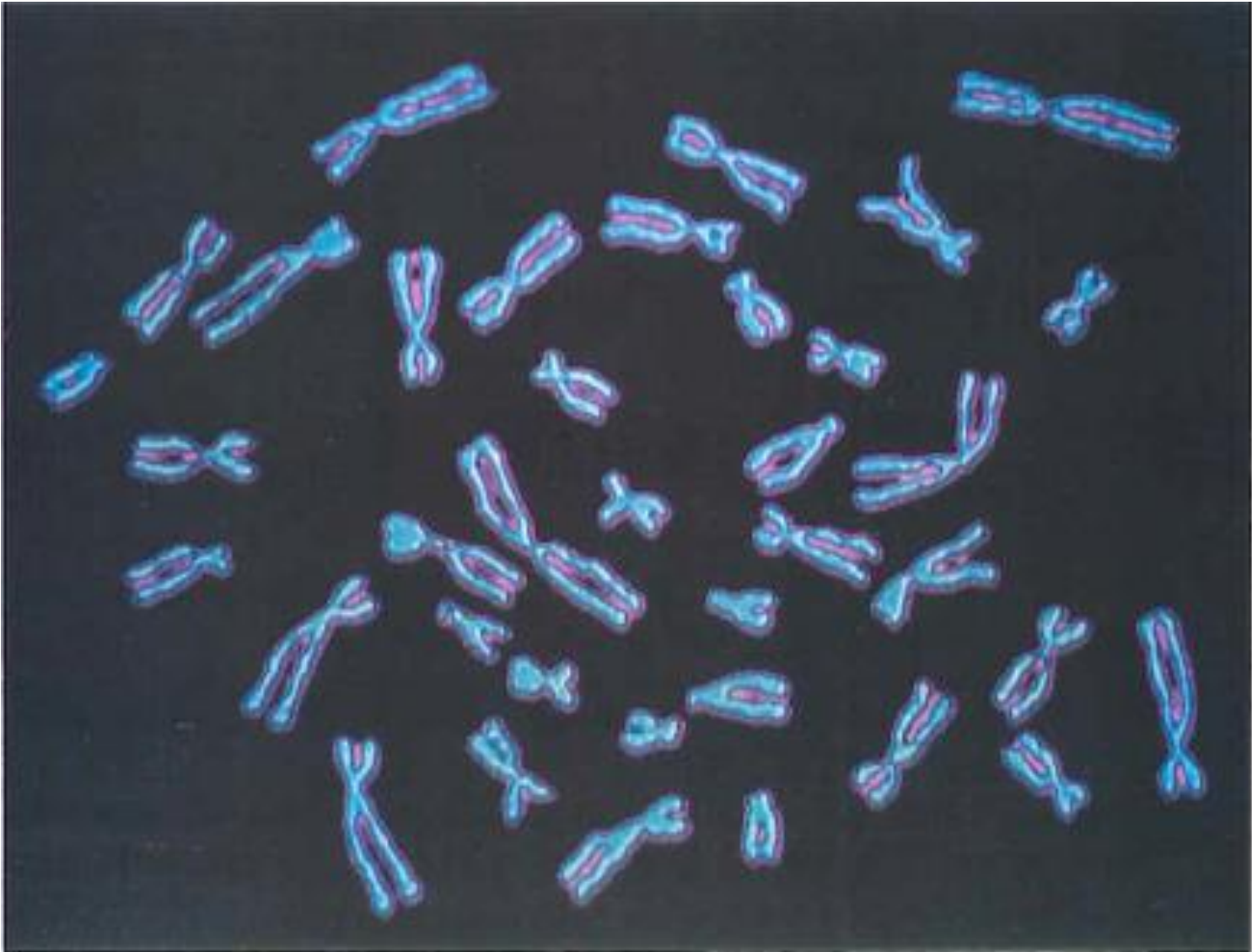
Kromatin



Protein
yapı iskelesi

DNA ilmikleri

Kromatin



Sentromerler

Sentromerler, dublike olmuş kromozomların mitoz sırasında yavru hücrelere doğru dağılmasında önemli rol oynayan kromozomun özelleşmiş bölgeleridir..

HücreSEL DNA interfaz sırasında replike olarak mitozun başlamasından önce her kromozomdan iki kopya oluşturulmasını sağlar..

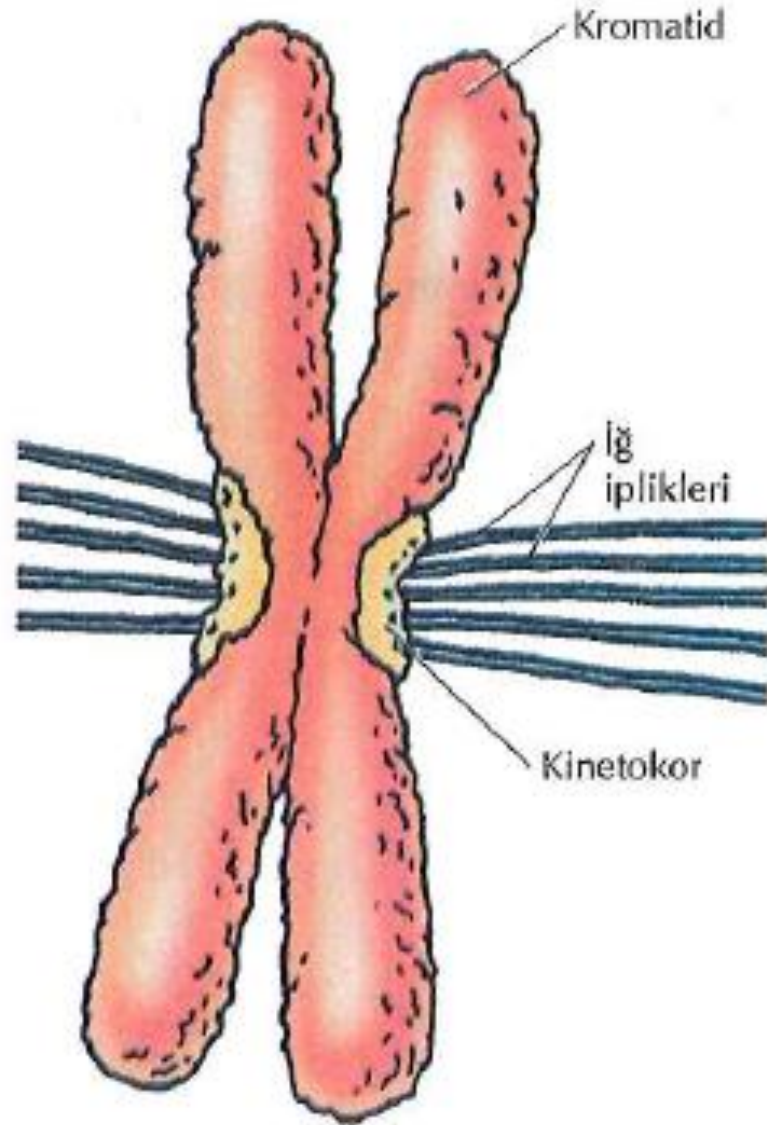
Hücreler mitoza girerken kromatin yoğunlaşması, birbirinin tıpa tıp aynı iki kardeş kromatitten oluşan metafaz kromozomlarının oluşmasını sağlar. İşte bu kardeş kromatitler daralmış bir kromozomal bölge olarak görünen ve sentromer olarak adlandırılan yerde bir arada tutulurlar..

Sentromerler

Mitoz ilerledikçe mitotik için mikrotübülleri sentromere tutunur ve iki kardeş kromatit ayrılıp için karşıt kutuplarına hareket ederler.

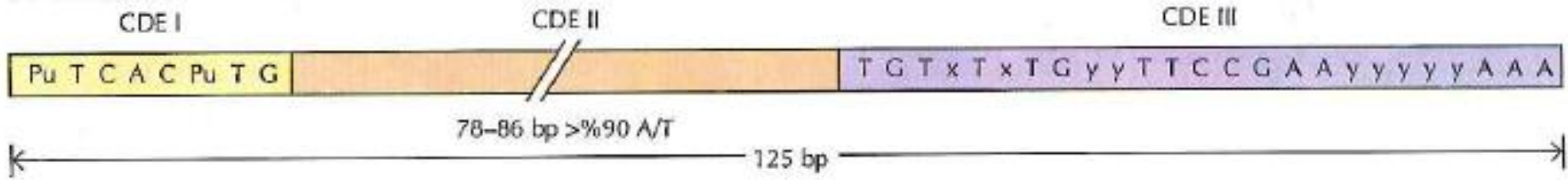
Mitozun sonunda nükleer zarlar tekrar oluşur, kromozomlar gevşer ve böylece her ebeveyn kromozomundan birer kopya içeren kardeş nükleuslar oluşur..

Sentromerler

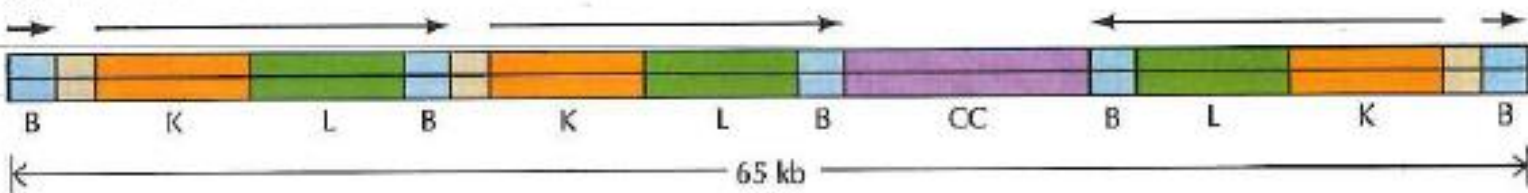


Sentromerler

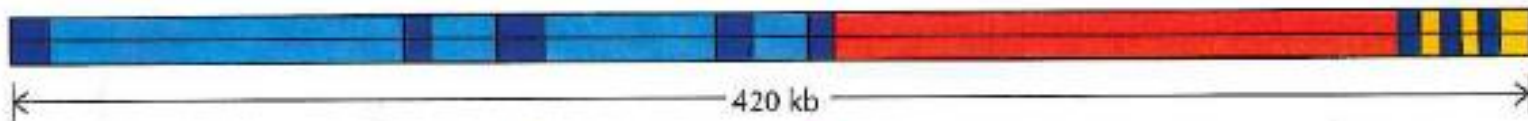
(A) *S. cerevisiae*



(B) *S. pombe*



(C) *Drosophila melanogaster*



■ Transpozonlar ■ AAGAG Uydusu
 ■ AATAT Uydusu ■ Tekrarlanmayan DNA

Telomerler

Ökaryotik kromozomların sonlarında telomerler adı verilen diziler DNA replikasyonu ve kromozom uçlarının korunmasında önemli rol oynarlar..

Telomerler ilk olarak ökaryot hücrelerde kırık kromozomların kalıcı olmaması nedeniyle kromozom uçlarının incelenmesiyle fark edildi..

Telomerler

TABLO 4.4 Telomerik DNA'lar	
Organizma	Telomerik tekrar dizisi
Mayalar	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	G ₁₋₃ T
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	G ₂₋₅ TTAC
Protozoalar	
<i>Tetrahymena</i>	GGGGTT
<i>Dictyostelium</i>	G ₁₋₈ A
Bitki	
<i>Arabidopsis</i>	AGGGTTT
Memeli	
İnsan	AGGGTT

KAYNAKLAR

- “Cooper GM, Hausman RE. The Cell: A Molecular Approach, Seventh Edition” dan çeviri **“Hücre: Moleküler Yaklaşım” kitabı.**
- “Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. Concept of Genetic, 8th Edition” dan çeviri **“Genetik Kavramlar” kitabı.**
- “Nussbaum RL, Roderick RM, Huntington FW, Cornelius FB. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 6. Edition” dan çeviri **“Tıbbi Genetik” kitabı.**
- Passarge E, Renkli **Genetik Atlası.**

**Geldiđiniz ve dinlediđiniz için
teřekkürler..**