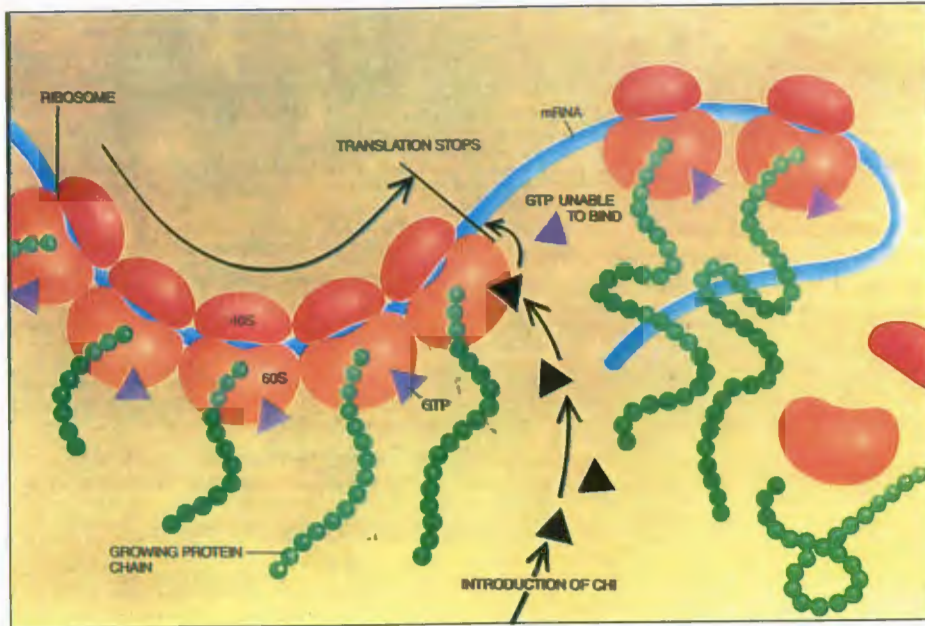
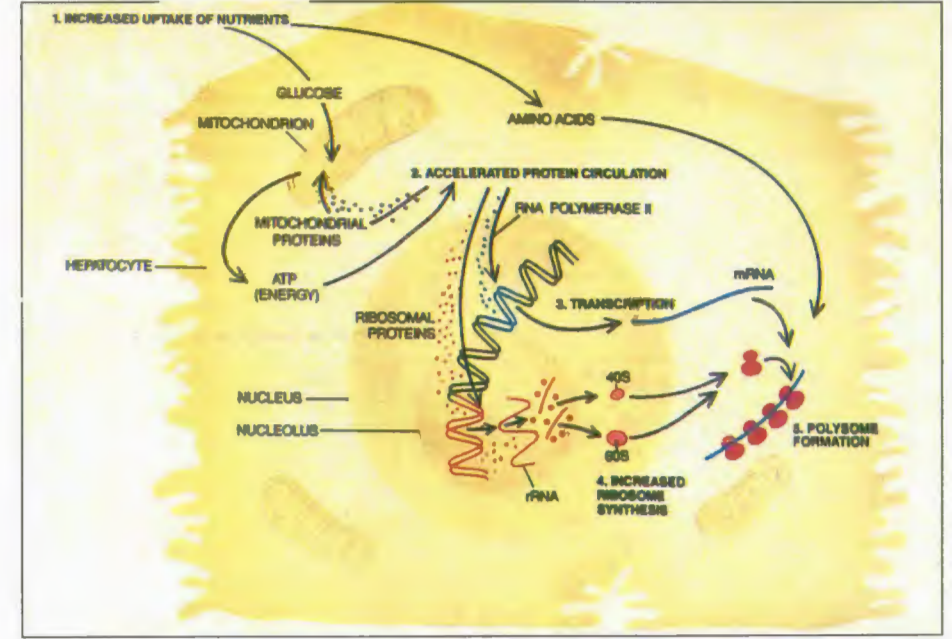


HÜCRE KARARLILIĞI

Doç. Dr. Adil Denizli
H.Ü. Kimya Böl.
Biyokimya ABD Başkanı
Ahmet Gürzumer
H.Ü. Biyomühendislik ABD



Hücrelerin protein sentezinin baskılanmasına nasıl tepki gösterdiğinin belirlenmesi için Sikloheksimidin (CHI) ilacı seçilmiştir. CHI, protein sentezinde translasyon (polizomlar üzerine amino asit zincirlerinin takılması) adı verilen basamağı engeller. Polizomlar, eşzamanlı olarak mRNA molekülü boyunca ilerleyen ve herbiri mRNA'ca belirlenmiş amino asitlerle beraber dizilmiş çok sayıda ribozomdan oluşmuştur. CHI, 60S ribozomal altbirime bağlanarak ve böylece mRNA'nın ribozomal hareketi için gerekli enerjisi sağlayan guanozin trifosfat (GTP) tarafından bağlanmayı önleyerek translasyonu durdurur.

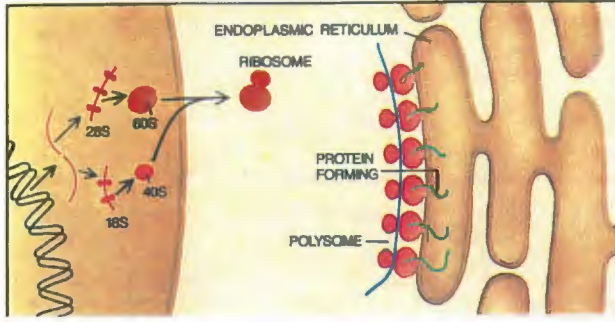


Karaciğer hücreleri tarafından CHI'ya erken tepki, translasyon orta derecede engellendikten sonra yeniden normal aktivite kazanmasına yardımcı olur. Besin alımı artar (1), polizomlara amino asit, mitokondriye glikoz sağlar. Daha sonra mitokondriden gelen enerji, proteinlerin iç döngüsünde artışı kolaylaştırır (2). Mitokondriyal proteinler mitokondriye doğru gider; RNA polimeraz II, genlerin mRNA'ya transkripsiyonu yönetmek üzere çekirdeğe doğru hızlanır (3); ve ribozomların protein kısıtılan, ribozom altbirimlerini oluşturmak üzere ribozomal RNA ile (çekirdekçik içinde yapılmış olan) birleşir (4). mRNA molekülleri ve yeni üretilmiş ribozomlar yeni polizomlar oluşturmak üzere stoplazmada birleşirler (5).

Cok hücreli canlıların yaşamlarını sağlıklı bir şekilde devam ettirebilmeleri, sahip oldukları hücrelerin en azından kendi yaşamlarını sürdürece kadar protein sentezleyebilmesine bağlıdır. Hücrelerin bölünme evresi dışındaki istirahat dönemlerinde protein dengesini nasıl sağladığı ve protein sentezini nasıl baskıladığı araştırılmış ve protein sentezi baskılama mekanizması açıklanmıştır. Ayrıca aşırı baskılamanın kansere kadar varan ters etkilere neden olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Siçanların en önemli karaciğer hücresi olan hepatositeler, sürekli olarak çok çeşitli zehirli maddelere maruz kaldıklarından dolayı, kararlılıklarını korumak için güçlü ve tespiti kolay denge mekanizmalarına sahip

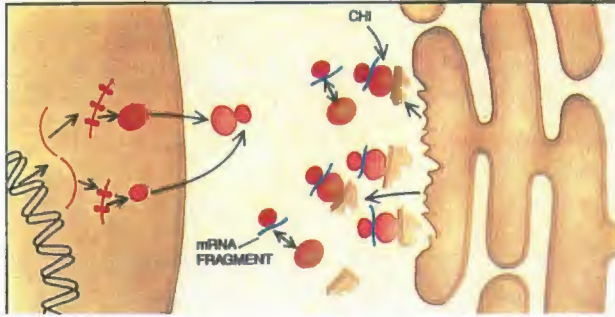
tirler, bu da siçan hepatositelerini araştırmalar için ideal bir örnek haline getirmektedir. Protein sentezinin son basamağı olan translasyon kimyasal olarak engellenerek hepatositeler uyanır. Sentezin ilk basamağı olan transkripsiyon yerine translasyon basamağının seçilme nedeni translasyonun, stoplazmada gerçekleşmesi sebebiyle, transkripsiyon'a göre dış etkilere çok daha açık olması ve dolayısıyla sentezi etkileyen basamak olmasıdır. Translasyon ribozomlar ile RNA arasında gerçekleşir. Ribozomlar RNA'dan RNA'nın protein sentezi için DNA'dan transkripsiyonla aldığı genetik şablonun sentezini gerçekleştirirler.



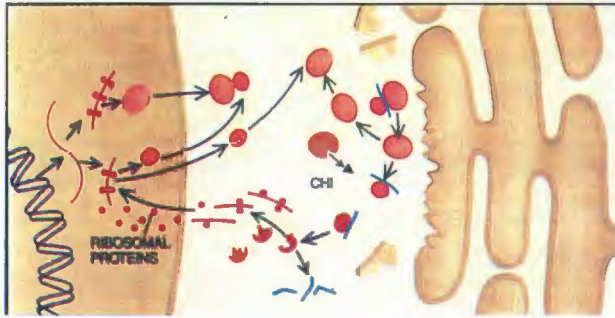
HÜCRE ÇIKIŞI TEHDİTLERE (KARŞI TEPKİ GÖSTERİR

Translasyonun orta derecede baskılanmasının düzeltilmesinde yardımcı olan basamaklar yetersiz kaldığında, hücreler mevcut polizomlarını yıkar ve yıkım ürünlerinden yenilerini yapar.

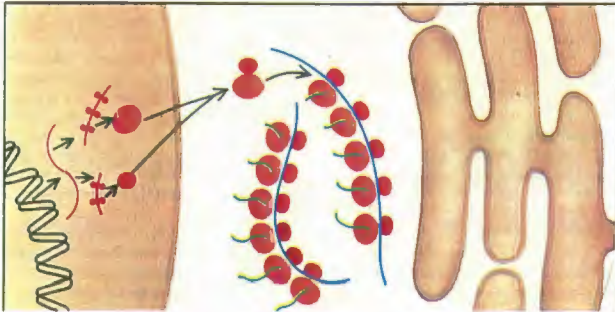
(1) Sağlıklı bir hücrede gösterilen, hedeflenen polizomlar proteinleri diğer hücrelere gönderilmek üzere ayırılır ve doğrudan yaşam için çok önemli değildir. Polizomlar endoplazmik retikulum olarak bilinen membran sisteminde yerleşmişlerdir.



(2) CHI, polizomların ve endoplazmik retikulumun ayrılmasını hızlandırır. mRNA parçalarına takılı kalan kurtarılmış 40S altbirimleri taşıyarak diğer mRNA molekülleri ile etkileşimi önlenir.



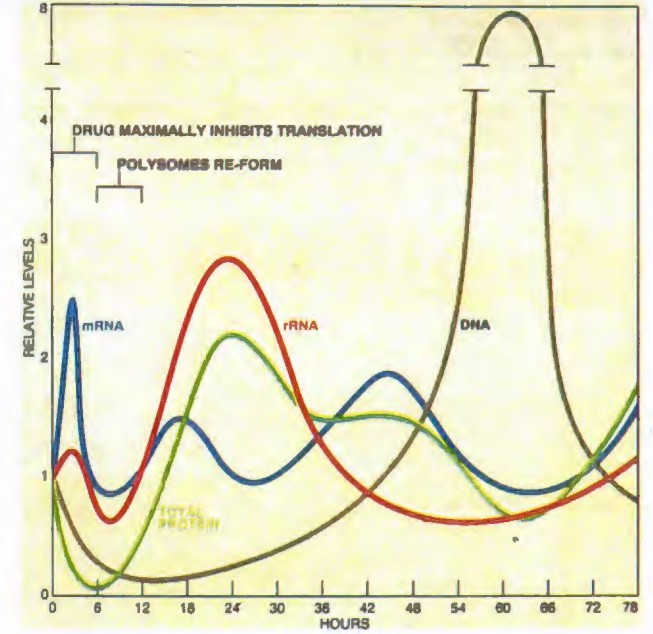
(3) 40S altbirimleri ayrılarak takılı mRNA salınır. Altbirimden gelen proteinler çekirdeğe göç eder, burada yüksek protein konsantrasyonu hızlı oluşumu kolaylaştırır ve stoplazmaya yeni 40S birimleri olarak geri döner. 60S bölümü stoplazmada dokunulmadan kalır ve muhtemelen hiçbir bağlı CHI içermez.



(4) Son olarak polizomlar onarırlar, fakat şimdi çoğu kendisi de yeni yapılmış olan endoplazmik retikulumdan ayırılır. Bu polizomlar öncelikle hücrenin kendi yaşamı için gerekli olan proteinleri, ribozomal oluşumları gibi yaparlar.

Translasyonu durdurmak için sikloheksimidin antibiyotiki kullanılır. Bu antibiyotik ribozomlara guanozin trifosfat (GTP) molekülünün bağlanmasıyla dolayısıyla ribozomların hareketi için gereken enerjinin alınmasını engeller. Sıçanlara ölümcül doza çok yakın olarak GTP verilmiş ve translasyonun yüzde 97 oranında engellenebildiği görülmüştür. Hücrenin bu duruma gösterdiği ilk tepki, enerji üretimini ve protein sentezini desteklemek için, hücre içine besin ve aminoasit girişini arttırmaktır. ATP seviyesinde de glikoz girişi artışına bağlı olarak geçici artışlar gözlenir. Translasyonun orta derecede engellendiği durumlarda bu tepkiler protein sentezini düzenlemek için yeterlidir; ancak aşırı sikloheksimidin verilmesi hücrenin daha sert tedbirler almasına neden olmaktadır. Hücre, protein sentezini yeniden başlatmak için mevcut polizomlarını yıkar ve yıkım ürünlerinden yeni, işlevsel polizomlar oluşturur sikloheksimidin verildikten yaklaşık altı saat sonra tekrar protein sentezine başlayabilir. Oluşturulan yeni polizomlar hücre dışı proteinleri sentezi gerçekleştirmezler, sadece hücre için gerekli proteinleri sentezlerler, dolayısıyla endoplazmik retikulum'a bağlı değildirler.

Sikloheksimidin verilen hücrede ribozomların yanı sıra çekirdek, kromatin-DNA ve ilgili histonlarda da değişimler gözlenmiştir. İlaç verildikten bir-iki saat sonra kısmi olarak ayrılan kromatin, yaklaşık olarak 10 saat sonra normale dönmeye başlar. Kısmi kromatin ayrışması, hücrenin ribozomal ve iletim RNA'sı sentezlenmesini sağlar. Bunu takip eden diğer tepkiler ve değişimler, hücrede kararlılığı ilaç verildikten 18-24 saat sonra



Özetlenmiş veriler, CHI-teşvikli translasyon baskılanmasının çok sayıda protein kodlayıcı genin, rRNA'yı kodlayan genlerin ve sonra DNA replikasyonu için önemli genlerin transkripsiyonunun ardından hızla mRNA'ya transkripsiyonunu ateşlediğini göstermektedir. Protein sentezi mRNA artışına paralel olarak azalır fakat polizomlar yeniden oluşturulmaya başladığında yeniden başlar. Başlangıçta sadece metabolizma için gerekli olan proteinler yenilenirken, DNA replikasyonundan sonra, bunların ve diğer proteinlerin sentezi önemli ölçüde artar. CHI vrelişinin ardından 6-36 saat arasında yapılan proteinlerin çoğu ribozomal proteinlerdir ve DNA üretiminde büyük dalganın gözlemlendiği zaman civarında çoğu protein histon proteinidir.

sağlar, ancak 24 saat sınırını geçtikten sonra protein sentezindeki artışlar genelde devam eder ve 48 saatın sonunda histon ve hücre çekirdek zarı proteinleri gibi çekirdek proteinleri sentezlenmeye başlar. DNA kopyalanmasını sağlayan enzimlerin sentezi, DNA kopyalanmasında artışa yol açar. Translasyonun aşırı baskılandığı durumlarda bu tepkiler hücreyi bölünmeye kadar götürülebilir.

Elde edilen deneysel bulguları açıklayabilmek için genetik maddeyi DNA hücredeki işlevine göre birkaç büyük gruba ayırmaya dayanan bir model önerilmiştir. Aynı blokta bulunan genler fiziksel ola-

rak bağlı olmasalar da aynı faktörler tarafından düzenlenirler. En büyük grup, hücredeki enzim ve diğer proteinlerin şifrelerini taşıyan M -metabolizma- grubudur. M grubu ise hücrenin özelleşmiş işlevlerini tanımlar ve hormon gibi hücre dışı etmenlere de bağlıdır. Ribozomal grup olan R grubu protein sentez araçlarını ribozomal ve iletim RNA'sı, proteinleri gibi düzenler. Histon proteinleri, DNA polimeraz ve bileşenlerinden ise çekirdek grubu olan N grubu sorumludur.

Önerilen modele göre her blok gen, hem kendi bloğu, hem de diğer bloklar için etkinlik düzenle-

yici proteinler üretirler. Bloklar birbirleri ile uyum içinde çalışırlar ve birinde oluşabilecek etkinlik değişimi diğer blokları da etkiler. Bloklar tarafından kodlanan protein ve protein düzenleyicileri arasında en kısa ömürlüleri M bloğu-

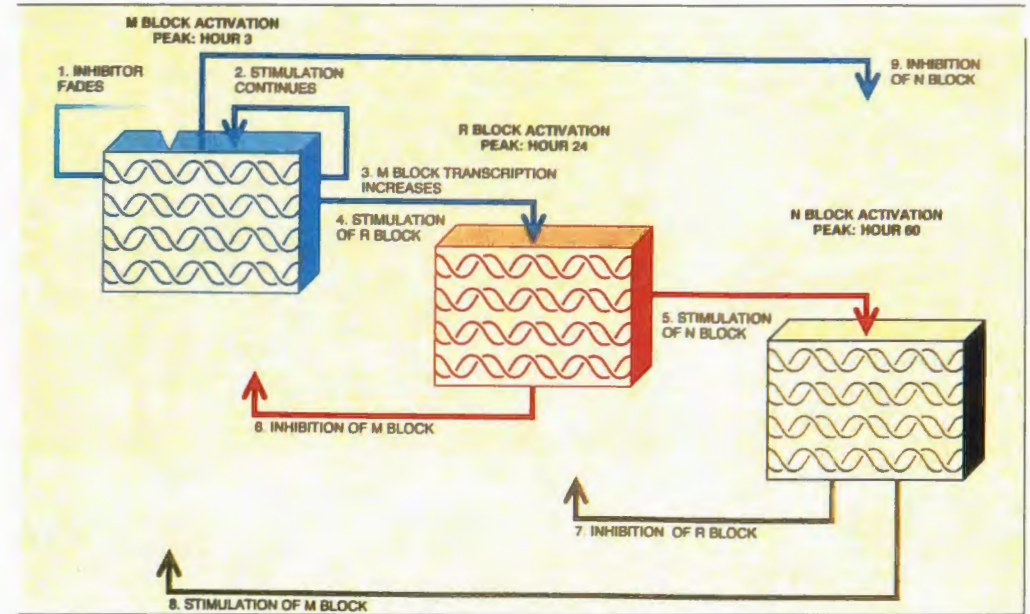
na ait olanları olup R bloğuna ait olanlar, N bloğuna ait olanlar kadar uzun ömürlü olmasalar da, daha uzun ömürlüdürler. Hücre istirahat halinde iken en etkin blok M, en durağan blok N'dir.

Translasyon mekanizmasının

Blok İsmi	Gen Ürünleri	Ortalama Yaşam Düzenleyici Proteinler	Blok Aktivasyonu
M (Metabolizma)	Büyük moleküllerin yapı birimlerinden ve besinlerden hücrelere enerji üretmesi için gerekli temel proteinler	Kısa süreli	Hızlı (Biraz saat)
M (M üstü bloğun alt grubu)	Diğer hücrelere ve bir başka deyişle hücrelerin yaşamlarını sürdürmesi için gerekli protein	Yukarıdaki gibi (Çok sayıda düzenleyiciler paylaşılma)	Yukarıdaki gibi
R (Ribozom)	Ribozom proteinleri rRNA'nın tRNA'ya dönüştürülmesinde görev alan faktörler	Orta (saat)	Hızlı düzenlenmiş (Biraz saat içinde)
N (Nükleer Çekirdek)	DNA polimerazlar, histonlar, diğer proteinler, çekirdekçikler (Çekirdek membran ve matris bileşenleri)	Uzun (Biraz saat)	Yavaş (Bir günden fazla)

engellenmesi durumunda ise ilk önce M bloğuna ait proteinler yok olurlar ve kararlılığı korumak için şekilde görülen sıra ile bloklar etkinleşirler. Hücrenin kararlılığını korumak için kullandığı bu mekanizma hücrenin normal yaşam döngüsüne de çok benzemektedir. Hücre bölünmesi sadece hücre içi sinyallere bağlı olmayıp, hücre dışı sinyallere de bağlıdır. Organizma için hücre bölünmesi gereksiz ise bölünme durdurulur, ancak kimyasalların neden olabileceği bir değişimin kontrolsüz hücre bölünmesine, bir başka deyişle kansere, neden olabilir. Vücudun hücre kararlılığını korumak için geliştirdiği mekanizmaların iyi anlaşılmasının kanser araştırmalarında yararlı olacağı açıktır.

Kaynak: Scientific American



Genetik aktivitenin, ilgili fonksiyonları sağlayan genlerin gruplanabilmesini yeniden nasıl sağladığının modeli (tablo). Herbir blok inhibitörleri ve uyancıları; aynı blokta aktiviteyi düzenleyen proteinler ve diğer bloklara etkiyen RNA parçalarını (intronlar) vermektedir. Bloklar birbiri ardına harekete geçer (diyagram); M, sonra daha yavaş olarak R; ve daha sonra N.