



HÜCRE DÖNGÜSÜ

DOÇ. DR. BANU MANSUROĞLU

- Hücrelerin olasılıkla en temel karakteristik özelliği olan, tüm canlı organizmalar için söylenebileceği gibi, kendi başlarına üremeleridir. Bütün hücreler, hücre bölünme döngüsünün her tamamlanışında, bir ana hücreden iki yavru hücre oluşturmak üzere ikiye bölünerek ürerler. Yeni oluşan bu yavru hücreler de kendi başlarına büyür ve bölünür, böylelikle tek bir ana hücreden ve yavrularından büyüme ve bölünme ile yeni hücreler oluşur. Bu büyüme ve bölünme döngüleri, tek bir bakterinin, agar besi yerinde bir gecelik inkübasyon süresince, milyonlarca yavru hücre içeren bir koloni oluşturmasını mümkün kılar. Daha karmaşık olarak, tek bir döllenmiş yumurta, tekrarlanan büyüme ve bölünme döngüleri sonucunda, insan vücudunu meydana getirecek 10^{14} 'den fazla hücre oluşturur.
- Tüm hücrelerde bölünme, yavruların eksiksiz genoma sahip olmasını sağlamak için, hücre büyümesi ve DNA replikasyonu dikkatle denetlenmelidir. Ökaryot hücrelerde hücre döngüsü süreci, mayalardan memelilere kadar korunmuş olan bir seri protein kinaz tarafından kontrol edilir. Yüksek ökaryotlarda hücre döngüsü mekanizması, hücrelerin, çoğalmasını denetleyen büyüme faktörleri tarafından, organizmanın bir bütün olarak gereksinimleri doğrultusunda hücre bölünmesine imkan vererek düzenlenir. Hücre döngüsü regülasyonundaki bozuklukların, kanser hücrelerinin anormal çoğalmasının başlıca nedeni olması şaşırtıcı değildir. Bu yüzden, hücre döngüsü ve kanser çalışmaları, kanser ile hücre sinyal yollarının incelenmesi arasındaki ilişkiye benzer şekilde, birbiriyile yakından ilişkilidir.

- Hücrelerin çoğunda bölünme döngüsü birbiri ile bağlantılı dört süreçten oluşur:

1. Hücre büyümesi,
2. DNA replikasyonu
3. Sayıca iki katına çıkan kromozomların yavru hücrelere dağılması
4. Hücre bölünmesi.

- **Bakterilerde** hücre büyümesi ve DNA replikasyonu, hücre döngüsünün büyük bölümünde devam eder ve eşleşmiş kromozomlar yavru hücrelere, plazma zarı ile birlikte dağılır. **Ökaryotlarda** ise hücre döngüsü, farklı dört evreden oluşur ve daha karmaşıktır. Hücre büyümesi, her ne kadar, genellikle kesintisiz bir süreç ise de, DNA hücre döngüsünün sadece bir evresinde sentezlenir ve daha sonra kopyalanmış kromozomlar hücre bölünmesi öncesi bir dizi karmaşık olayla yavru çekirdeklerine dağıtılır. Hücre döngüsünün bu basamakları, korunmuş bir denetleyici sistem tarafından kontrol edilir. Bu sistem sadece hücre döngüsünün farklı olaylarını düzenlemekle kalmaz, hücre döngüsünün, hücre çoğalmasını kontrol eden ekstraselüler sinyallerle bağlantısını da sağlar.

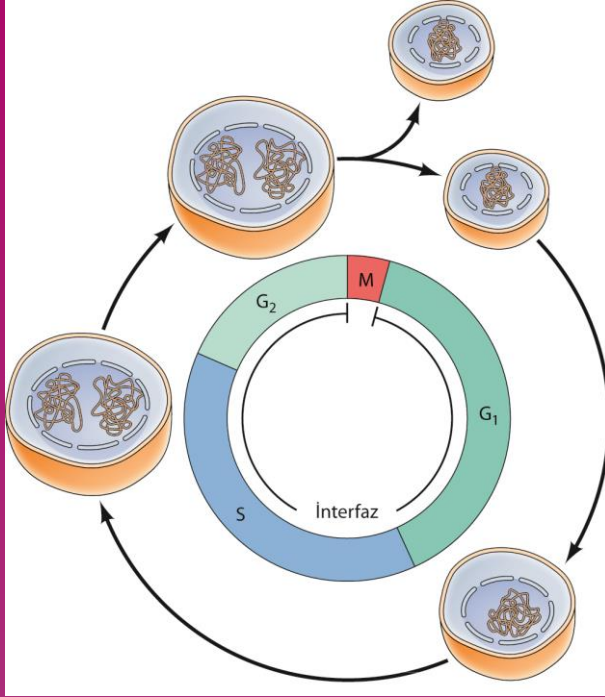
Ökaryot Hücre Döngüsü

Hücre Döngüsünün Evreleri

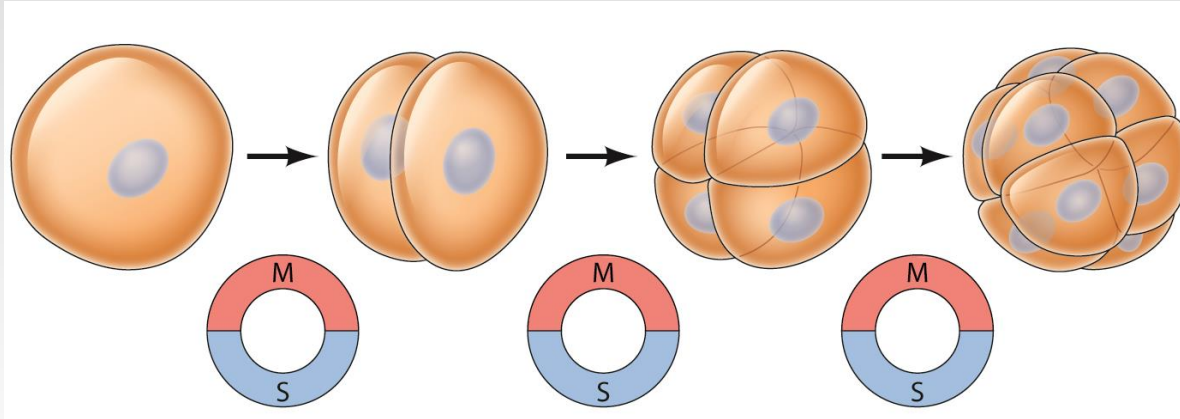
- Tipik bir ökaryot hücre döngüsü, kültür ortamında yaklaşık her 24 saatte bir bölünen insan hücreleri ile gösterilmiştir. Mikroskopta gözleendiğinde, hücre döngüsü, **mitoz** ve **interfaz** olarak iki temel bölüme ayrılır. Hücre döngüsünün en etkileyici evresi, yavru kromozomların birbirinden ayrıldığı ve hücre bölünmesi (sitokinez) ile sonlanan mitoz(çekirdek bölünmesi) evresidir. Ancak, mitoz ve sitokinez sadece bir saat sürer, hücre döngüsünün %95'i interfazda (mitozlar arası dönem) geçer. Interfaz sırasında kromozomlar yoğunluğunu kaybeder ve nükleus içine yayılırlar ve nükleus morfolojik olarak homojen görünür. Moleküler düzeyde ise interfaz, hücre büyümesi ve DNA replikasyonunun gerçekleştiği, bölünmeye hazırlık aralığıdır.
- Hücre, interfaz süresince sabit hızda büyür ve bölünen hücrelerin çoğu bir mitozdan diğerine hacim olarak iki katına çıkar. Bunun aksine, DNA interfazın sadece bir bölümünde sentezlenir.

DNA sentezinin zamanlaması, ökaryot hücre döngüsünü dört farklı evreye böler.

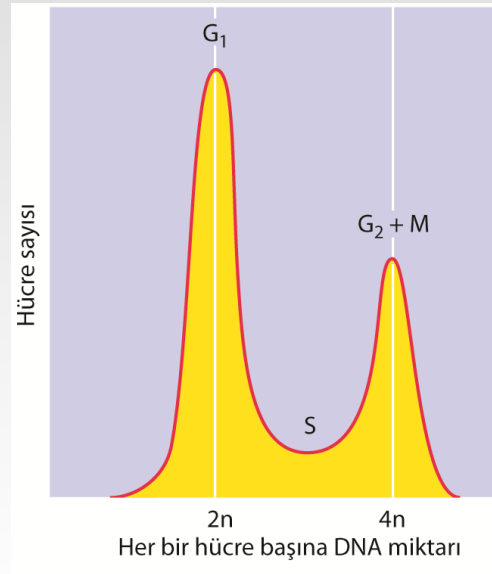
Döngünün **M evresi**, genellikle sitokinez ile devam eden mitozdur. Bu evreyi, mitoz ile DNA replikasyonunun başlaması arasındaki süreci oluşturan **G₁ evresi** (gap 1) izler. Hücre, G₁ boyunca metabolik olarak aktiftir ve DNA'sını kopyalamaksızın sürekli büyür. G₁ evresini, DNA replikasyonunun yer aldığı **S evresi** (sentez) izler. DNA sentezinin tamamlanmasını, hücre büyümesinin devam ettiği ve mitoz hazırlık için proteinlerin sentezlendiği **G₂ evresi** (gap 2) izler.



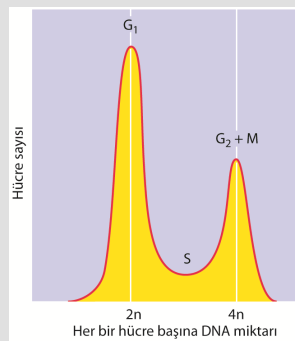
- Farklı hücre tiplerinde bu hücre döngüsü evrelerinin süreleri önemli oranda değişir. Toplam döngü süresi 24 saat olan ve hızlı çoğalan tipik bir insan hücresi için,
G₁ evresi 11 saat,
S evresi 8 saat,
G₂ evresi 4 saat
M 1 saat civarındadır.
- Diğer hücre tipleri ise çok daha hızlı bölünebilir. Örneğin; tomurcuklanan mayalar, hücre döngüsünü sadece 90 dakikada tamamlar. Hücre döngüleri, yumurta döllenmesinin hemen ardından erken embriyo hücrelerinde daha da kısadır (30 dakika veya daha az). Hücre büyümesi gerçekleşmeden devam eden erken embriyonik hücre döngüleri, yumurta sitoplazmasını hızla daha küçük hücrelere böler. DNA replikasyonunun M evresi ile dönüşümlü çok kısa S evrelerinde gerçekleştiği embriyonik hücre döngülerinde G₁ veya G₂ evreleri yoktur.



- Embriyonik hücrelerin hızla çoğalmasına karşın, erişkin hayvanlarda bazı hücrelerin (örn., sinir hücreleri) bölünmesi tümüyle durmuştur ve diğer bir çok hücre de, sadece, yaralanma ya da hücre ölümü sonucu kaybedilen hücrelerin yenilenmesi gerektiğinde, nadiren bölünürler. Bunlara örnek olarak, deri fibroblastları ve karaciğer gibi bazı iç organ hücreleri verilebilir. Bu hücreler G_1 'den çıkarak hücre döngüsünde G_0 olarak adlandırılan, sessiz (quiescent) evreye girerler. G_0 evresinde, hücreler metabolik olarak aktiftirler. Uygun ekstraselüler sinyaller tarafından uyarılmadıkları sürece çoğalmazlar. G_0 evresinde durdurulmuş olan bazı hücreler, belirli ekstraselüler sinyaller tarafından uyarıldıklarında tekrar hücre döngüsüne girebilirler. Bunun aksine, erişkin hayvanlardaki farklılaşmış çoğu hücreyi de içeren diğer hücre tipleri, hücre döngüsünden kalıcı olarak çıkarlar ve tekrar çoğalmaya başlamaları mümkün değildir.

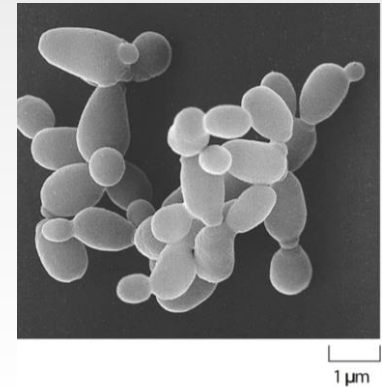
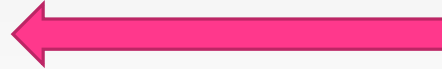
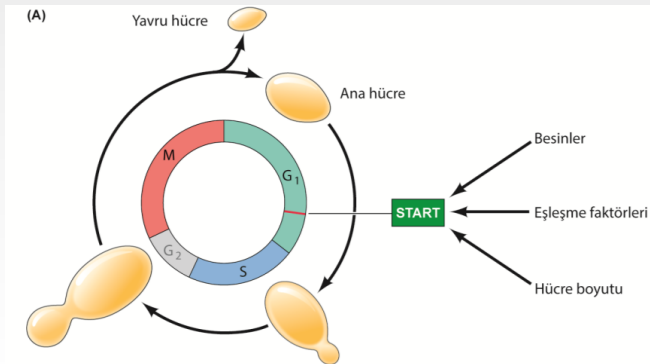


Hücre döngüsü analizi, farklı evrelerdeki hücrelerin belirlenmesini gerektirir. Mitotik hücreler mikroskopik olarak ayırt edilebilseler de, döngünün diğer evrelerindeki (G_1 , S ve G_2) hücreler biyokimyasal kriterlerle saptanmalıdırlar. Genellikle, hücre döngüsünün farklı evrelerindeki hücreler DNA içeriklerine göre ayırt edilebilirler. Örneğin; G_1 'deki hayvan hücreleri diploiddir (her kromozomun iki kopyasını içerirler), DNA içerikleri $2n$ 'dir (n , genomun haploid DNA içeriğini temsil eder). S evresinde replikasyon, hücrenin DNA içeriğini $2n$ 'den $4n$ 'ye çıkarır, yani S'deki hücreler $2n$ ile $4n$ arasında DNA içeriğine sahiptir. G_2 ve M'deki hücrelerde DNA içeriği $4n$ olarak kalır, sitokinezden sonra ise $2n$ 'ye iner. Hücrenin DNA içeriği, hücrelerin DNA'ya bağlanan floresan boya ile inkübasyonu sonrası akış sitometresi veya floresans ile aktive olan hücre ayırıcı (FACS) kullanılarak, floresans yoğunluğunun ölçülmesi ile belirlenir. Bu analizler sonucunda, hücrelerin G_1 , S ve G_2 /M evrelerinden hangisinde olduğu tespit edilir.

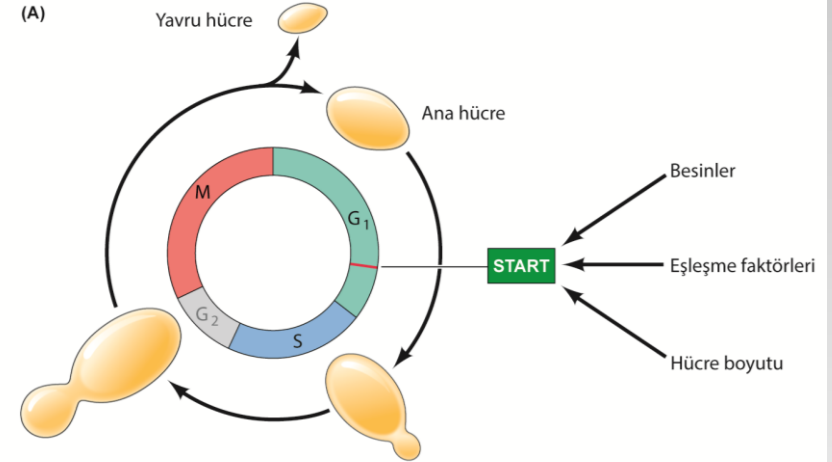


Hücre Döngüsünün Hücre Büyümesi ve Ekstraselüler Sinyaller Tarafından Düzenlenmesi

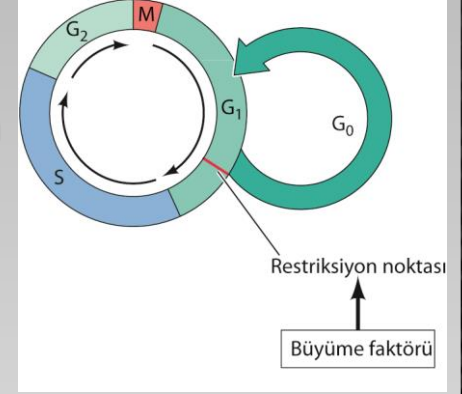
- Hücrelerin bölünme döngüsünde ilerlemesi, farklı evrelerde yer alan çeşitli süreçleri denetleyen içsel sinyaller kadar, çevreden gelen ekstraselüler sinyaller ile de düzenlenir. Hücre döngüsünün ekstraselüler sinyaller ile düzenlenmesine örnek olarak, hayvan hücresi çoğalmasında büyüme faktörlerinin etkisi verilebilir. Buna ek olarak, hücre büyümesi, DNA replikasyonu ve mitoz gibi farklı hücresel süreçlerin hepsi, hücre döngüsü sürecinde denetlenmelidir. Hücre döngüsünün farklı evrelerinde düzenlenme, bir seri kontrol noktası ile sağlanır.
- Birçok hücre tipinde, en önemli düzenleyici noktalardan birisi G_1 'in sonlarında bulunur ve G_1 'den S'ye geçişi denetler. Bu düzenleyici nokta ilk kez, tomurcuklanan maya (*Saccharomyces cerevisiae*) ile yapılan çalışmalarda saptanmış ve **START** olarak adlandırılmıştır. Hücreler START'ı bir kez geçince, S evresine girmeleri ve hücre döngüsünü tamamlamaları kaçınılmazdır. Ancak, START noktasından geçiş, maya hücre döngüsünde ileri düzeyde denetlenen ve hücre büyüklüğü kadar besin varlığı gibi dış sinyaller ile de kontrol edilen bir olaydır. Mayalar, besin yetersizliği durumunda döngüyü START noktasında durdururlar ve dinlenme evresine girerler. Yani, **START** noktası hücre için, bölünmeyi tamamlamak için yeterli besinin bulunup bulunmadığına karar verme noktasıdır. Maya eşleşmesini uyaran polipeptid faktörler de START noktasında hücre döngüsünü durdururlar ve haploid maya hücrelerinin, S evresinde ilerlemek yerine birleşmelerine olanak sağlarlar.



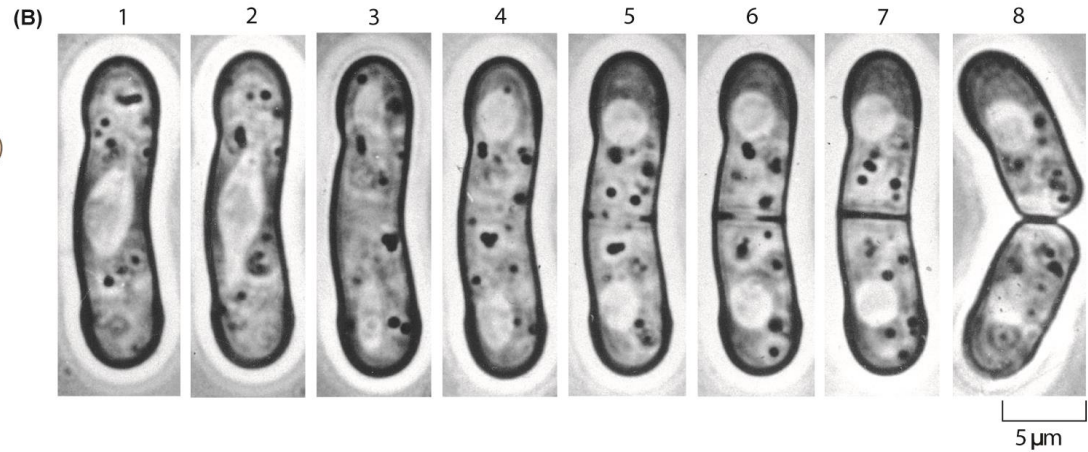
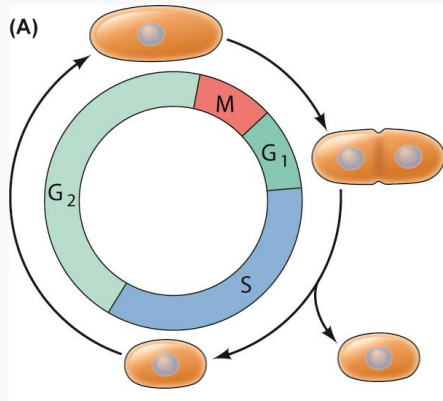
START, ekstraselüler sinyallerle denetlenen bir karar noktası olmanın yanı sıra, hücre büyümesinin, DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi ile koordine edildiği noktadır. Bu denetimin önemi özellikle, hücre bölünmesinin farklı büyüklüklerde yavru oluşturduğu tomurcuklanan mayalarda çok belirgindir: Büyük bir ana ve küçük bir yavru hücre. Maya hücrelerinin sabit büyüklüğü koruyabilmesi için, tekrar bölünmeden önce yavru hücrenin, büyük ana hücreden daha fazla büyümesi gereklidir. Bu yüzden, hücre büyümesini diğer hücre döngüsü olayları ile ayarlamak için, hücre büyüklüğünün gözlenmesi gereklidir. Bu kontrol, START noktasını geçebilmek için her hücrenin minimum büyüklüğe ulaşmasını gerektiren bir kontrol mekanizması ile sağlanır. Sonuç olarak, küçük yavru hücre G_1 'de ana hücreye göre daha uzun süre kalır ve daha fazla büyür.



- Hayvan hücrelerinin çoğalması da, benzer şekilde, hücre döngüsünün G_1 , evresinde denetlenir.
- Özellikle, hayvan hücrelerinde G_1 'in sonlarında, **restriksiyon noktası** olarak adlandırılan ve mayalardaki START'a benzer işlev gören bir karar noktası bulunur. Ancak, mayaların aksine, hayvan hücrelerinin döngüsü, besin olanaklarıyla değil, hücre çoğalmasını uyaran ekstraselüler büyüme faktörleri tarafından düzenlenir.



- Uygun büyüme faktörlerinin varlığında, hücre restriksiyon noktasından geçerek S evresine girer. Hücre restriksiyon noktasından bir kere geçtikten sonra, büyüme faktörü uyarısı olmasa dahi, S evresine ve hücre döngüsünün kalan kısmına ilerlemek zorundadır. Diğer taraftan, eğer G_1 'de uygun büyüme faktörleri yoksa hücre döngüsü restriksiyon noktasında durur. Bu şekilde duraklatılmış hücreler, hücre döngüsünde G_0 olarak adlandırılan durağan evreye girerler ve çok uzun süreler çoğalmadan kalabilirler. G_0 hücrelerinin büyümesi durmuş ve protein sentez hızı azalmış olsa da, metabolik olarak aktiftirler.
- Çoğu hayvan hücresi uygun ekstraselüler sinyallerle uyarılmadıkları sürece G_0 'da kalırlar. Örneğin; deri fibroblastları, yaralanma sonucu onarım gerektiğinde bölünme için uyarılıncaya kadar G_0 evresinde tutulurlar. Bu hücrelerin çoğalması, trombositlerce salgılanan ve yaralanmış dokuya komşu fibroblastların çoğalmasını uyaran, platelet kökenli büyüme faktörü tarafından tetiklenir.



Hücrelerin çoğunda çoğalma, öncelikli olarak, G_1 'de denetlenmesine karşın, bazı hücre döngüleri G_2 'de kontrol edilir. Buna bir örnek, bölünen maya *Schizosaccharomyces pombe*'nin hücre döngüsüdür.

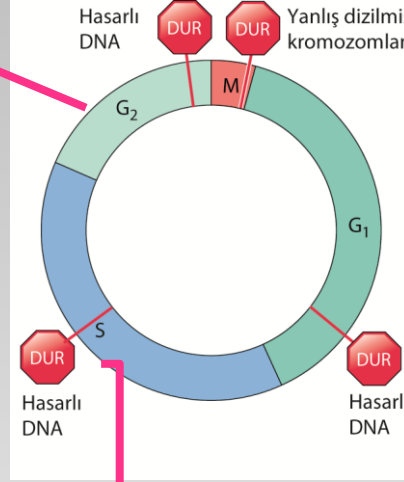
Saccharomyces cerevisiae'nin aksine, *S. pombe*'nin hücre döngüsü, öncelikli olarak hücre büyüklüğü ve besin düzeyinin gözetildiği temel nokta olan, G_2 'den M'ye geçişte denetlenir.

Hayvanlarda hücre döngüsünün G_2 'de kontrolüne temel örnek oositlerdir. Omurgalı oositleri, hormonal uyarıyla M evresine geçiş tetikleninceye kadar, uzun süre (insanlarda birkaç on yıl) G_2 'de kalırlar. Yani ekstraselüler sinyaller, hücre döngüsünün G_1 'den S evresin geçişinin yanısıra G_2 'den M'ye geçişi de düzenleyerek hücre çoğalmasını denetlerler.

Hücre Döngüsü Kontrol Noktaları

- Kontroller, döngüyü besin ve büyüme faktörleri gibi ekstraselüler sinyaller ile hücre büyüklüğüne göre düzenler. Ayrıca, hücre döngüsünün farklı evrelerindeki olayların, uygun düzenle gerçekleşebilmesi için, koordineli olmaları gereklidir. Örneğin, replikasyon tamamlanmadan hücrenin mitotik bölünmeye girmemesinin kritik önemi vardır. Hücrelerin çoğunda, hücre döngüsünün farklı evreleri arasındaki düzen, bir seri hücre döngüsü kontrol noktasına bağlıdır. Bu kontrol noktaları, hücre döngüsü sırasında bir önceki evredeki olaylar tamamlanmadan sonraki evreye geçişi engellerler.
- Hücre döngüsünde **DNA hasarı kontrol noktası** olarak adlandırılan kontrol noktaları, hasara uğramış DNA'nın kopyalanarak yavru hücrelere bu şekilde geçmemesi için işlev görür. Bu kontrol noktaları, replike olmamış ya da hasarlı DNA'lara duyarlıdır ve DNA replikasyonunun tamamlanması ya da onarımı ile hücre döngüsünün devam etmesini ayarlarlar. DNA hasarı kontrol noktaları hücre döngüsünün G_1 , S ve G_2 evrelerinde görevlidirler.

G₂ kontrol noktasının işletilmesiyle genom tamamiyle replike olmadan veya hasara uğramış DNA tamir edilmeden M evresine geçiş engellenir. Ancak bundan sonra G₂'deki inhibisyon ortadan kalkar ve hücre mitozu geçerek, tümüyle replike olmuş kromozomları yavru hücrelere dağıtır



G₁ kontrol noktasında duraklama, hasarlı DNA'nın, S evresine girmeden onarılabilmesine olanak sağlar ve DNA'nın hasarlı olarak kopyalanmasını engeller

S evresi kontrol noktası, DNA'nın bütünlüğünü sürekli denetleyerek hasarlı DNA'nın onarılmadan kopyalanmasını engellediği gibi aynı zamanda kalite kontrol işleviyle DNA replikasyonu sırasında ortaya çıkabilen, yanlış bazların eklenmesi veya DNA segmentlerinin eksik kopyalanması gibi hataların tamir edilmesini sağlar.

- Genomun bütünlüğünü koruyan, diğer bir önemli hücre döngüsü kontrol noktası da, mitozun sonlarında yer alır.
- **İğ kontrol noktası** olarak bilinen bu kontrol noktası, kromozom setinin yavru hücrelere tam ve doğru dağıtılması için kromozomların, mitotik iğ üzerindeki dizilimini gözlemler.
- İğ üzerinde bir ya da daha fazla kromozomun uygun yerleşmemesi, kromozomlar yavru nükleuslara dağılımından önce, metafazda duraklatılmasına neden olur.
- İğ kontrol noktası, kromozomların her bir yavru hücreye dağılmak üzere tümüyle organize olmadan ayrılmamalarını sağlar.

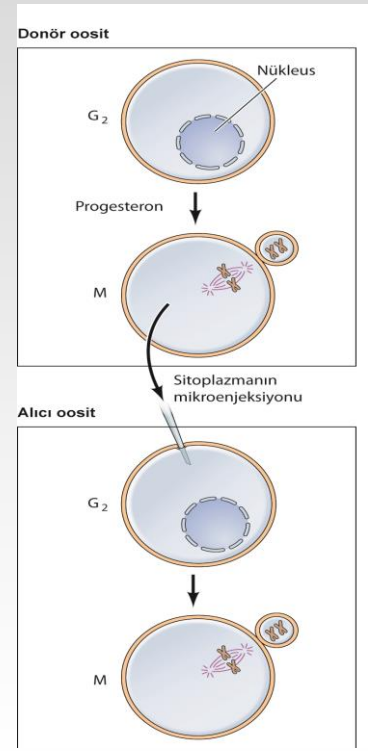
Hücre Döngüsü İlerlemesinin Düzenleyicileri

Hücre döngüsünün düzenlenmesi ile ilgili şu anki bilgilerimiz, maya, deniz kestanesi, kurbağa ve memeliler gibi, geniş yelpazedeki organizmalar üzerinde yapılan deneylerden elde edilen verilerin ilişkilendirilmesiyle oluşturulmuştur. Bütün bu çalışmalar, tüm ökaryotların hücre döngülerinin, korunmuş bir seri protein kinaz tarafından kontrol edildiğini göstermektedir ve bu protein kinazlar temel hücre döngüsü geçişlerinden sorumludur.

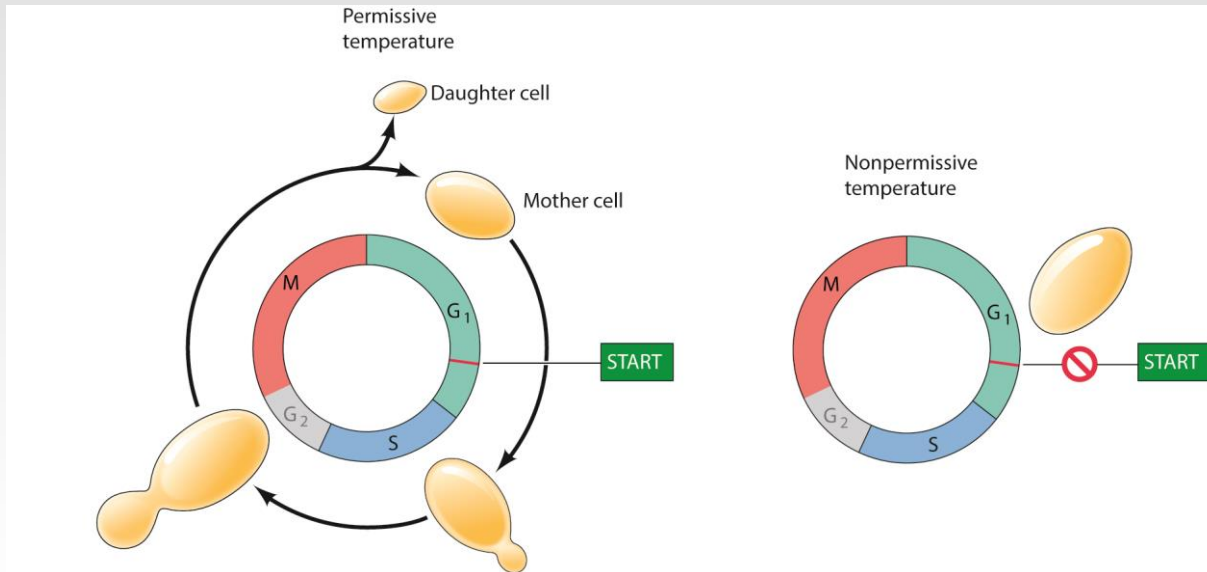
Protein Kinazlar ve Hücre Döngüsünün Düzenlenmesi

- Hücre döngüsü düzenlenmesinden sorumlu anahtar moleküllerin belirlenmesinde üç farklı deneysel yaklaşımdan yararlanılmıştır.

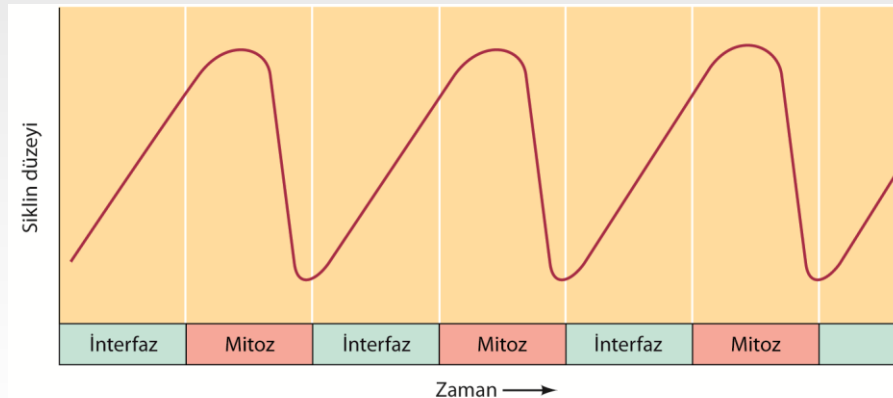
1. Bu yaklaşımlardan ilki, kurbağa oositleri ile yapılan çalışmalarla başlamıştır .Bu oositler, mayozun M evresine girişleri hormonla tetikleninceye kadar, hücre döngüsünün G_2 evresinde duraklatılırlar. Birbirinden bağımsız iki araştırmacı grubu (Yoshio Masui ve Clement Markert; Dennis Smith ve Robert Ecker), 1971'de hormonla uyarılmış oositlerden alınan sitoplazmanın mikroenjeksiyonla, G_2 'de duran oositlere verilmesinin, bu yumurtaların M evresine girişini uyardığını buldular. Yani, hormon uygulanmış oositlerde var olan bir sitoplazmik faktör, hormon uygulanmamış oositlerde G_2 'den M'ye geçişi uyarıyordu. Oositlerin mayoza geçişi genellikle yumurta olgunlaşması olarak kabul edildiğinden, bu **sitoplazmik faktör olgunlaşmayı ilerleten faktör (MPF)** olarak adlandırıldı. Ancak, daha sonraki çalışmalar, MPF aktivitesinin oositlerin mayoza girişiyle sınırlı olmadığını gösterdi. Aksine, MPF somatik hücrelerde de bulunur ve hücrelerin, mitotik döngünün M evresine girişini uyarır. Oositlere özgün olmak yerine, MPF'nin, G_2 'den M'ye geçişte genel düzenleyici olarak davrandığı görülmektedir.



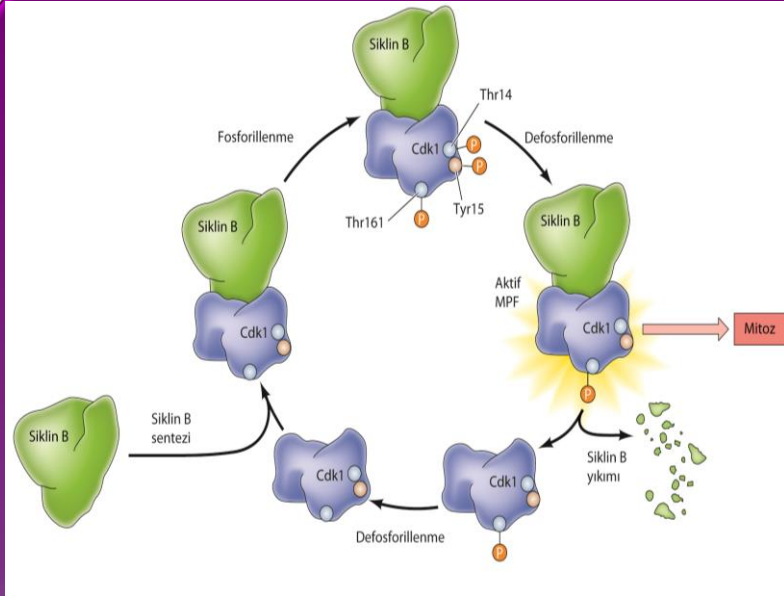
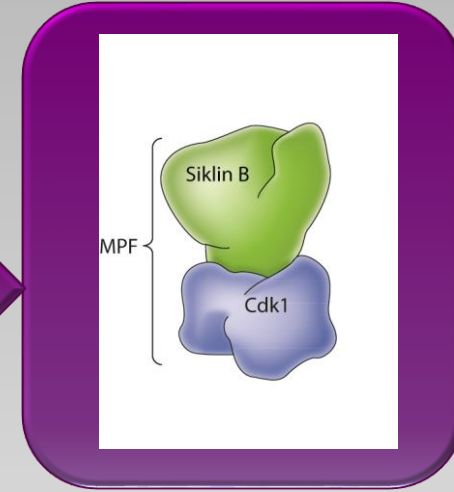
2. Hücre döngüsü düzenlenmesinin anlaşılması için ikinci yaklaşım, 1970'lerin başlarında Lee Hartwell ve çalışma arkadaşlarının öncülüğünü yaptığı, mayaların genetik analizi idi. Tomurcuklanan maya *Saccharomyces cerevisiae* ile çalışan bu araştırmacılar, hücre döngüsü bozuk olan, sıcaklığa duyarlı mutantlar tanımladılar. Bu mutantların (*cdc* olarak adlandırılırlar) ana karakteristikleri, hücre döngüsünün belirli noktalarında büyümelerinin durmasıydı. Örneğin; *cdc28* olarak isimlendirilen önemli bir mutant, START noktasında hücre döngüsünün duraklamasına sebep olur ki, bu da Cdc28 proteininin G_1 'deki kritik düzenleyici noktadan geçişte gerekli olduğunu göstermektedir. Benzer hücre döngüsü mutantları, Paul Nurse ve arkadaşları tarafından *Schizosaccharomyces pombe* (*bölünen maya*)'de izole edildi. Bu mutantlardan *cdc2*, *S. pombe* hücre döngüsünü hem G_1 'de, hem de temel düzenleyici nokta olan G_2 'den M'ye geçişte durdurur. Daha sonraki çalışmalar, *S. cerevisiae* *cdc28* ve *S. pombe* *cdc2*'nin işlevsel olarak homolog genler olduğunu ve her iki maya türünde de, hem START noktasından geçişte, hem de mitoz girişte gerekli olduklarını gösterdi. Daha sonraki çalışmalar *cdc2* ve *cdc28* genlerinin bir protein kinaz enzimini kodladığını göstererek, protein fosforillenmesinin hücre döngüsünün kontrolündeki önemine dair ilk kanıtları oluşturmuştur. Bunlara ek olarak, insanlarda ve diğer ökaryotlarda benzer genler tanımlanmıştır. Mayalarda *cdc2* ve *cdc28* genleri tarafından kodlanan protein kinazın tüm ökaryotlarda korunmuş bir hücre döngüsü düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir. Bu **kinaz Cdk1** olarak adlandırılmıştır.



3. MPF'nin bulunması ve maya genetiği ile aynı noktada birleşen üçüncü araştırma dizisi, denizkestanesi erken embriyolarındaki protein sentezi çalışmalarından doğmuştur. Döllenmeyi takiben bu embriyolar bir seri hızlı hücre bölünmesine uğrarlar. Beklenmedik şekilde, protein sentezi inhibitörleri ile yapılan çalışmalar, bu embriyonik hücre döngülerinin M evresine girebilmek için yeni protein sentezine ihtiyaç duyduklarını gösterdi. Tim Hunt ve çalışma arkadaşları 1983'de, denizkestanesi ve deniz tarağı embriyolarında periyodik olarak biriken ve parçalanan iki protein tanımladılar. Bu proteinler interfaz boyunca birikip, daha sonra her mitozun sonuna doğru hızla parçalanırlar. Hunt, bu proteinleri siklinler (**iki protein, siklin A ve siklin B olarak adlandırılmışlardır.**) olarak isimlendirdi ve bunların periyodik birikim ve yıkılımlarının, M evresine giriş ve çıkışı kontrol ederek mitozu tetikleme fonksiyonlarının olabileceğini ileri sürdü. Joan Ruderman ve çalışma arkadaşları 1986 yılında, kurbağa oositlerine siklin A mikro enjeksiyonunun G₂'den M'ye geçişi tetiklemek için yeterli olduğunu göstererek siklinlerin bu basamaktaki doğrudan rolünü tanımladılar.



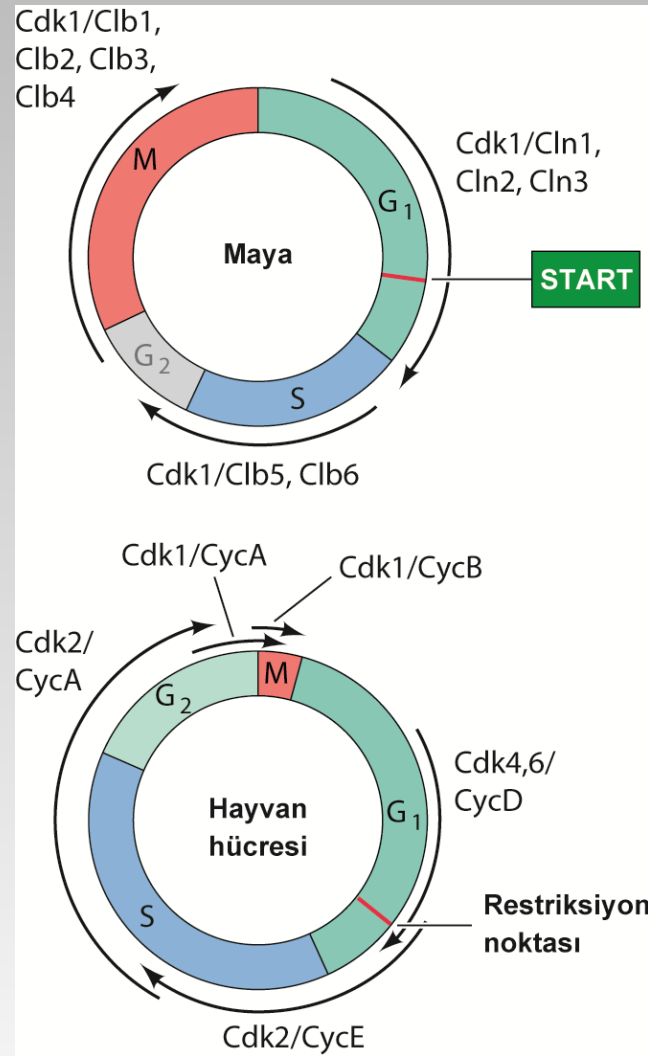
Başlangıçta birbirinden bağımsız olan bu yaklaşımlar, 1988'de James Maller 'in laboratuvarında kurbağa yumurtalarından MPF'nin saflaştırılmasından sonra, çarpıcı bir şekilde birbiri ile ilişkili hale geldi. **Bir kaç laboratuvar da MPF'nin moleküler niteliğinin belirlenmesi, hücre döngüsünün bu korunmuş düzenleyicisinin iki alt birimden meydana geldiğini göstermiştir: Cdk1 ve siklin B** Düzenleyici alt birim siklin B, Cdk1 protein kinazın katalitik aktivitesi için gereklidir. Bu durum, MPF aktivitesinin, hücre döngüsünün ilerlemesi sırasında siklin B'nin periyodik birikimi ve parçalanması ile kontrol edildiği fikrini destekleyici niteliktedir.



Daha sonra yapılan çeşitli çalışmalar, siklin B'nin bu rolünü doğruladıkları gibi, MPF'nin Cdk1'in fosforillenme ve defosforillenme ile denetlendiğini de göstermiştir. Memeli hücrelerinde siklin B sentezi S evresinde başlar. Siklin B daha sonra birikerek S ve G₂ süresince Cdk1 ile birlikte kompleks oluşturur. Bu kompleksler oluştuğunda, Cdk1, iki önemli kontrol noktasından fosfatlanır. Bu fosforillenmelerden biri treonin-161 üzerinde olur ve Cdk1 kinaz aktivitesi için gereklidir. İkincisi, omurgalılarda tirozin-15 ve buna komşu treonin-14'ün fosforillenmesidir. Weel olarak adlandırılan bir protein kinaz tarafından katalizlenen Tirozin-15 fosforilasyonu, Cdk1 aktivitesini engelleyerek, S ve G₂ süresince inaktif Cdk1/siklin B komplekslerinin birikimine neden olur. G₂'den M'ye geçiş ise, Cdc25C olarak isimlendirilen protein fosfatazın treonin-14 ve tirozin-15'i defosforillemesi sonucunda, Cdk1/siklin B kompleksinin aktifleşmesi ile gerçekleşir.

Siklin ve Siklin-Bağımlı Kinaz Aileleri

- MPF'nin (Cdk1/siklin B) yapı ve fonksiyonu, sadece M evresine giriş ve çıkışın anlaşılması için moleküler temel sağlamakla kalmamış, aynı zamanda diğer hücre döngüsü geçişlerinin düzenlenmesinin anlaşılmasına temel oluşturmuştur. Cdk1/siklin B kompleksinin tanımlanmasıyla sağlanan ipuçları, hücre döngüsü denetiminin anlaşılması üzerinde güçlü bir etki oluşturmuştur. Örnek olarak, sonraki çalışmalar hem Cdk1'in hem de siklin B'nin, benzer proteinlerin oluşturduğu büyük ailelerin üyeleri olduklarını göstermiştir. Bu ailelerin farklı üyeleri, hücre döngüsünün farklı evrelerinin gelişimini kontrol etmektedir.
- Cdk1, mayada hem START'dan geçişi hem de mitozaya girişi kontrol eder. Ancak, bu işlevlerini farklı siklinlerle bir araya gelerek gerçekleştirir. Örnek olarak, G_2 'den M'ye geçiş, mitotik B-tipi siklinlerle (Clb1, Clb2, Clb3 ve Clb4) bağlanan Cdk1 tarafından gerçekleştirilir. Buna karşın, START'dan geçiş, G_1 siklinler (ya da Cln'ler) olarak adlandırılan farklı bir sınıf siklinlerle bağlanan, Cdk1 tarafından kontrol edilir. Cdk1 daha sonra, S evresinde ilerlemek için gerekli olan, farklı B-tipi siklinlerle (Clb5 ve Clb6) bağlanır. B-tipi ve G_1 siklinler ile olan bu bağlanmalar, Cdk1'i, hücre döngüsünün özgül evrelerinde ilerleme için gerekli olan, farklı substrat proteinleri fosfatlanması için yönlendirir.



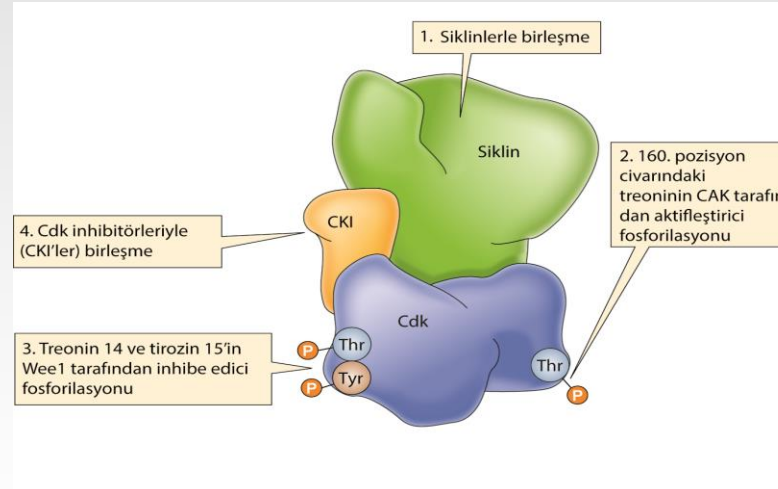
Siklin ve Siklin-bağımlı kinaz kompleksleri

- Yüksek ökaryotların hücre döngüleri sadece çeşitli siklinler tarafından değil, aynı zamanda çeşitli Cdk1-benzeri protein kinazlar tarafından da kontrol edilir. Bu Cdk1-benzeri kinazlar Cdk'lar (siklin-bağımlı kinazlar) olarak bilinirler. Cdk ailesinin bu üyeleri, hücre döngüsünün farklı basamakları boyunca ilerlemeyi yönlendirmek için spesifik siklinlerle bağlanırlar. Örneğin, G_1 'den S'ye geçiş, temel olarak, siklin D ve E ile bağlanan Cdk2, Cdk4 ve Cdk6 tarafından düzenlenir. Cdk4 ve Cdk6'nın D-tipi siklinlerle (siklin D1, D2 ve D3) oluşturduğu kompleksler, G_1 restriksiyon noktasından geçişte kritik bir role sahiptir. E tipi siklinler (E1 ve E2), G_1 'in ilerleyen evresinde ifade edilir ve Cdk2/siklin E kompleksleri G_1 'den S'ye geçiş ve DNA sentezinin başlaması için gereklidirler. Cdk2'nin A tipi siklinler (A1 ve A2) ile yaptığı kompleksler, hücrelerin S evresinin sonlarından başlayarak ve G_2 evresi boyunca görev alırlar.
- Mitozun başlatılması ve M evresinin aşamalarının sırasıyla geçilmesi, Cdk1'in A ve B tipi (B1, B2, B3) siklinlerle yaptığı kompleksler sayesinde yürütülür.

- Farklı Cdk/siklin kompleksleri hücre döngüsünün farklı evrelerinde görev almalarına rağmen, genetiği değiştirilmiş farelerde yapılan Cdk ve siklin hakkındaki çalışmalar şaşırtıcı oranda bir esnekliği ortaya çıkarmıştır. Herhangi bir Cdk veya siklinin yokluğunu diğer Cdk ve siklinler telafi edebilmektedirler. En şaşırtıcı olan bulgu ise, hiçbir interfaz Cdk proteininin (Cdk2, Cdk4, Cdk6) bulunmadığı hücrelerin dahi hücre döngüsünü tamamlayarak çoğalabilmeleridir. Bu hücrelerin incelenmesiyle, diğer Cdk'lerin yokluğunda Cdk1'in tüm siklinlere bağlanabildiği ve hücre döngüsünün tüm evrelerinde ilerlemeyi düzenleyebildiği gözlemlenmiştir. Buna karşılık, Cdk1'in yokluğunda fare embriyoları gelişmemektedirler. Dolayısıyla Cdk1, memeli hücrelerinde (mayalarda olduğu gibi) bulunması zorunlu olan tek Cdk'dir ve diğer Cdk'lerin yokluğunu telafi edebilmektedir.

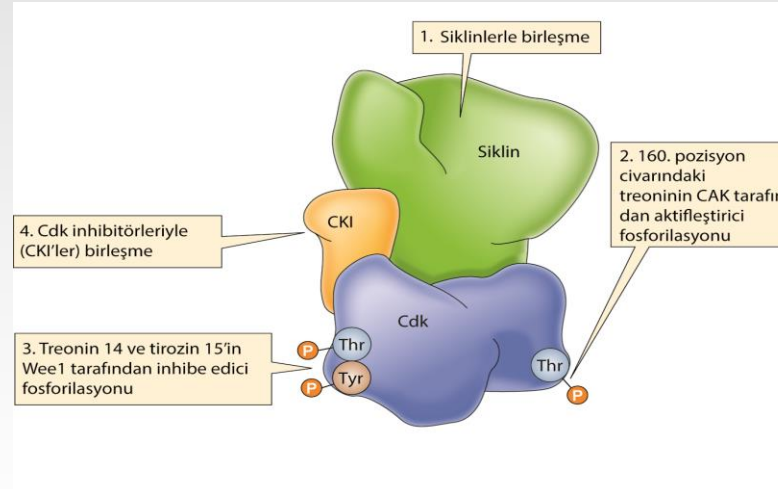
■ **Hücre döngüsü ilerlemesi sırasında, Cdk'ların aktivitesi en az dört moleküler mekanizma ile düzenlenir.**

1. Cdk1 için regülasyonun ilk aşaması Cdk'lerin, siklin ortaklarıyla bağlanmalarını içerir. Böylelikle, spesifik Cdk/siklin komplekslerinin oluşumu, siklin sentezi ve parçalanması yoluyla kontrol edilir.
2. Cdk/siklin komplekslerinin aktivasyonu için, Cdk üzerindeki, 160'ıncı pozisyon yakınında bulunan korunmuş treonin amino asidinin fosforilasyonu gereklidir. Cdk'lerin bu aktive edici fosforillenmesi, CAK (Cdk-aktifleştiren kinaz) olarak adlandırılan ve Cdk (Cdk7)'nin siklin H ile kompleks oluşturmasıyla meydana gelen bir enzim tarafından katalizlenir. Cdk7 ve siklin H'nin kompleksi, RNA polimeraz II'nin transkripsiyonu başlatması için gerekli olan transkripsiyon faktörü TFIIH ile de bağlanır. Cdk ailesinin bu üyesinin, hücre döngüsü regülasyonu yanı sıra, transkripsiyonda da yer aldığı anlaşılmaktadır.



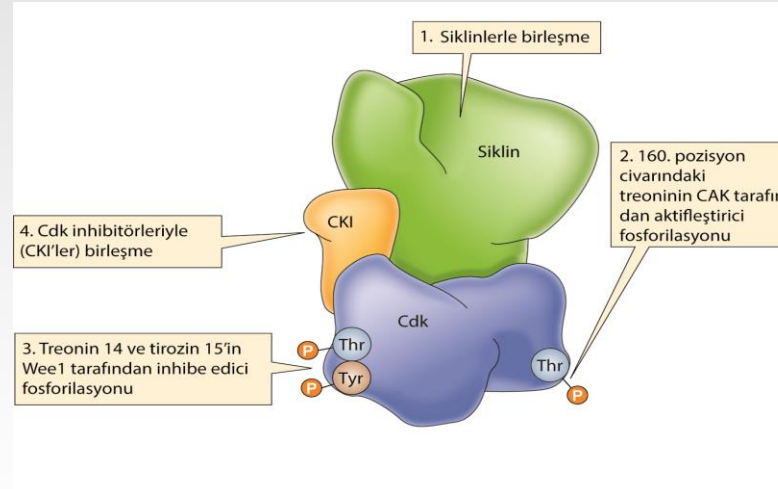
- Hücre döngüsü ilerlemesi sırasında, Cdk'ların aktivitesi en az dört moleküler mekanizma ile düzenlenir.

1. Cdk'lerin fosforillenmesi yoluyla regülasyonuna ek olarak, aktiviteleri, inhibitör proteinlerin (Cdk inhibitörleri ya da CKI'ler olarak adlandırılır) Cdk/siklin komplekslerine bağlanması yoluyla da kontrol edilebilir. Memeli hücrelerinde, iki Cdk inhibitör ailesi, farklı Cdk/siklin komplekslerinin düzenlenmesinden sorumludur. Ink4 ailesinin üyeleri özel olarak Cdk4 ve Cdk6'ya bağlanır ve inhibe ederler, yani Ink4 CKI'lar G_1 'deki restriksiyon noktasından geçişi inhibe ederler. Buna karşın, Cip/Kip ailesinin üyeleri ise, Cdk ve siklinlere birlikte bağlanarak Cdk2/siklin A, ve E komplekslerini inhibe ederler, ve böylece S evresine girişi ve S ve G_2 evreleri boyunca ilerlemeyi engellerler. Dolayısıyla, Ink4 ve Cip/Kip proteinlerinin kontrolü, Cdk aktivitesinin düzenlenmesinde ek bir mekanizma sağlar. Çok sayıdaki Cdk denetim biçiminin birleşik etkileri, hem kontrol noktalarının kontrolüne, hem de hücre çoğalmasını düzenleyen ekstraselüler çeşitli uyarılara yanıt olarak, hücre döngüsü kontrolünden sorumludur.



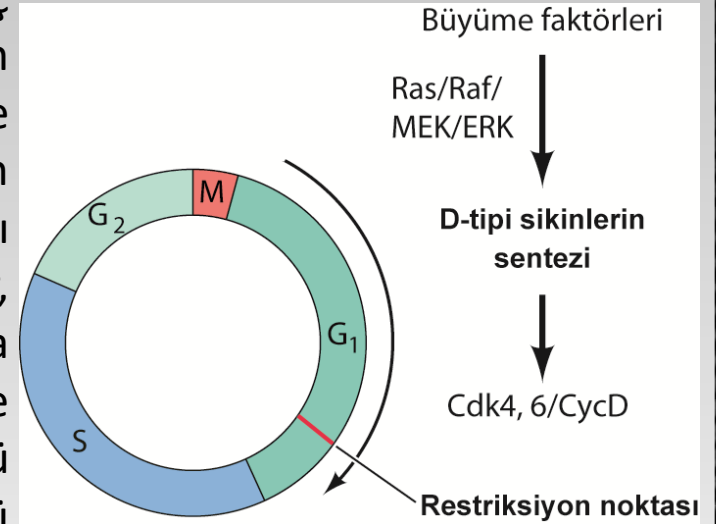
- Hücre döngüsü ilerlemesi sırasında, Cdk'ların aktivitesi en az dört moleküler mekanizma ile düzenlenir.

1. CAK tarafından, aktive edici fosforillenmenin aksine, Cdk regülasyonunun üçüncü mekanizması, Weel protein kinaz tarafından katalizlenen, Cdk amino ucuna yakın tirozinlerin, inhibe edici fosforillenmesini kapsar. Örnek olarak, Cdk1 ve Cdk2'nin ikisi de, omurgalılarda tirozin-15 ve komu treonin 14'ün fosforillenmesi ile inhibe edilir. Bu Cdk'ler daha sonra, Cdc25 protein fosfataz ailesinin üyeleri tarafından, bu amino asitlerin defosforillenmesiyle aktifleşirler



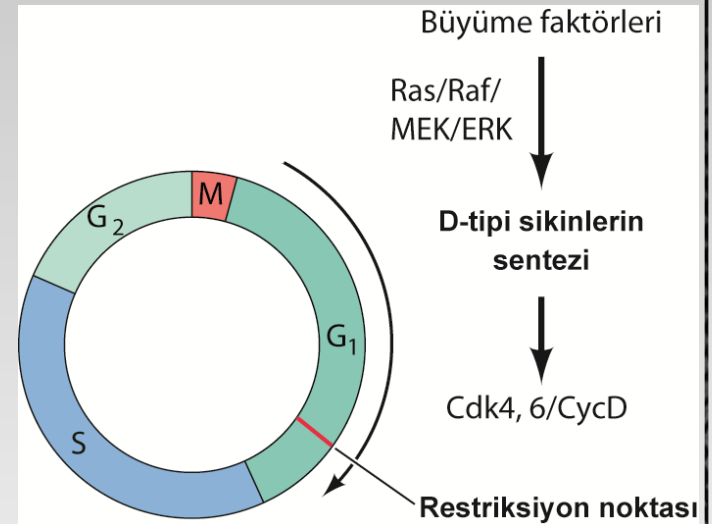
Büyüme Faktörleri ve G1 Cdk'lerin Regülasyonu

- Hayvan hücrelerinin çoğalması, çoğunlukla, G_1 'in geç safhasındaki restriksiyon noktasından hücrelerin ilerlemesini kontrol eden, çeşitli ekstraselüler büyüme faktörü tarafından düzenlenir. Büyüme faktörlerinin yokluğunda, hücreler restriksiyon noktasını geçemezler ve durağan (quiescent) hale gelirler, çoğunlukla G_0 olarak bilinen dinlenme durumuna geçerler. Bu durumdan çıkmaları ve tekrar hücre döngüsüne girmeleri ancak büyüme faktörü uyarılarına cevaben gerçekleşir. Hücre döngüsü ilerlemesinin ekstraselüler büyüme faktörleri tarafından kontrol edilmesi, büyüme faktörü reseptörlerinin uyardığı hücre-içi sinyal yollarının sonunda, hücre döngüsü mekanizmasının bileşenlerini denetlediği anlamına gelir.



Büyüme Faktörleri ve G1 Cdk'lerin Regülasyonu

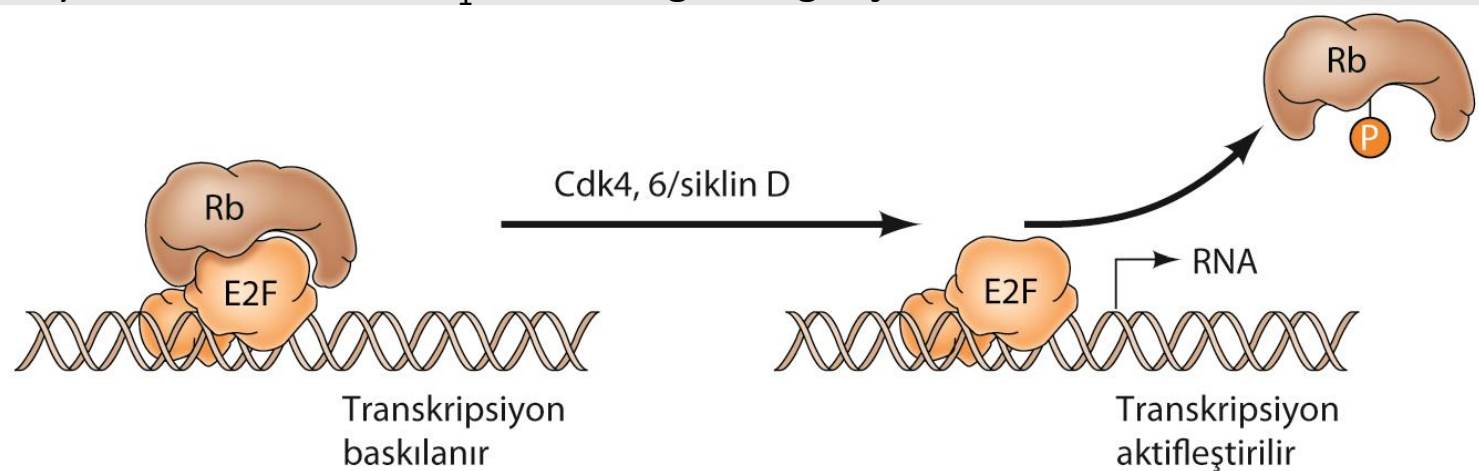
- Büyüme faktörü sinyal iletimi ve hücre döngüsünün işleyişi arasında önemli bir ilişki D-tipi siklinler ile sağlanmıştır. Siklin D sentezi Ras/Raf/MEK/ERK yoluyla iletilen büyüme faktörü uyarısına yanıt olarak başlar ve büyüme faktörlerinin varlığı süresince sentez devam eder. Ancak, siklin D çok çabuk parçalandığı için, büyüme faktörleri ortamdan çekildiğinde hücre içi konsantrasyonları hızla azalır. Yani, G_1 'de, büyüme faktörleri bulunduğu sürece Cdk4, 6/siklin D kompleksleri hücrelerin restriksiyon noktasından geçişini sağlar. Diğer yandan, eğer hücre döngüsünün bu kilit düzenlenme noktasından önce büyüme faktörleri ortamdan uzaklaşırsa, siklin D seviyeleri hızla düşer ve hücreler G_1 'den S'ye geçemeyerek G_0 'a girerler ve durağan hale gelirler. Siklin D1'in uyarılabilirliği ve hızlı dönüşüm özelliği, hücre döngüsü mekanizması ile büyüme faktörü sinyali arasında bağlantı kurar ve böylece, ekstraselüler büyüme faktörlerinin, hücrelerin G_1 'den ilerlemesini kontrol etmelerine olanak sağlar.



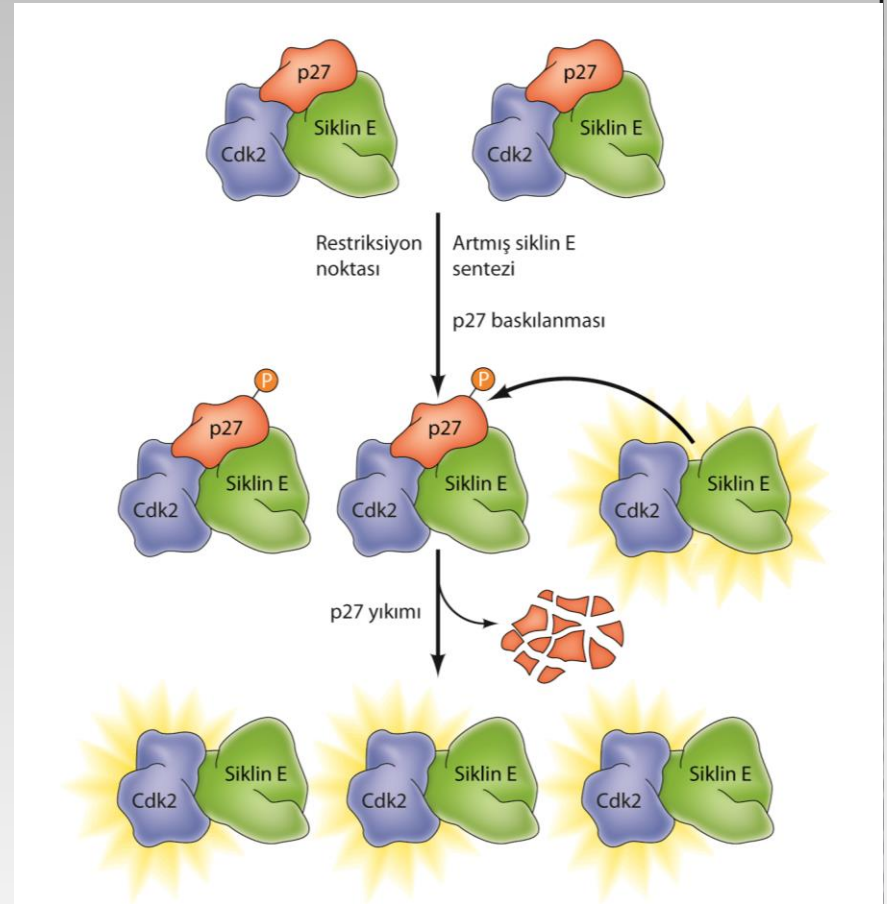
- Siklin D1, büyüme faktörü sinyal iletiminin önemli hedeflerinden biri olduğundan, siklin D regülasyonundaki bozukluklar, kanser hücrelerinin karakteristik özelliği olan kontrolsüz çoğalmaya neden olur. Bu beklentiye uygun olarak, insan kanserlerinin çoğunun, hücre döngüsü regülasyonundaki bozukluklar sonucu, diğer büyük bir kısmının daha büyüme faktörü reseptörleri tarafından aktive edilen hücre-içi sinyal yollarındaki anormalliklerden kaynaklandığı bulunmuştur.
- Örneğin, lenfomalar ve meme kanserleri de dahil birçok insan kanserinin gelişimine, siklin D1'in sürekli, kontrol edilemeyen ekspresyonu ile sonuçlanan mutasyonlar katkıda bulunmaktadır. Benzer şekilde, Cdk4, 6/siklin D komplekslerine bağlanan Ink4 Cdk inhibitörlerini (örn., p16) inaktive eden mutasyonlara da, insan kanser hücrelerinde sıklıkla rastlanmaktadır.

- Siklin D, büyüme kontrolü ve kanser arasındaki bağlantıyı kuvvetlendiren diğer bir gerçek de, geniş çeşitlilikteki insan tümörlerinde, Cdk4, 6/siklin D1 komplekslerinin önemli bir substrat proteininin sıklıkla mutasyona uğramış olmasıdır. Rb olarak simgelenen bu protein, ilk kez, nadiren görülen çocukluk çağı göz tümörü olan retinoblastomdan sorumlu bir genin ürünü olarak tanımlanmıştır.
- Daha sonraki çalışmalar, fonksiyonel Rb protein eksikliğine yol açan mutasyonların, sadece retinoblastom ile sınırlı olmadığını, yaygın insan kanserlerinin çoğunda da rol oynadığını göstermiştir. Rb, inaktivasyonunun tümör gelişimine yol açtığı gen olan, tümör baskılayıcı gen için bir prototiptir. Ras ve siklin D1 gibi onkogen proteinler hücre çoğalmasını desteklerken, tümör baskılayıcı genlerden kodlanan proteinler, hücre döngüsü ilerlemesini yavaşlatan **fren rolü** oynarlar. Tümör baskılayıcı genler tarafından kodlanan hücre döngüsü düzenleyicilerine verilebilecek diğer örnekler, Ink4 Cdk inhibitörleri ve önemli çoğalma düzenleyicisi p53'dür.

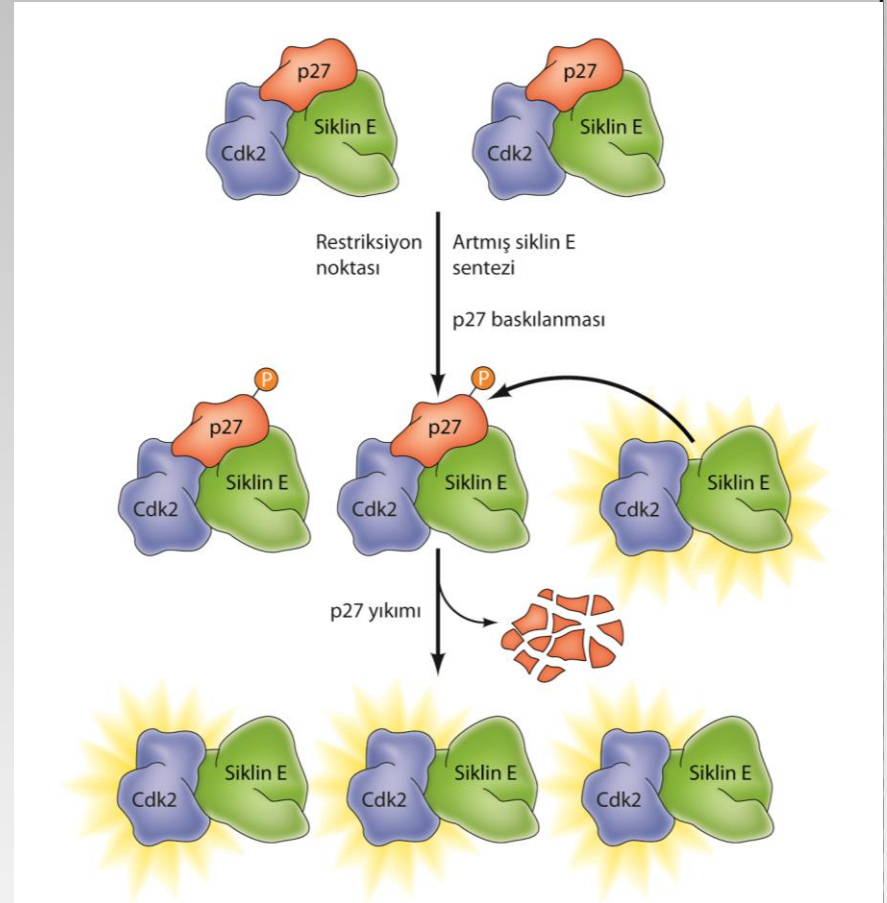
- DNA sentezi ve hücre döngüsü ilerlemesi için gerekli genlerin ekspresyonu ile hücre döngüsü mekanizması eşleşmesi için Rb'nin anahtar rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Hücreler döngüde ilerlerken, Rb'nin aktivitesi, fosforilasyonundaki *değişikliklerle* denetlenir. Örnek olarak, hücre G_1 'deki restriksiyon noktasından geçerken, Rb Cdk4, 6/siklin D kompleksleri tarafından fosfatlanır. Fosfat eklenmemiş formdaki (G_0 da ya da G_1 'in erken safhasında bulunur) Rb, siklin E'yi kodlayan gen de dahil olmak üzere, hücre döngüsü ilerlemesinde yer alan birçok genin ekspresyonunu düzenleyen E2F transkripsiyon faktörleri ailesinin üyelerine bağlanır. E2F, Rb'nin varlığında ya da yokluğunda hedef dizilerine bağlanır. Ancak, Rb baskılayıcı rol oynar ve Rb/E2F kompleksi E2F tarafından kontrol edilen genlerin transkripsiyonunu engeller. Rb'nin Cdk4,6/ siklin D kompleksleri tarafından fosforillenmesi, E2F'den ayrılmasına neden olur ve böylece, E2F hedef genlerinin transkripsiyonunu aktive eder. Rb, bu yolla, hücre döngüsü ilerlemesinde gerekli genler üzerinde etkili olan E2F'nin, baskılayıcıdan aktivatöre dönüşünü sağlayan bir çeşit moleküler **şalter** gibi hareket eder. Rb'nin Cdk4, 6/siklin D fosfatlanması yoluyla kontrolü, gen ekspresyonundaki bu ciddi kontrol ile, büyüme faktörlerinin G_1 'deki varlığını bağdaştırır.



- Restriksiyon noktasının aşılması ve S evresine giriş Cdk2/siklin E komplekslerinin aktivasyonu aracılığıyla mümkündür.
- Bu kısmen, Rb fosforilasyonunun ardından E2F tarafından uyarılan siklin E sentezi sonucunda gerçekleşir.
- Buna ek olarak, Cdk2/siklin E aktivitesi G_0 veya erken G_1 evrelerinde Cip/Kip protein ailesinin bir üyesi olan Cdk inhibitörü p27 tarafından kısıtlanır.
- Hücreler G_1 evresinde ilerlerken p27 tarafından Cdk2 üzerine uygulanan bu kısıtlama farklı mekanizmalar tarafından kaldırılır.



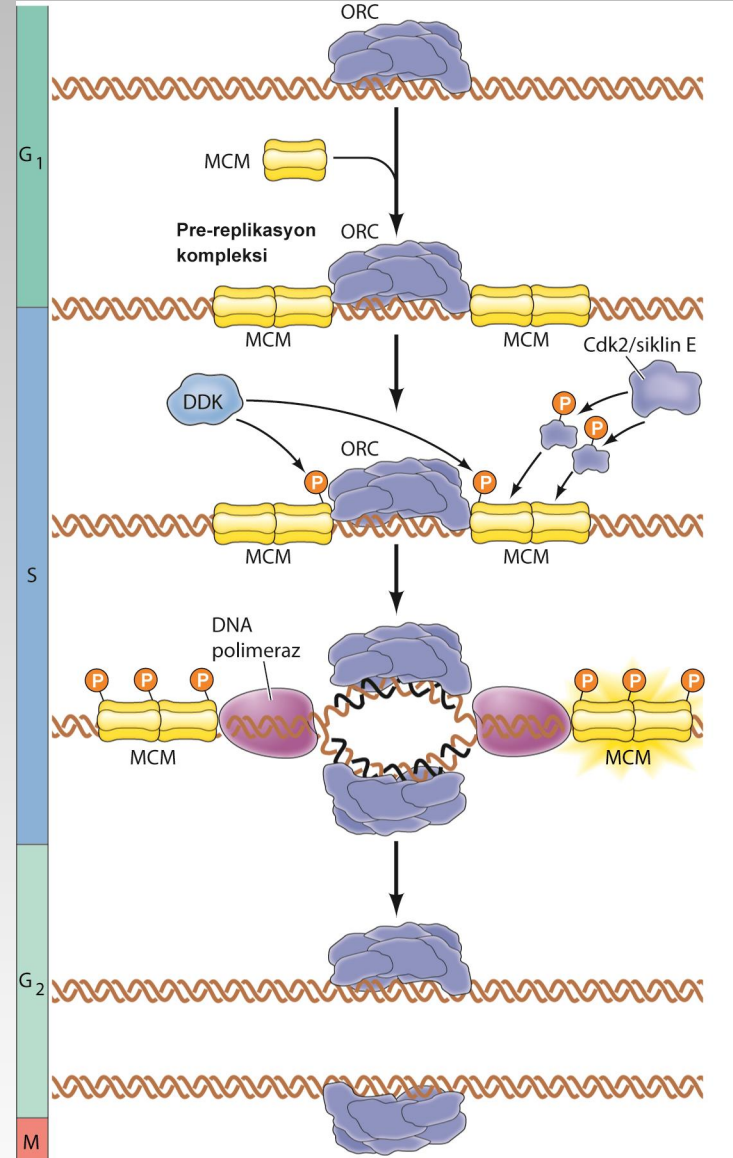
- Birincil olarak, Ras/Raf/MEK/Erk ve PI-3 kinaz yolları aracılığıyla iletilen büyüme faktörü sinyalleri, p27'nin transkripsiyonunu ve translasyonunu düşürür, böylece hücre içindeki p27 miktarı azalır. Ek olarak, artan siklin D transkripsiyonu p27'nin Cdk4, 6/siklin D komplekslerine bağlanarak Cdk2/siklin E komplekslerini serbest bırakmasına neden olur.
- Cdk2 aktif duruma geçtiğinde, p27'yi fosforile ederek übikitinlenmesi ve yıkımına yol açar. Bu pozitif oto-regülasyon Cdk2/siklin E komplekslerinin tam aktivasyonunu ve S evresinin başlatılmasını sağlar. APC/C übikülin ligaz Cdk2 tarafından inhibe edildiği için, S ve G₂ evreleri boyunca siklin seviyeleri yüksek tutulur.



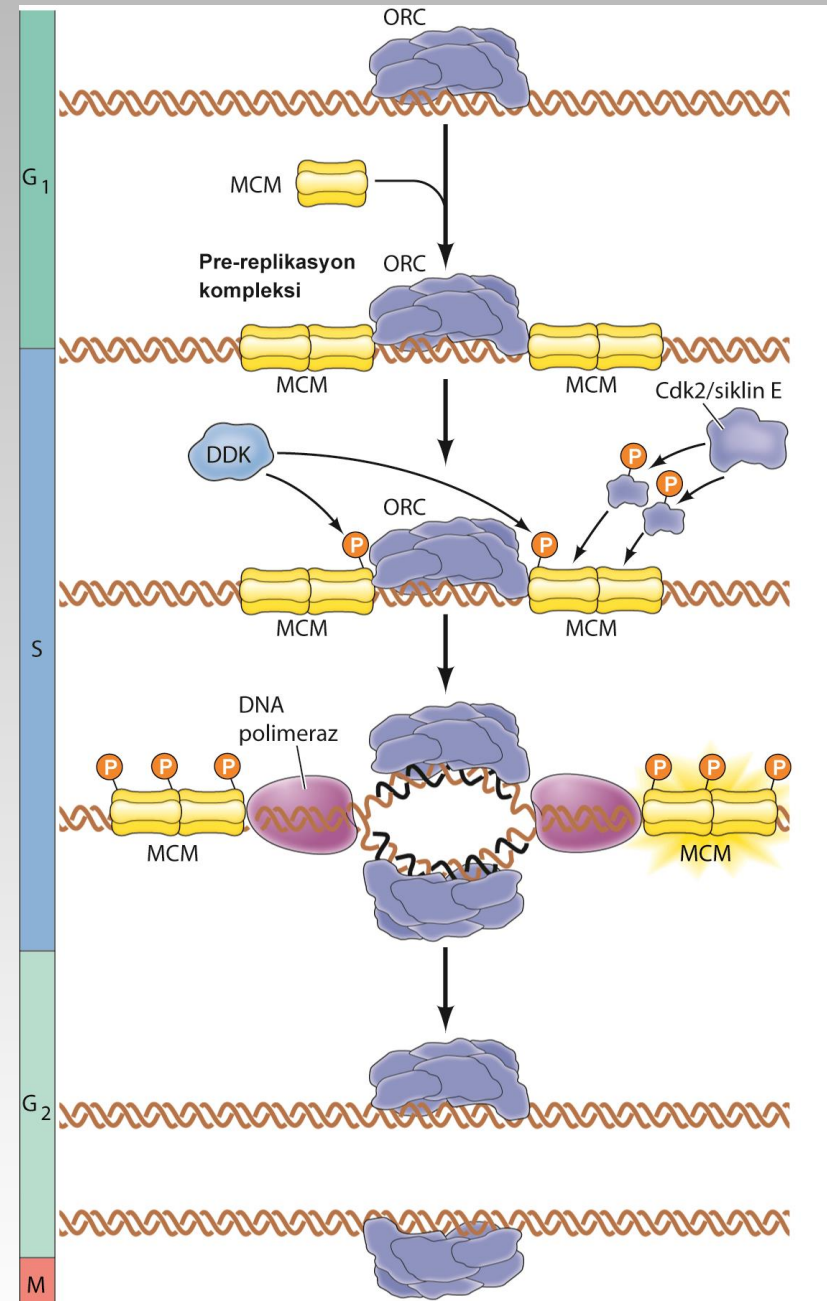
S Evresi ve DNA Replikasyonunun Düzenlenmesi

- Cdk2/siklin E kompleksleri, replikasyon orijinlerinde (başlama noktası) DNA sentezini aktive ederek S evresini başlatırlar.
- Memeli hücrelerinin DNA'larını kopyalamak için kullandıkları binlerce orijinin her birinde replikasyonun çok dikkatle denetlenmesi ve hücre döngüsünün S evresinde genom segmentlerinin sadece tek bir defa kopyalanmasının sağlanması gerekir. Yani, DNA, S evresinde replike olduğunda, hücre mitozu tamamlayıp hücre döngüsü bitinceye kadar, DNA replikasyonunun yeniden tetiklenmesine engel olacak kontrol mekanizmaları mevcuttur.
- DNA replikasyonunu başlatan MCM helikaz proteinlerinin aktiviteleri, hücre döngüsünün farklı aşamalarında siklin/Cdk komplekslerince düzenlenir

- MCM helikaz proteinleri, G_1 evresinde orijin tanıma kompleksi (ORC) proteinleri ile birlikte replikasyon orijinlerine tutunurlar.
- G_1 evresi boyunca pre-replikasyon kompleksi olarak inaktif kalırlar ve ancak hücreler S evresine girdiklerinde aktive olurlar.
- MCM'in S evresinde aktive olmasının nedeni, Cdk2/siklin E'nin pre-replikasyon kompleksine bağlanan çeşitli aktive edici proteinleri fosforile etmesi sonucudur.
- Cdk2 siklin E'nin aktivasyonu APC/C übikitin ligazın inhibisyonuna neden olur.



- APC/C'nin inhibisyonu, MCM proteinlerini doğrudan fosforile eden ikinci bir protein kinazın, DDK, aktivasyonuna neden olur.
- MCM helikazı aktive olması DNA replikasyonunun başlamasına ve MCM proteinlerinin replikasyon çatalı ile orijinden uzaklaştırılmasına neden olur.
- Cdk'lerin S, G₂ ve M evreleri boyunca yüksek aktiviteye sahip olmaları, MCM proteinlerinin replikasyon orijinlerine yeniden bağlanmalarını engeller.
- Dolayısıyla, pre-replikasyon kompleksleri ancak G₁ 'de, Cdk aktivitesi düşükken yeniden oluşabilirler.
- Bu nedenle, bir orijin S evresinde aktif hale gelirse, hücre mitoz bölünmeyi tamamlayıp bir sonraki hücre döngüsünün G₁ evresine girmedikçe, yeniden replikasyonu başlatamaz.



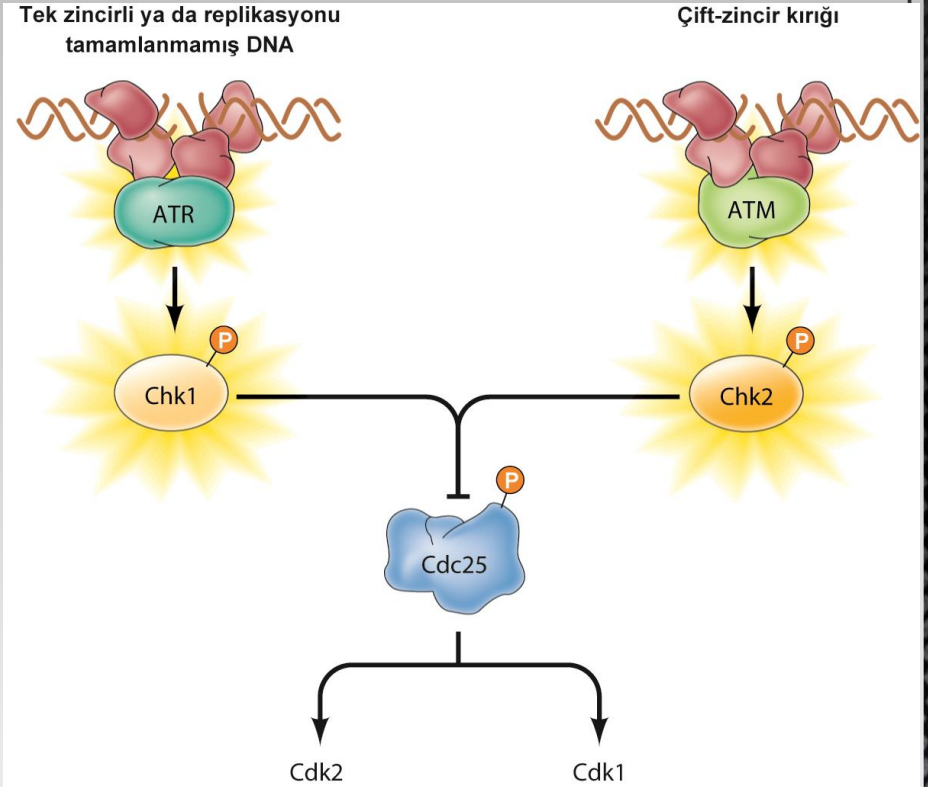
DNA Hasarı Kontrol Noktaları

- Hücre çoğalması büyüme faktörleri tarafından düzenlendiği gibi hücre döngüsünün ilerlemesini engelleyen bir takım sinyaller ile de kontrol edilir. **DNA hasarı kontrol noktaları**, hasar görmüş veya eksik olarak kopyalanmış DNA'yı tanıyarak hücre döngüsünün ilerlemesini duraksatırlar, böylece genomun bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynarlar. G_1 , S ve G_2 evrelerinde işlev gören bu kontrol noktaları, DNA replikasyonu ve hücre bölünmesine geçmeden önce hasarın tamiri için zaman sağlarlar.
- DNA hasarı oluştuğunda, birbiriyle akraba olan **ATR** ve **ATM** adlı iki protein kinaz aracılığıyla hücre döngüsü duraksatılır. ATR ve ATM'nin uyardığı sinyal iletim yolağı hücre döngüsünü duraksatmakla birlikte, DNA tamirinin başlatılmasına ve bazı durumlarda programlı hücre ölümüne sebep olur. ATR ve ATM tarafından DNA hasarının tanınmasının önemi, bu genlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkan, sinir ve bağışıklık sistemlerinde sorunlara yol açan *ataxia telangiectasia* hastalığından da anlaşılabilir. Etkilenen bireyler de kanser görülme sıklığı da oldukça yüksektir.

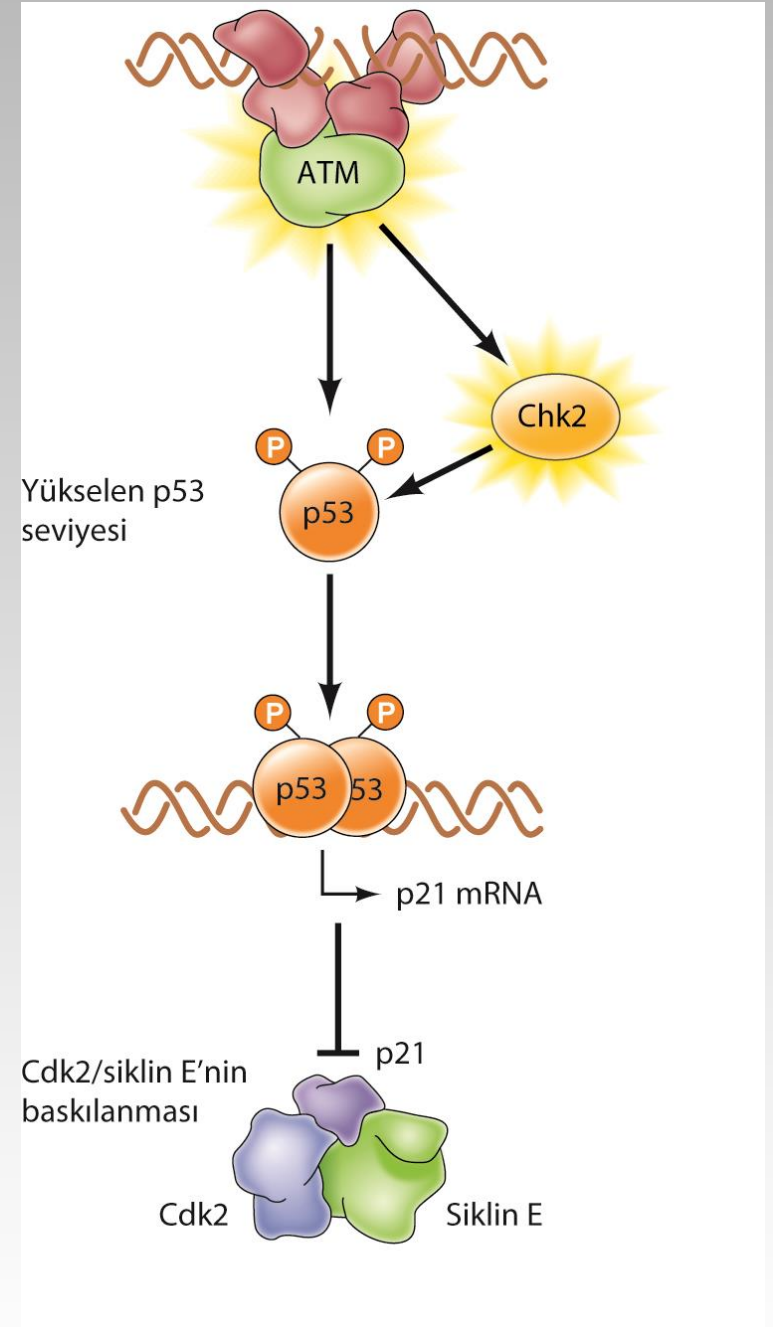
- ATR ve ATM'nin her ikisi de, hasarlı veya replike olmamış DNA'yı tanıyan protein komplekslerinin parçasıdır.

✦ **ATM**, DNA'da çift şerit kırıkları sonucu uyarılırken, **ATR**, tek şeritli ya da henüz replike olmamış DNA'yı tanıyarak aktive olur.

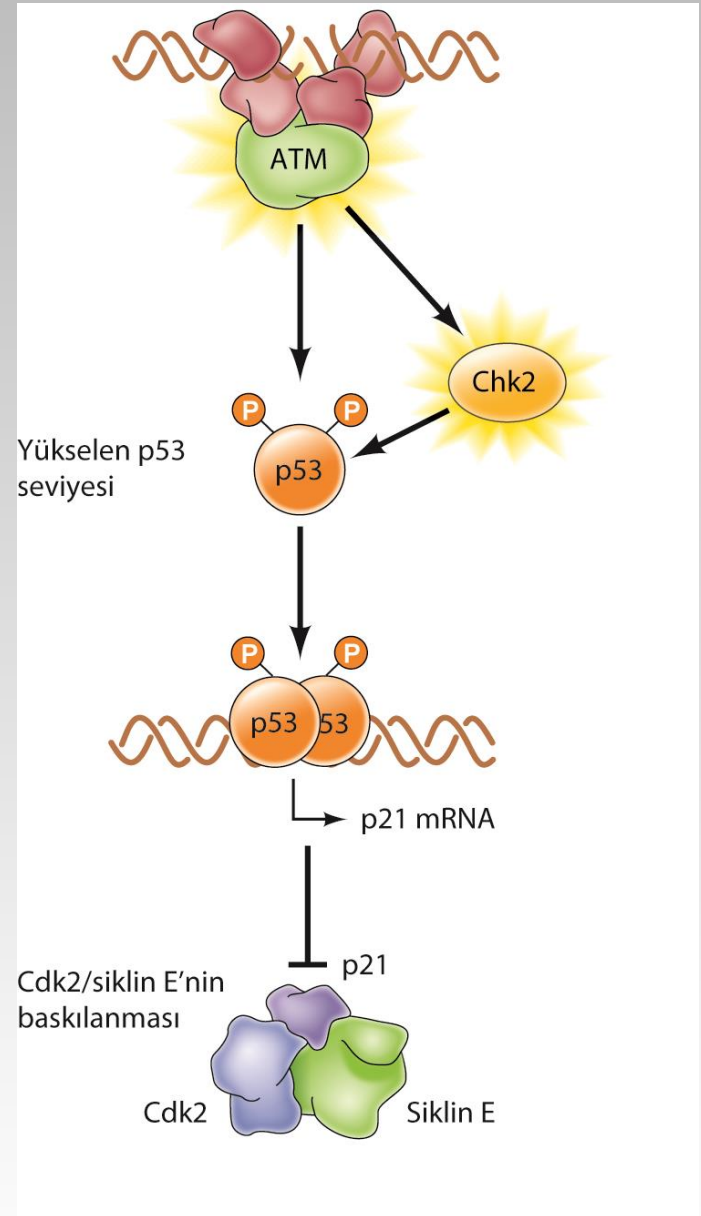
- DNA hasarı sonucu bir kez aktifleşen ATP ve ATM sırasıyla Chk2 ve Chk1 kontrol noktası kinazlarını fosforile ederek aktive ederler. Bu kez de Chk1 ve Chk2, Cdc25 fosfatazları fosfatlayarak inhibe olmalarını ya da yıkımlarını sağlayarak, hücre döngüsünü duraksatırlar.
- Cdc25 fosfatazlar, Cdk1 ve Cdk2 üzerindeki kısıtlayıcı fosforilasyonları kaldırarak hücre döngüsünün ilerleyebilmesi için gereklidirler.
- Dolayısıyla, DNA hasarı Cdk2'yi kısıtlayarak G_1 ve S evrelerinde hücre döngüsünü duraksatırken, ek olarak Cdk1'i kısıtlayarak G_2 'de duraksamaya sebep olur.



- Memeli hücrelerinde G₁ kontrol noktasındaki duraksama, Chk2 ve ATM tarafından fosforillenen, p53 olarak bilinen diğer bir proteinin etkisi ile gelişir.
- Fosforillenme, aksi halde süratle yıkılacak olan p53'ü, kararlı hale getirir ve DNA hasarı p53 miktarında hızlı artışa neden olur.
- p53 proteini bir transkripsiyon faktörüdür ve ekspresyon artışı, Cip/Kip ailesinden Cdk kısıtlayıcısı p21 geninin uyarılmasına yol açar.
- P21 proteini Cdk2'nin siklin E veya siklin A komplekslerini inhibe ederek hücre döngüsünün duraksamasına sebep olur.



- İlginçtir ki, insan kanserlerinde p53'ü kodlayan gen sıklıkla mutasyona uğramış durumdadır. Bu mutasyonlarla p53 işlev kaybı, hasarlı DNA'ya yanıt olarak G₁'de duraksamayı engeller ve hasarlı DNA replike olarak onarılmadan yavru hücrelere geçer. Hasarlı DNA'ların kalıtımı, mutasyon sıklığında artışa ve genel bir genom kararsızlığına neden olur, bu da kanser gelişimine katkıda bulunur. p53 genindeki mutasyonlar insan kanserlerinde en yaygın genetik değişikliktir. Bu durum, hücre döngüsü düzenlenmesinin çok hücreli organizmaların hayatında ne kadar kritik bir öneme sahip olduğunun göstergesidir.



M EVRESİ OLAYLARI

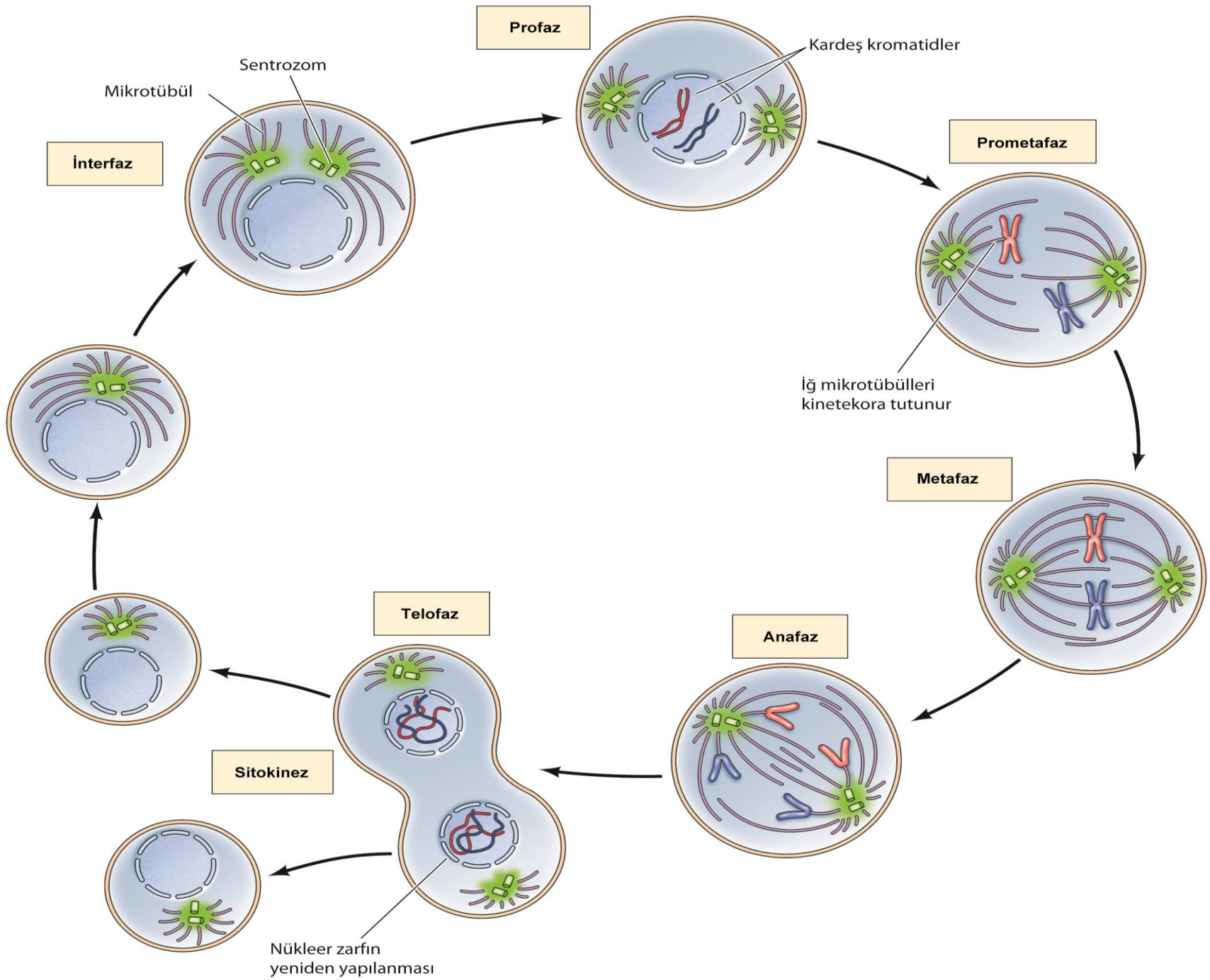
M evresi, hücre döngüsünün, tüm hücre içeriğinin en geniş yeniden düzenlenmesini gerektiren en etkileyici evresidir.

Mitoz (çekirdek bölünmesi) esnasında, kromozomlar yoğunlaşır, hücrelerin çoğunda nükleer zar yıkılır, mitotik iğleri oluşturmak üzere hücre iskeleti yeniden düzenlenir ve kromozomlar zıt kutuplara doğru hareket eder.

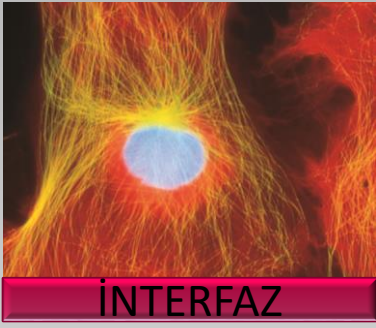
Kromozomların ayrılmasını, genellikle, hücre bölünmesi (sitokinez) izler.

Mitozun Aşamaları

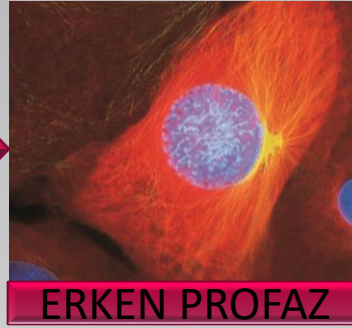
- Mitozun detaylarının çoğu, farklı organizmalar arasında değişiklik gösterse de, kardeş kromatidlerin güvenilir şekilde ayrılmalarını sağlayan temel süreç tüm ökaryotlarda korunmuştur.
- Mitoz geleneksel olarak dört evreye ayrılır:
 1. Profaz
 2. Metafaz
 3. Anafaz
 4. Telofaz



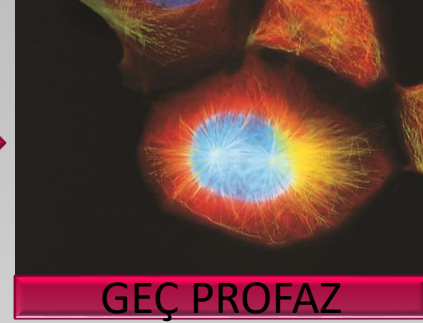
- **Profaz**, her biri iki kardeş kromatidden (S evresinde üretilmiş olan yavru DNA molekülleri) oluşan kromozomların yoğunlaşmasıyla başlar. Bu yeni replike olmuş DNA molekülleri S ve G₂ boyunca birbirine dolanmış durumdadır, kromatin yoğunlaşması sürecinde çözülürler. Yoğunlaşan kardeş kromatidler sentromer bölgesinde bir arada tutulur. Sentromer, iğ mikrotübüllerinin bağlanma bölgesi olan kinetokoru oluşturmak üzere proteinlerin bağlandıkları bir DNA dizisidir. Kromozom yoğunlaşması dışında, mitotik iğ oluşmasını sağlayan sitoplazmik değişiklikler de profaz sırasında başlar. Sentrozomlar (interfazda çiftlenmiş olan) birbirinden ayrılır ve nükleusun zıt yanlarına hareket ederler. Profazın sonunda oluşmaya başlayan mitotik iğ'in iki kutbu olarak görev yaparlar.
- Profazın tamamlanmasından sonra, hücre, profaz ile metafaz arasında bir geçiş dönemi olan **prometafaza** girer. Prometafaz sırasında, mitotik iğ mikrotübülleri, yoğunlaşmış kromozomların kinetokorlarına tutunur. Kardeş kromatidlerin kinetokorları, kromozomun aksi yönlerinde yer alır ve böylelikle iğ zıt kutuplarından çıkan mikrotübüllere bağlanırlar. Kromozomlar, son olarak iğ merkezindeki metafaz yörüngesine dizilinceye kadar, ileri geri yer değiştirirler. Bu evrede hücre **metafaz** ulaşmış olur.
- Hücrelerin çoğu, anafaza girmeden önce metafazda sadece kısa bir süre için kalırlar. Metafazdan **anafaza** geçiş, birbirinden ayrılıp iğ zıt kutuplarına hareket edecek olan kardeş kromatidler arasındaki bağın kırılmasıyla tetiklenir. Mitoz, nükleusların yeniden oluştuğu ve kromozomların yoğunluğunun kaybolduğu, **telofaz** ile sonlanır. **Sitokinez**, genellikle geç anafaz esnasında başlar ve iki yavru interfaz hücresi oluşturmak üzere, telofazın sonunda tamamlanır.



İTERFAZ



ERKEN PROFAZ



GEÇ PROFAZ



PROMETAFAZ



METAFAZ



ERKEN ANAFAZ

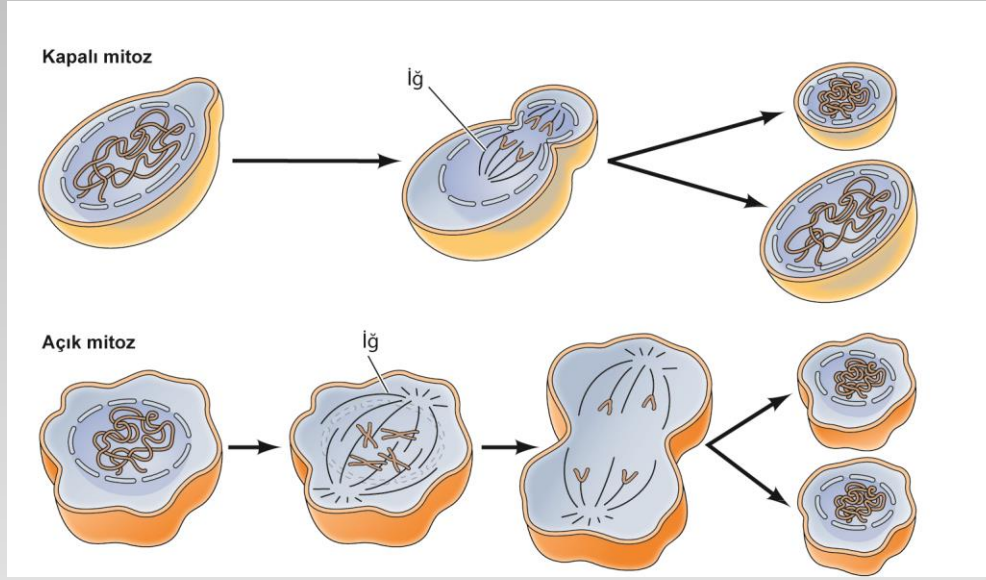


GEÇ ANAFAZ



TELOFAZ

Mavi- kromatin
Kırmızı- keratin
Yeşil- mikrotübül

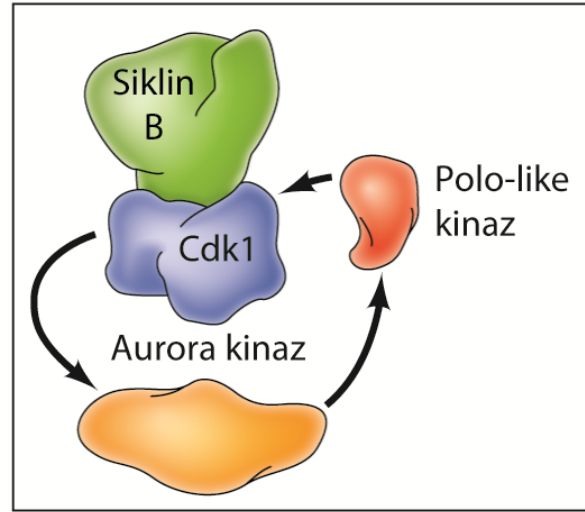


Yüksek ökaryotlarda, profazın sonunda nükleus zarfı yıkılır. Ancak, nükleer zarfın yıkılması mitozun genel özelliği değildir ve tüm hücrelerde gözlemlenmez. Örnek olarak, mayalar ve diğer birçok tek hücreli ökaryotlarda, nükleer zarfın bütün olarak kaldığı '**kapalı mitoz**' görülür . Bu hücrelerde iğın kutup cisimleri nükleer zarfın içinde gömülüdür ve yavru kromozomların, iğın zıt kutuplarına göçünden sonra, nükleus ikiye bölünür.

Mitoza Giriş

Mitoz, hücrenin birçok bileşeninde, hücrenin yapısal bütününe yeniden organizasyonuna yol açacak kadar dramatik değişiklikler gerektirir. Bu olaylar Cdk1/siklin B protein kinazın (MPF) aktivasyonu ile başlatılır. Cdk1/siklin B sadece, M evresi geçişinin ana düzenleyicisi olarak, ileri aşamalarda diğer protein kinazları fosfatlayıp aktive ederek rol oynamaz, aynı zamanda hücrenin yeniden yapılanmada görev alan yapısal proteinlerin bazılarını da direkt olarak fosforile eder. Özellikle, Aurora kinaz (Aurora A ve Aurora B) ve Polo-like kinaz ailelerinden protein kinazlar Cdk1 tarafından koordineli olarak aktive edilerek M evresine giriş başlatılır. Aurora ve Polo-like kinazlar Cdk1 ile pozitif geribesleme döngüsü prensiplerine göre etkileşim gösterir. Cdk1, Aurora kinazları; Aurora kinazlar Polo-like kinazları; Polo-like kinazlar da Cdk1'i aktive ederler. Tüm bu proteinler mitoz sırasında çoklu işlevlere sahiptirler.

Mitotik Protein Kinazlar



Kromatin
yoğunlaşması

Condensin ve
cohesin'lerin
fosforilasyonu

Nükleer
zarfın
yıkılması

Laminler, nükleer
por kompleksleri
ve nükleus iç zarı
proteinlerinin
fosforilasyonu

Golgi aygıtının
parçalanması

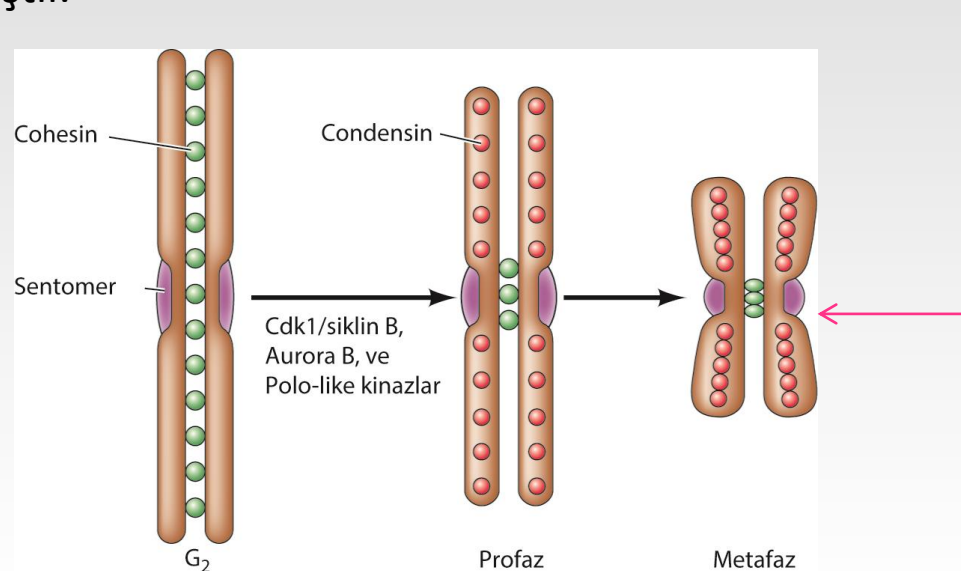
Golgi matriks
proteinlerinin
fosforilasyonu

İğ ipliği
oluşumu

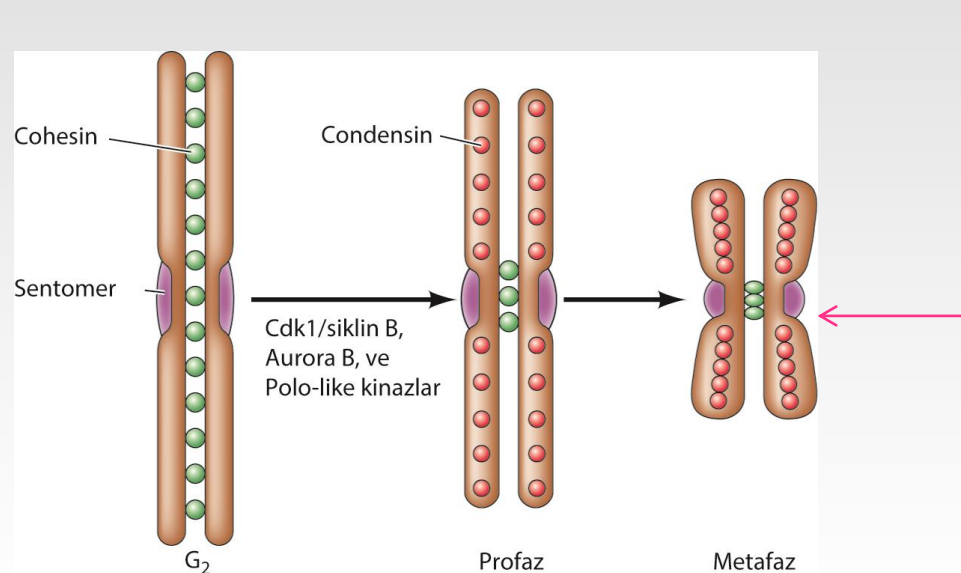
Sentrozom, kinete-
kor ve mikrotübül-
ilişkili proteinlerin
fosforilasyonu

İnterfaz kromatininin yoğunlaşarak, mitotik hücrelerdeki sıkıca paketlenmiş kromozomları oluşturması, mitozun anahtar olayıdır. Bu olay, kromozomların birbirine dolaşmadan ya da kırılmadan mitotik iğ boyunca hareket edebilmelerine olanak sağlaması açısından önemlidir.

İnterfaz nükleusunun içindeki kromatin, metafaz kromozomlarını oluşturmak üzere, yaklaşık bin kat yoğunlaşır. Bu kadar yoğunlaşmış kromatinin de kardeş kromatinin transkripsiyonu mümkün değildir, bu nedenle, kromatin yoğunlaşması gerçekleştiğinde transkripsiyon durur. Bu olayın temel önemine rağmen, metafaz kromozomlarının yapısını ya da kromatin yoğunlaşmasının moleküler mekanizmasını henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak, kromatin yoğunlaşmasının, **condensin** olarak adlandırılan ve **SMC (structural maintenance of chromatin: kromatinin yapısal korunması)** protein ailesinin üyelerini kapsayan protein kompleksleri tarafından yürütüldüğü saptanmıştır.



- Condensinler ve diğ er bir SMC protein ailesinin  yesi cohesinler mitoz bölünme sırasında kromozomların ayır şmasına katkıda bulunurlar. Cohesinler S evresinde DNA'ya bağlanırlar ve replikasyondan sonra kardeş kromatidler arasındaki bağlantıyı korurlar. Condensinler direkt olarak, hücreler mitoz girdiğinde condensinleri aktifleştirerek kromatin yoğunlaşmasını uyaran, Cdk1 ve Aurora B protein kinazlar tarafından fosforillenirler. Bundan sonra condensinler, kardeş kromatidler boyunca ve sentromer haricindeki bölgelerde cohesinlerin (Aurora B ve Polo-like kinaz tarafından fosforile olurlar) yerini alırlar. Böylece kardeş kromatidler sadece sentrozomlarda birbirlerine bağlı kalırlar. Condensinler aynı zamanda kromatin yoğunlaşmasına yol açarak metafaz kromozomlarının oluşmasını sağlarlar. Aurora B kinaz tarafından histon H3 serin-10 fosforilasyonu da mitotik kromozomların yoğunlaşmasında önemli bir rol oynar.



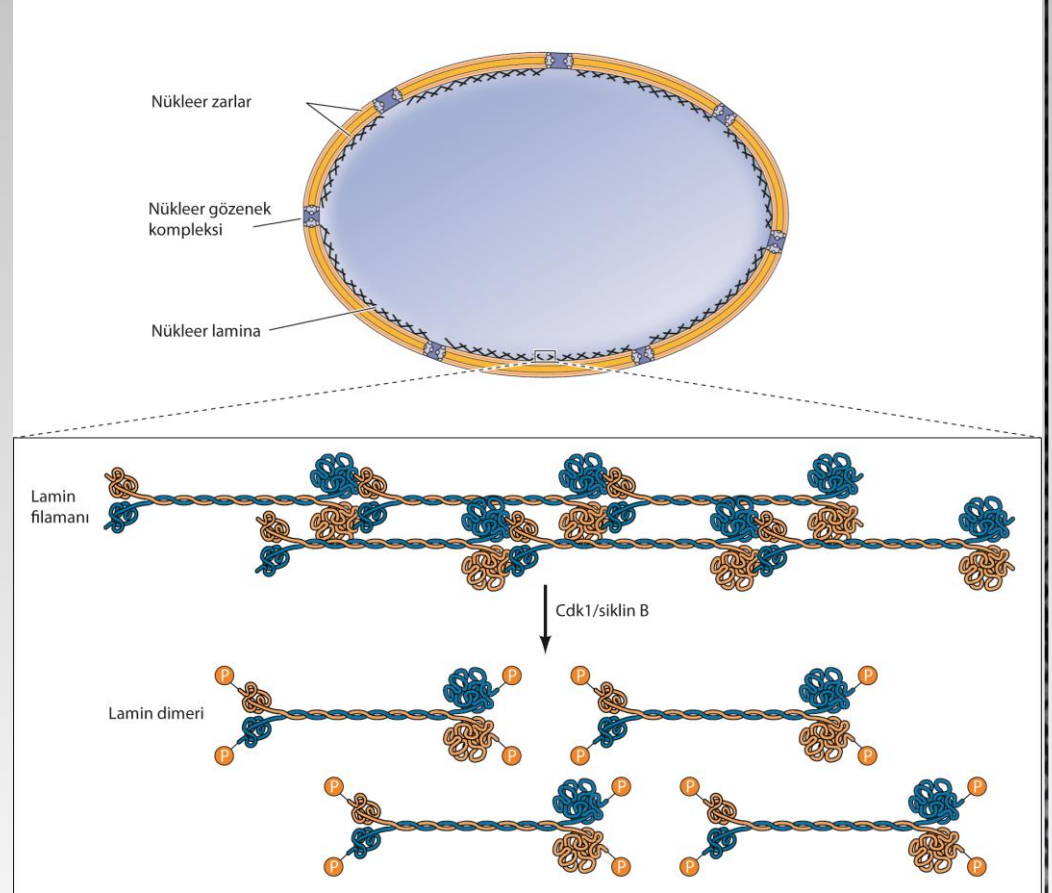
- Mitozun en önemli olaylarından birisi olan nükleer zarfın yıkımı, tüm bileşenlerinde değişiklikleri içerir:

Nükleer zar parçalara ayrılır,

Nükleer gözenek kompleksleri ayrışır,

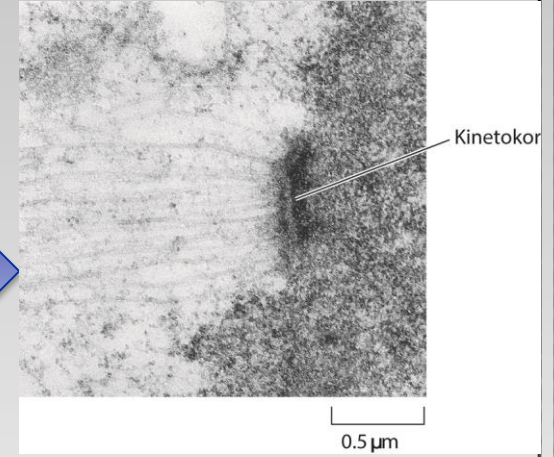
Nükleer lamina depolimerize olur.

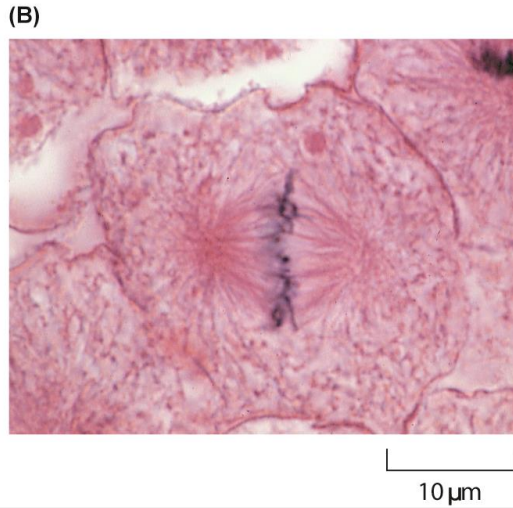
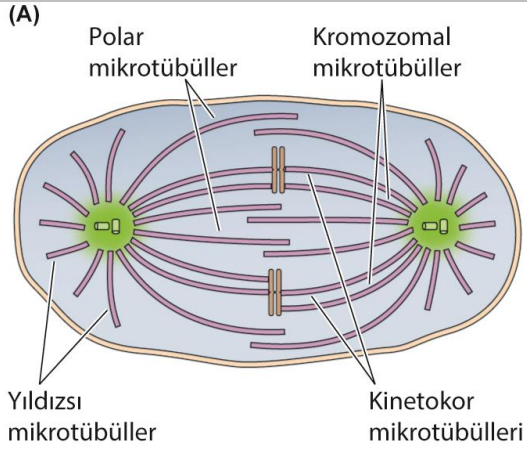
- Cdk1/siklin B, laminleri fosforile ederek, doğrudan, nükleer laminanın (nükleer membranın altındaki filamanlardan oluşan ağ örgüsü) depolimerizasyonuna yol açar. Fosforilasyon, lamin filamanların yıkılmasına ve lamin dimerlerine yıkılmasına ve nükleer laminanın depolimerizasyonuna yol açar. Cdk1, aynı zamanda iç nükleer membranı ve nükleer gözenek kompleksindeki bazı proteinlerini fosforile ederek nükleer gözenek kompleksinin parçalara ayrılmasına ve iç nükleer membranın laminlerden ve kromatinden ayrılmasına sebep olur.
- Hayvan hücrelerinde, nükleer membranın entegre proteinleri, endoplazmik retikuluma abzorbe olurlar. Endoplazmik retikulum bozulmamış bir ağ olarak kalır ve mitoz bölünme sonucunda oluşan kardeş hücrelere paylaşılır.



- Golgi aygıtı, mitoz sırasında küçük veziküllere ayrıştırılır. Bunlar endoplazmik retikulum tarafından absorbe olurlar ya da sitokinez sırasında kardeş hücrelere paylaştırılırlar. Golginin veziküllere ayrıştırılması, Cdk1 aracılığıyla çeşitli golgi matrisi proteinlerinin fosforilasyonu aracılığıyla gerçekleşir.
- Mitotik iğın oluşumuyla en son noktaya erişen, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, mikrotübüllerin dinamik kararsızlığının sonucudur.
- Profazın başlangıcında, S evresinde kopyalanmış olan sentrozomlar ayrılarak çekirdeğin zıt taraflarına hareket ederler. Ayrılmadan önce bir olgunlaşma prosesine uğrayıp genişleyerek iğ kurulumu için gerekli olan Y-tubulin ve diğer proteinleri toplarlar. Sentrozomun olgunlaşması, ayrılması ve iğ kurulumu, sentrozomlara lokalize olan Aurora A ve Polo-like kinaz tarafından yürütölür.
- Mikrotübüllerin devir oranı mitoz sırasında beş-on kat arasında artarak interfaz mikrotübüllerinin depolimerizasyonunu ve küçölmesini sağlar. Bu hızlanmış devir oranının, miktotüböl ilişkili proteinlerin Cdk1, Aurora ve Polo-like kinaz gibi mitotik kinazlar tarafından fosforilasyonu sonucu ortaya çıktığı düşünölmektedir.
- Sentrozomlardan doğan mikrotübüllerin sayısı da artarak, interfaz mikrotübüllerinin yerini çok sayıda olan ve sentrozomlardan çıkan mikrotübüller alır.

Çekirdek zarının yıkılması, bazı iğ mikrotübüllerinin, kromozomlara kinetokorlarından tutunmasına ve prometafaz için tanımlayıcı olan, kromozom göçünün başlamasına olanak sağlar. Kinetokorda toplanan proteinler, kromozomların hareketini sentrozoma bağlı iğ mikrotübüllerinin eksi uçlarına doğru yönelten mikrotübül motorlarını içerir. Kromozomları sentrozomlara doğru çeken bu proteinlerin hareketine, artı uç yönelimli motor proteinler ve kromozomları iğ kutuplarından uzaklaştıran mikrotübül uzaması karşı koyar. Sonuç olarak, prometafazdaki kromozomlar, sentrozomlar ve iğ merkezi arasında ileri geri yer değiştirirler.





İğın zıt kutuplarından gelen mikrotübüller, sonunda, kardeş kromatidlerin iki kinetokoruna (kromozomun iki yanında yerleşik olan) tutunur ve kromozomlar üzerine etki eden kuvvetlerin dengelenmesi, bunların iğın merkezindeki metafaz düzleminde dizilmesini sağlar . İğ, hem kromozomlara tutunan kinetokor mikrotübülleri, hem de hücrenin ortasında birbirinin üstüne oturan polar mikrotübülleri içerir. Buna ek olarak, yıldızlı mikrotübüller sentrozomlardan hücre kenarlarına doğru yayılırlar.

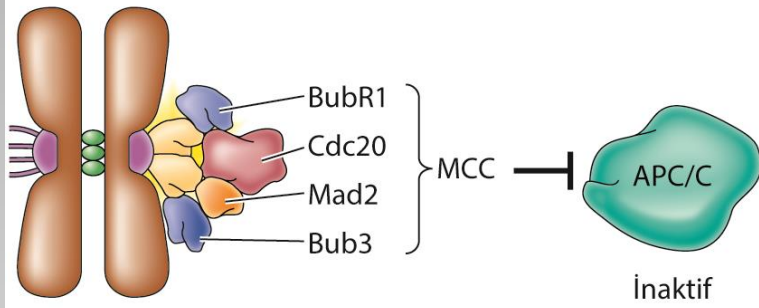
İğ Kontrol Noktası ve Anafaza Geçiş

- Önemli hücre döngüsü kontrol noktası da, kromozomların metafaz iği üzerinde dizilmelerini denetlenmesidir. Bu süreç başarıyla tamamlandığında, hücre anafaza ilerler ve mitozu bitirir. Metafazdan anafaza geçiş, bazı anahtar düzenleyici proteinlerin übikitin aracılığıyla proteolizi sonucunda olur. APC/C, S ve G₂ evreleri boyunca Cdk2/siklin E ve siklin A komplekslerince inhibe edilir. Mitozun başlangıcında ise, Cdk1/siklin B tarafından fosforilasyonu sonucunda APC/C'nin aktivasyonu uyarılır. APC/C, hücre iğ kontrol noktasını geçene kadar etkisiz kalır, bundan sonra, übikütin-yıkım sisteminin etkinleşmesi, metafazdan anafaza geçişi ve mitozu tamamlamak üzere ilerlemeyi sağlar.
- İğ kontrol noktası, sıraya girmemiş tek bir kromozom varlığının dahi, APC/C aktivasyonunu baskılamak için yeterli oluşuyla olağanüstüdür. Bu kontrol noktası, henüz tutunmamış kinetokorlar üzerinde oluşan ve APC/C'yi inhibe eden proteinlerden oluşan bir kompleks (**Mitotik kontrol noktası kompleksi veya MCC olarak adlandırılır**) aracılığıyla sürdürülür.

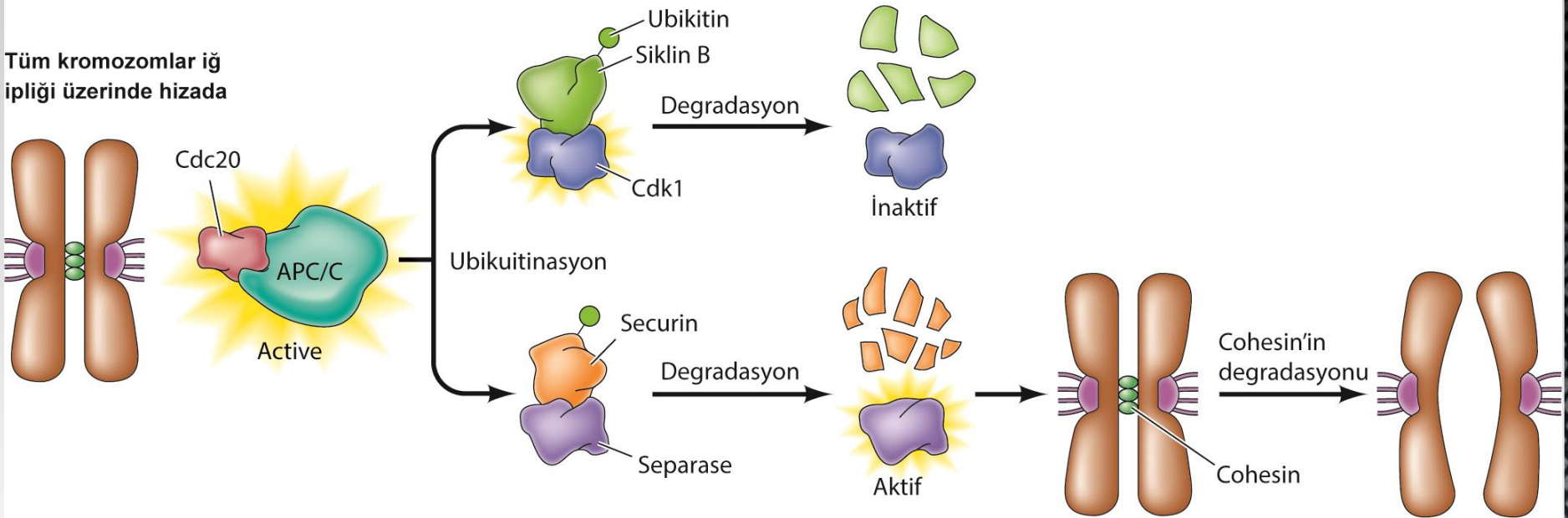
İğ Kontrol Noktası ve Anafaza Geçiş

- Mitotik kontrol noktası kompleksi dört proteinden oluşur: BubR1, Bub3, Mad2 ve Cdc20.
- Cdc20 proteini APC/C tarafından ihtiyaç duyulan bir aktivatördür, fakat MCC içerisinde Mad ve Bub proteinlerine bağlı kaldığında aktivitesi engellenir. Mikrotübüller kinetokorlara bağlandıklarında MCC kompleksleri oluşamaz ve Cdc20, APC/C'yi inhibe etmek yerine aktive etmeye başlar.

Tutunmamış kinetokor

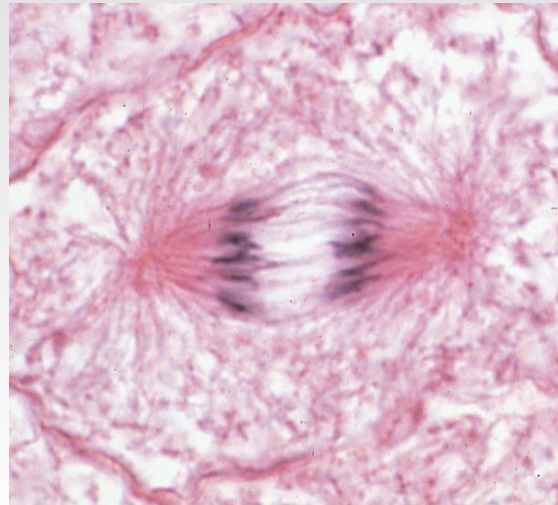


Tüm kromozomlar iğ ipliği üzerinde hizada



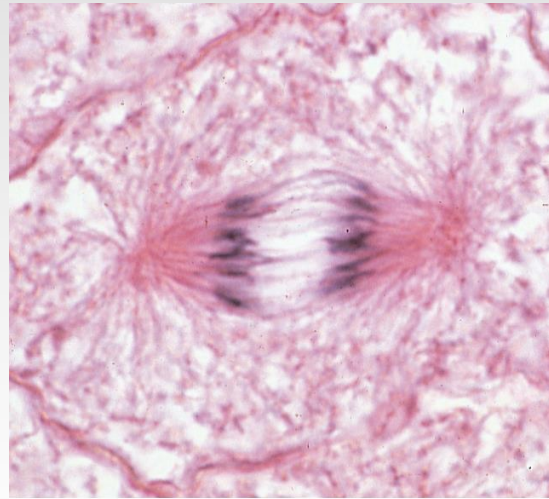
İğ Kontrol Noktası

- APC/C'nin aktivasyonu, metafazdan anafaza geçişi tetikleyen iki önemli hedef proteinin übikütinasyonu ve degradasyonuna yol açar.
- Anafazın başlangıcı siklin B'nin yıkımıyla Cdk1'in inaktivasyonu ve metafaz düzleminde sıralanmış kardeş kromatidlerin bir arada tutulmasını sağlayan cohesin'lerin bir bileşeninin degradasyonu sonucudur.
- Cohesin'lerin yıkımı direkt olarak APC/C tarafından kataliz edilmez.
- APC/C, separase isimli bir proteazı kısıtlayan securin proteininin yıkımını sağlar. Securin'in yıkımı, separase'ın aktivasyonuna ve sonuç olarak cohesin'lerin yıkımına sebep olur. Cohesin'lerin yıkımı, kardeş kromozomları bir arada tutan bağlantının kırılmasına ve iğ tarafından karşı kutuplara hareket etmelerine izin verir.



10 μ m

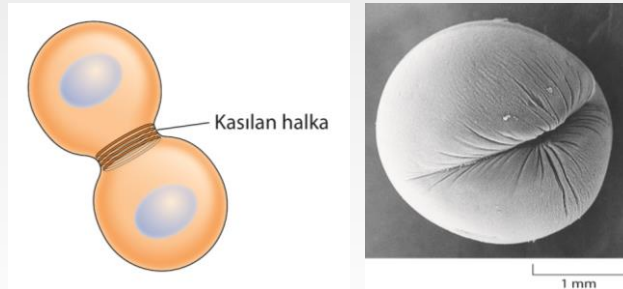
- Kromozomların anafaz sırasında ayrılması, iğ mikrotübülleri ile bağlantılı çeşitli tiplerdeki motor proteinlerin aktivitesiyle sağlanır.
- Hücre anafaz evresini bitirdiğinde, APC/C kompleksi, Aurora ve Polo-like kinazların degradasyonunu tetikleyerek, hücrenin mitozdan çıkmasına ve interfaza geçmesine yol açar. Bu geçişlerde gözlemlenen çoğu hücresel değişim, mitozda Cdk1, Aurora ve Polo-like kinaz tarafından uyarılan olayların sadece tersine çevrilmesi sonucudur. Örneğin, nükleer zarfın tekrar oluşturulması, kromatinin açılması, mikrotübüllerin interfazdaki durumlarına dönmesi gibi olaylar mitotik kinazların aktivitelerini kaybetmeleriyle paralel olarak mitozun başlangıcında fosforile edilen proteinlerin defosforile olmalarının direkt sonucudur. Sitokinezin tetikleyicisi de Cdk1'in aktivitesini yitirmesidir.



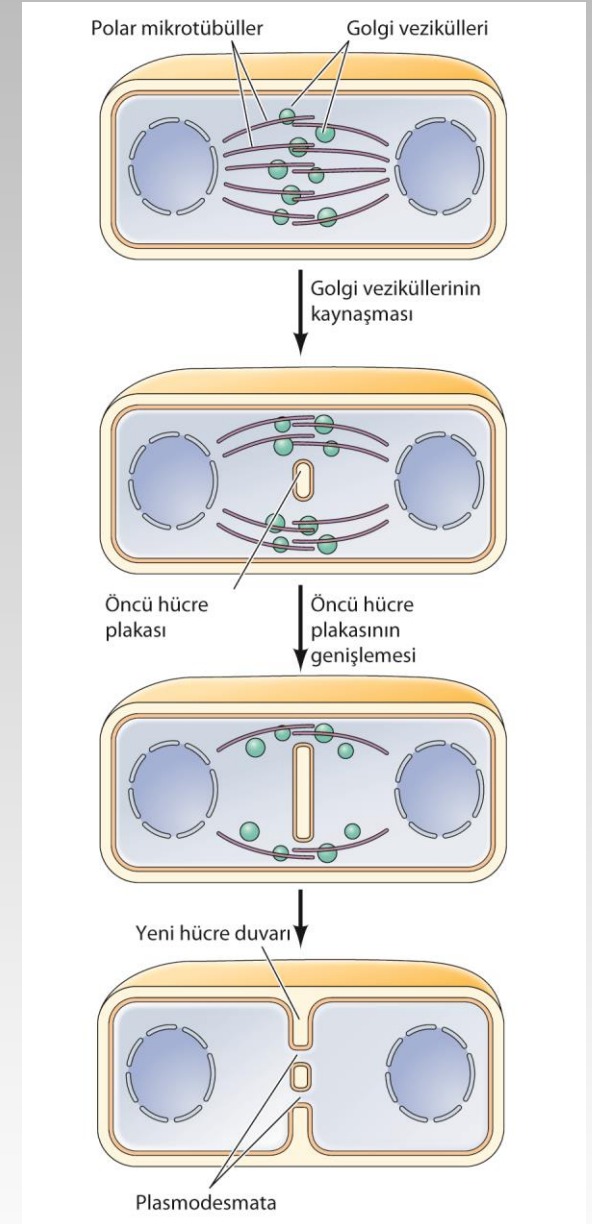
10 μ m

Sitokinez

- Mitozun tamamlanmasına, çoğunlukla, iki yavru hücrenin oluşumuna neden olan sitokinez eşlik eder. Sitokinez genellikle anafazın başlamasından hemen sonra başlar ve **Cdk1'in inaktivasyonu ile tetiklenir**, böylelikle hücrenin nükleer ve sitoplazmik bölünmesi eş zamanlı olur. **Aurora ve Polo-like kinazlar** ise anafaz boyunca aktif kalarak hücrenin nükleer ve sitoplazmik bölünmesini koordine ederler.
- Hayvan hücrelerinin sitokinezi, plazma zarının altında, aktin ve miyozin II filamanlarından oluşan kasılan halka ile sağlanır. Bu halkanın oluşumu Aurora ve Polo-like kinazlar tarafından aktive edilerek yerleşimi, mitotik iğın pozisyonu ile belirlenir, yani, sonunda hücre iğe dik, metafaz düzleminden geçen bir çizgide bölünür. Yarılma, aktin miyozin filamanlarının kasılması sonucu plazma zarının içeri çekilmesiyle devam eder ve sonunda hücre ortasından daralır. İki yavru hücrenin arasındaki köprü kırılır ve plazma zarı tekrar kapatılır.



- Sert hücre duvarlarıyla çevrili gelişmiş bitki hücrelerinde sitokinez mekanizması farklıdır. Bu hücreler, daralan halka ile ortasından boğumlanarak değil, hücrenin içinde plazma zarı ve yeni hücre duvarı oluşturarak bölünürler.
- Erken telofazda, hücre duvarı yapıtaşlarını taşıyarak Golgi aygıtından çıkan kesecikler, iğ mikrotübüllerine bağlanır ve metafaz düzleminin önceki konumunda birikirler. Bu kesecikler daha sonra büyük, zarla çevrilmiş, disk benzeri yapı oluşturmak üzere kaynaşırlar ve içerdikleri polisakkaridler, yeni **hücre duvarının** (**hücre plakası** adı verilir) matrisini oluşturmak üzere birleşir. Hücre plakası, iğ dik olarak, plazma zarına ulaşıncaya kadar, dışa doğru genişler. Daha sonra, hücre plakasını çevreleyen zar, başlangıçtaki hücreye ait plazma zarı ile birleşerek hücreyi ikiye böler. Kardeş hücreler arası bağlantılar keseciklerin sitokinezde tamamlanmamış kaynaşmaları sonucudur.



MAYOZ VE DÖLLENME

- Mayoz, kromozom sayısını yarıya indirerek haploid yavru hücrelerin oluşumuyla sonlanan, özelleşmiş bir tür hücre döngüsüdür.
- Mayalar gibi tek hücreli ökaryotlar, mitoz yoluyla üreyebildikleri gibi mayoza da girebilirler. Örneğin; diploid *Saccharomyces cerevisiae*, uygun olmayan çevre koşullarına maruz kaldığında mayoza girerek sporlar üretir.
- Çok hücreli bitki ve hayvanlarda ise, mayoz sadece, eşeyli üreme için gerekli olan üreme hücreleriyle sınırlıdır.
- Somatik hücreler çoğalmak için mitoza girerken, üreme hücreleri haploid eşey hücrelerini (sperm ve yumurta) oluşturmak üzere mayoza girerler. Yeni döl canlının gelişimi, döllenme sırasında bu eşey hücrelerinin kaynaşması ile başlar.

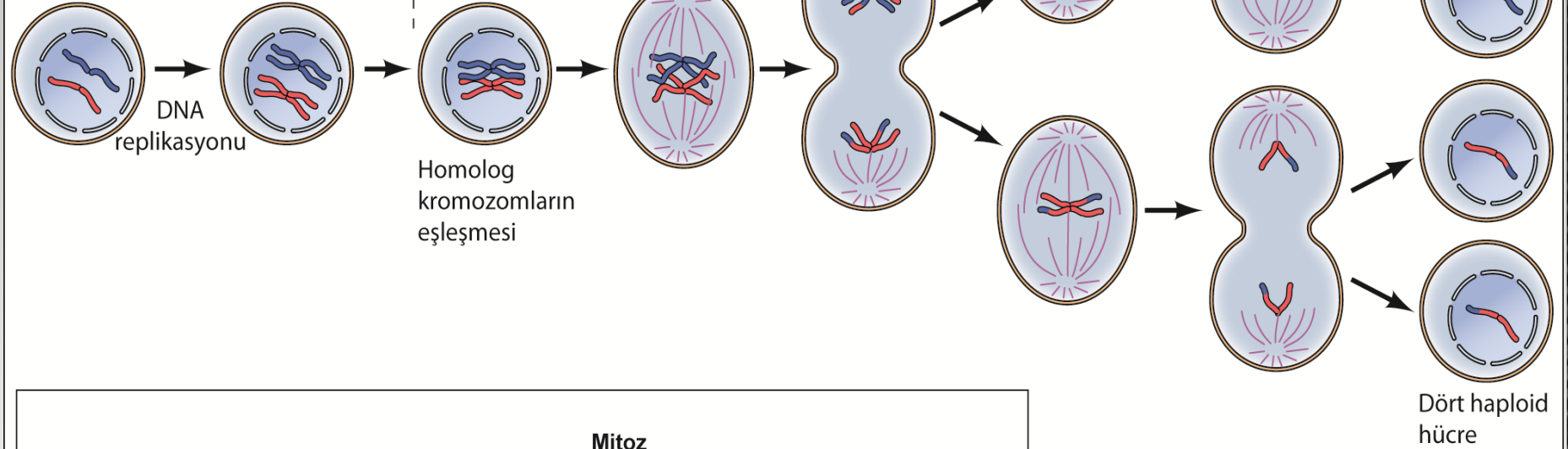
Mayoz Süreci

- Mitozun aksine, mayoz, bir diploid parental hücrenin, her biri diploid ebeveynin homolog kromozom çiftlerinden yalnız birini taşıyan, haploid yavru hücrelere bölünmesiyle sonlanır.
- Kromozom sayısındaki bu azalma, tek bir DNA replikasyon turunu izleyen, art arda iki nükleus ve hücre bölünmesi (**mayoz I ve mayoz II** olarak adlandırılır) ile sağlanır.
- Mitoz gibi, mayoz I de, S evresi tamamlandıktan ve parental kromozomlar identik kardeş kromotidleri oluşturmak üzere replike olduktan sonra başlar. Ancak, mayoz I'deki kromozom dağılım modeli mitozdakinden oldukça farklıdır.
- Mayoz I sırasında, homolog kromozomlar önce birbiriyle eşleşir ve sonra farklı yavru hücrelere ayrışırlar. Kardeş kromatidler bir arada kalırlar, böylelikle mayoz I'in tamamlanması, her kromozom çiftinin bir üyesine (iki kardeş kromatidden oluşan) sahip yavru hücrelerin oluşmasıyla sonuçlanır.
- Mayoz I'i, kardeş kromatidlerin ayrılması ve farklı yavru hücrelere dağılması ile mitozu andıran, mayoz II izler. Mayoz II'nin tamamlanması ile, her biri her kromozomun tek bir kopyasına sahip, dört haploid yavru hücre oluşur.

Mayoz I

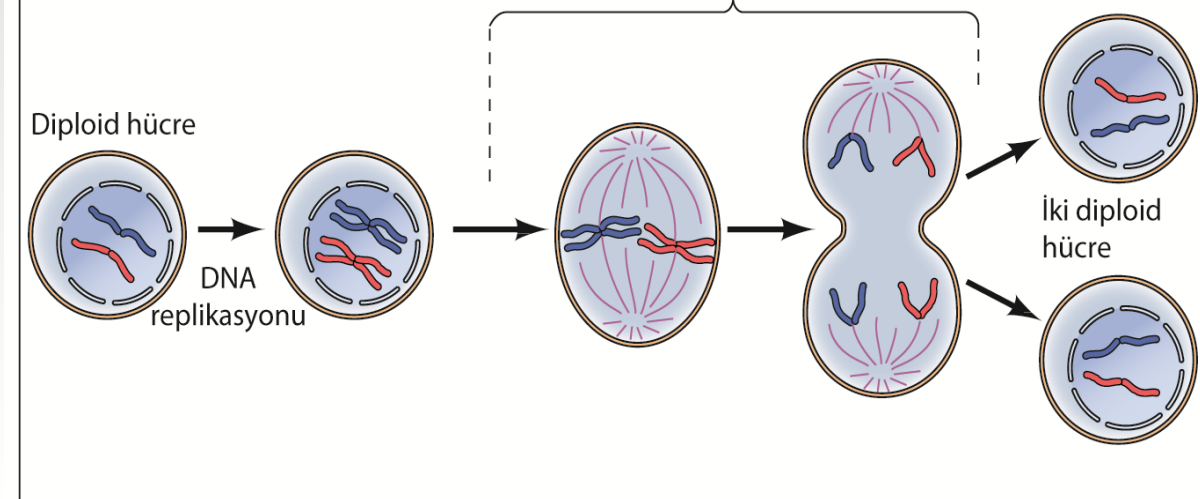
Mayoz II

Diploid hücre



Mitoz

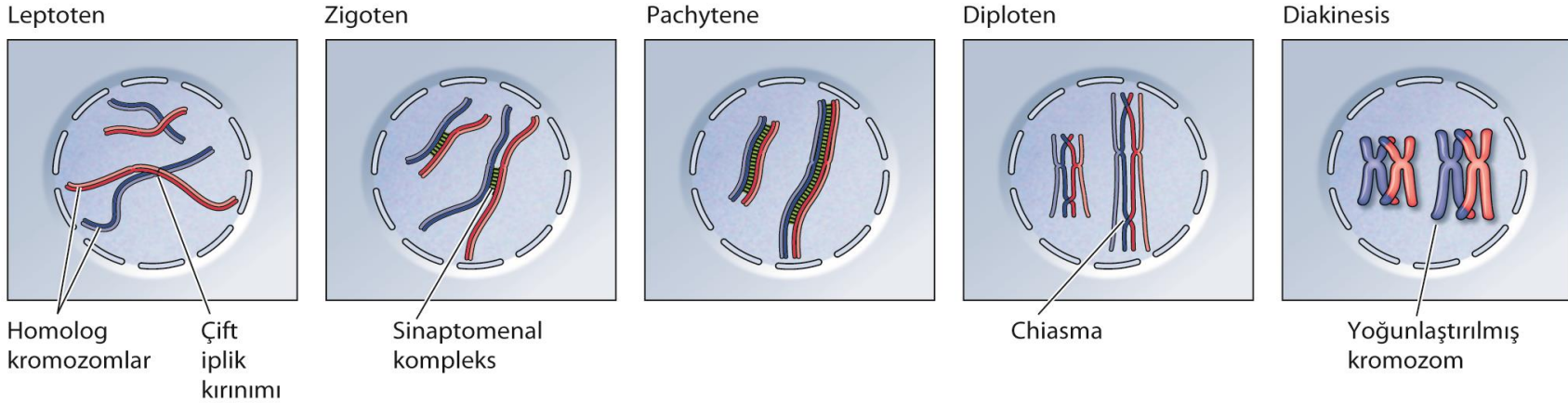
Diploid hücre



- DNA replikasyonundan sonra homolog kromozomların eşleşmesi, babadan ve anneden gelen kromozomlar arasındaki rekombinasyonun sonucudur. Yani genetik rekombinasyon, mayoz esnasındaki kromozom dağılımı ile yakından ilişkilidir.
- Homolog kromozomlar arasındaki rekombinasyon, mayoz I'deki uzun ve kromozom morfolojisine göre beş evreye ayrılır:

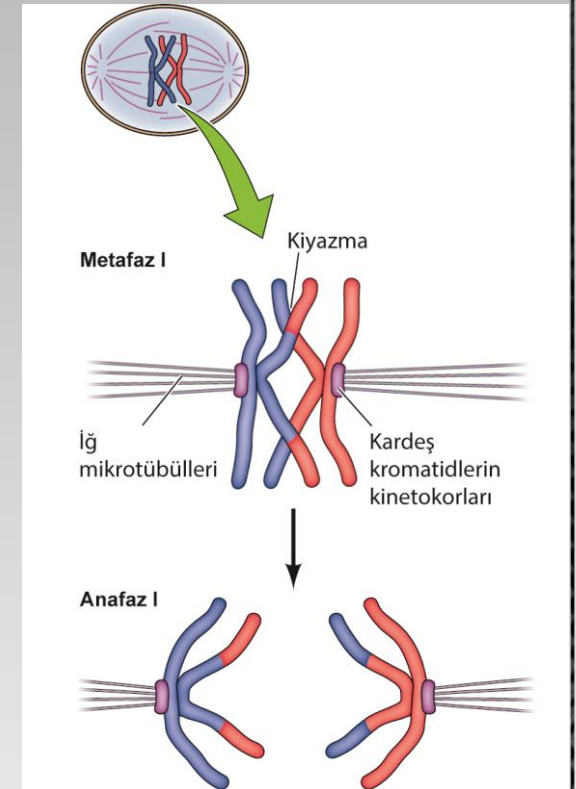
1. Leptoten,
2. Zigoten
3. Pakiten,
4. Diploten,
5. Diyakinez

profaz sırasında gerçekleşir



- Mayoz sırasında rekombinasyon oldukça sık görülür, yüksek oranda korunmuş bir endonükleaz olan SpoII tarafından, mayotik profazın erken evresinde (**leptoten**) indüklenen çift iplik kırılmaları ile başlatılır.
- Çift iplik kırılmaları, komplementer baz eşleşmesi ile homolog kromozomun içine uzanan tek iplikli bölgelerin oluşmasına yol açar.
- Homolog kromozomların belli noktalarda birbirleriyle yakın birlikteliği (sinapsis), **zigoten** aşamasında başlar. Homolog kromozomların nasıl birbirleriyle eşleştikleri tam olarak bilinmemekle beraber, güncel çalışmalar kodlamayan RNA'ların burada görev aldıklarını önermektedir. Bu aşamada, eşleşmiş kromozomların uzunluğu boyunca, sinaptonemal kompleks olarak isimlendirilen fermuar benzeri protein yapı oluşur. Bu kompleks, birkaç gün sürebilen **pakiten** evresi boyunca homolog kromozomları bir arada ve yan yana tutar. Homolog kromozomlar arasındaki rekombinasyon, pakiten'in sonunda, çapraz-değişim noktalarından (kiyazmata; tekili, kiyazma) bağlı kromozomlar bırakarak tamamlanır. Sinaptonemal kompleks **diploten** evresinde kaybolur ve homolog kromozomlar tümüyle birbirinden ayrılır. Ancak, kiyazmata ile bağlı kalır ve bu, metafazda doğru dizilmeleri için gereklidir. Bu aşamada her kromozom çifti (bivalan olarak adlandırılır) belirgin kiyazmata noktalarıyla, dört kromatid içerir. Profaz I'in son evresi olan **diyakinez**, metafaza geçişin habercisidir ve bu evrede kromozomlar tamamen yoğunlaşırlar.

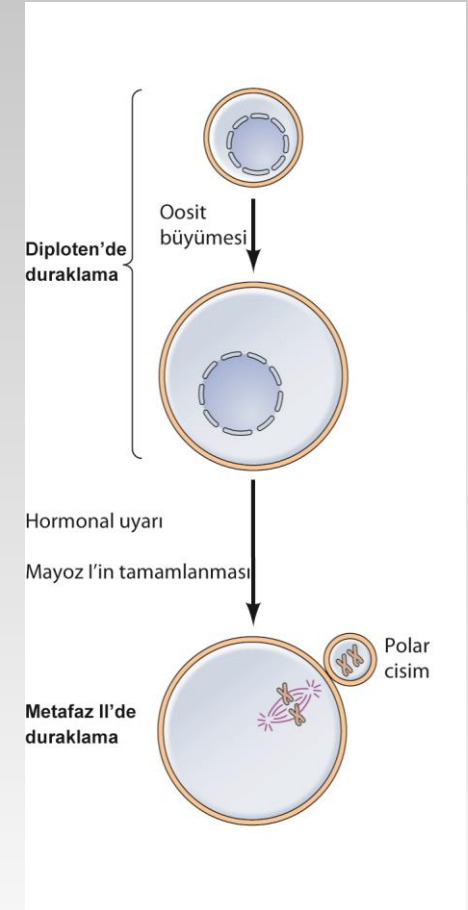
- Metafaz I'de bivalan kromozomlar iğ üzerinde dizilirler. Mitozun aksine, kardeş kromatidlerin kinetokorları, birbirine bitişik ve aynı yöne bakarken, homolog kromozomların kinetokorları için zıt kutuplarına bakar.
- Dolayısıyla, için aynı kutbundan gelen mikrotübüller kardeş kromatidlere tutunurken, zıt kutuplardan gelen mikrotübüller homolog kromozomlara tutunurlar.
- Anafaz I, homolog kromozomları birleştiren kiyazmatanın ayrılmasıyla başlar. Sonrasında, kardeş kromatidler sentromerlerine bağlı kalırken, homolog kromozomlar birbirinden ayrılır. Mayoz I'in tamamlanmasıyla, her yavru hücre, her bir homolog çiftin, iki kardeş kromatidden oluşan bir üyesine sahip olur.



- Sitokinezin hemen ardından, çoğunlukla, kromozomlar yoğunluklarını tamamen kaybetmeden önce, mayoz II başlar. Mayoz I'in aksine, mayoz II normal mitozu andırır. Metafaz II'de kromozomlar, zıt kutuplarından gelen mikrotübüller kardeş kromatidlerin kinetokorlarına tutunmuş olarak, için üzerinde dizilirler. Kardeş kromatidlerin sentromerleri arasındaki bağ anafaz II'de açılır ve kardeş kromatidler zıt kutuplara dağılırlar. Bunu, haploid yavru hücrelerin oluşumunu sağlayan, sitokinez izler.

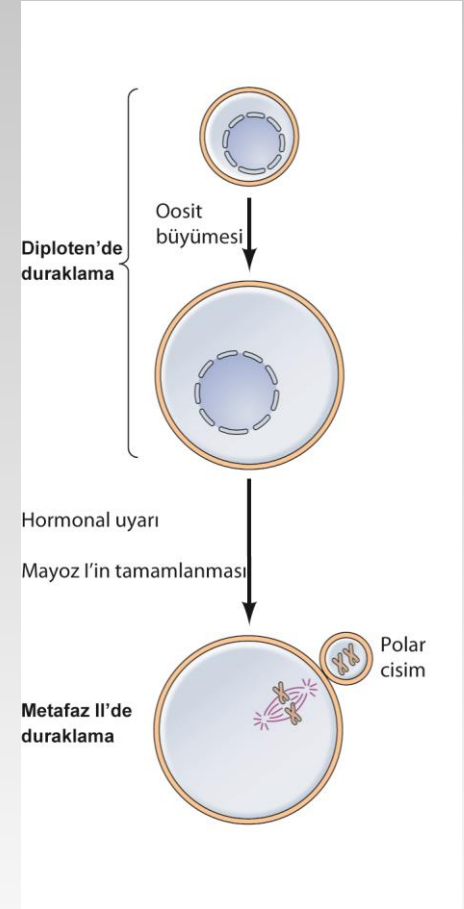
Oosit Mayozunun Düzenlenmesi

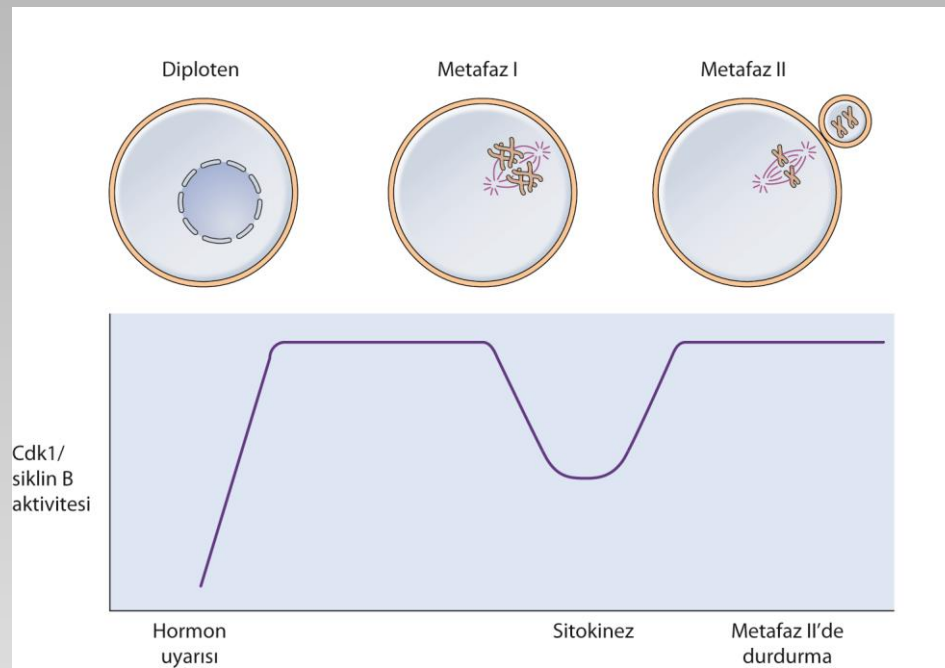
- Omurgalı oositleri (gelişen yumurtalar) özellikle büyüklükleri ve laboratuvaradaki kullanım kolaylıkları nedeniyle, hücre döngüsü araştırmalarında yararlı model olmuşlardır. Dikkate değer bir örnek olarak, MPF'nin (Cdk1/siklin B) kurbağa oositlerinde keşfi ve daha sonra da saflaştırılması gösterilebilir. Diğer türlerde olduğu gibi, bu oositlerin mayozu, hücre döngüsünde iki özel noktada düzenlenir ve oosit mayozu çalışmaları, yeni hücre döngüsü kontrol mekanizmalarına ışık tutmuştur.
- Oosit mayozunun ilk düzenlenme noktası, birinci mayotik bölünmenin diploten aşamasındadır. İnsanlarda, oositler bu aşamada 40 ila 50 yıl kadar uzun sürelerde bekleyebilir. Bu diploten duraklamasında, oosit kromozomları yoğunluk kaybederler ve aktif olarak transkribe olurlar. Bu transkripsiyonel aktivite, bu evrede oositlerin olağanüstü büyümelerinden anlaşılabilir. Örneğin, insan oositleri yaklaşık 100 μm çapındadır (tipik bir somatik hücrenin hacminin yüz katından fazla). Kurbağa oositleri, yaklaşık 1 mm çapları ile, daha da büyüktürler. Bu hücre büyümesi aşamasında oositler, embriyo gelişiminin erken evrelerinde gereksinim duyulacak olan, RNA ve protein gibi maddeleri stoklarlar.



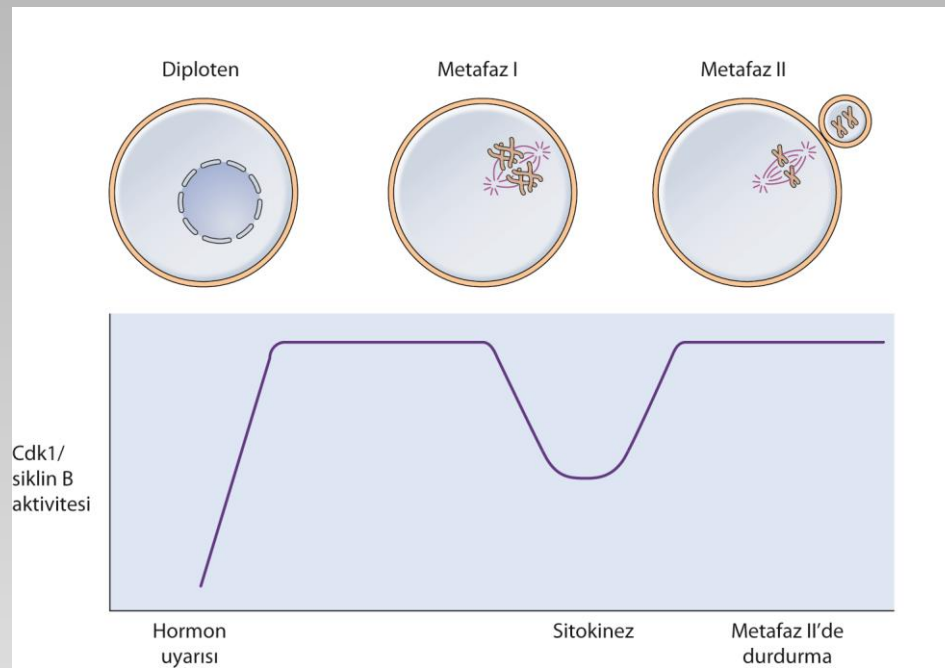
Oosit Mayozunun Düzenlenmesi

- Erken embriyonik hücre döngüleri hücre büyümesi olmadan gerçekleşir ve döllenmiş yumurta hızla küçük hücrelere bölünür.
- Farklı türlerin oositleri, mayozun ne zaman başlayacağı ve döllenmenin ne zaman gerçekleşeceği açısından farklılıklar gösterirler. Bazı hayvanlarda oositler dölleninceye kadar diploten evresinde kalırlar ve ancak ondan sonra mayozu tamamlarlar. Ancak, omurgalıların çoğunun (kurbağalar, fareler ve insanlar gibi) oositleri, hormonal uyarıya yanıt olarak mayozu devam ederler ve döllenme öncesinde mayoz I'de ilerlerler. Mayoz I'i izleyen hücre bölünmesi, küçük bir kutup cismi ve büyük hacmini koruyan bir oosit oluşumuyla sonlanan, asimmetrik bir bölünmedir. Oosit, daha sonra, yeni çekirdek oluşturmadan ve kromozomlarını açmadan, mayoz II'ye giriş için ilerler. Çoğu omurgalıların oositleri, daha sonra metafaz II'de tekrar duraklatılır ve döllenme oluncaya ya da bozuluncaya kadar burada bekletilirler.



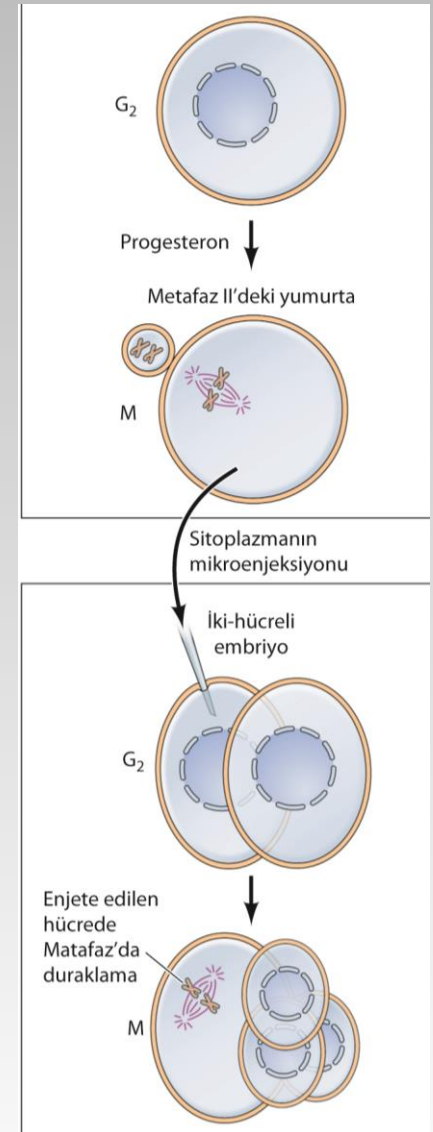


- Somatik hücrelerin M evresi gibi, oositlerin mayozu da Cdk1/siklin B kompleksleri tarafından kontrol edilir.
- Oosit mayozu sırasında Cdk1'in kontrolü, mayoz I'den mayoz II'ye geçiş ve metafaz II'de duraklamadan sorumlu olması gibi, belirli özellikler gösterir .
- Diploten'de durdurulmuş olan oositlerin hormonal uyarımı, ilk önce, somatik hücrelerin G_2 'den M'ye geçişine benzer şekilde Cdk1'i aktive ederek mayozun yeniden başlamasını tetikler.
- Mitozda olduğu gibi, Cdk1 daha sonra, kromozom yoğunlaşmasını, çekirdek zarfının yıkımını ve iğın oluşumunu başlatır.

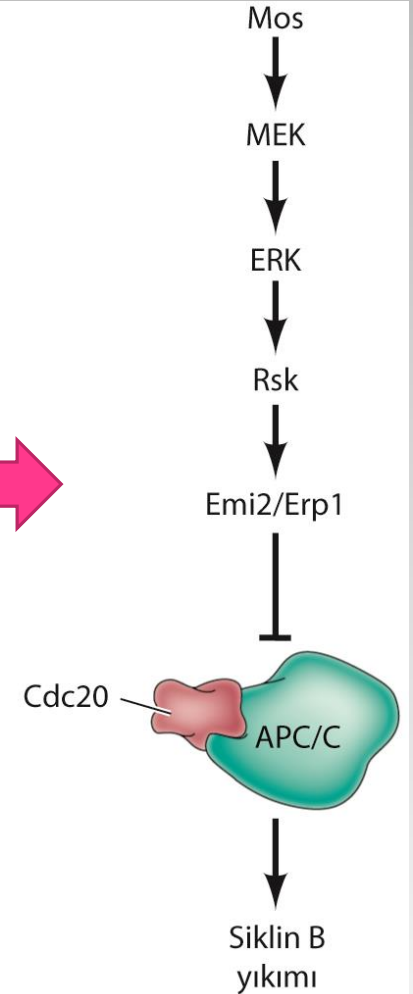


- Somatik hücrelerin M evresi gibi, oositlerin mayozu da Cdk1/siklin B kompleksleri tarafından kontrol edilir.
- Anafaza-ilerleten kompleksin (APC/C) aktivasyonu, Cdk1'in aktivitesinin azalması ile birlikte, mayoz I'in metafazdan anafaza geçişini sağlar. Ancak, mitozun aksine, Cdk1 aktivitesi sadece kısmen azalır, böylece oosit M evresinde kalır, kromatinler kalınlaşmış kalır ve nükleer zarf yeniden oluşmaz.
- Sitokinezi takiben, Cdk1 aktivitesi tekrar yükselir ve yumurta metafaz II'de tutulduğu sürece yüksek kalır.
- Oositlere özgün kontrol mekanizması, bu şekilde, mayoz I'de metafazından anafaza geçiş ve bunu izleyen metafaz II duraklaması süresince, normal bir M evresinde siklin B proteolizi sonucunda gerçekleşen Cdk1 inaktivasyonunu önleyerek, Cdk1 aktivitesinin devamlılığını sağlar.

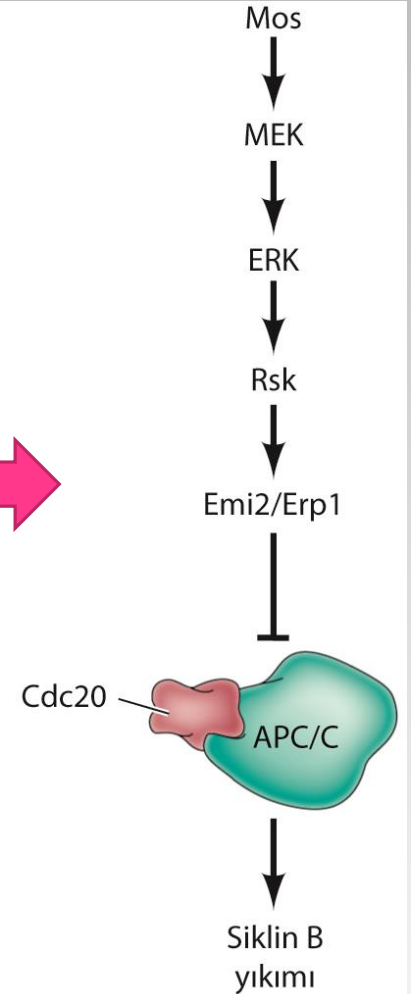
- Metafaz II duraklamasından sorumlu faktör, ilk olarak 1971'de Yoshio Masui ve Clement Markert tarafından, MPF'nin keşfini sağlayan aynı deney serileriyle tanımlanmıştır. Ancak, burada, metafaz II'de durmuş bir yumurtanın sitoplazması, mitotik hücre döngüsü içerisinde olan bir erken embriyo hücresine enjekte edilmiştir.
- Yumurta sitoplazmasının enjeksiyonu, embriyonik hücrenin metafazda durmasına sebep olmuştur ki bu da metafaz duraklamasının, yumurtada bulunan bir sitoplazmik faktör tarafından uyarıldığını göstermektedir. Bu faktör mitozu duraksattığı için, **sitostatik faktör** (CSF) olarak adlandırılmıştır.



- Yakın zamandaki birçok araştırma, **Mos olarak bilinen bir protein-serin/ treonin kinazı**, CSF'nin temel bileşeni olarak tanımlamıştır.
- Mos özellikle mayoz I'in tamamlanmasına yakın zamanda, oositlerde sentezlenir ve metafaz II'deki duraklama esnasında olduğu kadar mayoz I'in metafazından anafazına geçişinde gerekli Cdk1/siklin B aktivitesinin korunması için gereklidir.
- Mos'un etkisi, hücre sinyal yollarında önemli bir role sahip ERK/ MAP kinazın aktivasyonu sonucunda ortaya çıkar. Ancak, oositlerde ERK'in rolü farklıdır; burada, MPF aktivitesinin devamlılığını siklin B'nin hem yıkımını baskılayarak hem de sentezini uyararak koruyan ve Rsk olarak adlandırılan diğer bir protein kinazı aktive eder.

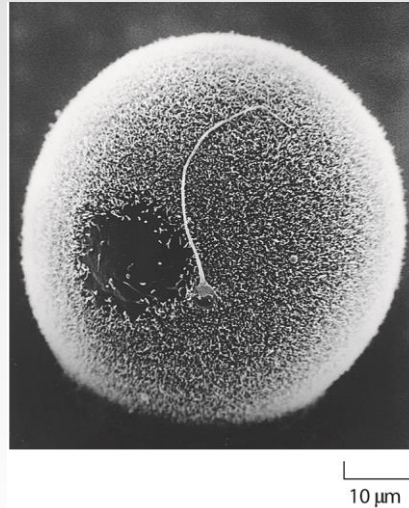


- Siklin B'nin degradasyonunun engellenmesi, Emi2/Erp1 proteini aracılığıyla APC/C'nin kısıtlanmasıyla sağlanır. Emi2/Erp1, Rsk tarafından fosforile edildikten sonra Cdc20'ye bağlanarak APC/C'yi kısıtlar. Bu, iğ kontrol noktasının mitotik kontrol noktası kompleksi tarafından kısıtlanmasına benzemektedir. Bir başka deyişle Mos, oosit mayozu sırasında Cdk1/siklin B'nin aktivitesini sürdürmesini sağlayarak, metafaz II'de oositin duraklamasına neden olur. Oositler mayotik hücre döngüsünün bu noktasında, döllenmeyi bekleyerek, birkaç gün durabilir.



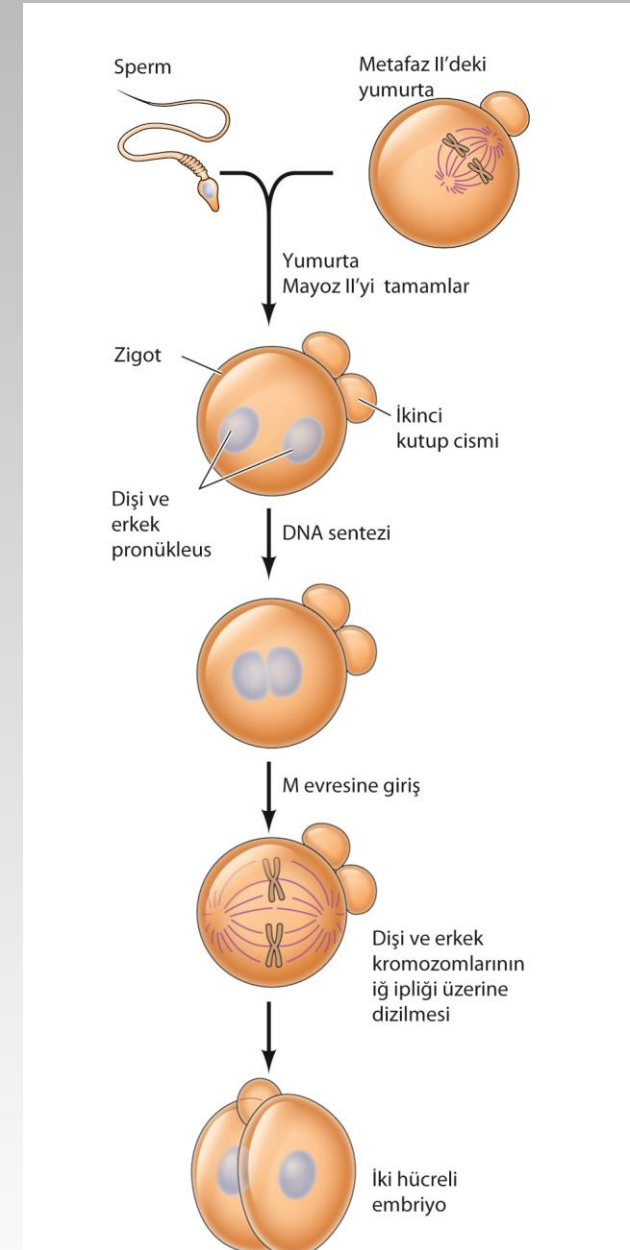
Döllenme

- Döllenme esnasında, sperm, yumurta yüzeyindeki bir reseptöre bağlanır ve yumurtanın plazma zarıyla kaynaşarak, anne ve babadan gelen genetik bilgiyi içeren yeni diploid organizmanın oluşumunu başlatır.
- Döllenme sadece babaya ve anneye ait kromozomların karışmasını değil, aynı zamanda yumurta sitoplazmasında, gelişiminin ileri dönemlerinde kritik role sahip olacak bir seri değişikliği de başlatır. Bu değişiklikler yumurtayı aktifleştirerek, oosit mayozunun tamamlanmasına ve erken embriyonun mitotik hücre döngülerinin başlamasına yol açar.



- Spermin, yumurtanın plazma zarı üzerindeki reseptörüne bağlanmasıyla başlayan önemli sinyallerden biri, yumurta sitoplazmasında Ca^{2+} seviyesindeki artışıdır ki, bu artış, olasılıkla, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfatın (PIP_2) hidrolizinin sonucudur.
- **Hücre içi Ca^{2+} seviyesindeki bu artışın bir etkisi, yumurtaya başka sperm girişini engelleyecek yüzey değişikliklerini başlatmaktır.**
- Yumurtalar aynı anda çok sayıda spermle karşılaştıkları için, bu durum, normal diploid embriyonun oluşumunu sağlamak açısından kritik bir olaydır. Yüzeydeki bu değişiklikler, yumurta plazma zarının altında çok sayıda bulunan salgı keseciklerinin, Ca^{2+} tetiklemeli eksositozunun sonucudur.
- Bu keseciklerin içeriğinin serbest kalması sonucu, yumurta hücresi-dış yüzey katmanı değişir ve böylece bir başka spermin girişi önlenmiş olur.

- Döllenmeyi takiben, sitozoldeki Ca^{2+} artışı, aynı zamanda mayozun tamamlanması için de sinyal oluşturur.
- Metafaz II'de durmuş yumurtalarda metafazdan anafaza geçiş, APC/C'nin kısıtlayıcısı Emi2/Erp1'in Ca^{2+} bağımlı degradasyonu sonucu, APC/C aktivasyonu ile başlatılır .
- Bunun sonucu olarak siklin B ve cohesin'in degradasyonu ikinci mayotik bölünmenin tamamlanmasını sağlar ve asimetric sitokinez sonucunda (Mayoz I'deki gibi) ikinci polar cisimcik oluşur.



- Oosit mayozunun tamamlanmasını takiben, döllenmiş yumurta (artık **zigot** olarak adlandırılır), her biri bir ebeveynden olmak üzere, iki haploid çekirdeğe (**pronukleus** olarak adlandırılır) sahiptir.
- Memelilerde, bu iki pronükleus, S evresine girer ve birbirlerine doğru ilerlerken DNA'larını replike ederler. Birbirlerine ulaştıklarında, zigot ilk mitotik bölünmesi için M evresine girer. İki çekirdeğin de zarfı yıkılır, anne ve babadan gelen kalınlaşmış kromozomlar ortak iğ üzerinde dizilirler. Mitozun tamamlanması ile her biri yeni diploid genom içeren iki embriyonik hücre oluşur. Bu hücreler, daha sonra, yeni bir organizmanın oluşumunu sağlayacak olan, bir seri embriyonik hücre bölünmesine başlarlar.

