

# FARKLILAŐMANIN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Hücre farklılaşma mekanizmaları

# Enhancerlerin Yapısı ve Fonksiyonu

## Enhancerler için gereksinimler

- Promotörlere ilave olarak enhancerler de yakındaki genlerin transkripsiyonunu düzenlemede önemlidirler.
- Bulunan ilk hücrel enhancerlerden birinin immunoglobulin gen transkripsiyonunun hücre spesifikliğini kontrol ettiği görüldü.
- B hücreleri immunoglobulin (antikor) proteinini üreten vücuttaki yegane hücrelerdir

# Enhancerlerin Yapısı ve Fonksiyonu

- Gillies ve ark.(1983) ağırzincirini yapma kaabiliyetini kaybetmiş kültür B lenfosit tümör hücrelerine klonlanmış bir immunoglobulin ağır zincir genini transfer ettiler.
- Bu transfer edilmiş hücreler daha sonra birleşik genle kodlanan ağır zinciri sentezleyebildiler.
- Buna rağmen bu araştırmacılar aynı geni -fakat özel bir intronun küçük bir bölgesini yok ederek- bu defektif B hücrelerine ilave etmiş olsalardı sokulan genin çok az transkripsiyonunu gözlerlerdi.
- Transkripsiyon için gerekli olan intron içerisinde küçük bir enhancer bölgesi vardı.

# Enhancerlerin Yapısı ve Fonksiyonu

- Enhancerler de ayrıca dokuya özgü transkripsiyondan sorumlu olan primer elemanlardır:
- Klonlanmış immunoglobulin genleri B hücrelerinden başka hücrelerin çekirdeklerine sokuldukları zaman transkribe olmazlar.
- Üstelik immunoglobulin ağır zincirinin enhancer bölgesi beta-globin için klonlanmış bir gene sokulduğunda, gen yalnız bir B hücrelerine sokulduğu zaman hemoglobin geninin transkripsiyonunu uyarır.
- Hem cis düzenleyici elemanlar hem de trans düzenleyici faktörler hücreye özgü gen transkripsiyonu için gereklidir.

# Enhancer Fonksiyonu:

## Transkripsiyonun Temporal ve Spatial Biçimleri

- Enhancerler differansiyel olarak düzenlenen genlerin tümünün geçici ve dokuya özgü ekspresyonlarını düzenleyebilir, ve komşu hücre tiplerindeki aktif genler farklı enhancerlere sahiptir.
- Örneğin, pankreasta ekzokrin protein genleri (kimotripsin, amilaz ve tripsin proteinleri için) endokrin protein insülinin geninden farklı enhancerlere sahiptir.
- Bu enhancerler onların kendi genlerinin 5' tarafındaki dizilerde bulunur. Walker ve ark. (1983) bu taraftaki bölgelere bakteriyel kloramfenikol asetiltransferaz (CAT) genini yerleştirmişlerdir, bu enzim ürününün geni memeli hücrelerinde bulunmaz.
- CAT aktivitesini memeli hücrelerinde test etmek kolaydır, ve belirli bir enhancerin fonksiyon yapıp yapmadığını araştırmacılara göstermek için "reporter gen" olarak kullanılmıştır.

# Enhancer Fonksiyonu

- Araştırıcılar sonra bu hibrit geni
- (1) ovaryum hücrelerine (kimotripsin veya insülin salgılamayan),
- (2) bir insülin salgılayan hücre hattına,
- (3) bir ekzokrin hücre hattına transfer etmişler ve bu hücrelerin herbirinde marker enzimin aktivitesini ölçmüşlerdir.
- Şekilde gösterildiği gibi, enhancer dizilerinin hiçbirisi ovaryum hücrelerinde enzimin yapılmasını sağlamamıştır.
- Buna karşın, insülin salgılayan hücrelerde insülin geninin 5' kanadındaki bölge kloramfenikol asetiltransferaz genini eksprese edebilmiştir, fakat kimotripsin geninin 5' kanadındaki bölge yapamamıştır.

# Enhancer Fonksiyonu

- Bunun tersine, klonlar ekzokrin pankreatik hücre hattına yerleştirildiği zaman kimotripsin 5' kanat dizisi CAT ekspresyonuna izin verirken insülin enhanceri bunu yapmamıştır.
- 10 ekzokrin proteinin enhancerinin 20 baz çiftlik bir konsensüs dizisini paylaşması bu benzer dizilerin pankreasın ekzokrin hücrelerinde bu genlerin aktivasyonunda bir rol oynadığını gösterir.
- Bu yüzden, pankreasın ekzokrin ve endokrin hücrelerindeki genlerin ekspresyonunun farklı enhancerler tarafından kontrol edildiği açıktır.

# Enhancer Fonksiyonu

- Enhancerler normal gelişimin düzenlenmesinde kritiktir, ve son on yıldan fazladır, ve diferansiyel gen ekspresyonunun önemini vurgulayan beş genelleştirme yapılmıştır:
- 1. Birçok gen transkripsiyonu için enhancerlere gereksinim duyar.
- 2. Enhancerler hücre tipi (space) ve zaman bakımından diferansiyel transkripsiyonun başlıca belirleyicisidir.
- 3. Enhancerin promotordan nisbeten uzak mesafede olması, belirli bir genin transkribe edilip edilmeyeceğini belirlemek için çoklu sinyaller alabileceğini gösterir. Belirli bir gen ona bağlı olan birkaç enhancer bölgesine sahip olabilir, ve herbir enhancer bir veya daha fazla faktör tarafından bağlanabilip bu faktörler transkripsiyonun uyarılabileceğini mi yoksa inhibe mi edileceğini düzenler).
- 4. Enhancer yerlerine bağlı proteinler ile promotorla birarada olan transkripsiyon aparatı arasındaki interaksiyonun transkripsiyonu düzenlediği düşünülmektedir. Ne bu ilişkinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir ne de biz tüm bu sinyallerin promotorda nasıl biraraya toplandığını kavramış değiliz.
- 5. Enhancerler modülerdir. Spatial ve temporal gen ekspresyonunu sağlayan DNA elemanları vardır, bunlar karıştırılabilir ve birbirine uydurulabilir.



# Enhancer Fonksiyonu

- Örneğin, *Drosophila melanogaster*'in yolk protein enhanceri
- bir genin fat body'de eksprese olmasını sağlayan bir DNA elemanı,
- bir genin ovaryumlarda eksprese olmasını sağlayan bir başka DNA elemanı, ve
- eşeye özgü proteinleri (Doublesex proteinleri) bağlayan üçüncü bir elemanla biraraya getirilmiştir.
- Dişiye özgü Doublesex proteini transkripsiyonu uyarır, erkeğe özgü Doublesex proteini transkripsiyonu baskılar.
- Bu yüzden, yolk protein geni sadece dişi sineğin ovaryumu ve fat body'sinde açılmıştır.
- Fat body'deki ekspresyonun DNA elemanı bu organda eksprese olan bir başka genle paylaşılmıştır, ve Doublesex proteinine bağlanan DNA elemanı benzer şekilde ekspresyonu eşeye özgü olan genler arasında paylaşılmıştır.