

FARKLILAŞMANIN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Hücre farklılaşma mekanizmaları

Basic Heliks-Loop-Heliks (bHLH) Transkripsiyon Faktörleri

- Enhancer ve promotorda DNA-bağlayıcı proteinlerde görülen diğer bir önemli düzenleme bazik Heliks-Loop-Heliks (bHLH) motifidir.
- Kasa özgü transkripsiyon faktörü MyoD ve myogenin bu motifi içerir,
- *Drosophila* 'nın periferel sinir sisteminin hücrelerini belirleyen bir kaç *Drosophila* proteininde olduğu gibi: *daughterless*, *achaete-scute*, ve *extracrochaetae* genlerinin ürünleri de bu motifi içerir.
- *Drosophila* 'nın eşeyini belirleyen genler de bHLH modelini içerir.
- bHLH proteinleri, birinci alfa heliksin önünde yer alan bazik amino asitleri (tipik olarak 10-13) bölgesiyle DNA'ya bağlanır.
- Heliksler her 3. ve 4. pozisyonlarında hidrofobik amino asitler bulundurur, böylece heliksin hidrofobik uçlarının yüzeyi çevreye bakar.
- Bu da proteinin aynı proteinle veya böyle bir yüzeye sahip benzer bir proteinle hidrofobik interaksiyonlarla eşleşmesini sağlar.

bHLH TF

- Son çalışmalar göstermiştir ki, homodimerler (iki identik bHLH proteini arasında) DNA'ya iyi bağlanmazlar.
- Bunun yerine, bHLH proteinleri aşağıdaki paradigmaya göre onların promotor dizilerini tanır.
- Birçok hücrede sentezlenen, iki potansiyel partnerin biriyle bir dimer oluşturabilen ve her yerde bulunabilen bir bHLH proteini vardır.
- Bu muhtemel partnerlerin biri (transkripsiyonu uyaran) *pozitif* düzenleyicidir; diğer partner negatif düzenleyicidir.
- Pozitif düzenleyici bu genel proteinle dimerize olduğu zaman, onun tanıdığı genlerdeki transkripsiyonu uyaran bir aktivatör kompleks oluşturur.
- Negatif düzenleyici bu genel bHLH proteini ile dimerize olduğu zaman, bu aynı gendeki transkripsiyonu baskılayan bir inhibitör kompleks oluşturur.

Kas dokusu gelişimi

- Kas dokusu mezodermden gelişir.
- Örneğin, düz kasın gelişmesinde önce mezenşim hücreleri mitozla çoğalmakta ve kas hücrelerine dönüşmektedirler.
- Çizgili kasın gelişmesi ise biraz daha farklı olmakla birlikte orijini aynıdır; başka bir anlatımla mezenşimaldır.
- Embriyonda somit denen yapılardan miyotomların oluşmasıyla vücuttaki kasların büyük bir bölümü gelişmekte; diğer kaslar ise doğrudan mezenşimden oluşmaktadır.
- Kas lifini oluşturan hücreye **miyoblast** adı verilir. Birçok miyoblastın kaynaşmasıyla lifler ve daha sonra da miyofibriller ortaya çıkmaktadır.

bHLH TF

- Örneğin, proteinlerin MyoD ailesi iki genel bHLH proteininden biriyle- E12 veya E47 proteinleri- kompleks oluşturduğu zaman miyogenezi ilerletmede aktiftir.
- Yine de, MyoD, E12 veya E47 proteinleri **Id** (inhibitor of differentiation: farklılaşma inhibitörü) proteinlerine bağlandığı zaman kas gelişimi inhibe edilir.
- Id proteini HLH motifi içerir, fakat DNA'ya bağlanacak bazik bölgeden yoksundur.
- Id'nin MyoD, E12 veya E47 ile dimerizasyonu bu proteinlerin DNA'ya bağlanmasını engeller, ve hücrelerde Id'nin ekspresyonu MyoD proteinlerinin aktivitesini engeller.
- Id proteini kas hücreleri bölünmekteyken yapılır ve bunlar, miyoblastlar miyotüplere farklılaşmayı başlatmak için hücre devrinden çıktıkları zaman ortadan kaybolurlar.
- Eğer kültüre edilmiş miyoblastlarda Id aşırı eksprese edilirse, bunlar miyotüplere farklılaşmayacaktır.

Basic Leucine Zipper (Lösin Fermuar) Transkripsiyon Faktörleri

- Bazik lösin fermuar (Basic leucine zipper: **bZip**) transkripsiyon faktörlerinin yapısı bHLH proteininkine çok benzerdir.
- bZip proteinleri dimerlerdir, onun altünitelerinin herbiri karboksil ucunda bazik bir DNA-bağlama bölgesi içerir, bu bölgeye yakın birkaç lösin amino asiti içeren bir alfa heliks bulunur.
- Helikte yer alan bu lösinler bir “lösin fermuar” oluşturmak için diğer bir bZip proteini üzerindeki benzer şekilde yerleşmiş lösin amino asitleriyle interaksiyona girerek dimer oluştururlar.
- Bu bölgeyi, transkripsiyonu uyarmak veya baskılamak için promotorla interaksiyona giren düzenleyici bir bölge takip eder.

bZip TF

- C/EBP, AP1 ve maya GCN4 transkripsiyon faktörleri bZip ailesinin üyeleridir.
- Genetik ve X ışını kristalografi metotları Şekil 10-27'de gösterilen bir DNA bağlama modeli üzerinde birleşmiştir.
- Şekilde DNA bağlama bölgesi içeren iki alfa heliks DNA'nın major oluğuna sokulmuştur, her bir heliks identik DNA dizisini bulmuştur.
- Oluşan bağlanma bir makas gibi görünür.

bZip TF

- CCAAT dizisine bağlanabilen birkaç bZip proteini vardır;
- en önemlilerinden birine **CCAAT enhancer-bağlayıcı protein (C/EBP)** adı verilir.
- C/EBP adipogenezde miyogenezdeki miyogenik bHLH proteininkilere benzer bir rol oynar.
- Bölünmekte olan pre-adipoz hücrelerde C/EBP'nin erken ekspresyonu hücre bölünmesinin durmasına ve adipoz fenotipin başlamasına sebep olur.
- (Miyogenik bHLH proteinlerinin tersine, ki bu miyogenik bHLH proteinleri sinir hücrelerini ve fibroblastları kas hücrelerine dönüştürebilirler; C/EBP'nin adipoz neslinden olan hücreleri diğer hücre tiplerine çevirdiği görülmemiştir).
- Adipogenez kültürde başlatıldığı zaman, C/EBP bZIP proteini çok sayıdaki adiposite-özümlü genin enhancerine bağlanır.
- C/EBP'ye karşı antisense mRNA adiposite-özümlü mesajın koordineli ekspresyonunu ve pre-adipositlerin adipositlere farklılaşmasını baskılar.

bZip TF

- C/EBP ayrıca karaciğer hücrelerinde de zengindir ve karaciğere-özgü gen ekspresyonunun başlıca düzenleyicilerinden biridir.
- Fare hepatositlerinde, diğer transkripsiyon faktörleri gelişim sırasında karaciğere özgü genlerin promotor ve enhancer bölgelerine bağlanır.
- Bununla beraber, bu genler doğumdan hemen önce bu hücrelerde C/EBP eksprese edilinceye kadar çok miktarlarda protein (albümin gibi) transkribe edemezler.
- C/EBP proteini tarafından aktive edilen diğer bir karaciğere-özgü gen kan-pıhtılaşma faktörü IX genidir.
- Bu pıhtılaşma faktörü genindeki mutasyonlar hemofili B'ye sebep olur.
- Bazı hastalarda, bu hastalığın sebebini araştırmak için faktör IX geninin promotor bölgesindeki C/EBP bağlama yerindeki mutasyonlar izlenmiştir.
- Bu mutasyonlar bu gene C/EBPnin bağlanmasına engel olur.

Zinc Finger (Çinko Parmak) Transkripsiyon Faktörleri

- DNA-bağlama bölgesinin diğer tipi **çinko parmak (zinc finger)** motifidir. Çinko parmak proteinleri :
- WT-1'i (WT-1 böbrek ve gonadların oluşumunda kritik olan önemli bir transkripsiyon faktörüdür);
- her yerde bulunan transkripsiyon faktörü Sp1'i;
- *Xenopus* 5SrRNA transkripsiyon faktörü TFIIIA'yı;
- Krox 20'yi (arkabeyin gelişiminde gen ekspresyonunu düzenleyen bir protein);
- Egr-1'i (beyaz kan hücrelerinin makrofaj nesline gelişiminden sorumlu);
- Krüppel'i (*Drosophila*'da abdominal hücreleri belirleyen bir protein) ve
- çok sayıda steroid-bağlayıcı transkripsiyon faktörlerini içerir.
- Bu proteinlerin her biri iki veya daha fazla "DNA-bağlayıcı parmaklar"a sahiptir, bunların alfa heliks bölgelerinin merkezi amino asitleri bazik olma eğilimindedir.
- Bu bölgeler ikili olarak birbirine bağlanmıştır ve her biri iki sistein (heliksin tabanında) ve iki iç histidin tarafından koordine edilen merkezi olarak yerleşmiş çinko iyonu ile stabilize edilmiştir.

Zinc Finger (Çinko Parmak) Transkripsiyon Faktörleri

- Kristal yapı, çinko parmakların DNA'nın major oluşuna bağlandığını gösterir.
- WT-1 proteini dört çinko parmak bölgesi içerir ve genellikle fetal böbrek ve gonadlarda eksprese edilir.
- Mutant WT-1 aleline sahip insanlar (genellikle genin veya çinko parmak bölgesinin mutasyonu) ürogenital bozukluklar ve böbreklerde Wilm's tümörü gelişimine sahiptir.
- Farelerde, her iki WT1 geni gen hedefleme yoluyla çıkarılabilir ve ne böbreklere ne de gonadlara sahip farelerin uterusunda ölümüyle sonuçlanır.
- WT1 faktörü böbrek gelişimi sırasında aktif olan birkaç genin düzenleyici bölgesine bağlanır ve ayrıca gelişen böbreklerde bazı büyüme faktörlerinin (özellikle insülin benzeri büyüme faktörü II) ekspresyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir.

Miyogenik bHLH Proteinlerin Düzenlenmesi:

Kas hücre proliferasyonu ve differansiyonu arasındaki şalterin yönetimi

- Miyogenik bHLH proteinleri düzenlemek için onların Id (inhibitor of differentiation; farklılaşmayı inhibe eden proteinler) ile dimerize olmaktan başka yollar vardır.
- Kas hücrelerinin genel olarak proliferasyonlarını bitirinceye kadar farklılaşmadıkları uzun zamandır bilinmektedir.
- Çoğalmakta olan kas hücreleri kasa-özü fenotipi ifade etmezler,
- Kaslar farklılaştıkları zaman artık bölünmezler.
- Büyüme ve farklılaşmanın iskelet kas gelişiminde özel bir durum olduğu düşünülmektedir, ve kas hücresi bir kere hücre devrinden çıkınca, büyüme faktörleri sağlansa bile, geriye dönemez.
- Farklılaşma ve proliferasyon arasındaki böyle gruba özgü ortak özellikler ayrıca nöronların, adipositlerin, kan hücrelerinin ve deri keratinositlerinin de gelişiminde görülür.
- Miyogenez sırasında bu şalter mekanizmasında miyogenik bHLH proteinlerin düzenleyici etkisinin işe karıştığı açıktır.

Miyogenik bHLH Proteinlerin Düzenlenmesi 1

- Bu mekanizmaların birincisi miyogenik bHLH proteinleri ilk ortaya çıktığı zaman erken kas farklılaşmasını önlemekten sorumludur.
- Miyogenik bHLH proteinleri büyüme faktörlerine son derece duyarlıdır.
- Büyüme faktörleri mitozu uyarmak için bulunduğu sürece, hücrelerde MyoD veya Myf-5 proteinleri bulunsa bile miyogenez meydana gelmez.
- Bu bHLH proteinlerinin inaktivasyonu DNA'nın CANNTG (buradaki N herhangi bir bazdır) dizisine bağlanma özellikleriyle ilişkilidir.
- Bu miyogenik bHLH proteinleri niçin fonksiyon yapamazlar?
- Fibroblast büyüme faktörleri(FGF) gibi büyüme faktörleri sadece Id transkripsiyonunu uyarmaz ayrıca protein kinaz C'yi de aktive eder.
- Bu kinaz onların DNA-bağlama yerindeki miyogenik bHLH proteinlerinin fosforilasyonunu uyarır.
- Bu yer fosforile olduğu zaman miyogenik bHLH DNA'ya bağlanmayacaktır.
- Bu yüzden büyüme faktörleri bulunduğu ve alınabildiği sürece miyogenez olmayacaktır.

Miyogenik bHLH Proteinlerin Düzenlenmesi 2

- Düzenlemenin ikinci tipi istenilmeyen yerde MyoD ekspresyonunun engellenmesiyle ilgilidir.
- MyoD en güçlü transkripsiyonel düzenleyicilerden biridir.
- Eğer birçok hücre içinde eksprese edilirse bu hücreler kas olurlar. Bu da onun çok sıkı kontrol edildiğini gösterir.
- Bir mekanizma hücrelere MyoD fonksiyonunun güçlü bir inhibitörünü sentezletmek ve belirli alanlarda serbest bırakılmasını kontrol etmektir.
- Bunun **somitedeki** MyoD'nin ekspresyonundaki durum olduğu açıktır, burada **Twist** dermatom ve sklerotomdaki Myo D ekspresyonunu inhibe eder.

Miyogenik bHLH Proteinlerin Düzenlenmesi

- MyoD ayrıca Notch reseptör proteinlerindeki sinyaller tarafından da baskılanır.
- Aktive olan Notch proteini diğer bir bHLH proteinini kodlayan hes-1 geninin transkripsiyonunu uyarır.
- Bu proteinin MyoD'ye bağlandığı açıktır, ve onun bir kas-uyaran transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon yapma yeteneğini inhibe eder.
- Civciv epiblast hücreleri MyoD'yi eksprese ettiği ve kas olduğu ve kültürde ayrıldığı zaman, bazı juxtacrine hücrelerin epiblastın pluripotensisini elinde bulunduran ve bu ekspresyonu inhibe etmekten sorumlu Notch gibi temas-aracılığı ile sinyali mümkün kılar.
- MyoD genellikle “**master düzenleyici gen**” olarak adlandırılır, çünkü onun ürünü herhangi bir hücreyi kasa dönüştürme yeteneğindedir.
- Paradoks herhangi bir “master kontrol geni”nin egemen olarak düzenlenmiş olmasıdır.
- Bunların ürünleri o kadar güçlüdür ki, hücre onun yanlış hücrelerde ve uygun olmayan zamanlarda ekspresyonlarını önlemek için birçok araçla- birkaç seviyede- değiştirilir.

KAYNAKLAR

- Audesirk, T. and Audesirk, G. (1999) Biology, Life on Earth. Fifth Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey
- Purves, W. K. et al. (1997) Life The Science of Biology. Fifth Edition. Sinauer Associates, Inc., W. H. Freeman and Company, USA
- Gilbert, S. F. (1997) Developmental Biology. Fifth Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts
- <http://www.belgeler.com/blg/11vz/kronik-dejenerasyon-srecindeki-kas-dokusunda-kas-ncl-hcrelerin-inceleme-cesi-characterization-of-muscle-precursor-cells-on-the-course-of-chronic-muscle-degeneration>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10006/>
- <http://cshperspectives.cshlp.org/content/4/2/a008342.short>
- [David Sadava](#) , [David M. Hillis](#) , [H. Craig Heller](#) , [May R. Berenbaum](#). 2014. Yaşam Biyoloji Bilimi, Çevirmenler: [Ertunç Gündüz](#) , [İsmail Türkan](#), [Palme Yayınevi](#)
- Gilbert, S. F. 2013. Gelişim Biyolojisi. 9. Baskıdan çeviri, Çevirmenler: Prof. Dr. Melike Erkan, Prof. Dr. Tülay İrez. Güneş Kitabevi