



YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ

HÜCRENİN GENEL ÖZELLİKLERİ HÜCRESEL ORGANELLER

Doç.Dr. Banu Mansuroğlu
İstanbul

Kaynak:Cooper and Hausman, Hücre Moleküler Yaklaşım.
Çeviri Editörleri Sakızlı ve Atabey, 2006

Moleküler Hücre Biyolojisi, Prof.Dr.Hasan Veysi

- ◉ Ökaryot hücreler prokaryot hücrelerden, bir çekirdeğin varlığına ek olarak zarla çevrili organellerin bulunması ile ayrılırlar. Bu organeller, farklı hücresel işlevlerin sürdürüldüğü özel bölmelerin oluşumunu sağlar.
- ◉ Ökaryot hücrelerin karmaşık iç organizasyonları göz önüne alındığında, proteinlerin sınıflandırılması ve doğru hedeflere taşınması oldukça önemli görevlerdir.
- ◉ Protein sınıflanmasının ilk **basamağı** sentezi sırasında gerçekleşir.
- ◉ Endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı, lizozomlar ve plazma zarına hedeflenen veya salgılanacak olan pek çok protein, **endoplazmik retikuluma bağlı ribozomlarda sentezlenir.**
- ◉ Translasyon sürerken, sentezlenen polipeptid zincirleri **protein katlanması ve işlenmesi** için endoplazmik retikulum içine girer.
- ◉ Endoplazmik retikulumdan, veziküller (kesecikler) aracılığı ile Golgi aygıtına taşınırlar ve burada işlenerek; lizozoma aktarılmak, plazma zarına iletilmek veya salgılanmak üzere **sınıflanırlar.**
- ◉ Protein işlenmesi ve veziküler taşınmadaki rolleri nedeniyle, **endoplazmik retikulum**, golgi aygıtı, endozom ve lizozomlar diğer stoplazmik organellerden ayrılırlar.

➤ Sitoplazma

- Hücre zarı ile nukleus arasında yer alan viskoz kısma sitoplazma denir.
- Sitoplazma; solunum, beslenme, sindirim, boşaltım, enerji gibi yaşamsal faaliyetlerin gerçekleştiği yerdir.
- Yoğunluğu suya göre yüksektir.
- Sitoplazma sitozol adı verilen sıvı kısım ile sitozol içine dağılmış, bir zar ile kuşatılmış, organel adı verilen, şekilli elemanlardan meydana gelmiştir.

SİTOZOL

- ▶ Hücre zarı ile nükleus arasını dolduran ve organellerin etrafını kuşatan sıvı kısımdır.
- ▶ Toplam hücre hacminin yaklaşık yarısını işgal eder.
- ▶ **Sitozol** su, çeşitli protein, lipid, enzim v.s. oluşturduğu kolloidal kısım ile sitoplazma iskeleti şeklinde düzenlenmiş, fibröz protein filamentler ihtiva eder.

SİTOZOL

- ◉ **Kolloidal Kısım:** Belirli bir akışkanlığa sahip olan yumurta akı, sıvı sabun, sis gibi yapılara *kolloidal yapı* denir.
- ◉ Sitozolü oluşturan kolloidal kısım suyun yanında, büyüklükleri 10^{-7} - 10^{-5} arasında değişen, suda çözülmüş irili ufaklı bir çok organik ve inorganik moleküller içerir.
- ◉ Bu yapıda tüm moleküller suyu sever özelliktedir.

SİTOZOL

- ▶ Canlı hücreler de sitozolün yapısında yer alan ve kolloidal yapıya katkıda bulunan inorganik moleküller; asit, baz, tuz ve elementler (C, H, O, N, K, Ca, Mg) dir. Asit, baz ve tuzlar hücre içerisinde ancak iyonlaşmış halde bulunurlar.
- ▶ H_2O H^+ ve O^-
- ▶ HCl H^+ ve Cl^-
- ▶ $NaOH$ Na^+ ve OH^-
- ▶ Böyle yüklü atom ve atom gruplarına **iyon** adı verilir.

SİTOZOL

- ◉ Sitozolde, kolloidal yapıyı oluşturan su moleküllerinin H^+ ve OH^- iyonlarının konsantrasyonu birbirine eşittir. pH 7'den düşük ise asidik, 7'den büyükse bazik ortamı gösterir.
- ◉ Sitozolün yapısında bulunan organik moleküller de iyonlaşmış halde bulunur.

SİTOPLAZMA İSKELETİ

- ◉ Hücrenin belli bir şekil almasını sağlar, uyumlu sitoplazmik hareketleri yönlendirir, organize enzimatik reaksiyonlara yardım eder.
- ◉ Bu iskelet 3 çeşit fibrilden oluşmuştur.
- ◉ Mikrotübüller
- ◉ Intermediate filamentler
- ◉ Mikrofilamentler

SİTOZOL

- ▶ **Mikrotübüller:** 20-24 nm çapında, silindirik yapılardır. Tubulin dimerlerinin biraraya toplanmalarıyla oluşurlar.
- ▶ **Intermediate flamentler:** 10 nm çapındadır. Birbirine kangal şeklinde sarılmış alt birimlerden oluşur.
- ▶ **Mikroflamentler:** 7 nm çapındadır. Aktin monomerlerinin bir araya toplanmasıyla oluşurlar. Bu mikrofilamentlerin oluşturduğu demetler hücrenin uzun eksenine paralel uzanırlar.
- ▶ Bunlara ilaveten inkluzyon cisimcikleri denen, bir zarla kuşatılmamış granüller vardır. Örnek; kas hücreleri ve hepatositler, glikojen granülleri, yağ asitleri....

ORGANELLER

○ Sitozolde yer alan ve hücrelerde belli görevleri yerine getiren şekilli elemanlara **organel** adı verilir.

- Endoplazmik retikulum
- Ribozom
- Golgi kompleksi
- Lizozom
- Peroksizom
- Mitonkondri

NÜKLEUS

- ◉ Nükleusun varlığı ökaryot hücreleri prokaryot hücrelerden ayırt eden temel özelliktir.
- ◉ Hem genetik bilgiye ulaşım yeri hem de hücrenin kontrol merkezi işlevini üstlenir.
- ◉ DNA'nın replikasyonu, transkripsiyon ve RNA işlenmesinin gerçekleştiği yerdir.
- ◉ Gen ekspresyonunun alternatif kesip eklenme gibi transkripsiyon sonrası mekanizmalarla düzenlenmesine olanak sağlar.
(Prokaryotlarda mRNA proteine çevrilirken transkripsiyonu da devam eder; fakat ökaryotlarda ise mRNA sitoplazmaya aktarılmadan önce birçok işlemde geçer.)

NÜKLEER ZARF



- İki nükleer zar, altlarında yer alan nükleer lamina ve nükleer por kompleksinden oluşur.
- Her nükleer zar çift tabakalı fosfolipid yapıdadır.

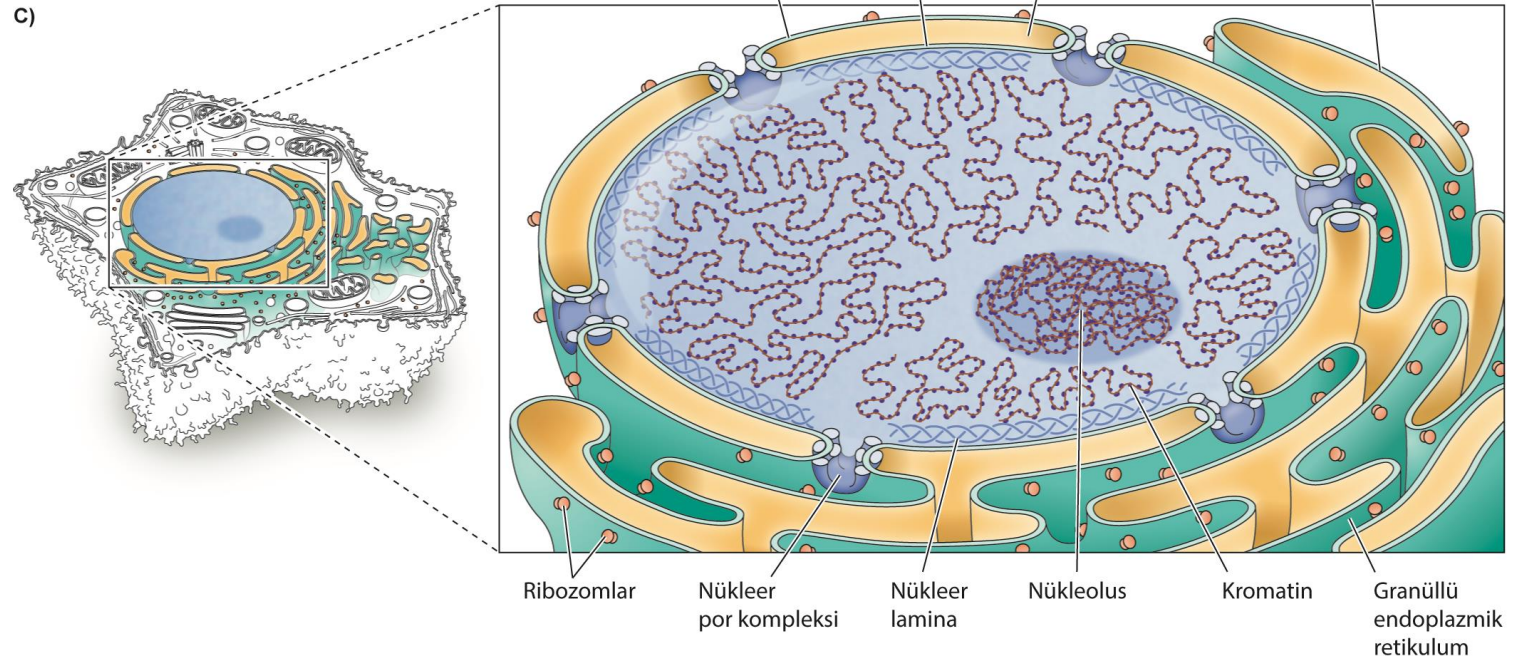
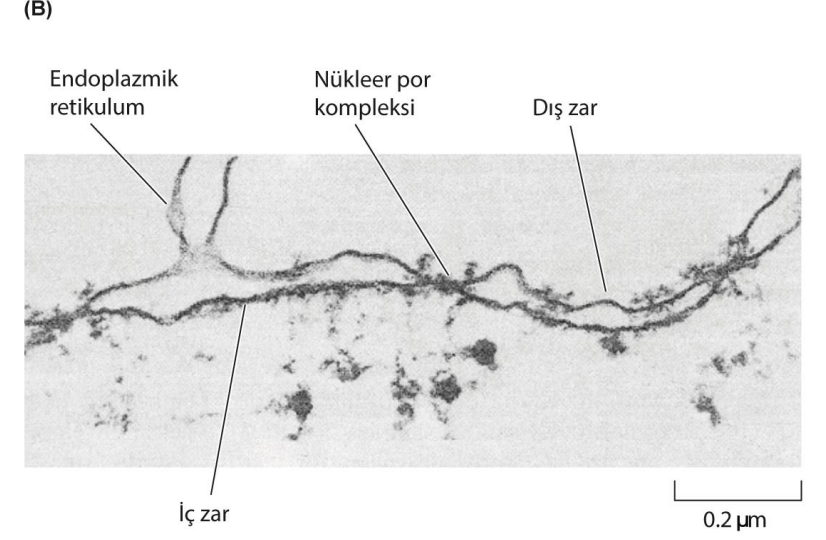
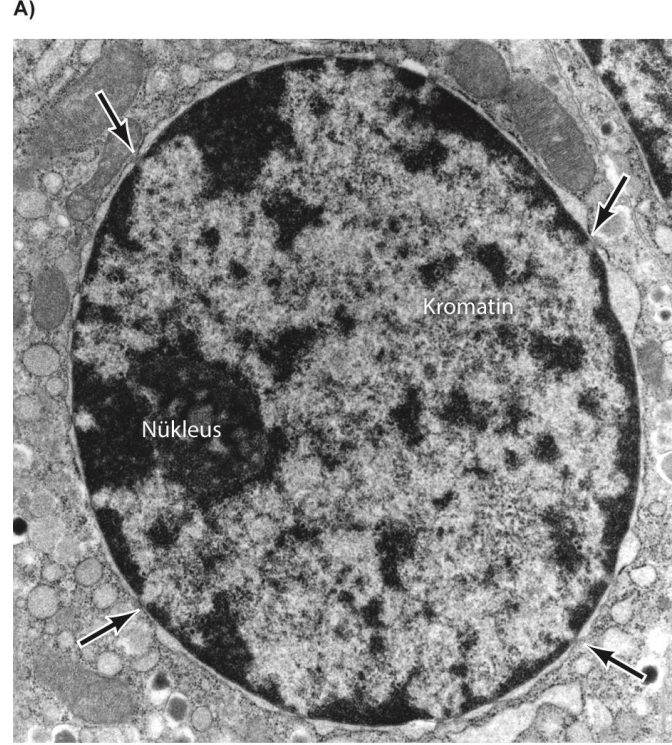
- **İşlevleri;**

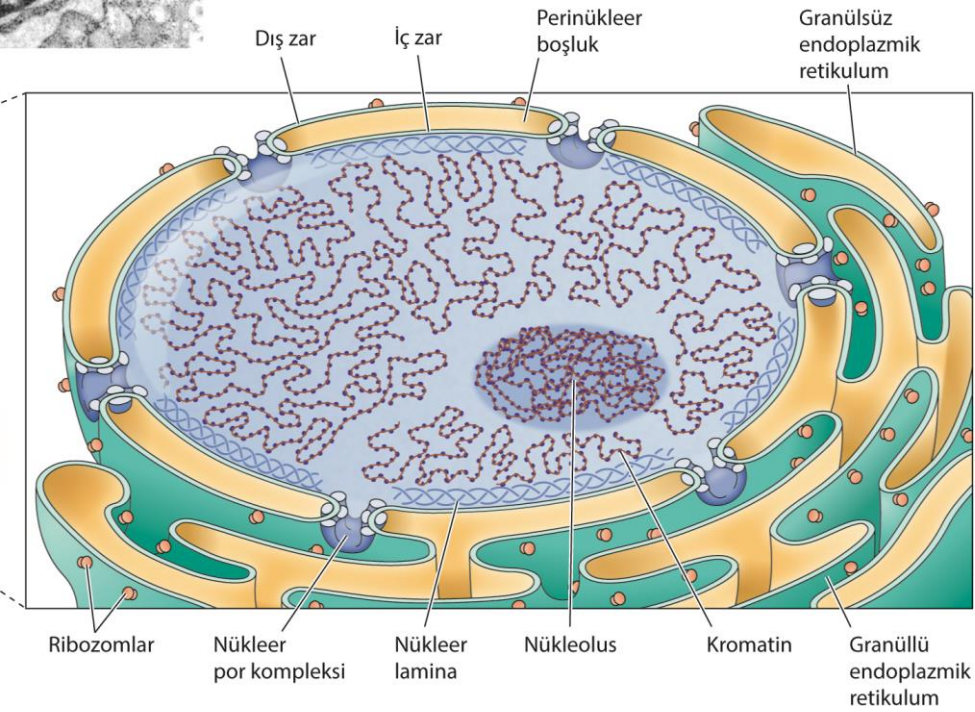
Nükleusun içeriğini sitoplazmadan ayrılmasını sağlar.

Nükleusa yapısal bir çerçeve oluşturur.

Üzerindeki porlar sayesinde düzenlenmiş bir moleküler geçişe olanak tanır.

NÜKLEER ZARF



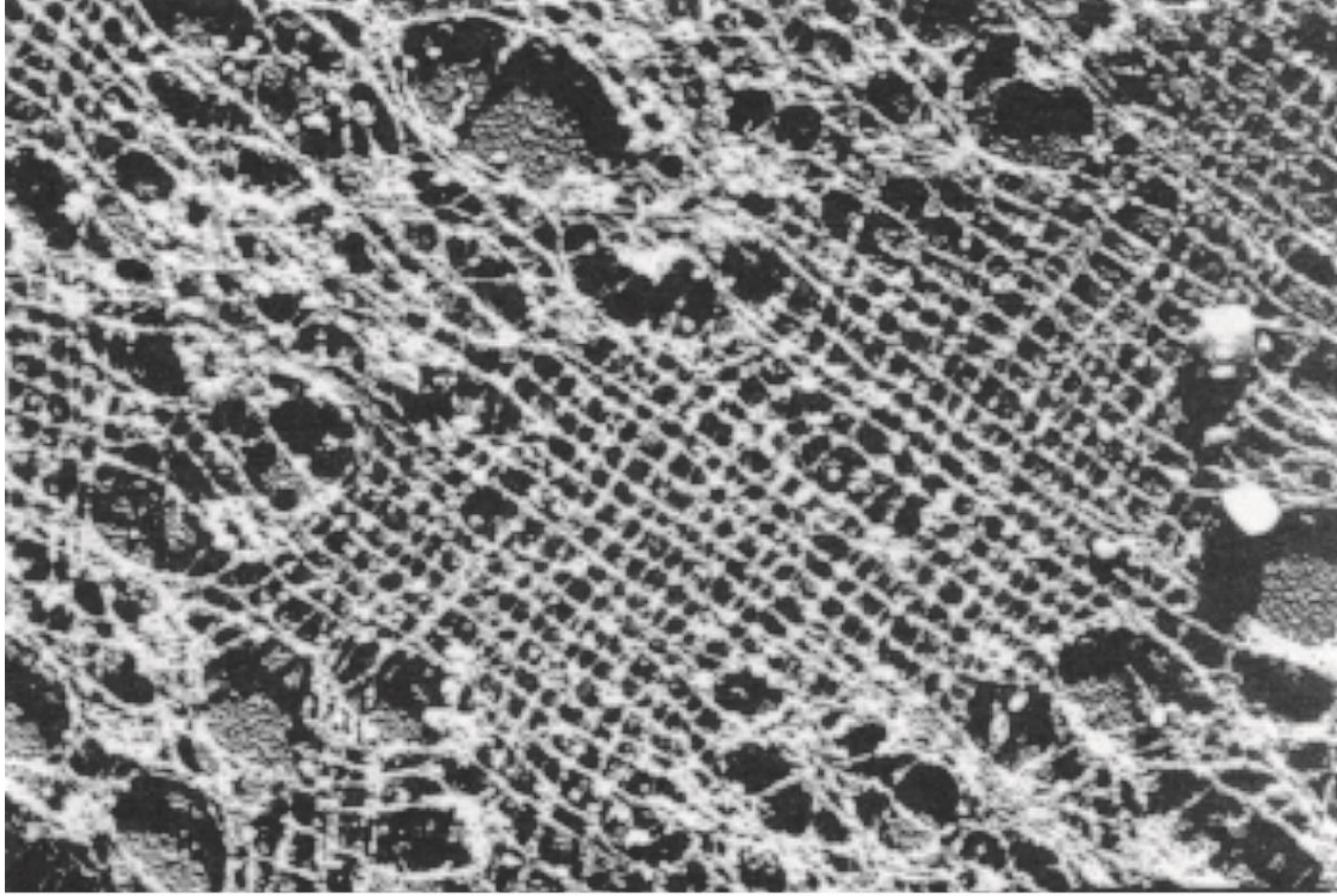


- Dış zar endoplazmik retikulum (ER) ile devam eder. Dolayısıyla iç ve dış zarları arasındaki alan ER'nin lümeniyle doğrudan ilişkilidir.
- Dış zar işlevsel olarak ER'nin zarlarına benzer ve dış sitoplazmik yüzeye ribozomlar bağlanır. Protein kompozisyonları farklılık gösterir. Endoplazmik retikuluma tübüler şekli veren proteinleri barındırmaz. (Fakat hücre iskeletine bağlanan membran proteinleri yönünden zengindir)

➤ İç nükleer zarda nükleer laminaya bağlanan 60 kadar farklı integral membran proteini yer alır.

➤ NÜKLEER LAMİNA

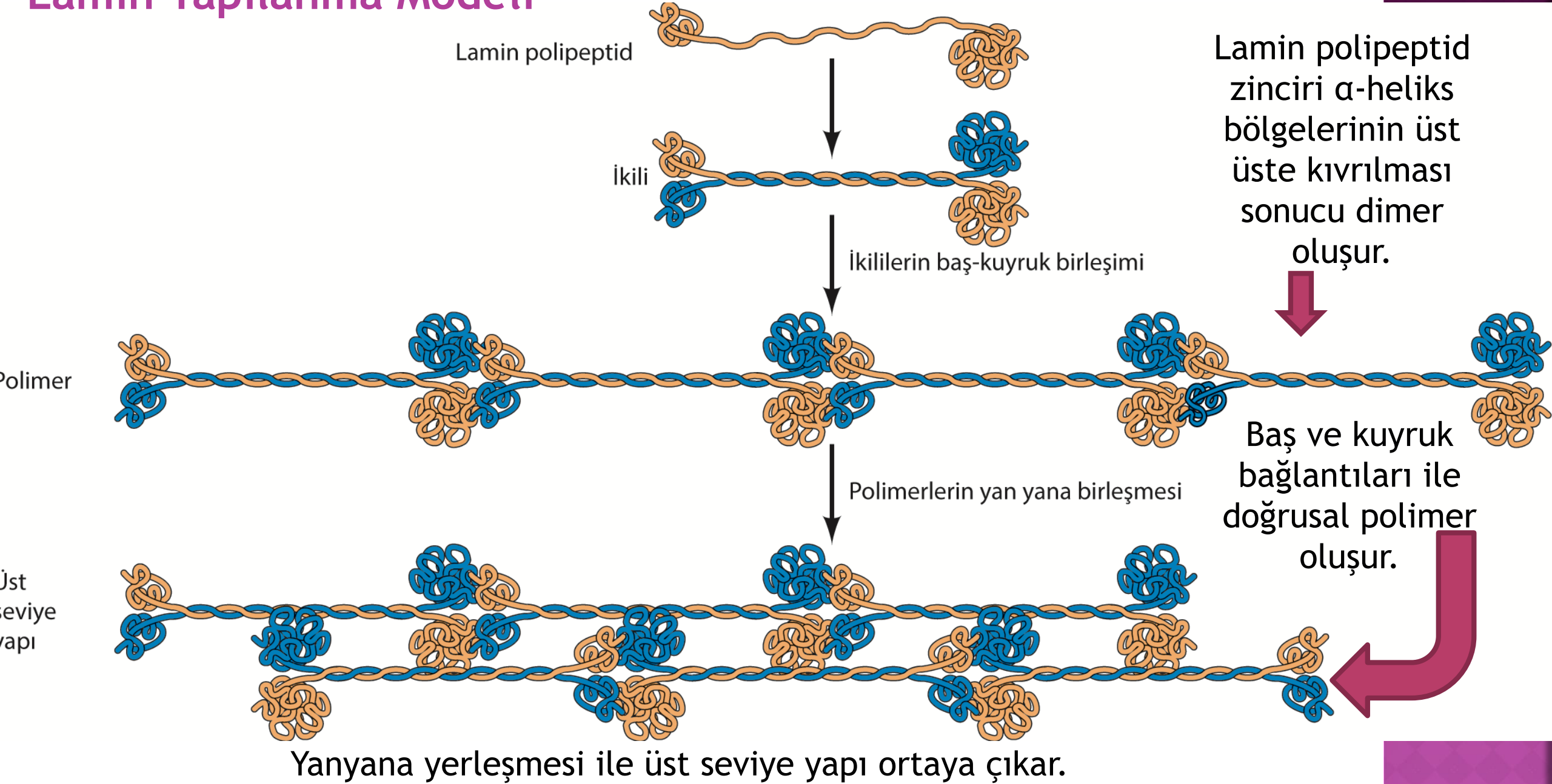
- ◉ İç zarın altını kaplar.
- ◉ Nükleusa yapısal destek sağlar.
- ◉ İpliksi bir örgü görünümündedir.
- ◉ Laminler (60-80 kD'luk ipliksi proteinler) ile bunlarla bağlantılı proteinlerden oluşur.
- ◉ Laminler bir ara-filaman protein sınıfıdır. Laminler birbirleri ile bir araya gelerek üst seviye yapılar oluşturur.

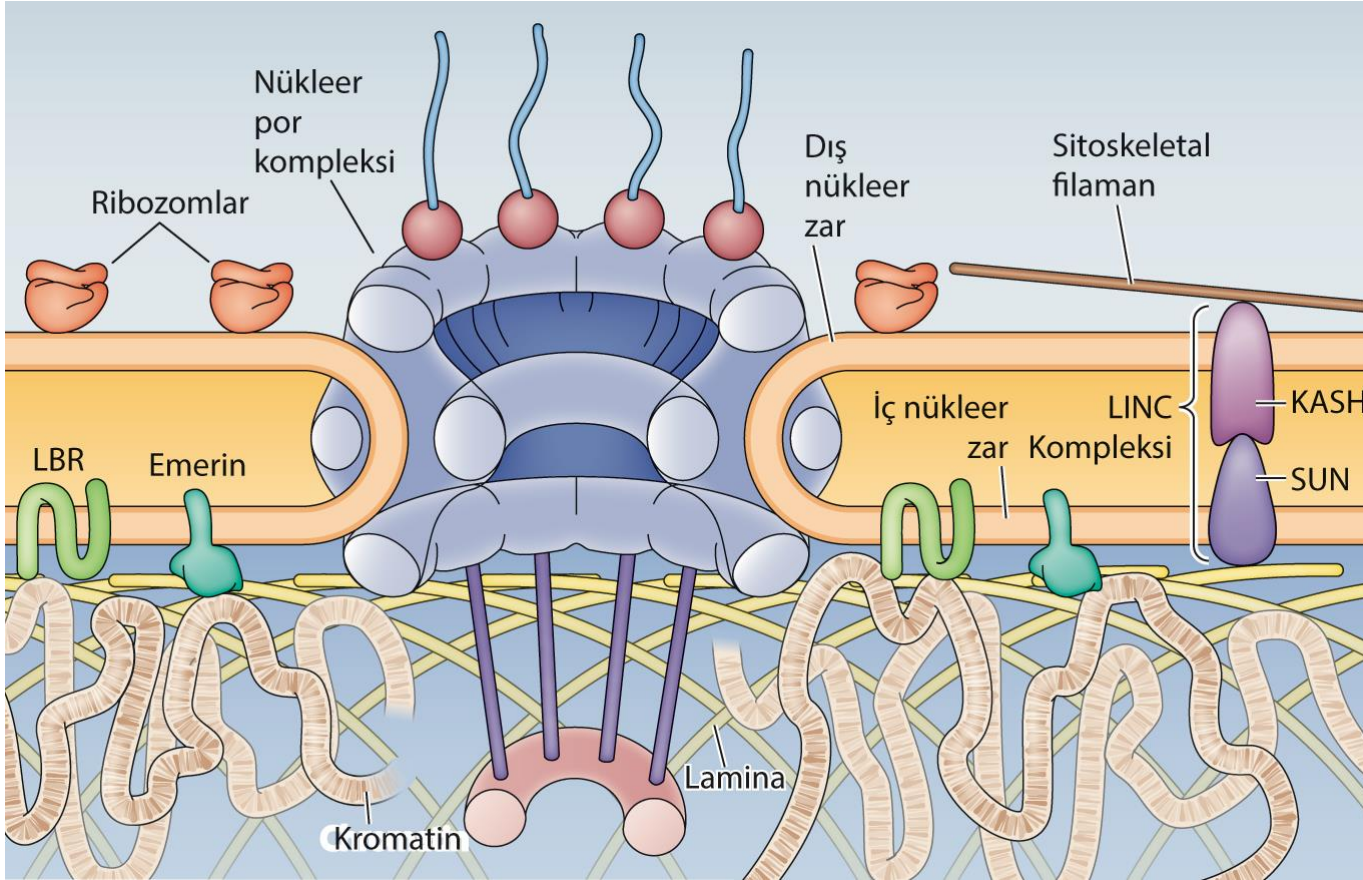


0.5 μ m

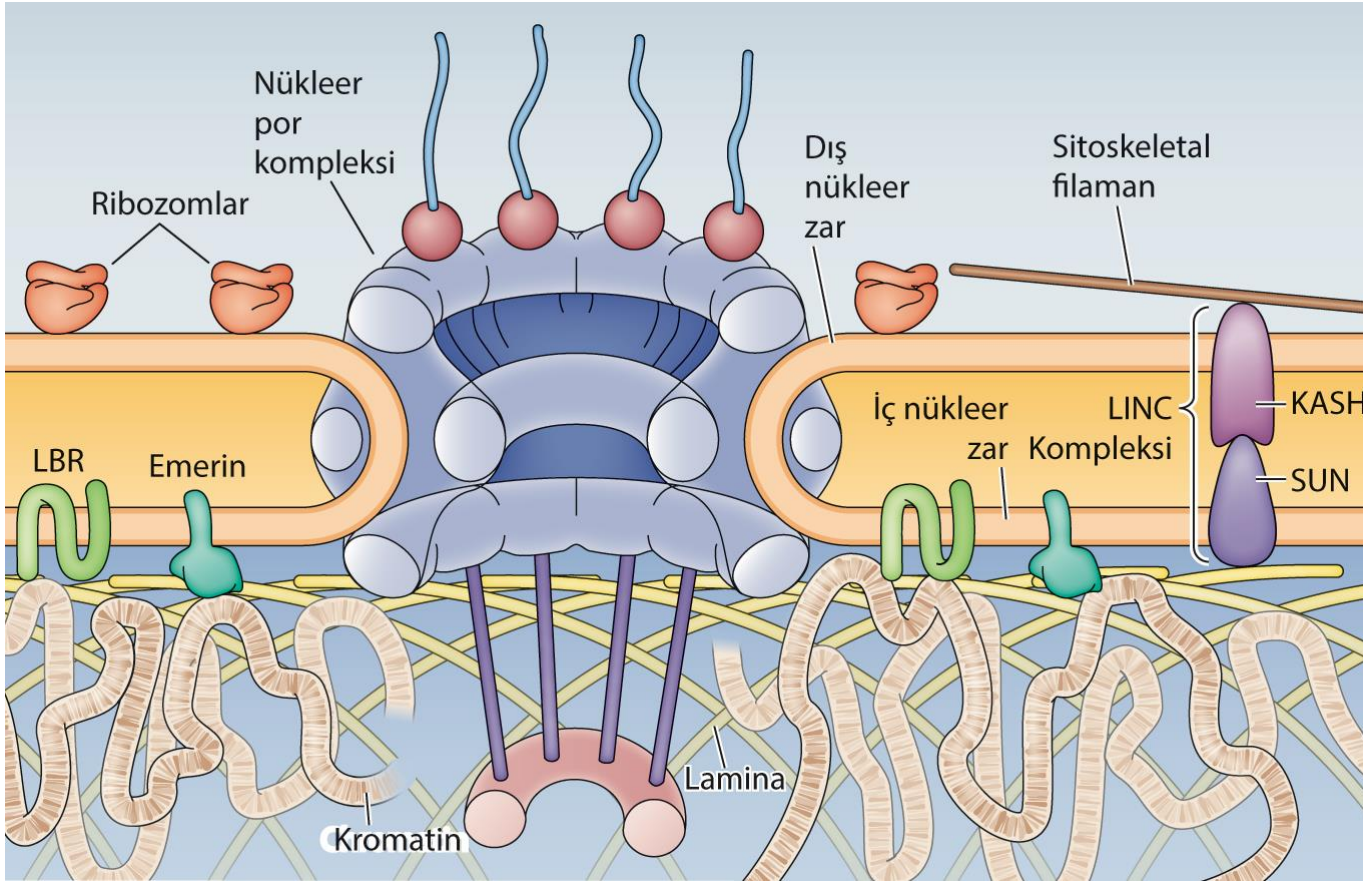
Nükleer lamina, ipliklerden oluşan eleksi yapısıyla çekirdek iç zarını alttan destekleyerek, nukleus içerisine yayılır.

Lamin Yapılanma Modeli



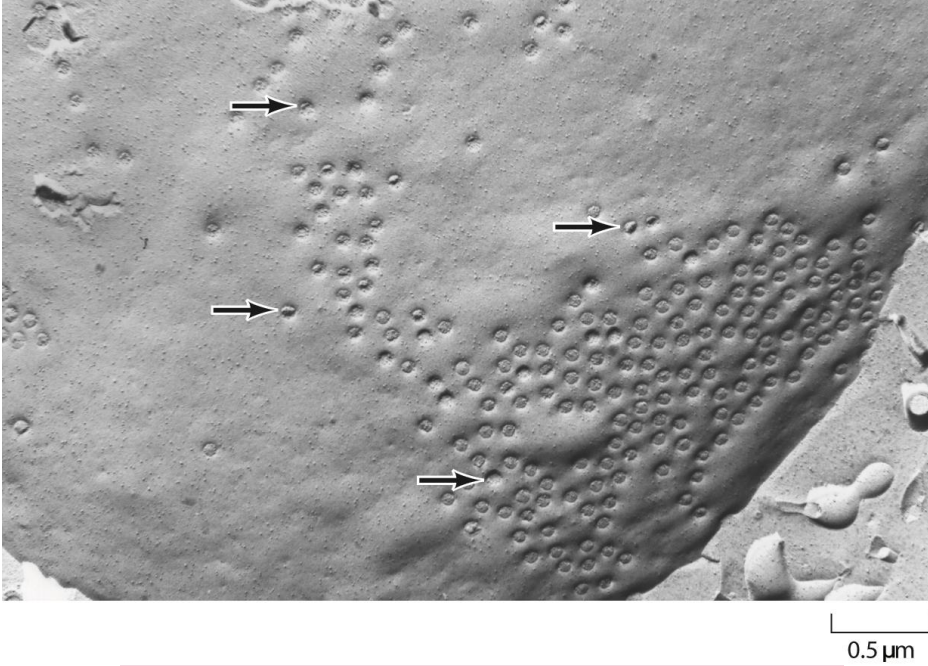


- ❑ İç nuklear zarda emerin, lamin B (LBR) ve SUN proteinleri gibi nuklear laminler ile etkileşen çok sayıda integral zar proteini yer alır. SUN proteini dış nuklear zardaki KASH proteinlerine bağlanarak, nuklear lamina ile hücre iskeletini birleştiren LINC kompleksini oluştururlar. Laminler ve dış iç nuklear zar proteinleri de, emerin ve lamin B reseptörünün kromatin ilişkili proteinler ile etkileşimleri aracılığı ile kromatine bağlanırlar.



- ❑ Laminlerin iç nükleus zarına tutunmaları translokasyon sonrası lipid eklenmesi özellikle de C ucu sisteinin prenillenmesi ile kolaylaşır.
- ❑ Ayrıca laminler Emerin ve Lamin B reseptörü gibi spesifik iç zar proteinlerine bağlanır.
- ❑ SUN proteinleri dış zardaki KASH proteinlerine bağlanarak lamina ile hücre iskeletini birleştiren LINC kompleksini oluştururlar.
- ❑ Laminler ve iç zar proteinleri de kromatine bağlanır.

➤ NÜKLEER POR KOMPLEKSİ



Elektron Mikroskop Görüntüsü

Küçük polar moleküllerin, iyonların ve makromoleküllerin nükleer zarfı geçebildikleri yegane yerdir.

Büyük yapılardır. 120nm çapında, Molekül ağırlığı ~ 125milyon Dalton(ribozom büyüklüğünün 30 katı kadar)

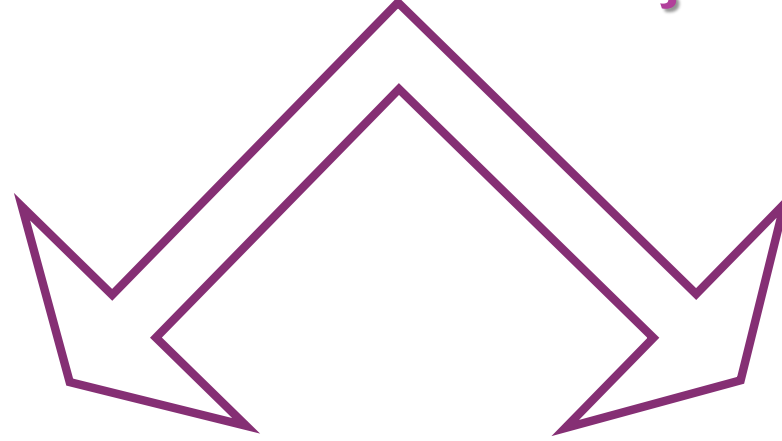
Omurgalılarda bu kompleks 30 farklı por proteinin (nükleoporin) çok sayıda kopyasından oluşur.

Sitoplazma

İki yönde
de taşıma
gerçekleşir

Nükleus

Moleküller, Nükleer Por Kompleksinden İki Farklı Mekanizma İle Geçerler



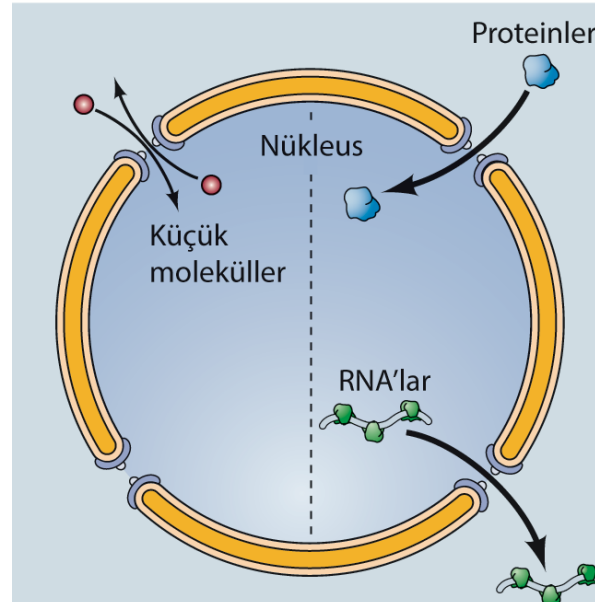
Serbestçe Geçenler

Pasif difüzyon

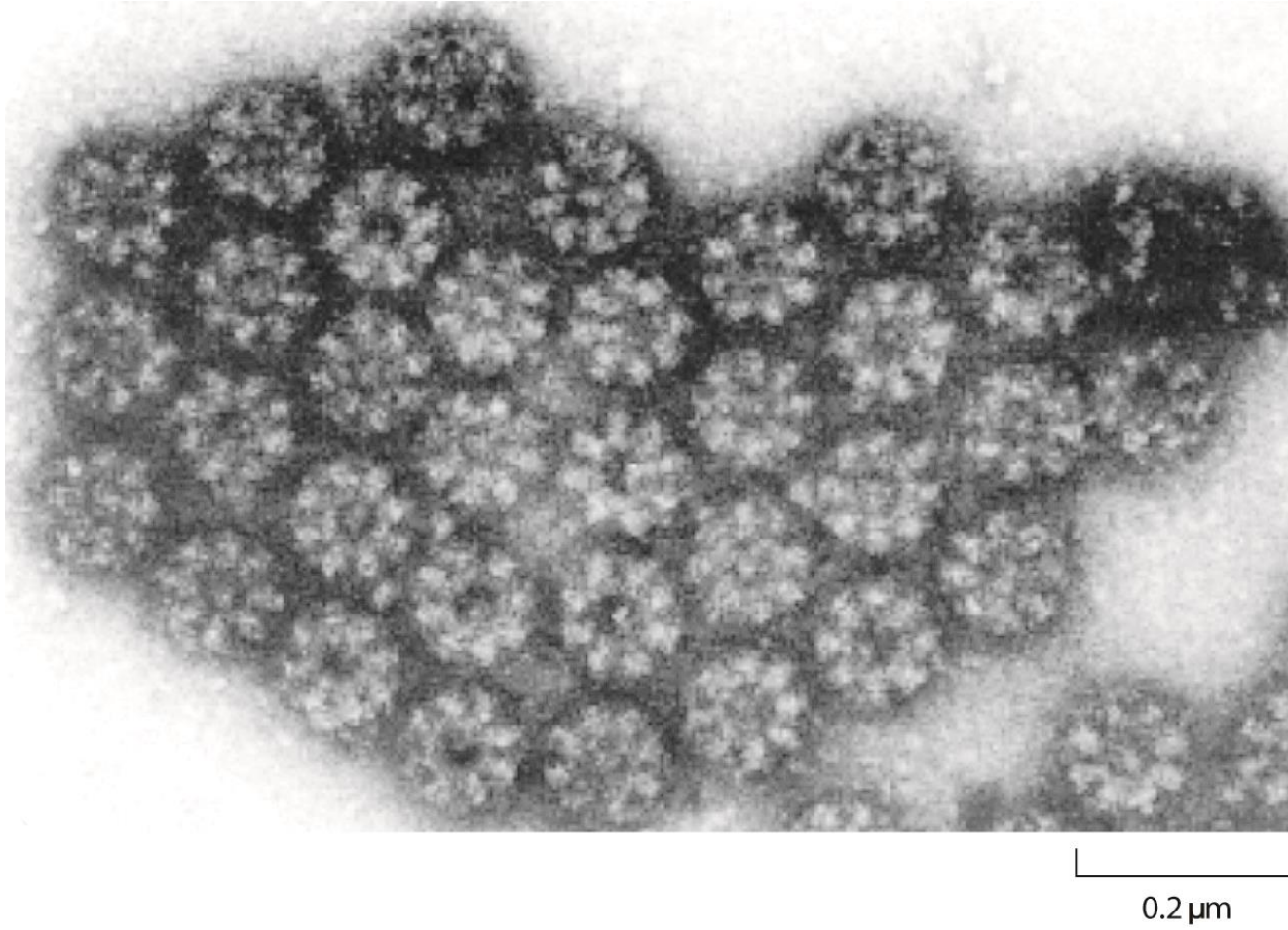
- Moleküler ağırlıkları 40 kD'nun altında bazı proteinler ve küçük moleküller her iki yönde de serbestçe geçer.

Seçici Bir Taşıma İşlemi ile Geçenler

Enerji-gerektiren taşıma

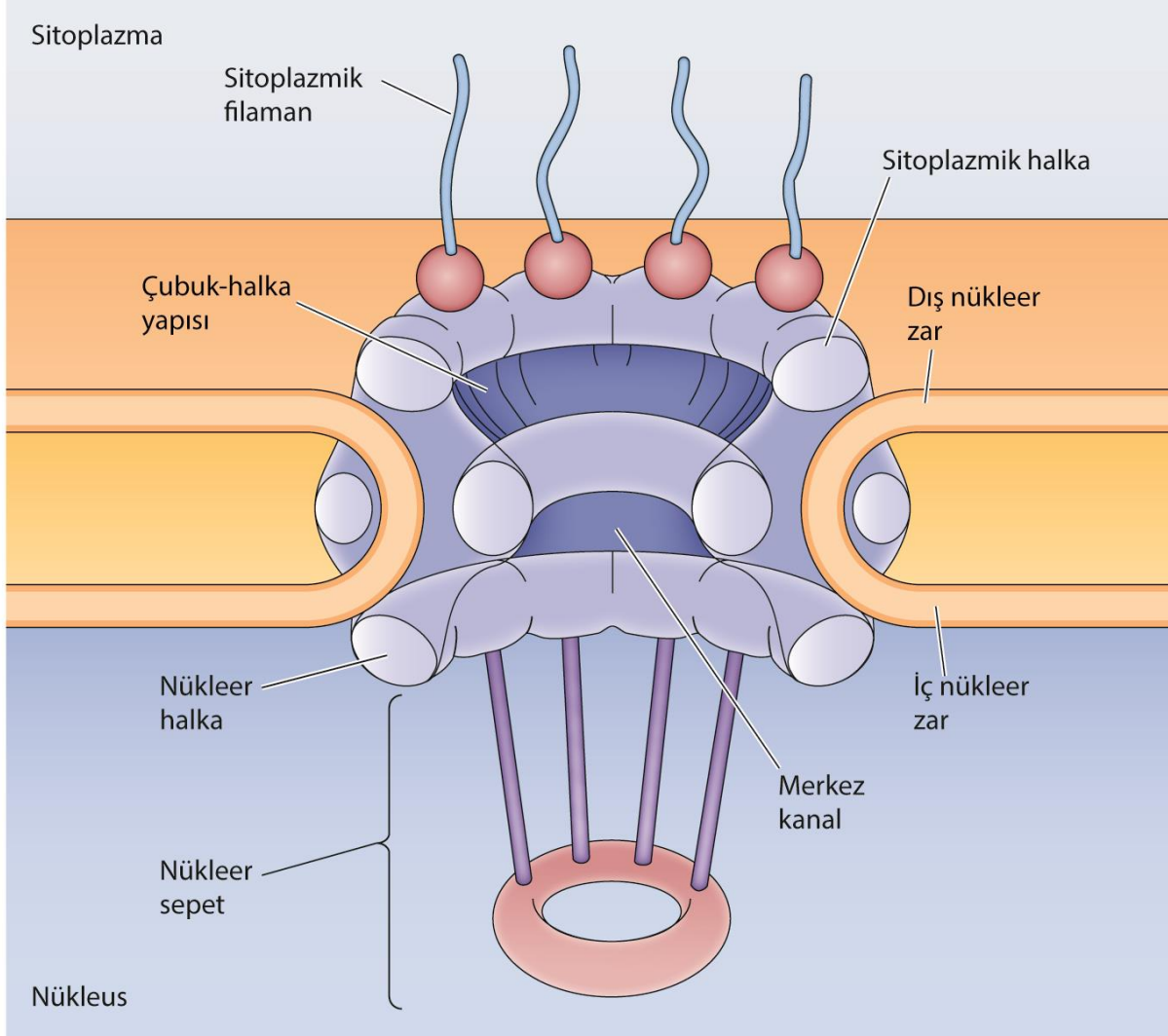


Protein ve RNA moleküllerinin çoğu nükleustan sitoplazmaya ya da sitoplazmadan nükleusa yönlendirilmelerini sağlayan spesifik sinyaller aracılığı ile tanınarak taşınırlar.



Nuklear por kompleksinin elektron mikroskopik görüntüsü. Bu yğzeyden bakıldığında nuklear por kompleksinin merkezi bir kanal etrafında simetrik yerleşeimli sekiz yapıdal alt birimli yapısı dikkat çekmektedir.

NÜKLEER POR KOMPLEKSİ MODELİ



Büyük merkezi bir kanal etrafında yerleşmiş sekizli simetrikli çubuğun birleşmesi ile oluşmuştur. Bu çubuklar nükleus ve sitoplazma yüzeyindeki halkalara tutunur.

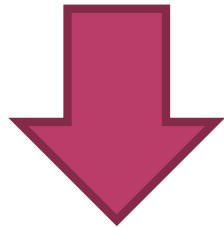
Sitoplazmik halka - sitoplazmik filamanlardan
Nükleer halka - nükleer sepeti oluşturan filamanlardan çıkar.

NÜKLEER POR KOMPLEKSİ MODELİ

- ◉ Küçük polar moleküllerin, iyonların ve makromoleküllerin (proteinler ve RNA'lar) nukleus ve sitoplazma arasında dolaştığı yegane kanallardır.
- ◉ Nuklear por kompleksini 120 nm çapında son derece büyük yapılardır.
- ◉ RNA'ların sentezlendikleri nukleustan, prote,n ve sentezindeki işlevlerini gerçekleştirdikleri sitoplazmaya hızlı ve verimli şekilde gönderilmesinde rol oynarlar.
- ◉ Ters yönde de işlev gösterirler.

PROTEİNLERİN NUKLEUSA VE NUKLEUSDAN SEÇİCİ TAŞINIMI

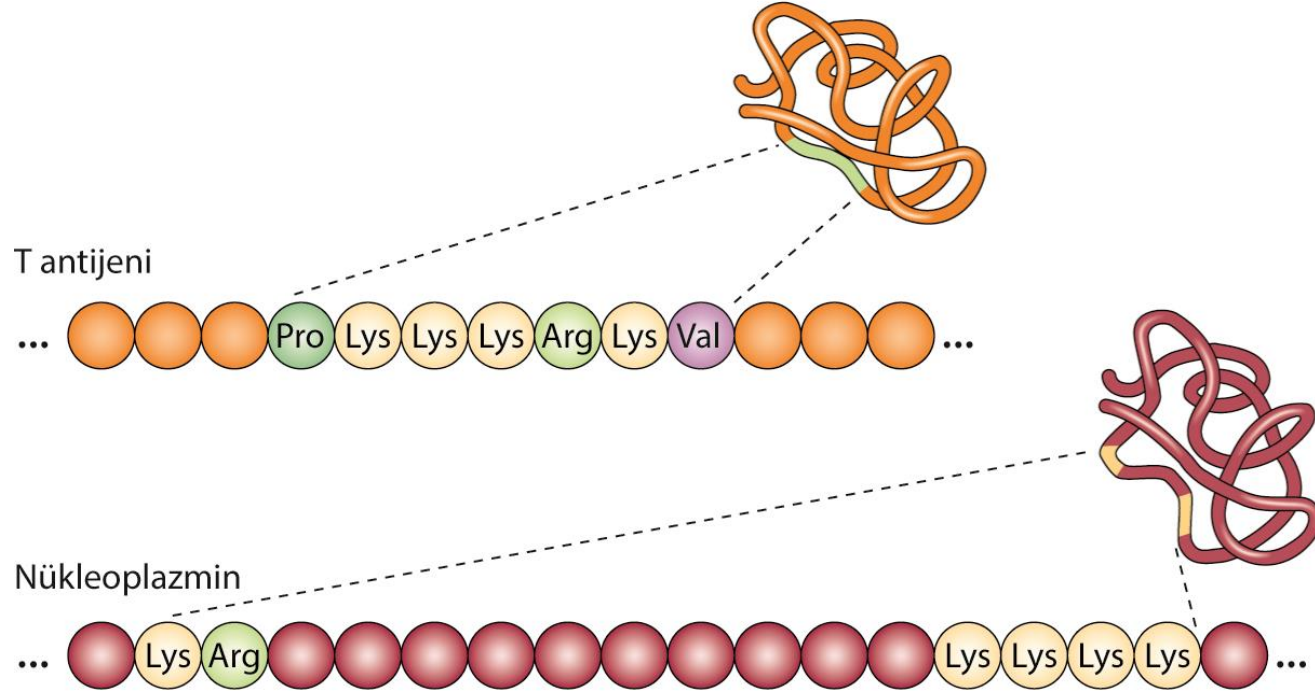
- Seçici taşınım ilkeleri ilk olarak sitoplazmadan nükleusa taşınan proteinlerin geçişlerinde aydınlatılmıştır.
- Bundan genom yapısı ve işlevleri yönünden sorumludur.(Histonlar, DNA polimerazlar, transkripsiyon faktörleri...)
- Bu proteinler **nükleer taşıyıcı reseptörler** tarafından tanınır. Por kompleksinden geçmesini sağlayan **nükleer yerleşim sinyalleri** (amino asitlerce zengin kısa diziler) ile **nükleusa** yerleşir.



İlk Nükleer Yerleşim Yeri Sinyali

Enfekte hücrede virüs tarafından kodlanan ve viral DNA'nın replikasyonunu başlatan -nükleusta bulunan-Simian virüs 40 (SV40) T antijenini incelediler. Bu proteinin yapısında yer alan tek bir lizindeki mutasyon çekirdeğe taşınmasını engellediğini ve bu antijenin sitoplazmada biriktiğini gözlemlenmiştir. Bunun sonucunda sorumlu sinyal saptanmıştır. Daha sonrasında diğer birçok proteinde de nükleer yerleşim sinyalleri tanımlanmıştır.

T antijeni nükleer yerleşim sinyali -> amino asitlerin bir tek doğrusal diziliminden oluşur.



T antijeni ve nükleoplazmindeki gibi birçok nükleer yerleşim sinyali klasik nükleer yerleşim sinyali olarak bilinen **bazı amino asitleri** içerir.

Nükleoplazminin nükleer yerleşim sinyali -> Lys-Arg ve 10 amino asit aşağıda bulunan Lys-Lys-Lys-Lys'den oluşan iki parçalı(*bipartite*) yapıdır.

- ◉ **İmportin** -> nükleer taşıyım reseptörleri
- ◉ **Ran** -> Nükleer pordan taşıyım yönünü düzenleyen GTP-bağlayan protein

- ◉ Protein sentezinde rol oynayan translayon faktörlerinin çoğu ve Ras'da dahil olmak üzere GTP bağlayan diğer proteinlerin üç boyutlu yapısı ve aktiviteleri GTP ya da GDP'ye bağlı olma durumuna göre değişir.
- ◉ Örneğin; Ran
 - GTP'nin GDP'ye hidrolizini uyaran enzimler nükleer por kompleksinin sitoplazmik filamanlarına bağlıdır.
 - GDP'nin GTP'ye değişimini uyaran enzimler nükleustaki kromatine bağlanır. Sonuçta Ran/GTP konsantrasyonu yüksektir. Bu durum nükleer taşıyımın yönü olduğunu belirler.

Nükleusa, Nükleer Por Kompleksi Aracılı Protein Taşınımı

Kargo proteinin nükleer yerleşim sinyalinin importin tarafından sitoplazmada tanınması ile nükleusa taşınma başlar.



Kargo/importin kompleksi sitoplazmik filamanlardaki proteinlere bağlanır ve importinlerin porun merkezi kanalını çevreleyen proteinler ile etkileşimi devam eder.

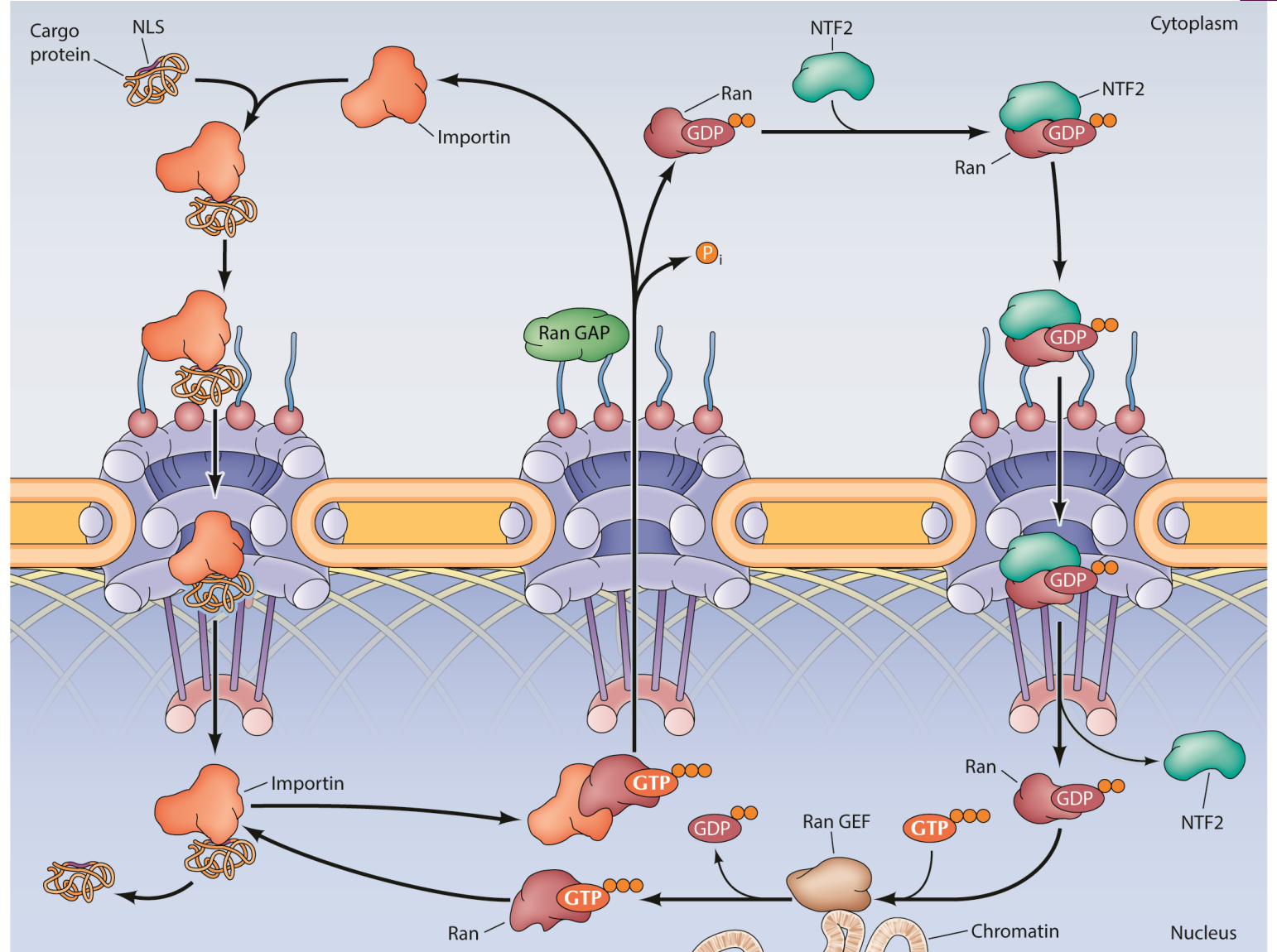


Kargo/importin kompleksi zarın nükleet kısmına ulaşınca Ran/GTP importine bağlanır

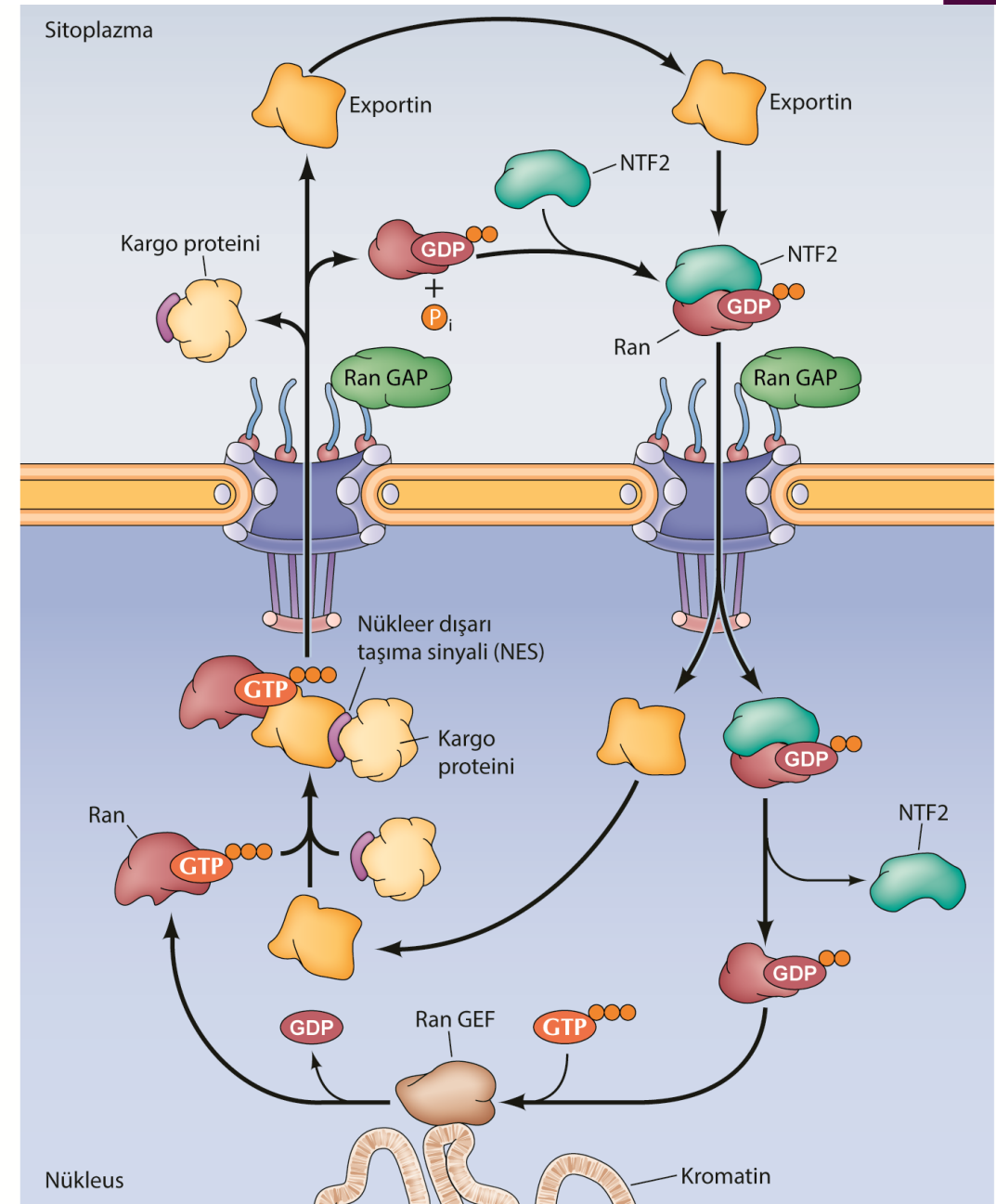


Kargo/importin kompleksi dağılır.

Kargo protein ayrılarak nükleusa salınmış olur.



- ❑ Döngünün devamlılığı importin-Ran/GTP'nin nükleer por kompleksinden geri taşınımı ile sağlanır.
- ❑ Sitoplazmada Ran'a bağlı olan GTP'nin GDP'ye hidrolizi olur. Bu da importini serbest kalıp yeni kargo proteini ile bağlanmasına olanak tanır.
- ❑ Ran/GDP nükleusa taşınır. Bu taşınım kendi nükleusa taşınım reseptörü sayesinde gerçekleşir.
- ❑ Daha sonra Ran/GDP, Ran/GTP'ye dönüştürülür. Bu da nükleus içindeki Ran/GTP konsantrasyonunun yüksek seviyede kalmasını sağlar.



Proteinlerin çekirdekten dışarı gönderilmesi hidrofobik özellikli bir amino asit olan lösin yönünden -genellikle- zengin **nükleer çıkış sinyali** ile sağlanır. Bu sinyalleri nükleustaki reseptörler olan **eksportinler** tanır. Bunlar da proteinlerin nükleus por komplekslerinden sitoplazmaya çıkışlarını düzenler.

- Eksportinler, importinler gibi **karyoferin** olarak bilinen nükleer taşıma reseptörleri ailesinin üyesidir.

KARYOFERİN	SUBSTRATLAR
Nükleusa taşıma (import)	
Importin (Kapa/Kap β 1 dimeri)	Bazik nükleer yerleşim sinyaline sahip proteinler(örn:nukleoplazminler)
Snurportin/Kap β 1	snRNP'ler(U1,U2,U3,U4)
Transportin/Kap β 2	mRNA bağlayıcı proteinler, ribozomal proteinler
Importin7/Kap β 1 dimer	Histon H1, ribozomal proteinler
Nükleustan taşıma (eksport)	
Crm1	Lösence-zengin nükleer yerleşim sinyaline sahip proteinler,snurportin,snRNA'lar, ribozomal altbirimler
CAS	Kapa
Eksportin-t	tRNA'lar
Eksportin5	miRNA'lar

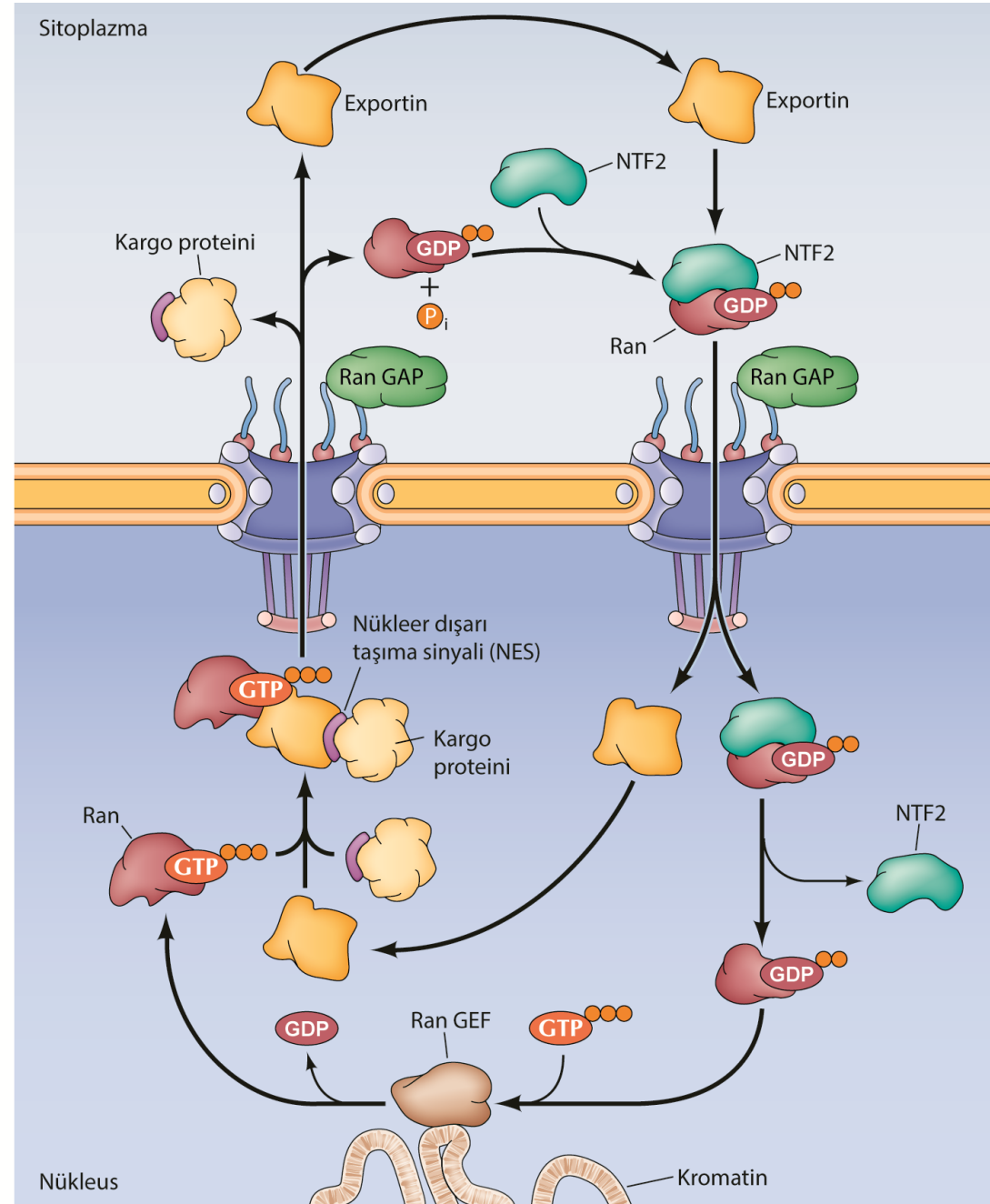
Ran/GTP

- ❖ Eksportinler ve onların kargo proteinleri arasında dayanıklı kompleksler oluşmasını sağlar.
- ❖ İmportinler ve onların kargo proteinleri arasındaki komplekslerin ayrışmasına neden olur.

Nükleer çıkış sinyali içeren kargo proteinleri ile eksportinler ve Ran/GTP arasındaki kompleksler oluşur.

Nükleer zarfın sitoplazmik tarafına taşınması ardından GTP'nin hidrolizi ve Ran/GDP serbest kalması ve kargo proteinin kompleksten ayrılarak sitoplazmaya salınmasına yol açar.

Eksportin ve Ran/GDP nükleer pordanan geçerek tekrar kullanılmak üzere geri dönüştürülür.



RNA'LARIN TAŞINMASI

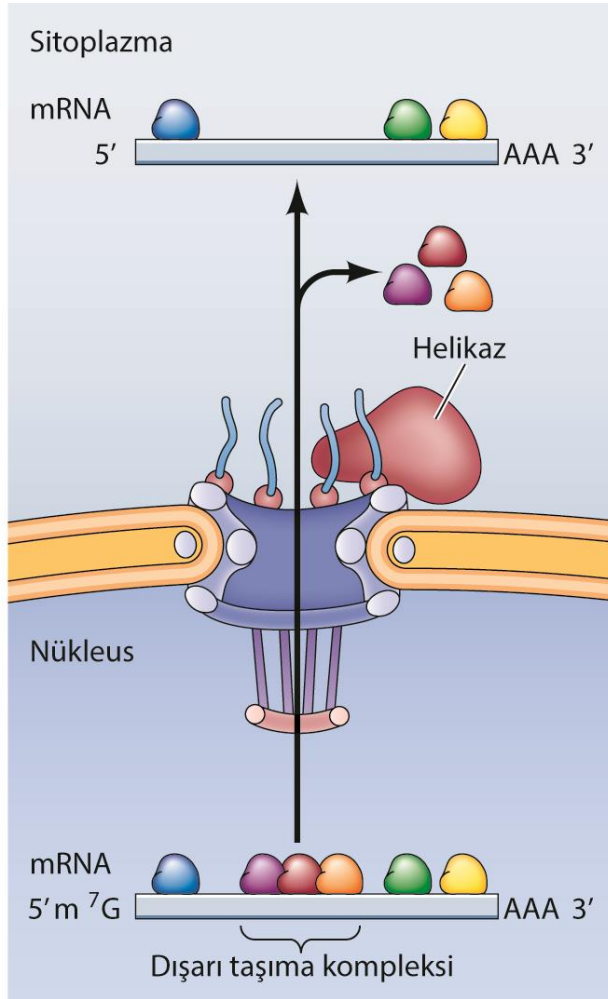
- RNA'lar nükleer por kompleksinden ribonükleoprotein kompleksleri(RNP) olarak taşınır.
- tRNA'lar, rRNA'lar ve miRNA'lar özgül karyoferin eksportinleri tarafından nükleus dışına taşınırlar.

Eksportin-t	tRNA'lar
Eksportin5	miRNA'lar

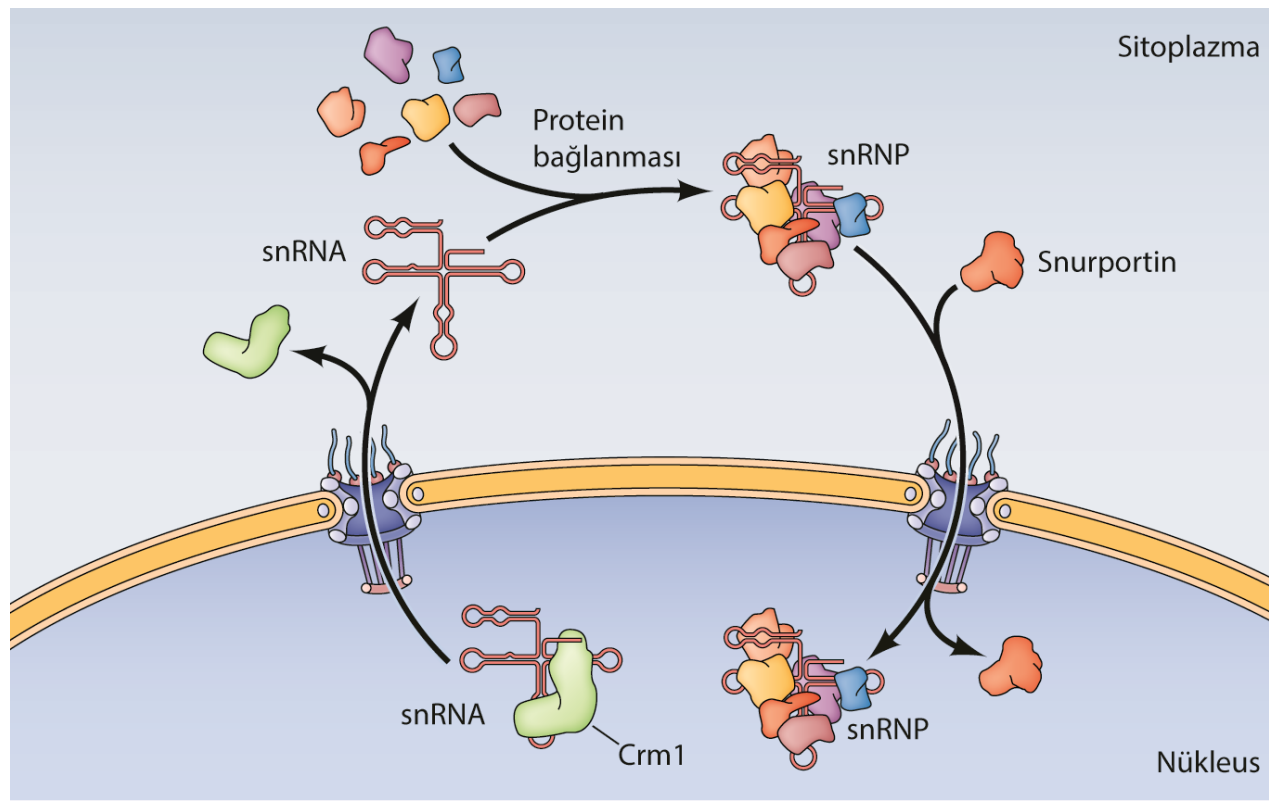
- rRNA'lar önce ribozomal proteinlerle nükleusta birleşir ve yeni oluşan 60S ve 40S ribozomal alt birimler Crm1 eksportini tarafından ayrı ayrı sitoplazmaya taşınır.

mRNA Taşınımı

Nükleus dışına taşınimleri diğerinden farklıdır.



- Pre-mRNA'lar nükleusta işlenmeleri ve sitoplazmaya taşınimleri sırasında en az 20 farklı protein ile etkileşirler. Bu proteinler arasında mRNA exporter(dışa taşıyıcı) kompleks bulunur.
- Bu kompleks nükleer pordan mRNA'ları taşır.
- Taşıyım yönünü RNA helikaz belirler.(Nükleer por kompleksinin sitoplazmik yüzeyinde bulunur.)
- Helikaz mRNA'yı yeniden modeller ve mRNA'yı sitoplazmaya bırakır.



Crm1

Lösence-zengin nükleer yerleşim sinyaline sahip proteinler, snurportin, snRNA'lar, ribozomal altbirimler

Snurportin/Kap β 1

snRNP'ler(U1,U2,U3,U4)

Küçük nükleer RNA'lar Crm1 **eksportini** tarafından nükleustan sitoplazmaya taşınırlar. Sitoplazmada snRNA'lar ile proteinler bir araya gelir ve snRNP'leri oluşturur. Bunlarda snurportin **importini** tarafından tanınır ve nükleusa geri taşınır.

Nükleer Proteinlerin İçeri Girişlerinin(İmport) Düzenlenmesi

- ◉ Proteinlerin nükleus içine aktarılması, nükleer proteinlerin aktivitelerinin kontrolünün sağlanmasında önemli bir kademedir. Örn: Transkripsiyon faktörleri sadece nükleusta aktiftir.
- ◉ Transkripsiyon faktörleri ve protein kinazların nükleusa girişlerinin kontrolü hücre yüzeyinden alınan sinyallerin nükleusa iletilmesini sağlayan bir mekanizma oluşturur. Bu da hücre davranışlarının kontrolünde önemli rol oynar.
- ◉ Transkripsiyon faktörleri nükleer taşıyım sinyallerini maskeleyen sitoplazmik proteinlerle birleşirler. Böyle durumda sinyaller algılanamaz hale gelir ve proteinler sitoplazmada kalır.
- ◉ Memeli hücrelerinde çeşitli çevresel sinyallere yanıt olarak aktif duruma geçen transkripsiyon faktörü NF- κ B bu duruma iyi bir örnektir.



Uyarılmamış hücrelerde

NF- κ B, inhibitör proteinle(I κ B) kompleks oluşturur.



I κ B ile bağlanma NF- κ B'nin nükleer yerleşim sinyalini maskeler

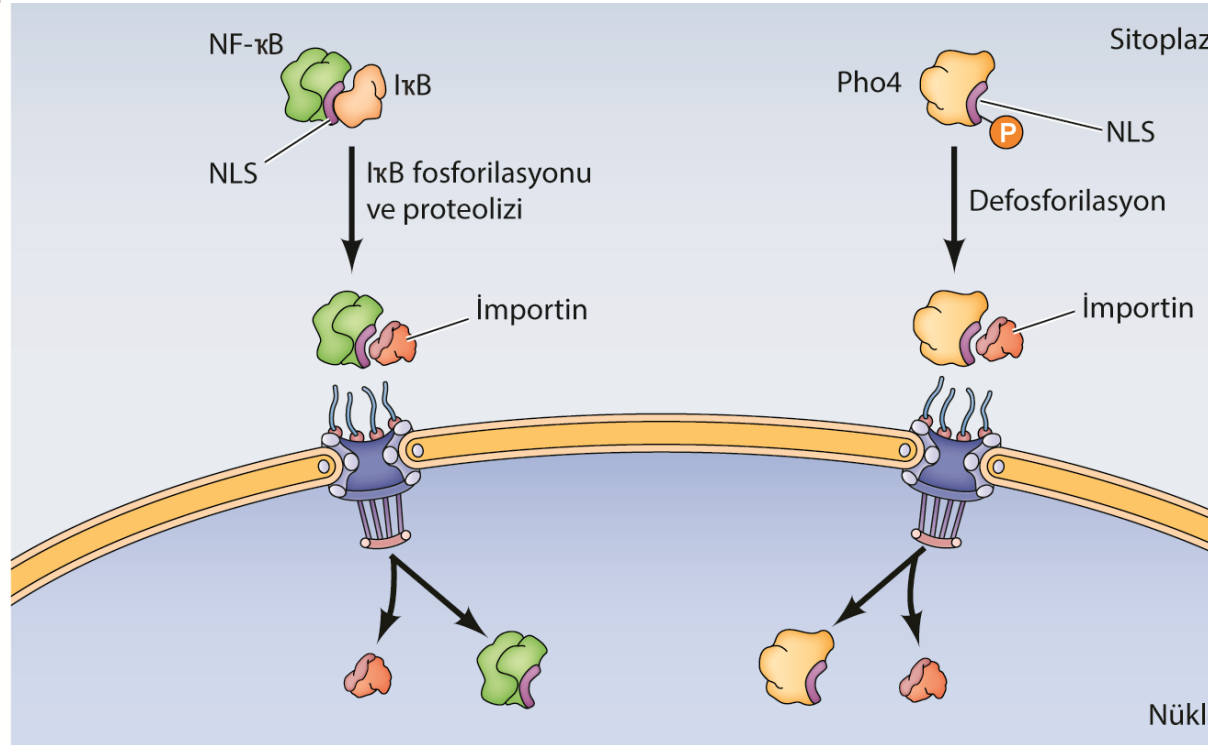


İnaktif kompleks sitoplazmada kalır

Uyarılmış hücrelerde

I κ B fosforillenir → Übikülin aracılı proteolizle yıkılır. → NF- κ B çekirdeğe girer

Hedef genlerde transkripsiyonu aktive eder



Diğer bazı transkripsiyon faktörleri direkt olarak fosforilasyonla denetlenir. Örneğin; Pho4 (Maya Transkripsiyon faktörü)

Yaşam döngüsünün belli bir kısmında nükleusa alınır onun dışında nükleer yerleşim sinyaline bitişik serinin fosforillenmesi ile sitoplazmada kalır.

KROMOZOMLARIN ORGANİZASYONU

Kromatin, yavru nucleuslara dağıtılabacak olan sıkıca paketlenmiş metafaz kromozomlarını oluşturmak üzere, mitoz sırasında yüksek düzeyde yoğunlaşır.

İnterfaz sırasında, kromatinin bir kısmı (heterokromatin) yoğunluğunu korur ve transkripsiyon yönünden inaktiftir. Geri kalan kromatin bölgeleri (ökromatin) gevşektir ve çekirdek içerisinde her yöne dağılmış durumdadır. İnterfaz kromatini heterojen bir iekilde dağılmış görülmesine karşın, kromazomlar nukleusta belirli bölgelere yerleşirler ve gen ekspresyonunu kromazomal yerleşim ile paralellik gösterir. ayrıca DNA'nın anahtar aktiviteleri arasında yer alan replikasyon ve transkripsiyon nukleusta kümelenmiş bölgelerde gerçekleşir.

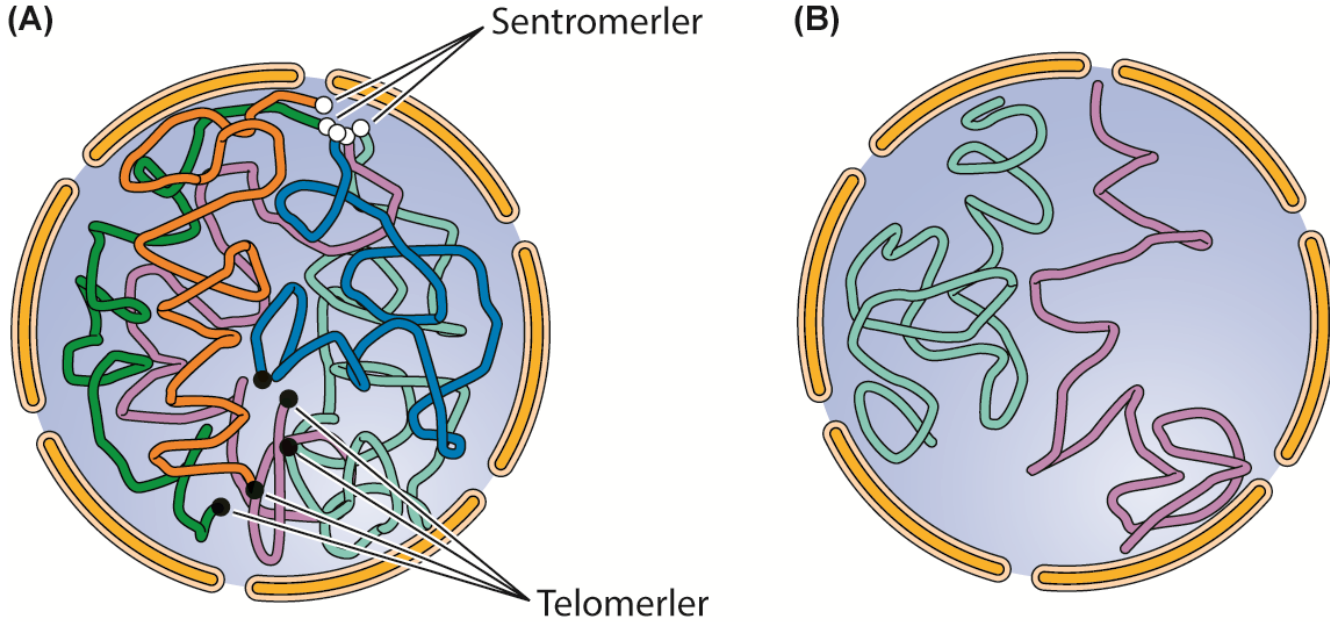
KROMOZOMLARIN ORGANİZASYONU

- ◉ **Heterokromotin->** interfazda kromatinin yoğunluğunu koruduğu kısımdır. Transkripsiyon yönünden inaktiftir.
- ◉ **Ökromatin->** Interfazda kromatin bölgeleri daha gevşek ve çekirdek içerisinde yayılmış durumdadır.

İnterfaz kromatini homojen şekilde dağılmış görülmesine karşın, kromozomlar nükleusta belirli bölgelere yerleşirler ve gen ekspresyonu kromozomal yerleşim ile paralellik gösterir. Replikasyon ve transkripsiyon nükleusta kümelenmiş bölgelerde gerçekleşir.

Kromatinin interfaz nükleusunda geliş güzel dağılmadığı, *her bir kromozomun nükleer zarfta zıt bölgelere tutunan sentromer ve telomerleriyle kendilerine ait bir yer işgal ettiği* ilk defa 1885'te Carl Rabl tarafından ileri sürülmüştür.

Drosophila'nın tükürük bezlerindeki polietilen kromozomlarının ayrıntılı çalışması ile doğrulanmıştır.(1984)



Her kromozom,
nükleusun kromozom
bölgeleri (chromosome
territory) adı verilen
bölümlerde
yerleşmiştir.

Nükleustaki kromozomların organizasyonunu birbirini tamamlayan iki farklı yaklaşımla incelemişlerdir.

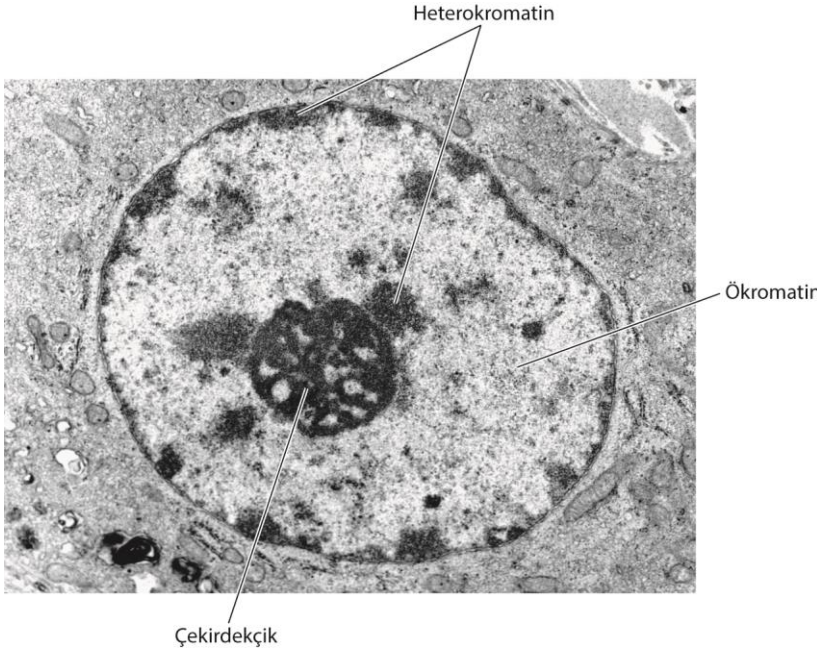
İlk olarak,

tekrar dizilerine özgü floresan proplar kullanılarak in situ hibridizasyon yöntemi ile memeli hücrelerindeki nükleuslarda kromozomun belirli bölgede yerleşmiş olduğu doğrulanmıştır.

İkinci olarak,

canlı hücrelerde kromozomların birbirleri ile etkileşimleri kromozom konformasyon yakalama (3C) teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Bu yöntem ile sağlanan global görünümüleri, floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile elde edilmiş olan sonuçları doğrulamış ve daha ileri noktalara taşımıştır. 3C yöntemleri ile belirlenmiş etkileşimlerim çoğu, farklı kromozomlar arasında değil , aynı kromozomlarda yer alan bölgeler arasında gerçekleşmektedir. Kromozomların nükleusta belirli bölgeleri işgal ettikleri görüşü ile uyum içindedir. Dahası, görünüşe göre sentromerler her bir kromozomu farklı bölümlere ayırmakta ve böylece bir kromozomun iki bacağı birbirleri ile etkileşmemektedir.

Kromatin Lokalizasyonu ve Transkripsiyonel Aktivite



İnterfaz hücrelerindeki kromatinin çoğu ökromatin (decondensed) ve transkripsiyonel olarak aktif durumda bulunur. Heterokromatin (condensed) halde bulunan kısım ise transkripsiyona uğramaz.

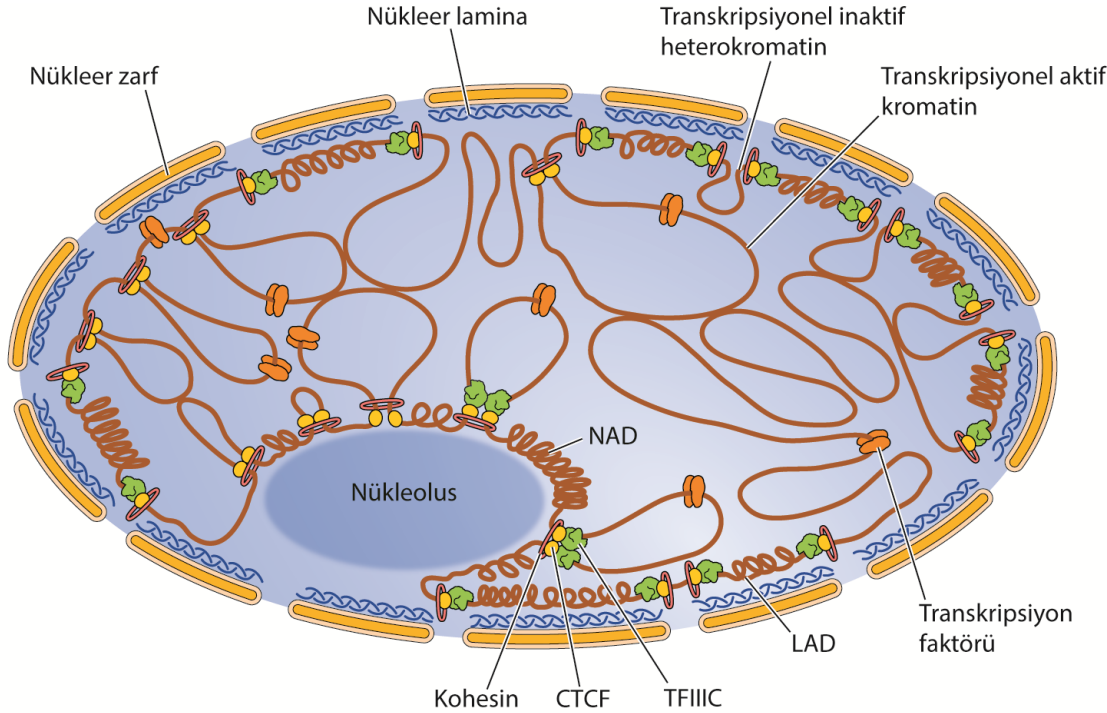
Heterokromatin, sentromer ve telomerlerdeki yüksek tekrarlı diziler gibi transkripsiyona uğramayan DNA içinde o sırada transkripsiyona uğramayan ancak diğer

diferansiyel hücre tiplerinde farklı zamanlarda ya da hormonlar gibi farklı hücre dışı sinyallere yanıt olarak transkripsiyona uğrayan genler de heterokromatin yapıda bulunur.

Heterokromatin sıklıkla nükleer zarf ya da nükleolusun çeperlerine yerleşimli bulunur.

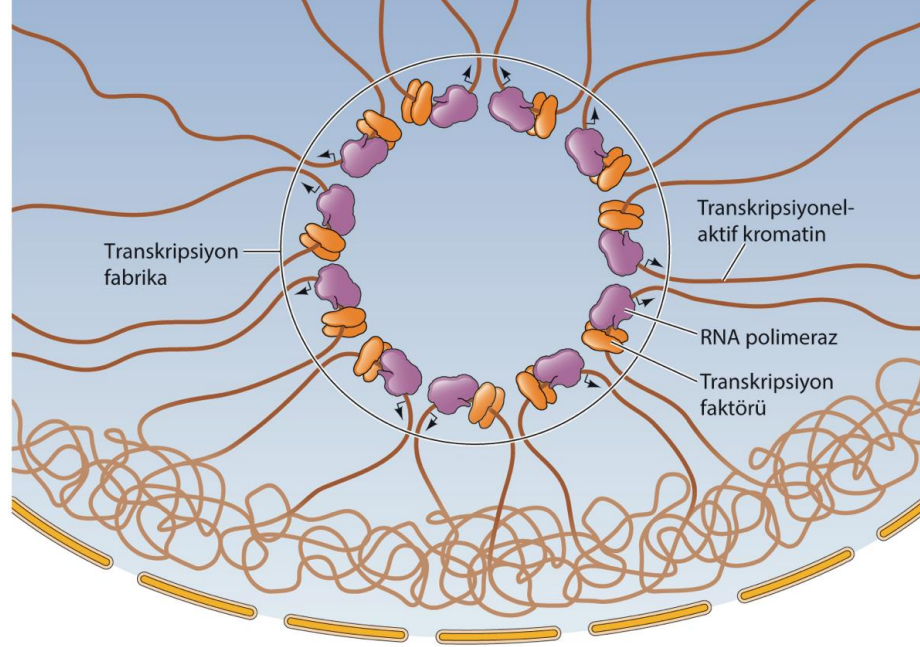
Ökromatin sıklıkla nükleusun iç kısımlarında bulunur.

3C analizi, genomları birbiri ardına gelen topolojik olarak ilişkili bölgelere (**TAD'lar**) bölünmüş olduğunu aynı bölgelerdeki noktaların birbirleri ile sıklıkla etkileştiğini ancak diğer bölgelerdeki noktalar ile nadiren etkileştiklerini göstermiştir. TAD'ların promotorlar ile güçlendiricilerin etkileştiği bölgelerin yanı sıra, baskılanmış ve aktif kromatin ile ilişkili histon modifikasyonları ile karakterize kromozomal bölgelere de karşılık geldikleri düşünülmektedir. Bu kromozomal bölgelerin sınırları çok sayıda **kohesin ve CTCF bağlanma dizileri** içerir.



CTCF; genom organizasyonunu düzenleyen şekillendirici bir protein olduğu düşünülmektedir.
LAD; nükleer lamina ile etkileşen kromozomal bölgelerdir.
NAD; nükleolus ile ilişkili bölgelerdir.

Replikasyon ve Transkripsiyon Fabrikaları



DNA replikasyonu, birden fazla DNA molekülünün replikasyonunun gerçekleştiği kümelenmiş (clustered) replikasyon bölgeleri içeren **replikasyon fabrikaları** olarak da bilinen belirli bölgelerde gerçekleşir. Bu bölgelerde DNA replikasyonunda görevli proteinler de konsantre biçimde bulunur. Bu bölgelerden yüzlercesi memeli hücresinde bulunur.

Transkripsiyon da kümelenmiş bölgelerde (transkripsiyon fabrikaları) gerçekleşmektedir. Bu bölgeler yeni sentezlenmiş RNA içerirler ve aktif RNA polimerazlar ile transkripsiyon faktörleri yönünden zengindirler. Çok sayıda kromozomal bölge aynı transkripsiyon fabrikasını paylaşabilir. Bu durumda ortaklaşa regüle edilen genler aynı fabrika tarafından transkribe ediliyor olabilir. Örneğin; büyük miktarda antikor üreten lenfositlerde, farklı kromozomlara yerleşmiş olan immunglobulin genleri aynı transkripsiyon fabrikasına yerleşmesi gen ekspresyonunun verimliliğinin arttırmasının yanı sıra ilişkili genlerin ekspresyonlarının koordineli biçimde düzenlenmesine yardımcı olabilirler.

NÜKLEER CİSİMLER

- ◉ Nükleus çeşitli organellelere sahiptir. Bunlar nükleer cisim olarak bilinir.
- ◉ Nükleusu bölümlere ayırır.
- ◉ Özgül nükleer işlemlerde rol oynayan proteinleri ve RNA'ları konsantre etmekte görev alırlar.
- ◉ Sitoplazmik organelden farkı, nükleer cisimler bir membran ile çevrili değildir.
- ◉ Protein-protein ve protein-RNA etkileşimleri sayesinde devamlılıkları vardır. Nükleer cisimler dinamik yapılıdır.
- ◉ Nükleer cisimlerin bazıları bilinse de tamamının görevleri tam olarak anlaşılmamış olup, aydınlatılmasına yönelik araştırmalar aktif olarak devam etmektedir.

En iyi bilinen nükleer cisim rRNA transkripsiyonu, işlenmesi ve ribozom oluşumunda görevli olan **nükleolus**tur.

Nükleer Cisim	Nükleus Başına Cisim Sayısı	Fonksiyon
Cajal Cismi	0-10	snRNP oluşumu
Clastozom	0-3	Proteasom aracılı proteoliz
Histon Lokus Cismi	2-4	Histon pre-mRNA'larının transkripsiyonu ve işlenmesi
Benek	20-50	Pre-mRNA kırılma faktörlerinin depolanması
PML Cismi	10-30	Transkripsiyonel düzenleme, DNA tamiri
Polikomb Cismi	10-20	Gen susturulması

NÜKLEOLUS VE RNA

- ❑ Hücre protein sentezi gereksinimini karşılamak için fazla sayıda ribozoma ihtiyaç duyar. Aktif olarak çoğalan memeli hücrelerinde 5 ile 10 milyon civarında ribozom bulunur ve her bölünmede sentezlenmeleri gerekir.
- ❑ Nükleolus ribozom üretim fabrikası olarak çalışır.

Ökaryotik ribozomlar → 5S, 5.8S, 18S, 28S rRNA'lar olarak bilinen 4 tip RNA içerir.

5,8S	}	RNA polimeraz I tarafından tek bir birim halinde sentezlenir.
18S		
28S		
		45S ribozomal öncü RNA meydana gelir.

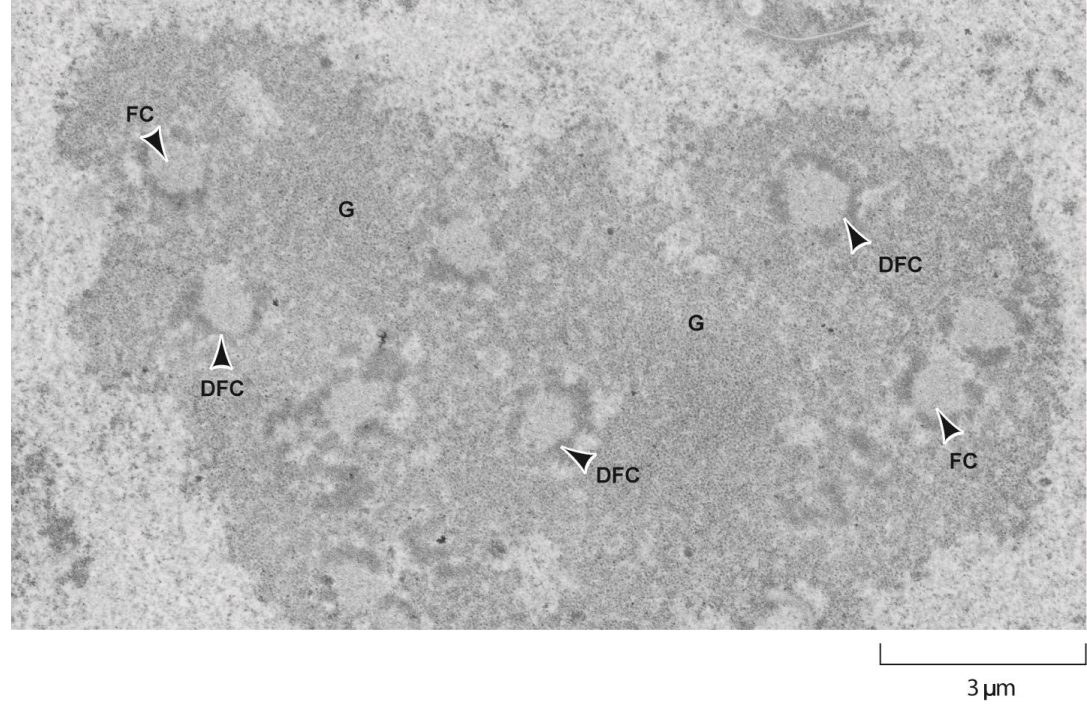
45S pre-rRNA 40S(küçük) ribozomal alt birimde yer alan 18S rRNA'ya ve 60S (büyük) ribozomal alt birimde yer alan 5,8S ve 28S rRNA'ya işlenir. 60S alt birimde yer alan 5S rRNA'nın transkripsiyonu yüksek memelilerde **nükleolus dışında, RNA polimeraz III** tarafından gerçekleştirilir.

Nükleolus oluşum bölgeleri; 5,8S,18S ve 28S rRNA'ları içeren kromozomal bölgeler çevresinde organize olduğu kısımlardır.

Nükleolus oluşması için 45S pre-rRNA'nın transkripsiyonuna ihtiyaç vardır. Bunu işleme faktörleri ve nükleolar öncül cisimlerin birleşmesi izler.

Nükleoluslar morfolojik olarak;

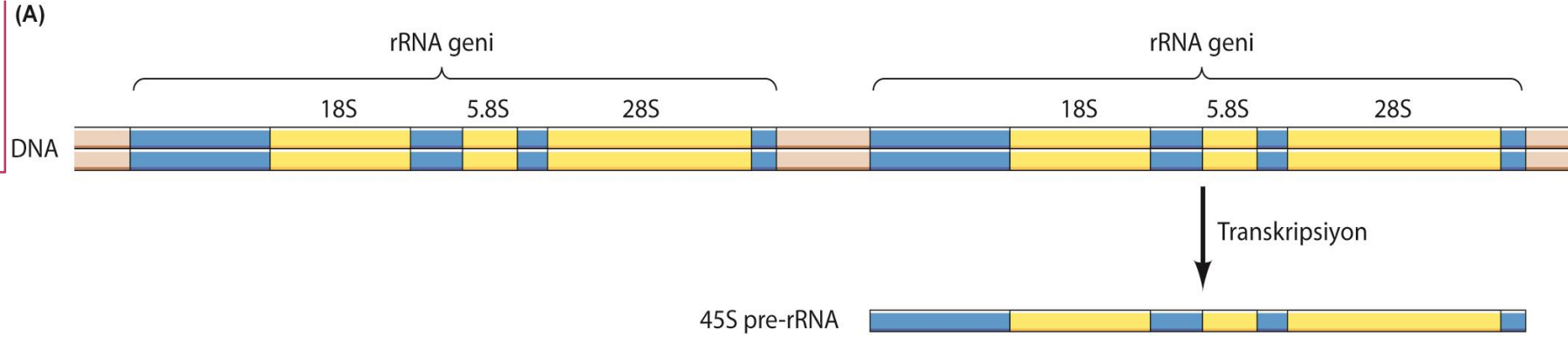
- İpliksi (fibriler) bir merkez(FC)
- Yoğun ipliksi bileşen(DFC)
- Tanecikli(granüler)bileşen(GC) olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır.



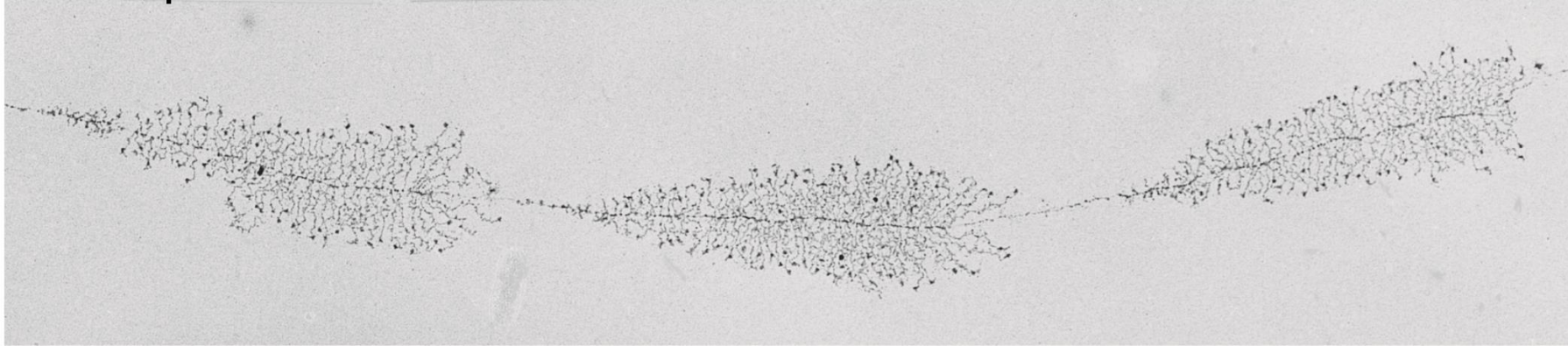
İpliksi Merkezde	rRNA kodlayan genler
Yoğun ipliksi bileşen	Pre-rRNA'nın işlendiği yer
Tanecikli bileşen	Ribozomal alt birimlerin bir araya getirildiği yer

Nükleolusun boyutları bulunduğu hücrenin metabolik aktivitesine bağlıdır(Aktif protein yapanlarda daha büyük).**Çeşitlilik tanecikli bileşenin boyutundan kaynaklanır ve ribozom oluşum seviyesini yansıtır.**

Her bir oluşum bölgesi transkripsiyonu yapılmayan aralayıcı bölgeler içerir.



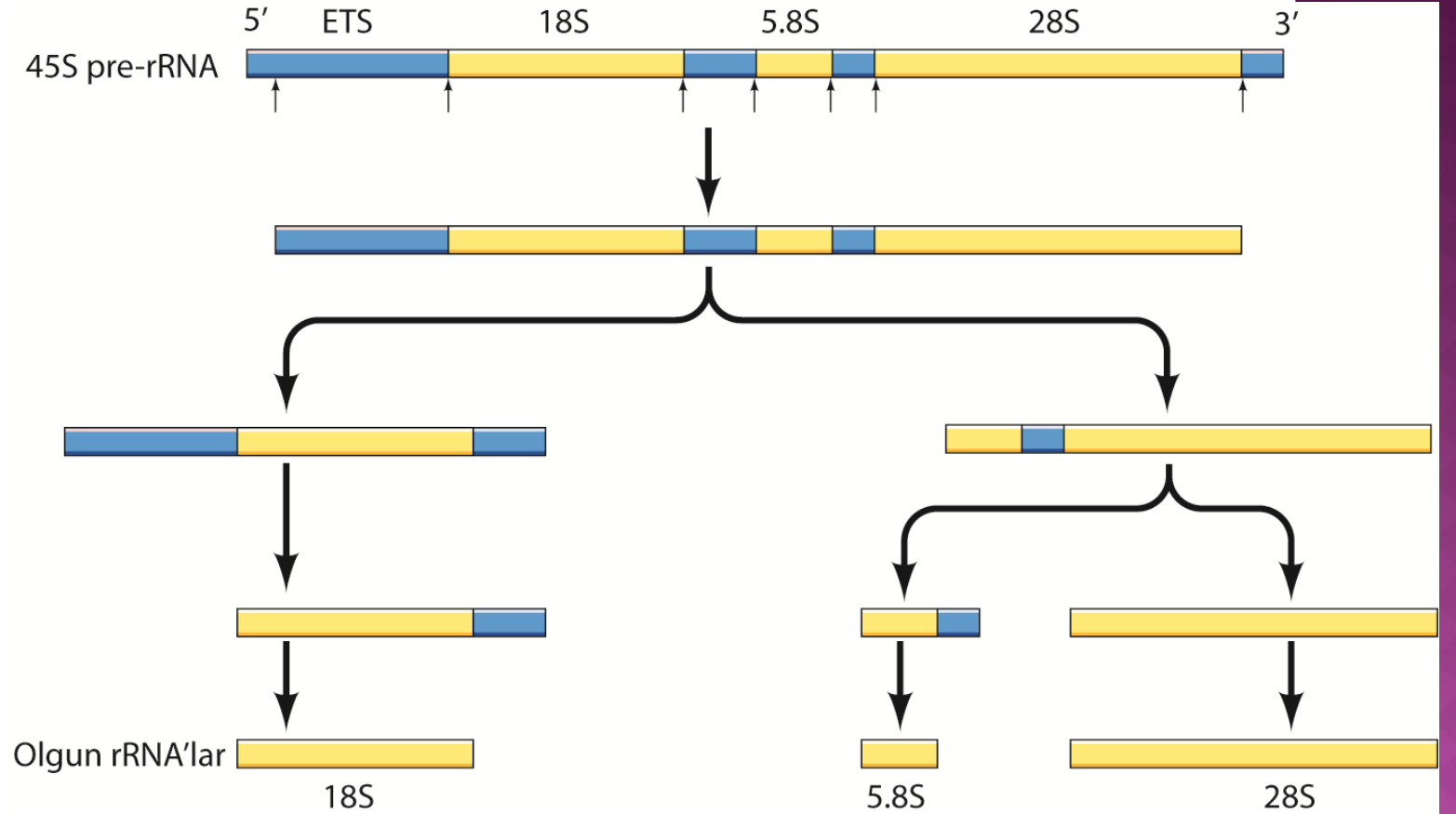
→ Bu genler RNA polimeraz I tarafından transkribe edilir.



Üç rRNA geninin transkripsiyonunu gösteren elektron mikroskobu görüntüsü. Noel ağacı benzeri görüntüsü olması her bir genin büyümekte olan RNA zincirlerinin oluşturduğu bir dizin ile çevrenmesidir.

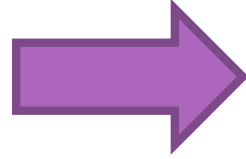
Yüksek ökaryotlarda RNA genlerinin birincil transkripti 45S pre-rRNA'dır.

18S, 5.8S ve 28S rRNA'ları oluşturmak üzere kesime uğrar.

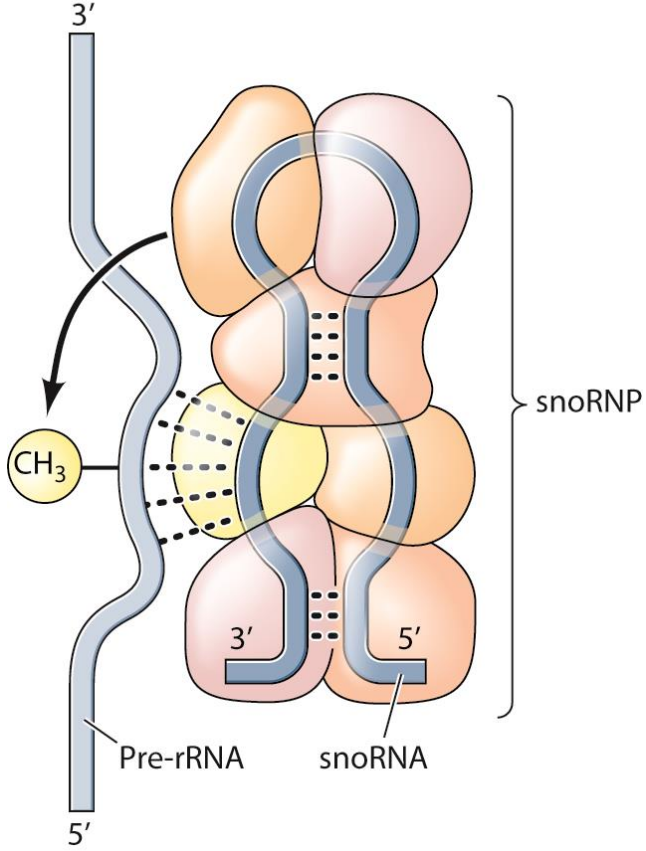


Kesime ek olarak pre-rRNA'nın işlenme süreci hem özgül riboz kalıntılarına metil grupları eklenmesi hem de üridinin psödoüridine dönüşümü ile sonuçlanan önemli modifikasyonlar içerir.

pre-Rrna'nın
işlenmesi
nükleolusta
yerleşik
proteinlere
ve RNA'lara
gereksinim
duyar.



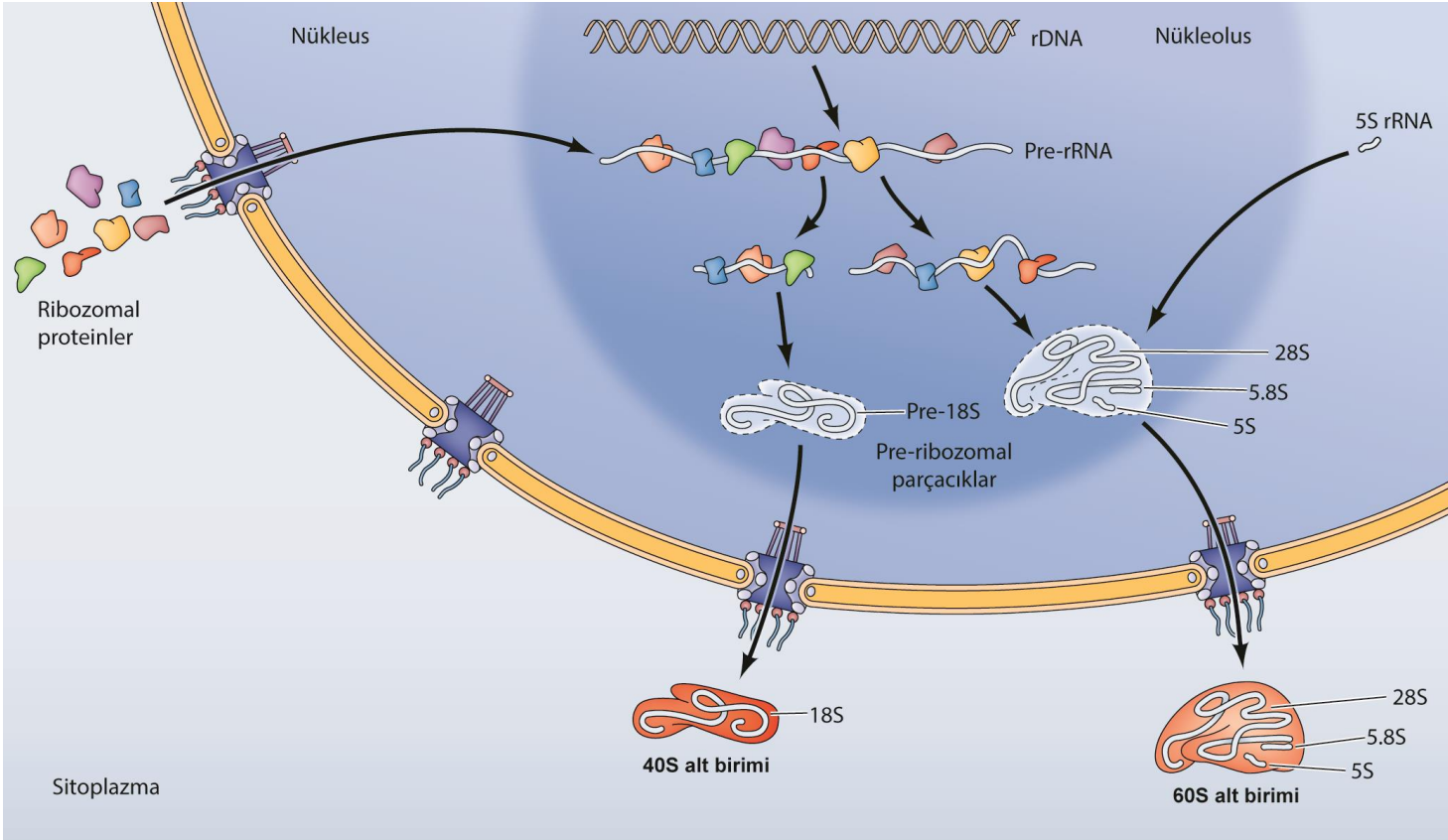
Bu görev için 300'den fazla
protein ve yaklaşık 200
kadar küçük nükleolar
RNA(snoRNA) içerir.



snoRNA'lar snRNA'lardan işleyişi bakımından farklıdır.
snoRNA'lar pre-rRNA moleküllerini özgül modifikasyonlar için protein enzimlere yönlendiren rehber olarak görev yapar.

Riboz metilasyonu ya da psödoüridini katalizleyen ve farklı proteinler ile etkileşen iki farklı snoRNA ailesi bulunur.

Ribozomların Yapılanması



Ribozomal proteinleri kodlayan genler RNA Polimeraz II tarafından nükleolus dışında okunur.

Sentezlenen mRNA'ların proteine translasyonu sitoplazmik ribozomlarda gerçekleşir.

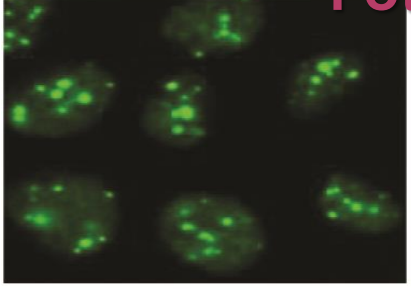
Ribozomal proteinler sitoplazmadan nükleolusa taşınır.

rRNA ile birleşir ve öncül ribozomal partiküller oluşur

Ribozom öncülü partiküller sitoplazmaya taşınır. (ökaryotlarda 40S ve 60S alt birimleri oluşur.)

5S rRNA RNA polimeraz III enzimiyle nükleolus dışında yapılmasına karşın öncül ribozomal partiküllerle nükleolusta birleşir.

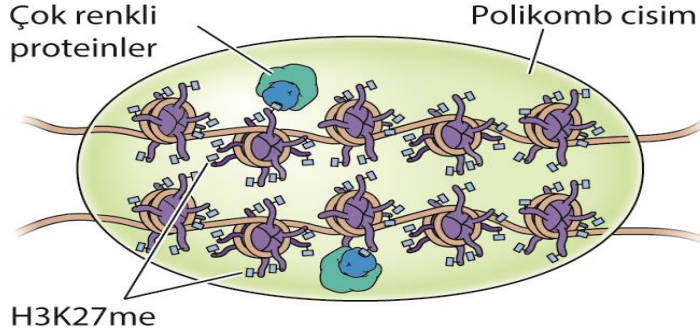
(A)



Polikomb Cisimcikleri: Transkripsiyonel Baskılama Merkezleri

Polikomb proteinleri histon H3-lizin metilasyonu aracılığı ile genlerin baskılanmasından sorumludur.

(B)



Polikomb cisimleri eşgüdümlü olarak baskılanan genlerin kümелendiği bölgelerdir.

İki kompleksten oluşur:

1. Metile olmuş H3-lizin-27 kalıntılarına bağlanır
2. Yakınındaki H3-lizin-27 rezidülerini metiller. Bu metilasyon yakınlardaki nükleozomlara yayılır ve baskılanmış kromatin bölgeleri oluşur.

Bu proteinlerin nükleus içine dağılmadığını ve polikomb cisimcikleri denilen yapı içinde toplandığı analizler sonucunda saptanmıştır.

Bu cisimcikler sıklıkla heterokromatin ile ilişkilidir. Bu durum gen baskılanmasındaki rolleri ile tutarlıdır.

Cajal Cisimcikleri ve Benekler: snRNP'lerin İşlenmesi ve Depolanması

Cajal cisimcikler ve benekler pre-mRNA'ların kesilip eklenmesinden sorumlu snRNP'lerin bir araya getirilmesi ve depolanmasında önemlidir.

- snRNA'lar ilk olarak sitoplazmaya taşınırlar ve burada proteinlerle birleşerek nükleusa dönecek olan snRNP'leri oluştururlar.
- snRNP'ler daha sonra olgunlaşmalarının son aşamalarının gerçekleştiği Cajal Cisimlerinde yoğunlaşırlar. Bu aşamalar sırasında, snRNA'lar riboz metilasyonu ve psödoüridilasyona uğrarlar.
- Cajal cisimlerinde işlenmesi ile uyumlu olarak, RNA metilasyonundan sorumlu enzim -**fibrillarin**- **Cajal cisimcikleri ve nükleouluslarda** yoğun olarak bulunur.

- Cajal cisimcikleri kendilerine özgü küçük RNA'lar(scaRNA'lar) içerir.
- Cajal cisimlerinin telomerazın yapılanmasında da önemli rol oynadıkları düşünülmektedir. Telomeraz RNA-protein kompleksinin oluşumunu destekleyebileceği gibi bu kompleksin telomerlere yerleşimini de sağlayabilir.

- Cajal cisimlerinde oluşumunu ve olgunlaşmasını tamamlayan snRNP'ler **nükleer beneklere (speckles)** taşınır.
- Benekler; mRNA kesilip eklenmesinde görevli bileşenleri içeren aralıklı yerleşmiş nükleer yapılardır.
- **Kesilip-eklenme faktörleri ve snRNP'ler beneklerde toplanır.** Kesilip eklenme faktörleri pre-mRNA işlenmesinin gerçekleştirdiği, aktif olarak transkripsiyona uğrayan genlerde toplanırlar.