

BU YAZIDA SİZİ

BU SORULAR ÜZERİNE YAPTIĞIM

BAZI ARAŞTIRMALARDA

BİR YOLCULUĞA ÇIKARACAĞIM.



Yaşamın Transkripsiyonu: DNA'dan RNA'ya



Roger D. Kornberg

Nobel Kimya Ödülü Sahibi, 2006

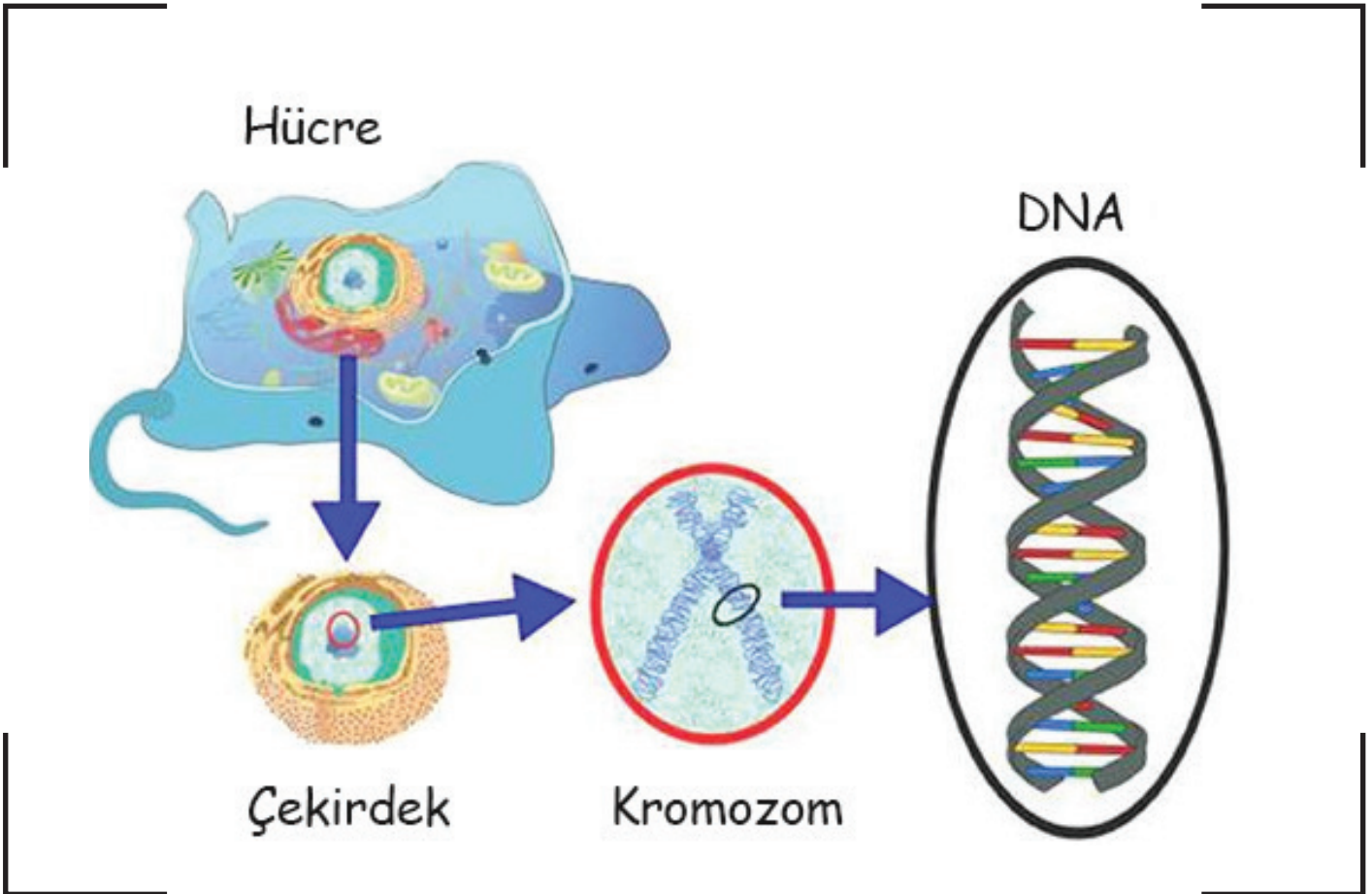
Son 50 yılda kariyerimi biyolojideki temel soruları incelemeye adanmışım. Bu sorular, "Aynı genetik bilgiyi taşıyan hücreler insan vücudundaki yaklaşık 200 hücre tipine nasıl farklılaşıyor?" gibi yaşamın en temel süreçlerinden bazılarını ele alıyor. "Hücreler çevresel bilgilere yanıt olarak nasıl yeniden şekillenir?" Bu yazıda sizi bu sorular üzerine yaptığım bazı araştırmalarda bir yolculuğa çıkaracağım. DNA ve onun RNA polimeraz II adı verilen karmaşık bir makine aracılığıyla mRNA'ya transkripsiyonu hakkındaki ana bulgularımı anlatacağım. mRNA sonunda, hücre inşa etmek, çevresel sinyallere yanıt vermek, kimyasal reaksiyonları hızlandırmak ve uzak dokular arasında sinyal iletmek dâhil olmak üzere organizma içinde çeşitli

önemli roller oynayan proteinlere çevrilir. Son olarak, şu anda üzerinde çalıştığımız bazı büyüleyici açık soruları sizinle paylaşacağım ve geleceğin bilim insanları için birkaç ipucu ile sonlandıracağım.

Profesör Kornberg, ökaryotik transkripsiyonun moleküler temelini incelemesi için 2006 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü kazandı.

RNA'ya Giden Yolum

Babam bir biyokimyacıydı ve deoksiribonükleik asit (DNA) replikasyonu konusundaki çalışmalarını nedeniyle 1959'da Nobel ödülü aldı.



Şekil 1 Hücre zarı ve DNA'yı içeren çekirdek. Hücre yaşamın temel birimidir.



RNA'YA GİDEN YOLUN
BİRBİRİNE BİR BİYOKİMYAÇI
VE DEOKSİRİBONÜZ
(DNA) KOPYALANMASI
KONUSUNDAKİ ÇALIŞMAYI
NEDENİYLE 1959
NÖBEL ÖDÜLÜ ALDI.

OLUM:

KİMYACIYDI

ÜKLEİK ASİT

MASI

ALIŞMALARI

DA NOBEL

Dinlemek isteyen herkesle araştırmalarına duyduğu muazzam coşkuyu paylaştı ve ben onun bilime olan sevgisini özümstedim. Üniversitede matematik, fizik ve kimya okudum ve doktoram için zarların (Zarlar) dinamiği üzerine araştırma yaptım (Şekil 1, sol). Zarlar yaşamda en temel rolü oynarlar, çünkü canlı hücreyi çevreleyen bu zarf, bir hücrenin varlığını tanımlayan şeydir.

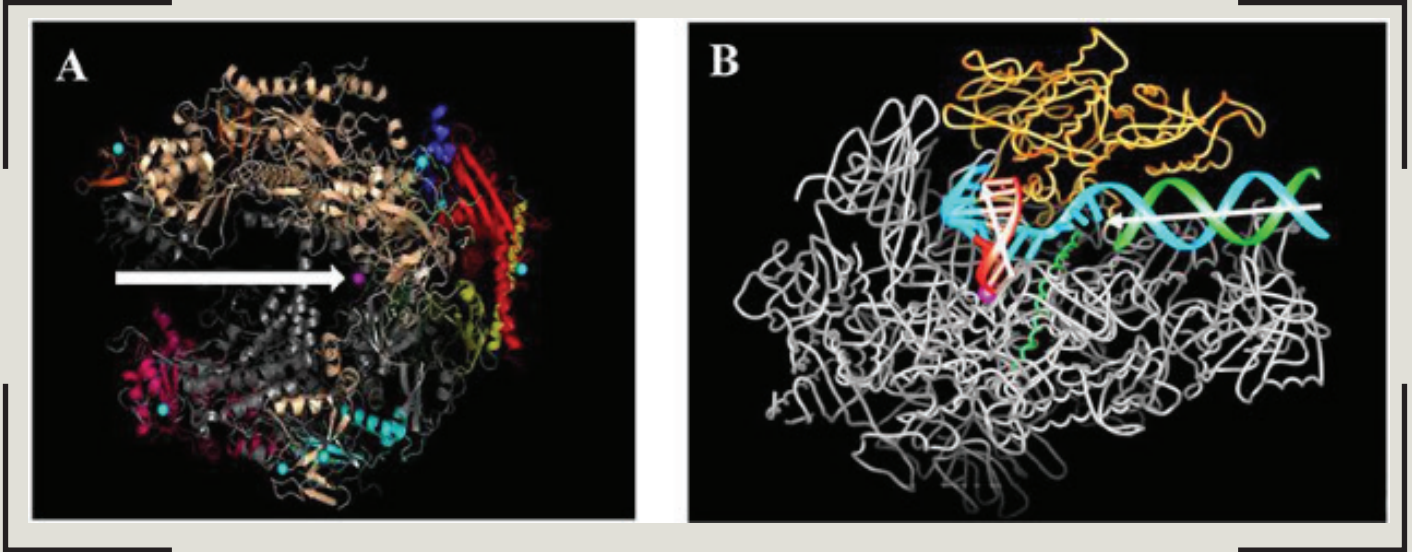
Hücrenin bilgi merkezi olan çekirdek, kromozomları içerir. Her kromozom, DNA'nın bir kısmını tutan "X" şeklinde bir yapıdır (kırmızı daire). Zarlar üzerindeki çalışmamın sonuna doğru, yaşam bilimleri ile ilgili fizik ve kimya üzerinde çalışmaya devam etmek istediğimi biliyordum. O zamanlar, hücre bileşenleri ve süreçlerinin incelenmesi olan yapısal biyoloji alanı hızla büyüyordu. Yeni teknolojiler, basit proteinlerin yapılarının çözülmesini sağladı. Daha sonra kromozom yapısıyla ilgili ilginç sorunun farkına vardım (bkz. Şekil 1). Kromozom, genetik materyalimiz olan DNA'nın tüm hücrelerde bulunduğu yapıdır. Kromozom yapısı, DNA'nın temel önemi ve görünüşte basit yapısı nedeniyle yapısal biyologlar için ilgi çekiciydi. Kromozomların DNA'dan ve eşit kütlede dört çok küçük proteinden oluştuğunu zaten biliyorduk. Çözmemiz gereken tek şey, DNA ve dört proteinin kromozom yapısını oluşturacak şekilde nasıl birlikte düzenlendiği idi. Eh, bu sorunun hiç de basit olmadığı ortaya çıktı. Sonunda, kromozom yapısı üzerine yazılmış yüzlerce araştırma makalesi arasından birkaç ilgili makaleyi belirleyerek çözdüm. Bu kağıtlar beni çözüme götürdü. İlgili deneyler yaptım ve yapbozun parçalarını bir araya getirdim ve kromozomun yapısını açıkladım. Bu yapının daha sonra X-ışını kristalografisi adı verilen bir teknikle doğru olduğu kanıtlandı. Kromozomun yapısını çözdükten sonra, bir sonraki doğal adım, bu yapının biyoloji ve yaşamın kendisi üzerindeki etkilerini araştırmaktı. Kromozom içinde bu şekilde organize olan DNA, genetik bilginin ifadesine nasıl dâhil olur? Gen ifadesi,

DNA'dan bir haberci RNA (mRNA) molekülünün oluşturulduğu transkripsiyon adı verilen bir işlemle başlar. mRNA molekülü, DNA molekülüne benzer, ancak farklı bir yapı ve işleve sahiptir. DNA'nın yapıldığı iki iplikten farklı olarak (Şekil 1, sağda), mRNA molekülü, DNA dizisinin belirli bir bölümünün bir kopyası olan tek bir kısa iplikten yapılır. mRNA, DNA'da kodlanan genetik bilgiyi, sonunda bu bilgiye dayalı olarak sentezlenen proteinlere bağlayan bir ara madde görevi görür. Gen ifadesinde kromozomun rolünü araştırmak için, transkripsiyona katılan üç enzimden birini inceleyerek başladım. Bu enzime RNA polimeraz II denir [1].

DNA'dan RNA'ya— RNAPolimeraz II Transkripsiyon Makineleri

RNA polimeraz II transkripsiyon makinesinin işlevi, mRNA oluşturmaktır. Yukarıda bahsettiğim gibi mRNA, DNA kodu ile bu koddan üretilen proteinler arasında bir bağlantı görevi görür. RNA polimeraz II transkripsiyon makinesi neredeyse 60 farklı proteinden oluşur! Üç ana bileşeni tanımlayacağım [2]: RNA polimeraz II enzimi, genel transkripsiyon faktörleri adı verilen bir dizi protein ve Mediator adı verilen bir protein kompleksi. RNA Polimeraz II Enzim—Yapı ve İşlev RNA polimeraz II enzimi (Şekil 2A), transkripsiyon işleminin gerçekleştiği yapıdır. Bu, DNA'nın bu enzime bir yönden girdiği ve bir mRNA ürününün başka bir yönden çıktığı anlamına gelir. Çalışmalarımızın çoğu, bu enzimin karmaşık yapısını çözmekle ilgiliydi. Enzimin yapısını kendi başına çözdükten sonra, transkripsiyon işlemi sırasında hem DNA hem de içinde bulunan RNA ile yapısını da çözmeyi başardık (Şekil 2B).

RNA polimeraz II, Şekil 2A'da farklı renklerle



Şekil 2 RNA polimeraz II enziminin transkripsiyon öncesi ve sırasındaki yapısı. (A) RNA polimeraz II, 12 alt birimden (farklı renklerle gösterilir) ve on binlerce atomdan oluşur. Magnezyum iyonuna (pembe nokta) giden merkezi bir kanala (beyaz ok) sahiptir. Magnezyum iyonunun bulunduğu bölge, DNA'dan mRNA'nın sentezlendiği bölge olduğu için aktif merkez olarak adlandırılır. (B) Çift iplikli DNA (mavi ve yeşil iplikler), RNA polimeraz II enziminin (yatay beyaz ok) merkezi kanalından girer ve enzimin ortasına doğru ayrılır. mRNA sentezini kontrol eden iplik (mavi) aktif merkezin yakınında (yukarıyı gösteren beyaz ok) 900 yukarı doğru çevrilir ve ondan kısa bir mRNA ipliği sentezlenir (ortada kısa kırmızı iplikçik). Bu DNA-mRNA hibrit kompleksi, enzimden, DNA'nın orijinal olarak girdiği yöne dik bir yönde çıkar.

le temsil edilen ve yaklaşık 30.000 atomdan oluşan 12 farklı proteinden oluşur. RNA polimeraz II, bir magnezyum iyonuna yol açan merkezi bir kanala sahiptir. Merkezi kanal, transkripsiyonun gerçekleştiği yerdir. Çift zincirli bir DNA merkezi kanala girer ve iki DNA zinciri birbirinden ayrılır (Şekil 2B). Bir iplik, enzimin merkezindeki magnezyum iyonunun yakınında bükülür. Aktif merkez olarak adlandırılan bu yerde, DNA zincirinin bükülmüş bölümünün talimatları izlenerek mRNA sentezlenir. Son olarak, hibrit DNA-mRNA yapısı, enzime giren DNA'ya göre yaklaşık 900'lik bir açıyla enzimden çıkar.

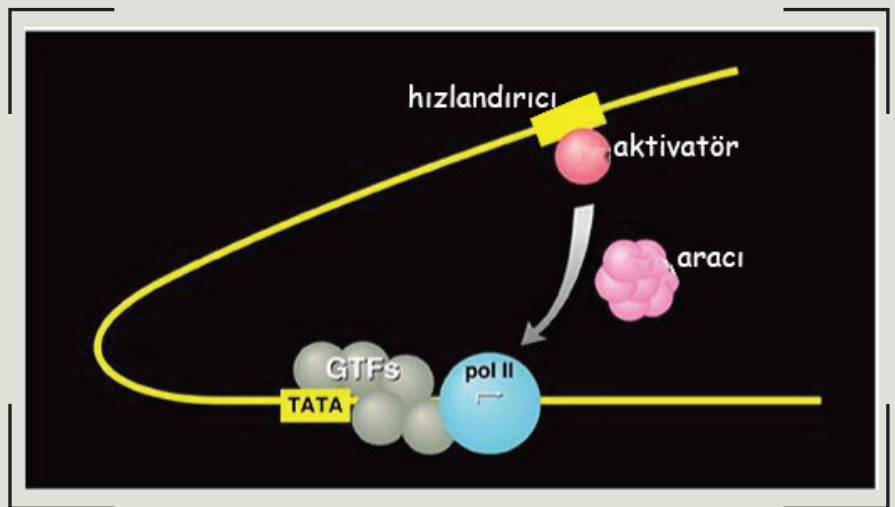
Genel Transkripsiyon Faktörleri (GTF'ler)

Gen İfadesindeki Anahtar Bileşenler

Transkripsiyon sürecindeki en önemli adım, başlama adı verilen sürecin başlanmasıdır. DNA, mRNA'ya kopyalandığında, tamamı kopyalanmaz. Sadece belirli bir kısmı belirli bir amaç için yazılmıştır. DNA'nın bu kısmına gen denir. Her gen, vücudumuzda-

ki spesifik proteinlerin üretimi hakkında bilgi içerir. Spesifik bir genin tanınması ve transkripsiyonunun yapılabilmeyeceğine karar vermek için RNA polimeraz II beş ek molekül kullanır. Bunlar, genel transkripsiyon faktörleri (GTF'ler) adı verilen proteinlerdir ve transkripsiyon işlemi

sırasında RNA polimeraz II enzimi ile temas halindedirler (Şekil 3'ün altındaki gri küreler). Genel olarak konuşursak, bu GTF'leri transkripsiyon makinelerinde belirli genleri "açma" veya "kapatma"ya yardımcı olan bileşenler olarak düşünebilirsiniz.



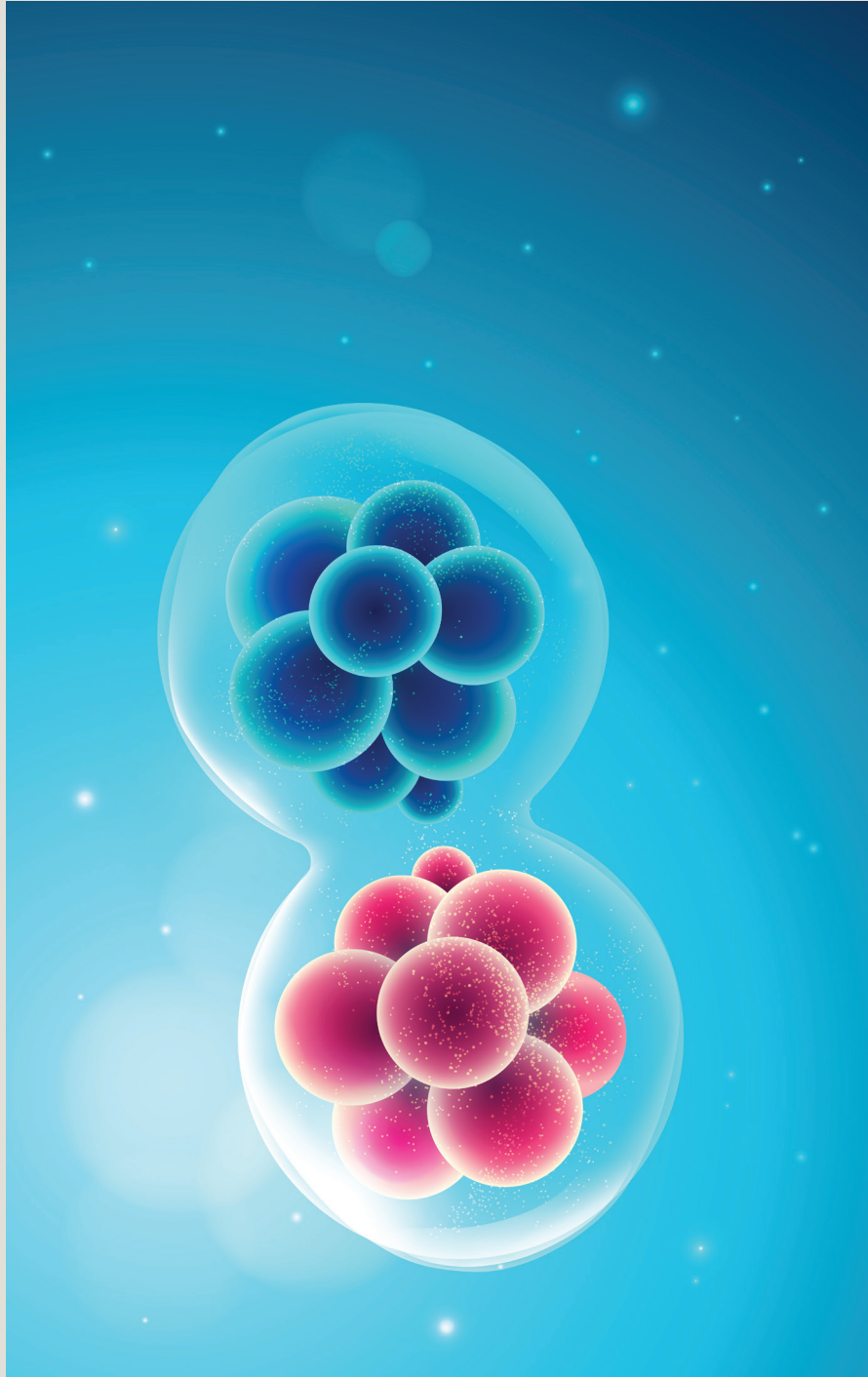
Şekil 3 RNA polimeraz II transkripsiyon makinesi.

Genel transkripsiyon faktörleri (GTF'ler, gri), enzim içinde DNA transkripsiyonunu başlatmak için RNA polimeraz II enzimi (pol II, mavi) ile etkileşime girer. Mediator (pembe), hücrenin içinden veya dışından gen düzenleyici bilgileri pol II enzime ileten bir bağlantı bağlantısı görevi görür. Bu durumda, Aracı, bir aktivatör proteinden (kırmızı) transkripsiyon için spesifik bir genin aktivasyonu hakkında bilgi verir. Şekil 2B'de daha önce gördüğümüz gibi, DNA RNA polimeraz II içinde hareket ettiğinde,

mRNA'ya kopyalanmak için bükülmesi gerekir. Bununla birlikte, normal biçimindeki DNA çok katıdır ve kolayca bükülmez. Bükülmesi için tek tek tellere ayrılması gerekir, bunun üzerine tamamen esnek hale gelir ve serbestçe bükülebilir. GTF'lerin devreye girdiği yer burasıdır. GTF'ler DNA molekülündeki genin başlangıcını bulduktan sonra, DNA'yı açarlar ve onu RNA polimeraz II'deki transkripsiyonun aktif bölgesinin yakınında bükürler. Bu şekilde, GTF'ler transkripsiyon sürecini başlatır.

Aracı—Gen Düzenlemesi için “Ara Bulucu”

DNA transkripsiyonu sürecinde, hangi genin kopyalanacağı, vücudun hangi yerinde ve ne zaman yapılacağı gibi çok önemli kararlar alınmalıdır. Bu karar ve eylemler grubuna gen ekspresyon düzenlemesi denir ve vücudumuzun düzgün çalışması için kritik öneme sahiptir. Aracı, 1990'da keşfettiğimiz bir protein grubudur ve gen düzenleme mekanizmasının önemli bir parçasıdır: tüm düzenleyici bilgileri işler ve belirli bir kopyalanıp kopyalanmama kararını kontrol etmek için RNA polimeraza iletir. Şekil 3, transkripsiyon sürecindeki aracının işlevini şematik olarak göstermektedir: aracı (pembe renkli), bir genin transkripsiyon için “açılmasını” etkileyen, aktivatör (kırmızı renkte) olarak adlandırılan bir protein ile RNA polimeraz II arasında bağlantı kurar. (enzim mavi). Başka bir deyişle, Aracı, gen ekspresyonu hakkında RNA polimeraz enzimi düzenleyici bilgileri ileten “aracı” olarak hizmet eder.



DNA TRANSKRİPSİYONU

SÜRECİNDE,

HANGİ GENİN

KOPYALANACAĞI,

VÜCUDUN HANGİ

YERİNDE VE NE ZAMAN

YAPILACAĞI GİBİ ÇOK

ÖNEMLİ KARARLAR

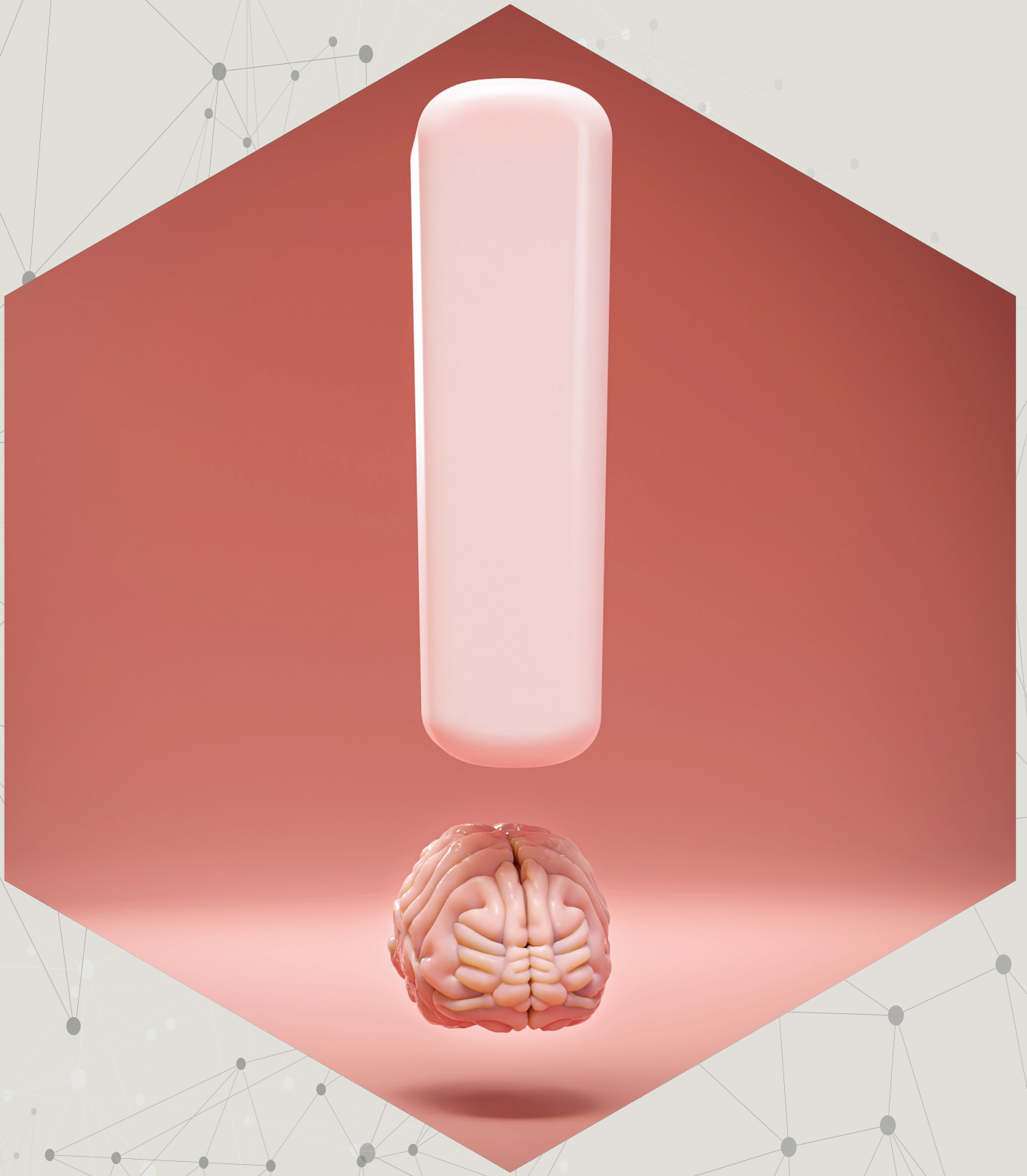
ALINMALIDIR.

Gelecek İçin Sorular

Bu yazıda anlattıklarım ile ilgili çözülmemiş iki problemden kısaca bahsederek merakınızı gidermek istiyorum.

Bu konular bugünkü biyokimya araştırmalarının son noktasıdır ve şu anda laboratuvarımda her ikisi üzerinde de çalışıyoruz. İlk problem kromozomun yapısı ile ilgilidir. Bir hücrenin bölünmesinin belirli bir aşamasında, DNA yaklaşık 10.000 faktör uzunluğunda büzülür, böylece daha önce hücrenin tüm çekirdeğini işgal eden DNA, kromozomların şekillerine yoğunlaşır. Kromozomun yapısı hakkında kesin olarak bildiklerimiz, DNA uzunluğunun 10.000 kat değil, 5 kat kısalmasını açıklayabilir. Öyleyse, açık soru şudur: kromozomdaki DNA, 2.000'lik ek bir faktörle nasıl yoğunlaşır? İkinci problem, aracı ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi ile ilgilidir. Şekil 3'te gördüğümüz gibi, Aracı, RNA polimeraz II enzimine düzenleyici bilgi sağlar. Ancak düzenleyici bilgiler Arabulucu tarafından nasıl işlenir? Bu bilgi polimeraza tam olarak nasıl iletilir? Arabulucu, kopyalanmasına izin vermek için DNA'nın açılmasına nasıl yardımcı olur? Ne olabileceği ve nasıl olabileceği hakkında bazı fikirlerimiz var, ancak bunlar hala çözmeye çalıştığımız açık problemler.





Genç Beyinler İçin İpuçları

Birçok yönden yukarıda bahsettiğim sorular, akademik çalışmalarına başladığım temel sorularla aynıdır. Muhtemelen bildiğiniz gibi, birçok bilimsel soru karmaşıktır ve tam olarak ele alınması uzun yıllar süren sıkı çalışmayı gerektirir. Bilim zordur, çok çalışma gerektirir ve bazen zor ve sinir bozucu olabilir. Ama benim için ara sıra verilen ödüller mücadeleye tamamen değer.

Bilimi seviyorsanız ve bir bilim insanı olarak kariyer yapmak istiyorsanız, size ilk tavsiyem, etkinliğin kendisinden zevk almanız ve bilimin küçük, günlük etkinliklerinin tadını çıkarmanızdır. Benim durumumda, örneğin, bu faaliyetler deneyseldir - farklı malzemeleri karıştırıp çözme ve deneylerim için çözümler üretme. Bu küçük adımların her birinden kişisel olarak zevk alıyorum ve laboratuvarında vakit geçirmeyi seviyorum. Bir diğer önemli şey de başarısızlığı teşvik edici, zorlayıcı bir şey olarak nasıl deneyimleyeceğinizi öğrenmektir, geçen seferkiyle aynı yüksek başarı beklentisiyle yeniden denemeye davet olarak. Arada bir, araştırma sırasında yeni ve şaşırtıcı bir şey olur. Ancak, iyi bilim insanları buna hemen inanmazlar. İlk olarak, bunun bir hata olmadığından emin olmalısınız, bu yüzden yanıldığınızı kanıtlamanın yollarını düşünmelisiniz. Gerçekten iyi bir bilim insanı, yanlış olduklarını kanıtlamak için son derece karmaşık yollar düşünür. Ustaca deneylerle bile yanıldıklarını kanıtlayamadıklarında, bir şey keşfedilir. Bunlar, bir bilim insanının kariyerinde benzersiz ve unutulmaz anlardır ve sürece yatırılan sıkı çalışmadan çok daha ağır basarlar