

# Romalılara ait yollar, tren istasyonları ve kontrolörler: RNA araştırmalarında son buluşlar

RNA çok önemli bir biyolojik molekül olup ders kitaplarında bu molekülden nadiren detaylı bahsedilir. Bu yazı dizisinin ilk makalesinde, Russ Hodge\* RNA konusunda en son yapılan bazı ilginç araştırmaları sunmaktadır.

Tercüme: Hikmet Geçkil\*\*

*Detlev Arendt, Peer Bork ve Florian Raible en hızlı ve en yavaş evrimleşenleri bulmaya çalışıyorlar*



*Sıklıkla aynı RNA alternative formlara işlenerek farklı proteinlerin sentezinde kullanılacak mesajcı RNA'lar yapabilir. İşleme intron adı verilen kodlamaya girmeyen dizilerin kesilip atılmasını içerir. Ancak bazan kodlamaya giren bazı ekzonlar da intronlar gibi kesilip atılır. Bir ekzonun kaybı veya bir ekzonun ilavesi hücrede dramatic etkileri olan farklı formda proteinlerin ortaya çıkmasını sağlar.*

Resim EMBL Photolab'ın izniyle



**E**ski zamanlarda bir Romalının bir tepenin üzerinde durup yeni bir yol için manzaraya baktığını düşünelim. İki bin yıl sonra O Romalının yaptığı yollar günümüzde hala birçok Avrupa şehir ve kırsalında adeta bir cetvelle çizilmiş gibi durmakta olup, sadece en şiddetli doğal afetlerle yer yer bir nebze değişikliğe uğramıştır. 1950 ve 1960'larda bilim adamları hücre içinde farklı moleküller arasında bağlantıları tanımlayan benzer yolların biyolojik haritalarını yaptılar.

**O**nların planı moleküler biyolojinin *sentral dogması* olarak bilinir: "DNA RNA'yı, RNA proteinleri yapar" yazmıştı James Watson not defterine, o ve Francis Crick DNA'nın yapısı üzerine çalışmalarına başladıkları zaman. Bu iki adam dogma teorileri ile hücrenin esas molekülleri arasında yeni bir ilişki ileri sürdüler-*bilginin nükleik asitlerden proteinlere tek yönlü akışı*. DNA çift sarmalını keşiflerinden hemen sonra; Crick bir konferansla dogmayı moleküler biyolojinin büyük bir araştırma planı olarak sundu (Crick, 1970): bilim adamları bu transformasyonların nasıl olduğunu açıklayacak mekanizmalar için zaman ayırmalı idiler. 1970'lerin sonuna doğru RNA ve proteinlerin nasıl oluştuğuna dair temel şeyler bilinmeye başlanmış olsa da,

doğrusal tek bir yolun hücrenin kimyasını açıklamaya yetmeyeceği açık şekilde görüldü. Aynen eski Romalılardan kalma yollara eklenen ve onların dallanmasına sebep olan günümüz modern yolları gibi, genler ve proteinler arasında da yeni sapmalar keşfedildi. Başlangıçta bunların dogma için basit istisnalar olduğu sanıldı; fakat aynı zamanda bu istisnaların kompleks organizmalarda birçok biyolojik olay için yaygın ve önemli oldukları anlaşıldı. Bulguların bazıları henüz ders kitaplarına girmeyecek kadar yeni olup, öğretmenler tarafından bilinmemektedir. Bu yazı *Science in School* için hazırlanmış bir serinin ilk makalesi olup bu en son araştırmaları kapsamaktadır.

**E**n ilginç bulguların bazıları bir zamanlar protein yapımında son bir araç gözü ile bakılan RNA konusunda olmuştur. Son 10 yılda bu moleküllerin hücrenin kendi genomundaki bilgiyi kontrolde hayati rollerinin olduğu saptanmıştır. RNA'ların nasıl kullanıldıklarının anlaşılması, hastalıkların daha iyi kavranması ve RNA'ların bozuk genlerin etkisine karşı kullanılmasını mümkün kılacak tedavi amaçlı kullanımları dahil birçok yeni biyoteknolojik uygulamalarını gündeme getirdi.

## Alternatif kesilim

**S**antral dogmanın RNA'sı *mesajcı RNA* olup, proteinlerin yapımında kalıp olarak kullanılır. Ökaryotlarda mesajcı formunu kazanmadan önce RNA'ların işlenmesi gerekir. Taze yapılmış RNA'lar taşıdıkları malların müşterilerin arzusuna göre sınıflanması gereken birçok vagondan oluşan uzun bir trene benzetilebilirler. Boş vagonlar ayrılır, öndeki veya arkadaki dolu vagonlar birleştirilir. Boş vagonların hücrenel karşılıkları genlerde bulunan uzun protein kodlamayan bölgeler olan *intronlardır*. Protein kodlayan DNA dizileri *eksonlar* olarak adlandırılırlar. Sıklıkla bir eszon bir proteindeki bir modül (bölge) için bigi taşıır.

**B**unlar bile çoğu zaman kullanılmazlar. Bir müşteri istemediği mallarla dolu vagonların da boş vagonlarla beraber trenden ayrılmasını isteyebilir. Ve bir hücre bir belli bir proteindeki tüm modüllere gereksinim duymayabilir. Bu nedenle çeşitli ekonlar biri birine bağlanarak farklı formlar ortaya çıkarabilir. Sıklıkla aynı RNA alternative formlara işlenerek farklı proteinlerin sentezinde kullanılacak mesajcı RNA'lar yapabilir. İşleme intron adı verilen kodlamaya girmeyen dizilerin kesilip atılmasını içerir.

Ancak bazen kodlamaya giren bazı eksonlar da intronlar gibi kesilip atılır. Bir ekzonun kaybı veya bir eksonun ilavesi hücrede dramatik etkileri olan farklı formda proteinlerin ortaya çıkmasını sağlar.

**Alternatif işlenim** denen bu olay 1977 yılında New England Biolabs (ABD)'den Richard Roberts ve Massachusetts Institute of Technology (ABD)'den Phillip Sharp tarafından ayrı ayrı keşfedildi (Berget et al., 2000). Bu buluş o kadar önemli idi ki, sahiplerine 1993 Nobel Fizyoloji ve Tıp Ödülünü kazandırdı<sup>w1</sup>. Bu sıralarda işlenimin pek de sık görülen bir şey olmadığı sanılıyordu; Sharp insane genlerinin yaklaşık % 5'inin bu tür bir işlenime gidebileceğini hesaplamıştı. İnsan genom dizisinin bütünü, ortalama bir insan geninde hepsinin bu işlenimle kesilip atılmaları gereken 8.4 introna sahip olduğunu göstermiştir. Her ne kadar bazı insan RNA'ları daima aynı yolla işlense de, bilim adamları en az % 75'inin alternatif işlenime gittiklerini tahmin etmektedirler.

**İnsan genleri** diğer birçok organizmanınkinden çok daha fazla sayıda introna sahiptir; sinek ve diğer böcekler için gen başına intron sayısı ortalama 2.4 ile 5.4 arasında değişmektedir. (buna rağmen, en son dünya rekoru meyve sineğinde bulunan ve *dscam* adı verilen bir gene ait olup bu gen 38,016 adet farklı protein yapabilir.) Bazı bilim adamları insan genlerindeki yüksek sayıda intronun zamanla kompleksliğe doğru gidildiği analımını çıkarmışlardır. Ancak, Almanya Heidelberg'deki Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı (EMBL)'nden Detlev Arendt ve Peer Bork ve gruplarının çalışması böcek ve omurgalıların eski

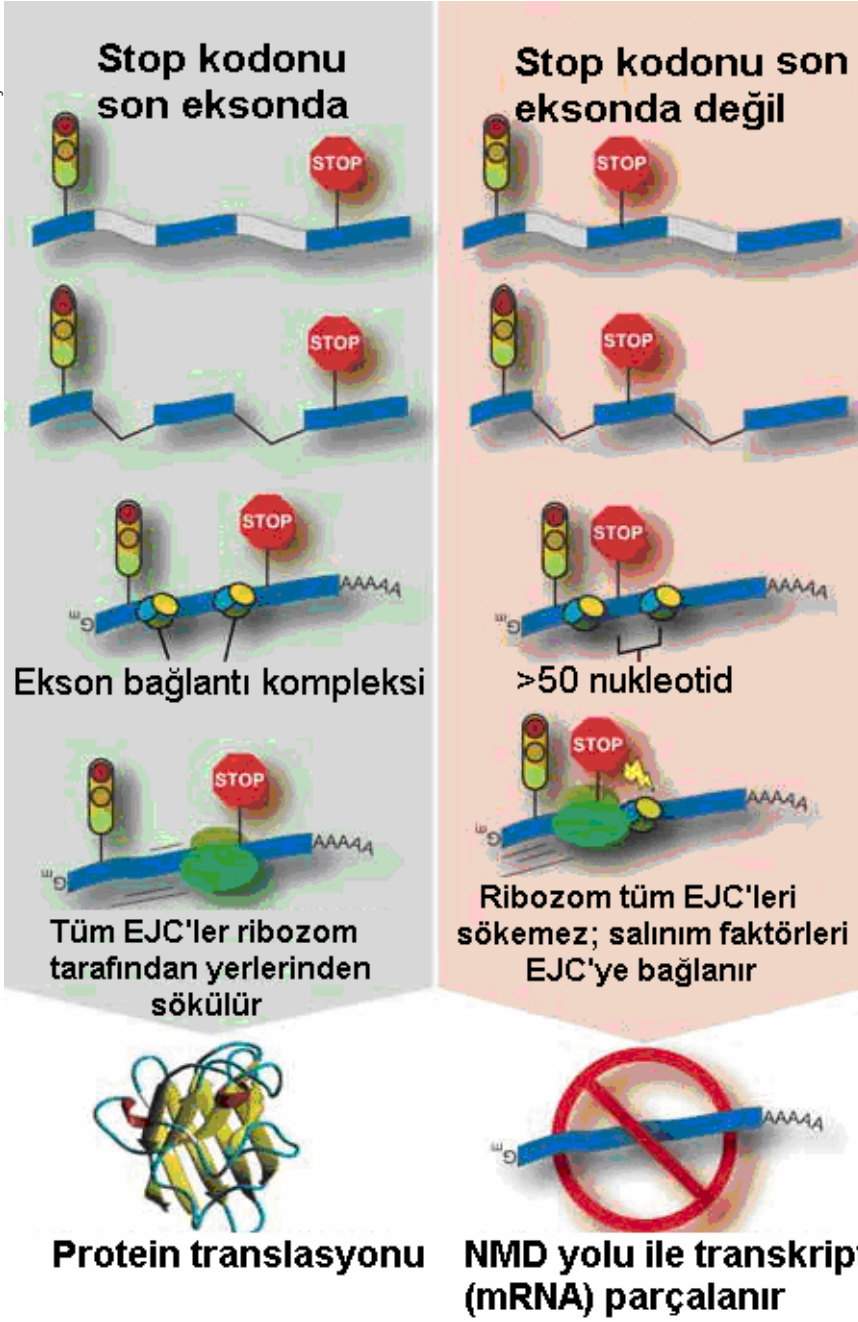
atalarının genlerinin insanlardaki gibi çok sayıda intronlara sahip olduklarını göstermiştir (Raible et al., 2005). Genler sinek ve diğer hızlı çoğalan türlerde evrim süreci boyunca daha dinamik bir yapı aldılar.

**Bir** gendeki intronların toplam uzunluğunun ekzonlarla kıyaslanmasından da türler arasında ilginç farklar görülmektedir. Bir kurtçuk olan *Caenorhabditis elegans* ve birçok diğer türde intronlar ve ekzonlar aynı sayıda "harf" (nükleotid) içerirler. Bu durum insanda oldukça farklıdır: bir gendeki intronlar toplam onbinlerce nükleotid içerebilir ve ortalama olarak ekzonlardan 5 kat daha uzundur. Bu, Harvard Üniversitesi (ABD)'den Cristian Castillo-Davis ve Biyoteknoloji Bilgisi için Ulusal Merkez (ABD)'den Eugene Koonin ve Fyodor Kondrashov'un çalışmalarından anlaşıldığı kadarı ile insane genlerinin evrimi üzerinde büyük etkiye sahip olmuş olmalıdır (Castillo-Davis et al., 2002). RNA transkripsiyonu yavaş ve enerjice pahalıya mal olan bir olaydır: birçok intronu olan tek bir genden RNA'ların yapımı birkaç dakikaya ve binlerce ATP molekülüne gereksinim duyabilir. Araştırmacılar, sık kullanılan genlerin intronlarının seyrek kullanılan genlerdeki göre ortalama 14 kat daha kısa olduklarını belirlemişlerdir. Vardıkları sonuç: en yaygın kullanılan genlerde zaman ve enerji tasarrufu için doğal seçimle intronlar kısaltmaya devam etmektedir.

**Bir** kere alternatif işlenim için hücre mekanizma gelişince, o birçok farklı şekillerde kullanıma sokulabilirdi. Modüllerin eşleşmesi ve karıştırılması farklı özellikte proteinler üretirler.

Özellikle farklı dokuların gelişmesinde bunlar farklı tipte hücre ve şekillerin ortaya çıkmasında önemli roller oynarlar. Tavukların kulağında *Slo* adı verilen alternatif işlenimle farklı frekanslarda sesleri işleme duyusu gelişir. Sineklerde üç adet kritik protein erkek ve dişide farklı işlenerek cinsiyetler arasında önemli farkların oluşmasını sağlarlar. Dişiler iki adet X, erkekler bir adet X kromozomuna sahip oldukları halde, bu proteinler sayesinde dişilerdeki X kromozomlarındaki genler erkeklerin tek X kromozomu üzerindeki genlerden iki kat fazla protein üretmezler. Brown Üniversitesi (Rhode Island, ABD)'den Diane Lipscombe ve arkadaşları alternatif işlenimin özellikle fare ve diğer memelilerin beyinlerinde yaygın olduğunu keşfetmişlerdir (Lipscombe, 2005). Moleküllerin bazıları hafıza ve öğrenmede kritik önemlere sahiptir.

**Geniş** bir hastalık yelpazesinde işlenim bir faktördür. *Neurofibromatosis* adı verilen sinir ve diğer dokularla beraber gelişen şiddetli bir genetik hastalıkta hastaların yarısında *neurofibromin* genindeki mutasyonlardan dolayı alternatif işlenimle yapılan RNA'ların üretiminde değişiklik görülür. Anemi ile kendini gösteren beta-talasemi hastalığında, hastalık hastaların kırmızı kan hücrelerinde fonksiyonel olmayan beta-globin proteinlerinin üretimi ile olur; bu şiddetli hastalık ilgili genin yanlış işlenmesi ile olur. *BRCA1* (göğüs kanseri ile bağlantılı gen) ve *CFTR* (kistik fibrozis ile bağlantılı gen) genlerindeki değişimler diğer örnekler olarak verilebilirler. Eksonlarda hastalıkla ilgili mutasyonların yaklaşık % 50'sinin RNA'nın nasıl işlendiği ile ilgilidir. Tümör ve nörodejenaratif hastalıklarda normalde



sağlıklı dokularda bulunmayan olağandışı işlenmiş RNA'lar bulunur.

### Kalite kontrolü

1979 yılında CNRS (Strasbourg, Fransa)'dan Regine Losson ve François Lacroute hücrelerin RNA'ları denetleyen ve kalite kontrolü yapan bir sisteme sahip olduklarını keşfettiler (Losson & Lacroute, 1979). Yaklaşık otuz yıldır yapılan

çalışmalar bu sistemin mükemmel çalışmadığını, fakat ökaryotik hücreleri birçok mutasyonun zararlı etkisinden koruduğunu ortaya koydu.

Genlerde meydana gelen ve bir proteinin şekil, yapı ve fonksiyon bozukluğu ile kendini gösteren değişiklikler hücrede kötü etkiler ortaya çıkarırlar. İşlenmede meydana gelen hatalar da böyle sonuçlar doğurabilirler ve

anlamsız-aracılı mRNA bozulması (İng. *nonsense-mediated mRNA decay* (NMD)) adı verilen denetleme sisteminin her zaman alarında olması gerekir. Her ne kadar bilim adamları NMD'yi nukleusta olan RNA işlenmesi ile ilgili olarak belirlemişlerse de, bu denetleme olayı bir RNA sitoplazmaya girmeye başladığında gerçekleşir (Sun et al., 2000). Takip eden vagonlardan hangilerinin boş olduğunu göstermek için bir vagona yapıştırılmış işaretler gibi hücre bir küme proteini intronların kesilip atıldığı bölgelere bağlar. Bu protein kümesi en az altı proteinden meydana gelmiş olup *ekson bağlantı kompleksi* (İng. *exon junction complex* (EJC)) olarak bilinir. Bu kompleks işlenim bölgelerinde konumlanmış olup, bulunduğu pozisyon RNA'nın son hali üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

Potansiyel olarak zarara sebep olabilecek proteinlerin yapımını önlemek için, bir stop kodonundan yaklaşık 50 nukleotid sonra bulunan EJC'ler NMD'ler tarafından tanınır. Translasyon olayı kesilir ve diğer moleküller gelip RNA'yı uzağa taşıyarak onu parçalanmaya sunar. Fakat bazı RNA'lar NMD denetiminden kaçabilir ve zararlı proteinler üreterek hastalıklara sebep olabilirler. Hatta NMD denetimi çalışsa bile sonuç yine de hastalık olabilir. Çünkü, bu denetim hücre için gerekli ancak hasar görmüş bir RNA'yı ortadan kaldırabilir. 1989 yılında Roswell Park Memorial Enstitüsü'nden (New York, ABD) Lynne Maquat'ın laboratuvarı NMD'nin batı dünyasında en yaygın görülen genetik hastalıklardan biri olan beta-talasemi'ye katkıda bulunduğunu ortaya koydu. Beta-talasemi kanda oksijeni

taşımadan sorumlu hemoglobinin üretimini azaltır.

**H**astalık insanlarda beta-globin denen gende bir mutasyon sonucu ortaya çıkar; NMD mutasyonu yakalar ve beta-globin RNA'sını parçalanmaya sunar. Bu önemli bir molekülün ortadan kalkması anlamına gelir. Bu durumda, normalde bir güvenlik mekanizması olan NMD esasen vücudun kendisine saldırmış olur.

Son yıllara kadar NMD, hatalı RNA'ları yakalayan bir araç olarak görüldü; şimdi onun bazı moleküllerin nicelik ve niteliğinin kontrolünde daha genel bir araç olduğu anlaşılmaktadır. Bunun nedeni normal alternatif işlenim mekanizması ile bazen anlamsız kodonlara sahip RNA'ların üretilmesidir; bazı nedenlerden, kes-ve-yapıştır sistemi bir RNA'nın ortasında anlamsız bir kod üretebilir. 2004 yılında University of California (Berkeley, ABD)'den R. Tyler Hillman, Richard Green ve Steven Brenner bilgisayar analizi ile alternatif işlenimin yaklaşık yüzde 30 oranla bir kesim bölgesinin 50 nükleotid önüne bir stop kodunu oyduğunu hesaplamışlardır. Bu NMD'yi aktive eder ve o da RNA'nın çoğunu proteinlere dönüşmeden ortadan kaldırırlar (Hillman et al., 2004).

**A**ynı yıl John Hopkins Üniversitesi Tıp Okulu'ndan (Maryland, ABD) Harry Dietz'in grubu bu etkiyi memeli hücrelerinde çalıştı. Araştırmacılar denetim sistemi için gerekli olan ve Upf1 adı verilen bir proteini uzaklaştırarak NMD sistemini kapattılar. Bu büyük sayıda genin hareketini etkiledi: onların çalıştıkları genlerin % 10'u daha üretken olmuştu. Bunun muhtemel nedeni normalde NMD ile yakalanıp parçalanacak işlenmiş formların sistemin yokluğunda kontrolden kaçıp proteine ifade edilmeleri olarak düşünülmüştür.

**B**u alternative işlenim gibi NMD'nın genler ve proteinler arasında yaygın kullanılan bir ara-yol olduğunu göstermektedir. Bunlardan daha bir çok olup *Science in School*'un gelecek sayılarında tartışılacaklardır. Eğer merakınız çok büyükse, işte sizi meşgul edecek bir bilmece: Mor petunyalarn rengi tek kopya olarak bulunan özel bir genden kaynaklanır. Bu genden ikinci bir tane petunya çiçeklerine aktarırsanız sonuç ne olur?

