

Moleküler Hücre Biyolojisi I

Hafta 8: Gen ekspresyonunun kontrolü I

Dr Öğr Üyesi Arzu ATALAY

Çok hücreli organizmadaki aynı farklı hücre tipleri aynı DNAyı içerir

Farklı hücre tipleri farklı mRNA/protein grupları sentezler

Gen ifadesi DNA-RNA-protein yolundaki birçok aşamada düzenlenebilir

DNA sarmalının dışı çift sarmalın açılmasına gerek kalmadan gen düzenleyici proteinler tarafından okunur

**Kısa DNA dizileri genetik anahtarın temelidir:
Bazı gen düzenleyici proteinler ve tanıdıkları DNA dizileri**

**Sarmal-kıvrım-sarmal motifi en basit ve sık rastlanan
DNA bağlama motiflerinden biridir**

**Homeoalan proteinleri sarmal-kıvrım-sarmal
proteinlerin özel bir sınıfıdır**

**DNAya bağlanan çinko parmak motiflerin çeşitli
tipleri vardır**

**Hücre içi almaç ailesindeki çinko parmak dimeri
kendi özel DNA dizisine bağlanır
(glukokortikoid almacı)**

Beta levhaları da DNAYı tanır:

Bakterilerde met baskılayıcı protein metionin sentezini katalizleyen enzimi kodlayan genleri düzenler. DNAYA bağlanabilmek için S-adenosil metionin ile sıkıca bağlı bulunur

Bazı proteinler DNA oluklarına alfa heliks veya beta levhadan ziyade ilmek bölgelerinden bağlanır:

p53 mutasyonlarının yarısından fazlası DNA bağlanma bölgesindedir

Lösin fermuar motifi DNAYA bağlanmaya ve protein dimerleşmesine aracılık yapar

Heterodimerleşme gen düzenleyici proteinlerin tanıdığı DNA dizilerinin sayısını artırır:

Heterodimerleşme bileşik denetimin örneğidir ve ökaryot hücrelerde gen ifadesini denetleme yollarından biridir

Sarmal-ilmek-sarmal (HLH) motifi de dimerleşmeye ve DNAYA bağlanmaya aracılık eder:

Esnek bir polipeptid ile birleştirilmiş iki DNA bağlama alanı içeren Oct-1 proteini

HLH motifi hem dimerleşmeden hem de DNAYA bağlanmadan sorumludur. Solda HLH homodimeri simetrik bir DNA dizisini tanır ve bağlanır, sağda eksiksiz HLH proteinin, DNAYA bağlanan alfa sarmalından yoksun kısalmış HLH ile kurduğu heterodimer görülmektedir. Kısalmış HLH miktarı artarsa aktif HLH homodimer oluşumu ve DNAYA bağlanması engellenmiş olur

Gen düzenleyici proteinler tarafından tanınan bütün DNA dizilerini tam olarak belirlemek henüz mümkün değildir

Gen düzenleyici proteinler tarafından tanınan bütün DNA dizilerini tam olarak belirlemek henüz mümkün değildir:

Farklı çinko parmak ve bunlara ait DNA tanıma dizileri arasındaki diziye özgü etkileşimler incelendiğinde, benzer yapıya sahip olmalarına rağmen farklı dizileri tanır

Jel hareketinde kayma deneyi diziye özgü DNA bağlayan proteinlerin kolayca saptanmasını sağlar

DNA ilginlik kromatografisi diziye özgü DNA bağlayan proteinlerin saflaştırılmasını kolaylaştırır

Bir proteinin bağlandığı DNA dizisi **DNA ayakizi** yöntemi ile belirlenebilir

Bir proteinin bağlandığı DNA dizisi belirlenebilir. Ancak pek çok organizma benzer uzlaşma dizilerine bağlanan benzer proteinler üretir ve bu yöntem onların ayrıştırılması için yeterli olmayabilir.

Filogenetik ayakizi kıyaslamalı genomik kullanarak DNA düzenleyici motifleri tanımlar

Kromatin bağışksal çöktürme yöntemi canlı hücre içinde gen düzenleyici proteinin DNA'ya bağlandığı bölgeleri tanımlar

Genetik anahtarlar nasıl çalışır:

Mayadaki gen düzenleyici devrede üç anahtar düzenleyici proteinin (Mata1, Matalfa1, Matalfa2) kontrol ettiği gen setleri örneğinde, Mat alfa1, Mcm1 ile birlikte kırmızı ile işaretli genleri aktive eder. Matalfa2 Mcm1 ile birlikte mavi renkli genleri baskılar. Mata1 ve Matalfa2 birlikte yeşil renkteki genleri baskılar.

Triptofan baskılayıcısı bakteride genleri açıp kapatan basit bir anahtardır:

E.coli'de triptofan üretiminden sorumlu gen kümeleri tek bir promotor tarafından kontrol edilir, 5 gen bir mRNA ile yazılır

Triptofan baskılayıcısı bakteride genleri açıp kapatan basit bir anahtardır:

Triptofan genlerinin açılıp kapanması hücredeki triptofan seviyesine bağlıdır

Triptofanın triptofan baskılayıcı proteine bağlanması baskılayıcının konformasyonunu değiştirir.

Triptofan bağlanması homeodimerdeki iki tanıma sarmalı arasındaki mesafeyi artırarak baskılayıcının operatöre tam olarak uymasına olanak verir

Özgül gen düzenleyici proteinlerin prokaryotlarda yazılımı denetleme yolları eksi ve artı yönde düzenleme ile gerçekleşir

Bakterilere ait bazı gen düzenleyici proteinler DNA üzerindeki bağlanma noktalarının yerine bağlı olarak hem yazılım etkinleştirici, hem de baskılayıcı olarak işlev görebilir:

Lambda baskılayıcı bazı genlerde RNA polimeraz için uygun bağlanma koşulları yaratırken, bazı genlerde operatör promotöre bir baz çifti daha yakın olduğundan polimeraza yardımcı olmak yerine DNAYA bağlanmak için onunla yarışır

Lac operonunun iki yönlü denetimi glukoz ve laktoz seviyeleri ve bağlandıkları proteinler tarafından sağlanır

Bakteri DNA ilmeklenmesi DNA-protein interaksiyonunu stabilize eder:

Lac operonunun farklı operator bölgelerinin lac baskılayıcısı tarafından düzenlenmesi

Gen düzenleyici proteinler gen ifadesini uzaktan denetler:

İki proteinin DNA çift sarmalında farklı yerlere bağlanması bunların birbiri ile etkileşim olasılığını artırır. DNA'nın esnekliği ortalama bir dizinin her 200 nt çiftinde 90° dönmesine olanak verir

Gen düzenleyici proteinler gen ifadesini uzaktan denetler:

Bakteriyel NtrC proteini sıradışı olmakla birlikte uzaktan etkileşiminde etkili olur, ATP hidrolizi ile geçiş sağlanır.

Bakteriler deęiřtirilebilir RNA polimeraz alt üniteleri ile gen ifadesini düzenlerler:

Bazı bakteri virüsleri viral sigma benzeri faktörlerle virus genlerini düzenlerler

Ökaryot hücrelerde yazılımın denetlenmesi karışıkır:

- Ökaryotlardaki gen düzenleyici proteinler etkiledikleri promotora binlerce nükleotid çifti uzakta bir DNA bölgesine bağlansalar bile etki gösterirler. Bu bir tek promotorun DNA üzerinde dağılmış sayısız düzenleyici dizi tarafından kontrol edildiğini gösterir.
- Ökaryotlarda protein kodlayan bütün genlerin yazılımını gerçekleştiren RNA polimeraz II, yazılımı tek başına başlatamaz. Bunun için promotorda bir araya gelmesi gereken genel yazılım etmenleri denilen bir grup proteine ihtiyaç duyar (Genel=tüm promotorlar üzerinde yapılanan etmenler).
- Ökaryotik DNA'nın kromatine paketlenmesi bakteride bulunmayan düzenlenme olanakları yaratır

Ökaryotlarda gen etkinleştirici proteinler yerel kromatin yapısını değiştirir

Histon asetillenmesi ile yazılım başlamaktadır

Gen etkinleştirici proteinler sinerji içinde çalışır

Ökaryotlarda gen düzenleyici proteinler genelde DNA'nın üzerinde yapılanarak karmaşıklar oluştururlar

Enhansozomlarda DNA belli açı ile bükülerek proteinlerin yapılanması sağlanır. Sadece belirli hücre tiplerinde bulunur.

Ökaryotlarda gen baskılayıcı proteinlerin kullandığı 6 değişik yol:

- 1) DNAYA yarışmalı bağlanma
- 2) Etkinleştirici yüzeyi maskeleyme
- 3) Genel yazılım etmenlerinin doğrudan etkisi
- 4) Baskılayıcı kromatin yeniden biçimlendirme karmaşımının bölgeye getirilmesi
- 5) Histon deasetilazın bölgeye getirilmesi
- 6) Histon metil transferazın getirilmesi

Drosophila gelişimini düzenleyen karmaşık genetik anahtarlar küçük modüllerden yapılmıştır:

Erken embriyodaki dört gen düzenleyici proteinin düzensiz dağılımı görülmektedir

Gelişmekte olan *Drosophila*'da even-skipped (eve) geni tarafından kodlanan protein 7 şeritte farklı ifade olur

Promotor bağlı bulunan bütün proteinlerden gelen uyarıları değerlendirerek yazılımı başlatır

Memeli genlerindeki karmaşık gen denetim bölgeleri de basit düzenleyici modüllerden oluřur:

Memeli genomunun %5-10'u gen yazılımını düzenleyen proteinleri kodlar. Bu kadar çok sayıdaki gen son derece karmaşık bir açı yansıtılmaktadır. Aşağıda gen düzenleyici proteinlerin etkinliğinin düzenlenme yolları yer almaktadır

İnsan beta globin geni için denetim modeli:

Gen düzenleyici proteinlerden bazıları her hücrede bazıları spesifik hücrelerde yer alır.

İnsandaki beta benzeri globin gen kümesi LCR (lokus denetim bölgesi) içerir. LCRın kromatin yoğunlaşmasını düzenlediği düşünülmektedir.

**Yalıtkanlar ökaryotkarda gen düzenleyici proteinlerin uzaktaki genleri etkilemesini engelleyen DNA dizileridir,
Hem heterokromatinin yayılmasını hem de yükselticilerin belirli bir doğrultuda çalışmasını engellerler.**

Drosophilada yalıtkan bağlayan proteinler politen kromozomun bantaralarında ve şişkinliklerin uçlarında yer alır. Genomdaki yalıtkanlar genomu birbirinden bağımsız gen düzenleyici ve kromatin yapısı alanlarına ayırmaktadır