

FARKLILAŐMANIN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Hücre farklılaşma mekanizmaları

Transkripsiyon Faktörleri

Promotorların ve enhancerlerin trans-düzenleyicileri

- Transkripsiyon faktörleri enhancer ve promotor bölgelerine bağlanan proteinlerdir ve transkripsiyonun gerçekleştiği herhangi bir hücrede sadece küçük bir grup promotorla etkileşir.
- Birçok transkripsiyon faktörleri spesifik DNA dizilerine bağlanabilir, ve bu trans düzenleyici proteinler yapısal benzerlikleri bakımından aileler şeklinde gruplandırılırlar.
- Böyle bir aile içinde, proteinler kendi DNA bağlama bölgelerinde genel bir iskelet yapısını paylaşırlar, ve bağlanma yerindeki amino asitlerdeki hafif farklılıklar onun bağlandığı DNA'nın dizisini değiştirebilir.

Transkripsiyon Faktörleri

- Bu diziye-özgü **DNA-bağlama bölgelerine** sahip olmalarına ilaveten, transkripsiyon faktörleri genin promotoruna veya enhancerine bağlanarak bu genin transkripsiyonunu aktive etmede işe karışan bir bölge içerir.
- Genellikle bu **trans-aktive edici bölge** transkripsiyon faktörünün RNA polimeraz bağlamaya ilgili proteinlerle interaksiyonunu sağlar.
- Bu interaksiyon genellikle onun transkripsiyonal kompleksi inşa etme etkinliğini ve RNA polimeraz II'yi bağlama etkinliğini arttırır.
- Transkripsiyon faktörlerinin birkaç ailesi vardır, ve şimdi başlıca tiplerinden bazılarını burada tartışacağız.

Transkripsiyon Faktörleri

- **Homeodomain Proteinler**
- Trans-düzenleyici faktörlerin en önemli ailelerinden biri **homeodomain proteinler** grubudur.
- Bu proteinler hayvanlar aleminde anterior-posterior vücut ekseninin belirlenmesinde önemlidir.
- Homeodomain bir heliks-ilmek-heliks şeklinde düzenlenmiş 60 amino asitten oluşur, üçüncü heliks DNA'nın major oluğuna uzanarak onu tanır.
- Homeodomainin amino terminal kısmındaki amino asitler de minör oluktaki bazlarla temas eder.

Homeodomain Proteinler

- Bu homeodomain ilk kez *Drosophila*'da segment kimliğini tayin eden proteinlerde görülmüştür.
- Bu proteinlerin mutasyonları bir vücut segmentinin diğerine transforme olmasına sebep olur (homeosis olarak bilinen bir transformasyon).
- *Drosophila melanogaster*'in homeodomain proteinlerinin birkaçı klonlanmış, dizi analizi yapılmış, ve transkripsiyonu düzenleme yetenekleri bakımından test edilmiştir.
- Tabloda dokuz tane homeodomain içeren *Drosophila* proteini ve onları tanıyan DNA dizileri gösterilmiştir.

Homeodomain Proteinler

- Homeodomain içeren proteinler tarafından spesifik promotorların tanınmasının *Drosophila*'nın gelişimi için hayati olduğu gösterilmiştir.
- Örneğin, Bicoid protein, *hunchback* geni üzerindeki promotora bağlanan bir homeodomain transkripsiyon faktörüdür.
- Bu bağlanma *hunchback* geninin transkripsiyonunu aktive eder, oluşan *hunchback* proteini de bir transkripsiyon faktörüdür, ve bu da *Drosophila*'nın başı ve toraksının için oluşumu için gerekli genlerin enhancerlerine bağlanır.
- DNA bağlama yerinin amino asit kompozisyonundaki küçük değişiklikler protein tarafından tanınan DNA dizisini değiştirebilir.
- Treisman ve ark. (1989) homeodomaindeki tek bir amino asiti değiştirerek bu promotoru aktive edebilecek promotorları değiştirebileceklerini bulmuşlardır.

POU Transkripsiyon Faktörleri

- Bazı transkripsiyon faktörleri hem bir homeodomain hem de ikinci bir DNA-bağlama bölgesine sahiptirler (Şekil 10-15).
- Bazı durumlarda, homeodomaine karşılık gelen bu bölge ve ikinci DNA-bağlama bölgesine **POU domaini** adı verilir.
- İlk bilgiler, böyle bölgelere sahip olduğu ilk kez görülen dört proteinden alınmıştır:
- Pit-1 (GHF1 de denir), büyüme hormonu, prolaktin ve diğer hipofiz proteinlerini kodlayan genleri aktive eden hipofize-özgü bir faktör;
- Oct1, octa box adı verilen belirli bir sekiz baz çiftlik diziyi tanıyan genel (her yerde bulunan) bir protein; ve
- Oct2, octa box'ı tanıyan ve immunoglobulin genlerini aktive eden B-hücre-özgü bir protein; ve
- **UNC-86**, nöral hücre kaderinin belirlenmesiyle ilgili bir nematod gen ürünü.

POU Transkripsiyon Faktörleri

- Pit-1'in homeodomaini ATATTCAT dizisini tanırken,
- Oct-2'nin homeodomaini benzer ATTTGCAT dizisini tanır.
- Eğer Pit-1 tarafından tanınan DNA elemanının iki yeri(bazı) değiştirilirse, o bir Oct-bağlama yeri olur ve B lenfositlerinde prolaktin geni eksprese edilir.
- Böylece, bir POU proteini tarafından tanınan enhancerdeki iki baz değişikliği hipofize özgü transkripsiyonu lenfosite özgü transkripsiyona dönüştürür.

POU Transkripsiyon Faktörleri

- **Pit-1** proteini sadece hipofiz hücrelerinde bulunur.
- Büyüme hormonu genleri (hipofizde aktif olan) klonlanıp, hipofiz olmayan hücrelerin nükleer ekstraktına yerleştirildiği zaman, bu genler transkribe edilmezler, halbuki eğer büyüme hormonu genleri ön hipofiz hücrelerinin nükleer ekstraktlarına yerleştirilseydi transkripsiyon gerçekleşecekti.
- Üstelik, nonhipofiz nükleer ekstrakta Pit-1'in ilavesi büyüme hormonu geninin transkripsiyonunu sağlayacaktır.
- Sonra, ön hipofizdeki büyüme hormonu geninin spesifik ekspresyonunun dokuya özgü bir trans-düzenleyici protein tarafından düzenlendiği açıktır.
- Bunun tersine, diğer genler (globinler gibi) Pit-1 bağlama dizisinin yanına klonlanmış ve transgenik fare yapmak için kullanılmıştır, bu genler hipofize özgü transkripsiyon gösterir.

POU Transkripsiyon Faktörleri

- Pit-1 enhancer bağlayıcı protein gelişme sırasında kendi kendine düzenlenir.
- Fare Pit-1 geninin transkripsiyonu ön hipofizin parçası (anlage) olan Rathke'nin kesesinin histolojik görünümünü izleyen bir gün içinde belirlenebilir, fakat bu mRNA'nın proteine translasyonu sonraki 2-3 gün içinde gerçekleşmez.
- Büyüme hormonu mRNA'sı ilk kez Pit1 geni tercüme edildiği zaman belirlenir.

POU Transkripsiyon Faktörleri

- İlginç olarak ön hipofiz hücrelerinin iki tipinde, kortikotropin (adrenokortikotropik hormon veya ACTH olarak da bilinir) sentezleyen kortikotroflar ve gonadotropinleri sentezleyen gonadotroflarda Pit1 mRNA'sı yapılır fakat tercüme edilmeden kalır.
- Sadece somatotrof (büyüme hormonu üreten) , laktotrof (prolaktin üreten) ve tirotrof (tiroid uyarıcı hormon sentezleyen) hipofiz hücrelerinde Pit1 mesajı DNA-bağlayıcı nükleer proteine tercüme edilir.
- Pit1 enhancer bağlayıcı protein sadece bu hücrelerin farklılaşmış ürünlerinin transkripsiyonuna aracılık etmez ayrıca Rathke'nin kesesindeki ön hipofiz hücrelerinin oluşumu için de gereklidir.
- Farelerdeki iki *dwarf* (küçük) mutasyona Pit1 proteinindeki bir mutasyon sebep olur.
- Bu fareler ön hipofizin tirotrof, laktotrof ve somatotrof hücrelerinden yoksundur.

Prolaktin Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesinde Combinatorial İnteraksiyonlar ve İlmekleme

- Prolaktin geni üzerinde Pit1 proteininin aktivitesi transkripsiyon faktörlerinin genel özelliklerini gösterir.
- Birincisi, prolaktin geninin enhanceri interaksiyonları transkripsiyonu düzenleyen birkaç farklı faktöre bağlanır.
- Prolaktin geni süt üretimini uyaran hipofiz hormonunu (prolaktin) yapmak için hamilelik sırasında aktive edilir; bu gen Pit1 ve östrojenin kombinasyonu ile maksimal olarak uyarılır.
- Bu kombinasyon prolaktin sentezinin yerini (hipofiz bezi) ve zamanını (hamilelik ve ondan sonra kısa süre) düzenler.
- Bu sinerjizmin genin enhancer bölgesinde olduğunu gösterilmiştir.
- Pit1 proteini enhancerin bir bölgesine bağlanırken östrojen enhancerin bir başka bölgesine kendi reseptör proteini aracılığı ile bağlanır.
- Bu faktörler birlikte bulunduğu zaman, transkripsiyon her ikisi ayrı ayrı ilave edildiği zamandan daha büyüktür.
- Üstelik tirotroflarda prolaktin genini kapatmak için gerekli olan enhancerin yanında bulunan silencer bölgeleri olarak ortaya çıkarlar (diğer yandan prolaktin geni aktive edilir).
- Böylece Pit1 hedef genlerini düzenlemek için diğer transkripsiyon faktörleriyle birlikte çalışır.

Prolaktin Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesinde Combinatorial İnteraksiyonlar ve İlmekleme

- İkincisi, prolaktin geninin enhanceri ve promotoru arasında sinerjizm vardır.
- Prolaktin geninin enhanceri kendi promotorunu uyaracağı kadar etkili bir şekilde yanındaki başka genin promotorunu uyaracaktır.
- Promotor ve enhancer arasındaki bu sinerjizme enhancer ve promotor bölgeleri arasındaki DNA ilmeklenmesinin sebep olduğu açıktır.
- Rat prolaktin geninde, enhancer onun promotorundan 1300 baz çifti upstreaminde yerleşmiştir.
- Protein-protein interaksiyonuyla biraraya getirilen birleşik DNA'nın bir deneyde kullanılmasıyla, gösterilmiştir ki promotor ve enhancer bölgeler sadece Pit-1 ve östrojenin her ikisi de bulunduğu zaman biraraya getirilir.
- Enhancer üzerindeki hormon-bağlı östrojen reseptörünün enhancer ve promotor bölgeler arasındaki interaksiyonları stabilize ettiği açıktır, böylece promotorun transkripsiyon aparatıyla enhancer-bağlı proteinler (Pit-1 ve östrojen reseptörü) arasında interaksiyon sağlanır.

Prolaktin Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesinde Combinatorial İnteraksiyonlar ve İlmekleme

- Üçüncüsü, Pit-1 proteini kendi sentezini pozitif olarak düzenler.
- Pit-1 proteininin hedeflerinden biri Pit-1 geninin kendi enhanceridir.
- Pit-1 geni (diğer transkripsiyon faktörleriyle) bir kere aktive edilince, Pit-1 proteini kendi enhancerine bağlanır ve Pit-1 gen transkripsiyonunu devam ettirir.
- Pozitif oto-regülasyonun bu tipi, bir hücrenin belirli bir gelişim yoluna girmesi için mekanizma olarak önemlidir.
- Böylece bir kere aktif olan Pit-1 geni hipofiz fenotipini devam ettirir.
- Böyle oto-regülasyon ayrıca MyoD proteininde (Hücreyi kas hücre gelişim yoluna yönlendirir) ve bireyin eşeyini ve segmente-özgü sınırları belirleyen çeşitli *Drosophila* proteinlerinde de görülür.