

BiY448

Farklılaşmanın Moleküler Biyolojisi

Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

***Drosophila* gelişimi transkripsiyonel olarak kontrol edilen bir dizi olayın sonucudur**

- Maternal etki, segmentasyon ve homeotik genlerin nasıl etkileştiğini görmek için, şimdi bunların bir *Drosophila* larvasında döllenmemiş yumurtadan başlayarak basamak basamak “inşa”sına bakalım.
- *Drosophila*'daki – ve başka hayvanlardaki – gelişim konusunda en göze çarpan ve önemli gözlemlerden biri her bir değişikliğin bir sonrakini tetiklediği bir dizi değişikliklerden meydana geldiğidir. Bu dizi veya *şelale=cascade*, transkripsiyonla kontrol edilir.
- Genelde, döllenmemiş yumurtalar mRNA'ların bir deposudur, bu mRNA'lar embriyo gelişiminin erken evreleri boyunca protein sentezini desteklemek için döllenmeden önce yapılır. Gerçekten, erken embriyolar transkripsiyon yapamazlar. Birkaç hücre bölünmesinden sonra, mRNA üretimi yeniden başlar.

- Yumurtadaki bu prefabrike (önceden hazırlanmış) mRNA'ların bazıları pozisyonel bilgi sağlar.
- Yumurta döllenmeden önce, bicoid proteininin mRNA'sı, hayvanın anterior ucu olması planlanan uçta lokalize olmuştur.
- Yumurta döllendikten, bırakıldıktan ve çekirdek bölünmesi başladıktan sonra, bicoid mRNA'sı anterior uçtan uzağa gidecek ve bir protein gradienti oluşturacak olan bicoid proteini oluşturmak için tercüme edilir.
- Diğer bir morfogen olan nanos proteini posterior uçta diffuze olur ve başka yönde bir gradient oluşturur. Böylece, gelişen embriyodaki her bir nukleus bicoid proteininin farklı bir konsantrasyonuna maruz kalır ve nanos proteini bicoid proteininin farklı oranına maruz kalır.
- Bu morfogenler ne yapar?

Bicoid ve nanos protein gradientleri pozisyonel bilgi sağlar

- *Drosophila* larvasının uçlarındaki mRNA'ların translasyonu morfogjen ürünlerinin gradientlerine sebep olur, bu da gap genlerinin ekspresyonunu kontrol eder.
- Bicoid proteinin konsantrasyonu embriyonun anterior ucunda en yüksektir. (parlak sarı)
- Bicoid konsantrasyonu koyu mavi posterior uca doğru azaldığı için gradientin rengi oranjdaki kırmızıya dönüşür

- İki morfogen, farklı yollarda olmasına rağmen, gap genlerinin ekspresyonunu düzenler.
- Bicoid proteini transkripsiyonu etkilerken; nanos translasyonu etkiler.
- Yumurtanın anterior kısmındaki bicoid proteininin yüksek konsantrasyonları ***hunchback*** adı verilen bir gap genini açarken aynı anda diğer bir gap geni olan ***Krüppel***'i kapatır.
- Posterior uçtaki nanos ***hunchback***'in translasyonunu azaltır, böylece iki uçtaki gap gen ürünlerinin konsantrasyonlarında fark oluşturulur.

Gap genleri

- Gap genleri tarafından kodlanan proteinlerin interaksiyonları *Drosophila*'da larval vücudun bölgelerini belirler.
- Bu larvada, hunchback (oranj) ve Krüppel (yeşil) proteinleri üstüste gelir ve iki bölge arasında bir sınır (sarı) oluşturur.

- Gap genleri tarafından kodlanan proteinler, çift kural genlerinin ekspresyonunu kontrol eden bir başka transkripsiyon faktörleri grubudur. Bir çok çift kural genleri segment polarite genlerinin ekspresyonunu kontrol eden transkripsiyon faktörlerini kodlar, *Drosophila*'nın segmentli vücut planını andıran karmaşık, çizgili bir kalıp meydana getirir.
- Bu noktada, embriyonun her bir nukleusu – embriyo hala çok nukleuslu tek bir hücredir, veya *sinsityum*'dur – transkripsiyon faktörlerinin ayrı bir grubuna maruz kalır. Larvanın segmentli vücut kalıbı segmentasyonun herhangi bir işareti görünmeden daha önce kurulmuştur.

- Segmentler ortaya çıktığı zaman, bunların hepsi aynı değildir, çünkü homeotik genler yapısal ve fonksiyonel özellikleri farklı olan farklı segmentler verir. Her bir homeotik gen embriyonun karakteristik bir parçasında eksprese edilir.
- *Drosophila*'nın homeotik genleri aynı kromozom üzerinde dizilmiştir – larvanın anterior ucundan posterior ucuna eksprese edildikleri sıradaki gibi aynı sırada dizilmiştir.

Homeotik Mutasyonlar

Büyük-Ölçekli Etkiler Meydana Getirir

- Biçim oluşumunun genetiğini anlamamız homeotik mutasyonlar adı verilen *Drosophila*'daki dramatik mutasyonların keşfiyle başlamıştır, bu mutasyonlarla normal vücut parçaları uygun olmayan segmentlerde oluşturulmuştur.
- İki tuhaf örnek vardır;
- biri antenlerin yerinde bacakların geliştiği ***Antennapedia*** mutant,
- diğeri gözlerin yerinde kanatların geliştiği ***ophthalmoptera*** mutant'tır

- Homeotik genler bir kromozom üzerinde birkaç gruba ayrılır.
- Bunların en iyi karakterize edileni **bitoraks kompleksi**'dir. Bitoraks kompleksinin sekiz veya daha fazla geni sineğin abdomeninin ve posterior toraksının gelişimini kontrol eder.
- Bu bölümün başında gösterilen mutant sinek bitoraks kompleksindeki mutasyonlardan meydana gelmiştir.
- Başın ve anterior toraksın gelişimi, diğer bir homeotik gen grubu olan **Antennapedia kompleksi** tarafından kontrol edilir. İki kompleksin fonksiyonları aslında önemli derecede etkileşir.

- Eğer bitoraks kompleksinin tamamı çıkarılırsa, oldukça anormal olmasına rağmen yine de normal segment sayısına sahip larva meydana getirilir. Yani bitoraks kompleksi segmentlerin sayısını belirlemez.
- Bunun yerine, segmentasyon genleri segmentlerin sayısını ve polaritesini belirler.
- Normal gelişim sırasında homeotik genler segmentasyon genlerinden daha sonra etkilerini gösterirler ve her bir segmente onun ayırıcı karakterini verirler.
- Bu sebeple bunlara **selektör genler** adı da verilir.

Homeobox-içeren genler transkripsiyon faktörlerini kodlar

- 1980'lerin başında İsviçre'de çalışan Gehring ve arkadaşları McGinnis ve Levine,
- ve bunlardan bağımsız olarak Indiana Üniversitesinde Kaufman ve Scott
- rekombinant DNA teknolojisinin tekniklerini kullanarak **Antennapedia kompleksini** çalışmışlardır.

- Bu araştışıcılar *Drosophila*'daki Antennapedia kompleksinin bir üyesi olan ***Antennapedia (Antp)*** genini izole etmeye ve klonlamaya kalkıştılar.
- Bu çalışmanın bir parçası olarak Antp genine hibridize olacak bir DNA hazırladılar.
- Onları şaşırtan, Antp DNA'nın hem Antp geniyle hem de yakındaki bir segmentasyon geniyle (***fushi tarazu*** geni, ***ftz***, Japonca"too few segments") hibridize olmasıydı.
- Antp ve ftz genleri çok benzer DNA dizilerine sahip olmalıydı, çünkü her bir gen parçası aynı DNA ile hibritleşiyordu.

- Daha ileri hibridizasyon çalışmaları göstermiştir ki, DNA'nın bu özel paylaşılan uzantısı ayrıca *Drosophila* genomunun bir başka parçasında bulunan bitoraks kompleksinin *bicoid* geninde ve diğer böcek türlerindeki genlerde de bulunmuştur.
- Gerçekte, **homeobox** adı verilen 180 baz iftlik DNA'nın bu önemli dizisinin, bugün birçok bitki ve hayvanın çok sayıdaki geninin bir parçası olduğu gösterilmiştir.
- Hayvanların homeotik genleri homeobox içerir, fakat bitkilerin organ kimlik genleri homeobox içermez.

- Fareler ve insanlar (en iyi çalışılan iki memeli) homeobox içeren gen gruplarına sahiptirler.
- Bu genler, meyve sineęinde olduğu gibi, hayvanların belirli segmentlerinde eksprese edilir.
- 38 gen dört gruba bölünmüřtür, her biri farklı bir kromozomda bulunur.
- *Drosophila*'da olduğu gibi, bu homeobox genler gelişen hayvanın anterirnden posterirne eksprese edildikleri için her bir kromozom üzerinde aynı sırada düzenlenmiştir.

- Hemen hemen tüm ökaryotlarda bulunan homeobox'ın fonksiyonu nedir?
- Homeobox dizisi bazı proteinlerin bir parçası olan 60 amino asitlik bir bölge olan **homeodomain** için kodlama yapar.
- Bu proteinlerin bazısı transkripsiyon faktörleridir, nukleusa geri dönerler ve DNA'ya bağlanarak başka genlerin transkripsiyonunu düzenlerler.
- Çok sayıda türün yayınlanmış olan DNA dizilerinin kompüter araştırması, homeobox ve mayadaki bazı düzenleyici genlerin parçaları arasında bir benzerlik ortaya çıkarmıştır -bu genler spesifik DNA dizilerine bağlanan proteinleri üretir.
- Homeobox'lı bazı genler, gelişme ilerlerken sadece belirli zamanlarda ve belirli dokularda eksprese edilir, bu proteinlerin gelişmeyi düzenleyip düzenlemediği tartışmalıdır.

- Homeobox'ın insanlar, meyve sinekleri, kurbağalar, nematodlar ve domatesler gibi çeşitli türlerde bulunması ve aynı organizmadaki birkaç gende bulunması ne anlama gelir?
- Bunun varlığı eski (atasal) bir organizmadaki tek bir genin bugün gelişim için yaygın bir kontrol sistemi olan şeyin evrimsel atası olduğu hipoteziyle uyumludur.
- Son gelişme biyolojisi araştırmalarının en şaşırtıcı bulgularından biri, gelişme yollarıyla ilgili bu genlerin korunması olmuştur.
- Gittikçe daha fazla organizmanın DNA dizisi ortaya çıktıkça, bunun gibi daha fazla benzerlikler ortaya çıkmaktadır. İnsan ve meyve sineği gelişiminin son ürünlerinde oldukça büyük farklılıklar olmasına rağmen, temel genetik mekanizmaların oldukça benzer olduğu açıktır.