

Keyifli Okumalar Dileriz

Binlerce kategoride milyonlarca PDF e-kitap, ders kitapları, dergiler ve romanlara platformumuz üzerinden ücretsiz ulaşabilirsiniz.

RESMİ WEB SİTEMİZ

<https://rantey.org>

Yedek ve Duyuru Kanallarımız

Sitemize erişim engeli gelmesi veya adres değişikliği durumunda aşağıdaki kanallardan güncel giriş adresine erişebilirsiniz:

- Telegram: <https://t.me/birkitapbir>
- WhatsApp Kanalımız : <https://whatsapp.com/channel/0029VbDHv8uE50Us4lvMoc0Y>

NESSA
CAREY

Çeviren: Elanur Yılmaz



ÇÖP DNA

İNSAN GENOMUNUN
KARANLIK MADDESİNE BİR YOLCULUK

Yakın zamana dek DNA'nın yüzde 98'lik kısmının protein kodlamadığı için hiçbir işe yaramadığı düşünülüyordu ve bu nedenle molekülün bu kısımlarına "çöp DNA" adı verilmişti. Fakat son araştırmalar bu kısımların hiç de "çöp" olmadığını, ender rastlanan genetik hastalıklar, Down Sendromu, viral enfeksiyonlar ve yaşlanma gibi birçok süreçten sorumlu olduklarını ortaya koydu. Bilim insanlarının bu tartışmalı alana ilişkin giderek artan bilgileri körlüğe çare bulunmasının yanı sıra DNA parmak izi denen yöntemle bazı masum insanların idamdan kurtarılmasını ve obezite dahil tıbbi müdahale gerektiren sayısız durumun tedavisinde büyük atılımlar yapılmasını sağladı.

İnsanın karmaşıklığına, hatta yaşamın kökenlerine ışık tutan bu kitabı bilim okurlarının ilgiyle okuyacaklarından eminiz...

"Şimdi eskiye nazaran daha gizemli görünen insan genomuna dair en modern bilgileri içeren, sizi soluksuz bırakacak bir kılavuz kitap."

— New Scientist



• sayyayincilik.com
f facebook.com/sayyayinlari
t twitter.com/sayyayinlari
i instagram.com/sayyayincilik

2. Baskı

internet satış
saykitap.com

47,50 TL

ISBN 978-605-02-0740-8



9 786050 207408

SAY YAYINLARI

Nessa Carey

Edinburgh Üniversitesi Viroloji Bölümü'nden doktora derecesine sahip olan Carey, on üç yıl boyunca biyoteknoloji ve ilaç sektöründe çalışmıştır. Halen, Imperial London College'da misafir öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır. *The Epigenetics Revolution* ve *Hacking the Code of Life* adlı iki kitap daha kaleme almıştır. Nessa Carey İngiltere'nin Norfolk kentinde yaşamaktadır.

Elanur Yılmaz

Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden mezun olduktan sonra lisansüstü eğitimine başlayan ve doktorasını Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan alan Elanur Yılmaz, şu an Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi Zebra Balığı laboratuvarında doktora sonrası araştırmacı olarak genetik alanındaki araştırmalarına devam etmektedir.

ÇÖP DNA

İNSAN GENOMUNUN
KARANLIK MADDESİNE BİR YOLCULUK

NESSA CAREY

Çeviren: Elanur Yılmaz

say

Say Yayınları

Popüler Bilim

Çöp DNA: İnsan Genomunun Karanlık Maddesine Bir Yolculuk / Nessa Carey

Özgün adı: *Junk DNA: A Journey through the Dark Matter of the Human Genome*

© Nessa Carey

Türkçe yayın hakları Kalem Ajans aracılığıyla © Say Yayınları

Bu eserin tüm hakları saklıdır. Tanıtım amacıyla, kaynak göstermek şartıyla yapılan kısa alıntılar hariç yayınevinden yazılı izin alınmaksızın alıntı yapılamaz, hiçbir şekilde kopyalanamaz, çoğaltılamaz ve yayımlanamaz.

ISBN 978-605-02-0740-8

Sertifika no: 10962

İngilizceden çeviren: Elanur Yılmaz

Editör: Sinan Köseoglu

Kapak tasarımı: Artemis İren

Baskı: Dörtel Matbaacılık

Zafer mah. 147. Sk. 9-13A

Esenyurt/İstanbul

Tel.: (0212) 565 11 66

Matbaa sertifika no: 40970

1. baskı: Say Yayınları, 2019

2. baskı: Say Yayınları, 2021

Say Yayınları

Ankara Cad. 22/12 • TR-34110 Sirkeci-İstanbul

Tel.: (0212) 512 21 58 • Faks: (0212) 512 50 80

www.sayyayincilik.com • e-posta: say@sayyayincilik.com

www.facebook.com/sayyayinlari • www.twitter.com/sayyayinlari

www.instagram.com/sayyayincilik

Genel dağıtım: Say Dağıtım Ltd. Şti.

Ankara Cad. 22/4 • TR-34110 Sirkeci-İstanbul

Tel.: (0212) 528 17 54 • Faks: (0212) 512 50 80

internet satış: www.saykitap.com • e-posta: dagitim@saykitap.com

İçindekiler

evirenin nsz	7
Terminoloji Hakkında Notlar	13
İnsan Genomunun Karanlık Maddesine Giriş.....	15
1. Karanlık Maddenin nemi.....	23
2. Karanlık Madde İyice Karardığında	31
3. Bütün Genler Nereye Gitti?	45
4. Gereğinden Fazla Uzayan Davet	59
5. Yaşlandıa Kısalan Yapılar.....	69
6. Mükemmel Sayı: İki	87
7. Yağlı Boya p Tablosu.....	105
8. Sabreden Derviş, Muradına Ermiş	125
9. Karanlık Maddenin Renklendirilmesi	143
10. Ebeveynler p Neden Sever?	155
11. Görevi Olan p.....	177
12. Düğmesine Bas, Sesini A	191
13. Tarafsız Bölge.....	211
14. ENCODE Projesi: Büyük Bilim p DNA'ya Ulaşıyor.....	223
15. Başızsız Kraliçeler, Garip Kediler ve Heybetli Fareler.....	239

16. Çevrilmeyen Bölgelerde Kaybolmak	259
17. LEGO, Airfix'ten Neden Daha İyidir?.....	279
18. Küçük Ama Etkili.....	299
19. İlaçlar (Bazen) İşe Yarar.....	317
20. Karanlıktaki Işık	331
Teşekkür	339
Sonsöz	341
Notlar	343
Ek.....	393
Dizin.....	399

■ Çevirenin Önsözü

Genetik alanındaki hiçbir gelişme tarih boyunca kolay olmamış ve hemen kabul görmemiştir. Örneğin Gregor Mendel, günümüzde her ne kadar “genetiğin babası” olarak adlandırılrsa da, yaşadığı dönemde elde ettiği bulgulara diğer bilim insanlarını inandırmakta zorlanmıştı. Mendel, bezelyelerle çalışırken, tesadüfen sadece tek bir genin etkilediği özellikleri gözlemlemişti. Diğer taraftan bazı özellikler ise birden fazla etki altındaydı ve yine tesadüfen o özellikleri test eden bilim insanları, Mendel’in hatalı olduğunu iddia ettiler. Aradan 34 yıl geçip birbirinden bağımsız üç araştırmacı, dünyanın farklı noktalarında Mendel’in haklı olduğu sonucuna ulaştıklarında, Mendel’in ölümünün 16. yılıydı.

Kalıtımın bir şekilde nesillerce aktarıldığı hep gözlemlense de aktarım yapan deponun ne olduğu 1930’lu yıllara kadar anlaşılamadı. Genetik bilginin DNA’da saklı olduğu iddia edildiğinde bilin ne oldu? Tabii ki yine hemen kabul görmedi çünkü DNA çok basit bir moleküldü, nasıl o kadar çok bilgiyi taşıyabilirdi ki? Nasıl bir yapıya sahipti de bizi biz yapan temel bilgiyi üzerinde taşıyordu? Bu soru, bilim insanlarının kafalarını yıllarca kurcaladı ve en son 1953 yılında Watson ve Crick tarafından yayınlanan tek sayfalık bir makaleyle DNA’nın yapısı bilim dünyasına duyuruldu.

Takvimler 2000 yılının 26 Haziran'ını gösterdiğinde televizyonlar, "tüm çağların en özel günü" diyerek bilim insanlarının, Bill Clinton'ın ve Tony Blair'in açıklamalarını canlı yayınlıyorlardı. "Tanrı'nın dilini çözmeyi başardık" diyerek, insan genomunun fiziki haritasını çıkardıklarını duyurdular. 2,7 milyar dolara! Fakat o gün kameralara gülümseyen bilim insanlarının yüzüne dikkatli bir şekilde bakanlar, kafalarında dönüp duran gri bulutları da görebiliyorlardı. İlerleyen yıllarda anlayacaktık ki insan genomunun çözebildiğimiz kısmı buz dağının sadece görünen kısmıydı.

Genomumuzda protein kodlayan kısımlar sadece %2'lik bir kısmı oluştuyordu. Beklenen protein sayısı, tespit edilen protein sayısından çok daha düşüktü. Protein kodlayan kısmın bu kadar büyük olabileceği akıllardan geçmiyordu. Eğer protein kodlamıyorsa, geri kalan %98 de neyin nesiydi?

İlk olarak 1960'lı yıllarda kullanılmaya başlanan "çöp DNA"nın tanımlaması, Susumo Ohno tarafından yapılmıştı. Ohno "çöp DNA"yı; genom boyunca rastgele dağılan, tekrar dizilerinden oluşan ve "bilinen fonksiyonu olmayan" DNA parçaları olarak tanımlamıştı. Uzun yıllar boyunca da bu tanımlama kabul edildi. Ne işe yaradığı anlaşılamadığı için, artık kullanılmayan evrimsel birer miras olarak değerlendirilip, biraz da hatalı bir tanımlamayla "çöp DNA" denmişti.

Giderek gelişen ve ucuzlayan DNA dizileme teknikleriyle, çöp bölgelere dair daha çok bilgi edinmeye başladık ve aslında onları fazlasıyla hafife aldığımız gerçeğiyle yüzleştik. Edindiğimiz bilgiler, DNA dizisinde değişimlere sahip olsa bile, hasta olmayabileceğimizi gösterdi. Tabii, görünürde DNA dizisinde bir değişim olmasa bile genetik bir hastalığa sahip olabileceğimizi de. Yani işin bir de genler üstü boyutu vardı: epigenetik.

Okumakta olduğunuz bu kitap, özellikle son 10 yıl içinde genomun protein kodlamayan bölgelerinin aslında ne işe yaradığını oldukça keyifli bir dille anlatıyor. Bununla birlikte, çalışma mekanizmalarında bir aksaklık söz konusu olduğunda ise hangi üzücü tablolarla karşılaşabileceğimizi de... Sadece anlayamadığımız ve bir işlevi olmadığını düşündüğümüz için “çöp” diyip geçtiğimiz bölgeler, genetiğe dair bütün bilgilerimizi değiştirirken, bu kitabı okuyarak çıkmış olduğunuz genomun karanlık maddesine doğru olan yolculuğunuzda sizlere keyfi bol anlar dileriz.

Elanur Yılmaz

Her zaman yanımda olan Abi Reynolds'a...
Ve Sheldon'a; seni tekrar görmek güzeldi.

■ Terminoloji Hakkında Notlar

Çöp DNA hakkında bir kitap yazmanın dilsel bazı zorlukları var çünkü sürekli değişen bir terim ele alınmaya çalışılıyor. Bunun altında yatan temel neden ise, yeni verilerin algılarımızı her zaman değiştirmesidir. Sonuç olarak, çöp DNA'nın bir işleve sahip olduğu anlaşılır anlaşılmaz, son derece mantıklı gelecek gerekçelerle bazı bilim insanları bunun çöp olmadığını söylediler. Ancak bu yaklaşım, genom anlayışımızın son yıllarda ne kadar radikal bir şekilde değiştiğine dair bakış açısının kaybedilmesi riskini taşıyor.

Bu bilinmezlikler yumağıyla süveter örmeye çalışmak için zaman harcamak yerine, en zor yaklaşımı benimsedim. Tıpkı ilk zamanlarda (yirminci yüzyılın ikinci yarısında) olduğu gibi, protein için kod taşımayan herhangi bir bölge, bu kitapta çöp olarak tanımlanacaktır. Dilde sadelik yanlılarının çığlıklarını şimdiden duyabiliyorum. Eğer üç farklı bilim insanına “çöp” ile ne kastettiklerini soracak olursak, yüksek olasılıkla dört farklı cevap alırız. Dolayısıyla basit bir şeyle başlamanın bize fayda sağlayacağını düşünüyorum.

Ayrıca, protein kodlayan DNA dizisini tanımlamak için de “gen” terimini kullanarak başladım. Bu tanım da kitap boyunca evrilecektir.

İlk kitabım *The Epigenetics Revolution* yayınlandıktan sonra, okuyucuların gen isimlerine yaklaşımlarında farklılıklar olduğunu fark ettim. Bazı okuyucular hangi genlerin tartışıl-

dığırı öğrenmeyi çok severken, diğerleri okuma akışını korkunç derecede bozduğunu düşünüyordu. O yüzden bu sefer metin içinde sadece kesinlikle gerekli olan yerlerde spesifik gen isimlerini kullandım. Fakat o genlerin neler olduğunu öğrenmek isteyenler için de dipnotlar ekledim. Ayrıca, alıntı yaptığım orijinal yayınları da kitabın arkasında bulabilirsiniz.

İnsan Genomunun Karanlık Maddesine Giriş

Bir metin düşünün; bir piyes, film ya da benzeri bir performans için yazılmış olsun. Herhangi birisi bu metni olduğu şekliyle ve tam anlamıyla, eline alıp okuyabilir. Öte yandan, aynı metin, belli bir duyguyu veya vurguyu üretmek adına okunursa ya da daha iyisi sahnelenirse, basit düz halinden çok daha güçlü bir ifadeye bürünür.

DNA'da da durum oldukça benzerdir. En olağanüstü metindir. Bakteriden file, bira mayasından mavi balinalara kadar tüm organizmaların sadece dört harften oluşan çok küçük bir alfabeyle yazılmış kodunu içerir. Fakat test tüpü içindeki DNA oldukça sıkıcıdır. Hiçbir iş yapmaz. DNA, bir hücre ya da organizma tarafından üretim yapmak için kullanıldığında çok daha heyecan verici bir hale gelir. DNA, proteinlerin oluşturulması için kod olarak kullanılır ve bu proteinler de nefes almak, beslenmek, atıklardan kurtulmak, üremek ve canlı organizmaları karakterize eden diğer tüm faaliyetler için hayati öneme sahiptir.

Proteinler o kadar önemlidir ki 20. yüzyılda bilim insanları onları bir genin ne ifade ettiğini tanımlamak için kullandılar. Gen, protein kodlayan DNA dizisi olarak tanımlandı.

Tarihin en ünlü metin yazarı William Shakespeare'i düşünelim. Ölümünden sonraki yüzyıllar içinde İngiliz dilinin değişmesinden dolayı Shakespeare'in yazılarına uyum sağlamak biraz zaman alabilir. Ama öyle bile olsa, şairin, sadece

aktörlerin söylemesini gerekli bulduğu kelimeleri yazdığından her zaman emin olabiliriz.

Örneğin Shakespeare aşağıdakileri yazmadı:

vjeçriugfrhbvrueşhçoerahcünçoşhvgb
utyunyheşçicühjafvurytnpemüoçp[etj
hnuvrşşşebcüeşmoipzoşçmgülüiednrc
vtycuümçpzjmoimüdcnibaşkarşvyteb
birhcuüçimokzçoükmdcifşrvjhentbub
ygdecftyşerftüunihzüçşemiuçşjiçpod
çeisimlepoşhdymrünamehnfeicvbrgy
anilsatrchguthhhhhhhgcupaizmjdpç
mjzufernngbyunechuührtgcnibileo
nytuiongdjsioniodefgüzelnionihyho
niosdreniokikiniourvjcüoiçşeopapç
şşheetşümocviknoitrkokarbiobeierr
rrrruorytnihgfişosşaküdcjdrfuhrcp
lşjkdhv mogmrfbvhncdjişemüskloşe

Bunun yerine sadece altı çizili kelimeleri yazdı:

vjeçriugfrhbvrueşhçoerahcünçoşhvgb
utyunyheşçicühjafvurytnpemüoçp[etj
hnuvrşşşebcüeşmoipzoşçmgülüiednrc
vtycuümçpzjmoimüdcnibaşkarşvyteb
birhcuüçimokzçoükmdcifşrvjhentbub
ygdecftyşerftüunihzüçşemiuçşjiçpod
çeisimlepoşhdymrünamehnfeicvbrgy
anilsatrchguthhhhhhhgcupaizmjdpç
mjzufernngbyunechuührtgcnibileo
nytuiongdjsioniodefgüzelnionihyh
oniosdreniokikiniourvjcüoiçşeopap
çşşheetşümocviknoitrkokarbiobeierr
rrrrruorytnihgfişosşaküdcjdrfuhrcp
lşjkdhv mogmrfbvhncdjişemüskloşe

Cümle budur: “Gül, başka bir isimle anılsa bile güzel kokar.”

Öte yandan, DNA metnimize bakacak olursak, Shakespeare’in satırlarında olduğu gibi mantıklı ve kompakt değildir. Bunun yerine, her protein kodlayan bölge, anlaşılmasız sözcükler denizinde akıntıya kapılmış tek bir kelime gibidir.

Bilim insanları yıllar boyunca DNA’mızın büyük kısmının neden protein kodlamadığını açıklayamadılar. Kodlama işi yapmayan bu bölgeler “çöp DNA” olarak adlandırılarak kapı dışarı edildi. Ama yavaş yavaş bu görüş, pek çok nedenden dolayı, daha az kabul görmeye başladı.

Vurgunun değişmesindeki en temel sebep, hücrelerimizin çok büyük miktarda çöp DNA içermesidir. 2001 yılında insan genomunun dizilenmesi tamamlandığında yaşanan en büyük şoklardan biri, bir insan hücresindeki DNA’nın %98’inin çöp olduğunun keşfedilmesiydi. Bu %98’lik bölge hiçbir protein kodlamıyordu. Her ne kadar yukarıda kullandığımız Shakespeare analojisi aslında bir basitleştirme olsa da, genom açısından bakıldığında, metne dönüşecek anlamsız kelimelerin oranı gösterilenden yaklaşık dört kat daha fazladır. Anlamlı kısmın her bir harfi için, çöp kısım 50’den fazla harf içerir.

Bunu zihinde canlandırmanın farklı yolları da var. Bir otomobil fabrikasını ziyaret ettiğimizi düşünelim. Örneğin, Ferrari gibi üst düzey bir arabanın fabrikasında gezelim. Parlak kırmızı bir spor araba üreten her iki kişiye karşılık, etrafta hiçbir iş yapmadan oturan 98 kişi olduğunu fark ettiğimizde, öyle sanıyorum ki hepimiz bir hayli şaşırırdık. Üstelik bu, çok da saçma olurdu. Öyleyse genomumuzda neden mantıklı olsun?

Aslına bakarsanız, evrimsel süreç boyunca artık ihtiyaç duymadığımız yapı ve organlarımızı zaman içinde kaybediyoruz. Bazı araştırmacılar ortak ataya işaret eden en güçlü kanıtların organizmadaki kusurlar ya da evrimsel kalıntılar

olduğunu ileri sürmektedir. Fakat insanların apandise gerçekten ihtiyacı olmasa bile apandisi bir kusur olarak görmek meseleyi büyütme olacaktır.*

Örneğimize geri dönecek olursak, otomobil fabrikamız için çok daha muhtemel bir senaryo, bir otomobilin montajını yapan her iki kişi için, işin devamlılığını sağlayacak 98 kişinin olması şeklinde olurdu. Finansman sağlamak, hesap tutmak, ürünün reklamını yapmak, maaşları ödemek, tuvaletleri temizlemek, arabaları satmak vs... Bu, genomumuzdaki çöp kısmın rolü için muhtemelen çok daha iyi bir model olur. Proteinleri, yaşam için gerekli son varış noktası olarak düşünebiliriz ama çöp kısım olmadan asla düzgün bir şekilde üretilmeyecek ve koordine edilmeyecektir. İki insan bir araba üretebilir, ama onu satan bir şirketin devamlılığını sağlayamazlar ve kesinlikle güçlü ve finansal olarak başarılı bir marka haline dönüştüremezler. Benzer şekilde, eğer satılacak bir malzeme yoksa 98 kişinin yerleri paspaslamasına ve teşhir salonlarında işe alınmasına da gerek yoktur. Organizasyonun tamamı sadece tüm bileşenler yerini aldığı anda çalışır.

İnsan genomunun dizilenmesinden sonra yaşanan bir diğer şok ise insan anatomisinin, fizyolojisinin, zekâsının ve davranışlarının sahip olduğu olağanüstü karmaşıklığın, klasik gen modeline dayanarak açıklanamayacağına farkına varılmasıydı. İnsanlar ile basit mikroskobik solucanlar hemen hemen aynı sayıda (yaklaşık 20.000 adet) protein kodlayan gene sahiptir.

Araştırmacılar, insanları diğer organizmalardan DNA düzeyinde ayıran farklılıklara yönelik analizlerini derinleştirdikçe, genlerin bir açıklama sağlayamayacağı ortaya çıktı. Aslında, genellikle karmaşıklıkla orantılı olan yalnızca bir

* Tıpkı genomumuzun %98'inin çöp olduğu ve hiçbir işe yaramadığı iddiası gibi, apandise ihtiyacımızın olmadığı yönündeki hipotez de geçtiğimiz yıllar içinde çürütüldü. (çev.)

genetik faktör vardı. Hayvanlar daha karmaşık hale geldikçe sayısı artan tek genomik özellik, çöp DNA bölgeleriydi. Bir organizma ne kadar gelişmişse, sahip olduğu çöp DNA yüzdesi de o kadar yüksekti. Bu sebeple de bilim insanları, çöp DNA'nın evrimsel karmaşıklığın anahtarını taşıyabileceği gibi tartışmalı bir fikri gerçekten araştırmaya başladılar.

Bazı açılardan, elde edilen veri ortaya çok açık sorular attı. Eğer çöp DNA bu kadar önemliyse, aslında tam olarak ne işe yarıyor? Eğer protein kodlamıyorsa, hücredeki rolü tam olarak ne? Çöp DNA'nın genomda kapladığı alan düşünüldüğünde, hiç de şaşırtıcı olmayan bir şekilde, aslında çok sayıda farklı fonksiyona sahip olduğu zamanla anlaşılmaya başlandı.

Bazı çöp bölgeler, DNA'mızın paketlenildiği muazzam moleküller olan kromozomlarda belirli yapılar oluşturur. Örneğin, DNA'mızın çözülmesini ve zarar görmesini önler. Bizler yaşlandıkça, bu bölgeler boyut olarak küçülür ve sonunda kritik bir seviyenin altına düşer. Bu aşamadan sonra, genetik materyalimiz hücre ölümüne veya kanserlere yol açan potansiyel olarak yıkıcı yeni düzenlemelere karşı duyarlı hale gelir. Çöp DNA'nın diğer yapısal bölgeleri, hücre bölünmesi sırasında kromozomların farklı kardeş hücrelere (ana hücrenin bölünmesiyle oluşan herhangi bir hücre) eşit olarak ayrılmasında bağlantı noktaları olarak işlev görür. Diğerleri ise, gen ifadesini kromozomların belirli bölgeleriyle sınırlayan yalıtım bölgeleri olarak işlev görür.

Ancak, çöp DNA'mızın büyük bir kısmı sadece yapısal değildir. Protein kodlamaz ama RNA adı verilen farklı bir molekül tipini kodlar. Çöp DNA'nın bu büyük sınıfı, hücrede fabrikalar oluşturur ve protein üretilmesine yardımcı olur. RNA moleküllerinin diğer tipleri ise, protein üretimi için hammaddeyi fabrika bölgelerine taşır.

Çöp DNA'nın diğer bölgeleri, virüslerin ve mikroorganizmaların genomlarından türeyen ve insan kromozomlarına

yerleşmiş genetik ara bağlantılardır. Bu bölgeler sanki uyuyan birer genetik madde gibidir. Ölüp gitmiş, artık var olmayan organizmaların bu kalıntıları hücreye, bireye ve hatta bazen daha geniş popülâsyonlara etki edebilecek potansiyel tehlikeler taşır. Memeli hücreleri, bu viral elemanları sessiz tutacak pek çok mekanizma geliştirmiştir ancak bu sistemler bozulabilir. Bozulduklarında ortaya çıkan etkiler ise örneğin belirli bir fare soyunun kürk renginin değişimi şeklinde göreceli olarak tehlikesiz olabileceği gibi, kanser riskini arttıracak kadar dramatik de olabilir.

Öte yandan, çöp DNA'nın ana rolünün gen ifadesinin düzenlenmesi olduğu son birkaç yıl içinde fark edildi. Bazen bu rol, bireyde çok büyük ve dikkat çekici bir etkiye sahip olabilir. Örneğin çöp DNA'nın belirli bir parçası, dışı hayvanlarda sağlıklı gen ifade şekillerini sağlamak için kesinlikle hayati öneme sahiptir. Etkileri de çok çeşitli durumlarda görülür. En iyi bilinen örneklerden biri, kaplumbağa kabuğu renkli kedilerin renk desenlerinin kontrolüdür. Aynı mekanizma ile açıklanabilecek en sıra dışı örnek ise, aynı genotipe sahip dışı tek yumurta ikizlerinin genetik olarak aktarılan bir hastalığa, farklı belirtiler gösterebilmeleridir. Bazı olgularda bu o kadar sıra dışı sonuçlar doğurabilir ki, ikizlerden biri hayati risk taşıyan bir bozukluktan ciddi şekilde etkilenirken, diğeri tamamen sağlıklı olabilir.

Çöp DNA'nın binlerce bölgesinin, gen ifade ağlarını düzenlediğinden şüpheleniliyor. Genetik senaryo için sahne yönetmeni gibi davranıyorlar, tıpkı tiyatrodaki asla tahmin edemediğimiz karmaşık sahneleri yöneten yönetmenler gibi.

Araştırmacılar, çöp DNA'nın geniş ağlarındaki incelikleri ve ara bağlantıları çözmeye henüz yeni başladılar. Bu, tartışmalı bir alan. Bir tarafta, deneysel kanıtların bazen kapsamlı iddiaları desteklemekte yetersiz olduğunu iddia eden bilim insanlarına sahibiz. Diğer tarafta ise, modası geçmiş bir mo-

dele hapsolmuş ve yenedünya düzenini göremeyen veya anlayamayan bilim insanı neslinin olduğunu düşünenler var.

Sorunlardan biri, çöp DNA'nın işlevlerini araştırmak için kullanabileceğimiz sistemlerin hâlâ nispeten az gelişmiş olmasıdır. Bu durum bazen araştırmacıların hipotezlerini test etmek için deneysel yaklaşımları kullanmalarını zorlaştırır. Bu konu üzerinde sadece çok kısa bir süredir çalışıyoruz. Fakat bazen ileri gitmek için, laboratuvar tezgâhından ve makinelerinden geri adım atmayı hatırlamamız gerekir. Etrafımız her gün deneylerle çevreniyor çünkü doğa ve evrim her türlü değişikliği denemek için milyarlarca yıla sahip. Kendi türümüzün ortaya çıkışını ve yayılmasını temsil eden kısa jeolojik an bile, laboratuvar önlüğü giyen bizlerin test etmeyi hayal edebileceğinden çok daha fazla sayıda deney çeşitliliği oluşturmak için yeterli bir zaman. Sonuç olarak, bu kitabın büyük çoğunluğunda insan genetiğinin meşalesini kullanarak karanlığı keşfedeceğiz.

Genomumuzun karanlık maddesine ışık tutmaya başlamanın birçok yolu var, bu yüzden hadi gelin tuhaf ama doğruluğundan şüphe edilemez bir gerçeğe başlayalım. Bazı genetik hastalıklar çöp DNA'daki mutasyonlardan kaynaklanır ve gizli genomik evrene giden yolculuğumuz için bundan daha iyi bir başlangıç noktası olamaz.



1

Karanlık Maddenin Önemi

Bazen hayat, bir ailenin başına yığıldığı sıkıntılarla bir hayli acımasız olabilir. Mesela şöyle bir senaryoyu ele alalım. Bir erkek bebek doğdu ve ailesi ona Demir ismini verdi. Doğumda garip bir şekilde gevşekti ve yardımsız nefes almakta zorlandı. Yoğun bir tıbbi bakımla, Demir hayatta kaldı ve kas tonusu düzeldi. Böylece yardımsız nefes alması ve hareket kabiliyetini geliştirmesi sağlandı. Fakat Demir bebek büyüdükçe, öğrenme güçlüğü çektiği tespit edildi ve bu durum onu hayatı boyunca etkileyecekti.

Annesi Serap, Demir'i çok sevdi ve ona her gün baktı. 30'lu yaşların ortalarına geldiğinde bu durum giderek zorlaşmaya başladı çünkü Serap'ta garip belirtiler ortaya çıkıyordu. Kasları çok sertleşti ve eşyaları tuttuktan sonra onları serbest bırakmakta zorlanmaya başladı. Seramik restorasyonu konusunda çok yetenekliydi ve bu alanda yarı zamanlı olarak çalıştığı işini bırakmak zorunda kaldı. Kasları da çok belirgin bir şekilde eriyip gitmeye başladı. Yine de başa çıkmanın yollarını bir şekilde buluyordu. Ancak, 42 yaşına geldiğinde, kalbindeki ani bir ritim bozukluğu sonucunda hayatını kaybetti. Kardiyak aritmi olarak bilinen bu durum, kalbin düzenli bir şekilde atmasını sağlayan elektrik sinyallerinin yıkıcı bir şekilde bozulmasından kaynaklanır.

Demir'in bakımını Serap'ın annesi Canan üstlendi. Bu durum onun için bir hayli zordu ama bu zorluklar sadece to-

rununun bakım zorluğu ve kızının erken ölümü yüzünden çektiği acılardan kaynaklanmıyordu. Canan'da 50'li yaşların başında katarakt oluşmaya başlamıştı ve bunun sonucu olarak da görme kabiliyeti o kadar da iyi değildi.

Öyle görünüyor ki aile, birbirinden farklı tıbbi problemlerin oldukça talihsiz bir kombinasyonundan muzdaripti. Ancak uzmanlar alışılmadık bir durum fark etmeye başladı. Ailenin sahip olduğu tıbbi hikâye (bir bireyde katarakt, kızlarındaki kas sertliği ve kardiyak aritmi, torundaki gevşek kaslar ve öğrenme güçlüğü) aslında birçok ailede görülmektedir. Bu aileler dünyanın her yerinde yaşamaktaydı ve hiçbir birleriyle ilişkili değildi.

Bilim insanları, bunun genetik bir hastalık olduğunu anladılar ve ona Miyotonik Distrofi (miyotoni, kas tonusu; distrofi ise erime anlamındadır) adını verdiler. Bu klinik bulgular, etkilenen ailenin her kuşağında görülmektedir. Ebeveynlerden biri bu bulgulara sahipse, çocuğun etkilenme ihtimali ortalama olarak yarı yarıyaydı. Erkekler ve kadınlar eşit derecede risk altındaydı ve bunu çocuklarına aktarabilirlerdi.¹

Bu kalıtım özellikleri, tek bir gendeki mutasyonların neden olduğu hastalıklar için çok tipiktir. Basit bir şekilde mutasyon, normal DNA dizisindeki bir değişikliktir. Bizler hücrelerimizde tipik olarak her genin iki kopyasına sahibiz. Bunlardan biri annemizden, diğeri ise babamızdan genetik olarak aktarılır. Miyotonik Distrofide, hastalığın her nesilde ortaya çıktığı kalıtım örüntüsüne, dominant (baskın) denir. Dominant hastalıklarda, genin iki kopyasından sadece biri mutasyonu taşır. Bu kopya, hastalıktan etkilenen ebeveyniden çocuğuna kalıtım yoluyla aktarılmaktadır. Her ne kadar hücreler genin sağlıklı bir kopyasına sahip olsalar da, bu mutasyonlu gen, hastalığa neden olabilmektedir. Mutasyona uğrayan gen, bir şekilde normal genin davranışına "baskın gelir".

Öte yandan Miyotonik Distrofi, tipik bir dominant hastalıktan oldukça farklı özelliklere de sahiptir. Örneğin, domi-

nant hastalıklar ebeveynlerden çocuğa geçtikçe giderek kötüleşmezler. Bunun olması için de hiçbir neden yoktur çünkü etkilenen çocuk, etkilenen ebeveynle aynı mutasyona sahiptir. Alışılmadık olan bir diğer noktaysa, Miyotonik Distrofiye sahip hastalarda, hastalık kuşaklar boyunca aktarılırken, belirtilerin giderek daha erken yaşlarda ortaya çıkmaya başlamasıdır.

Miyotonik Distrofiyi, normal genetik özelliklerden farklı kılan bir taraf daha vardı. Demir'i de etkileyen hastalığın doğuştan gelen ağır formu, sadece etkilenen annelerin çocuklarında bulundu. Gerçekten ağır seyreden bu form, babalardan geçmiyordu.

1990'ların başında birbirinden farklı araştırma grupları, Miyotonik Distrofiye neden olan genetik değişimi tanımladı. Alışılmadık bir şekilde seyreden hastalığa uygun olarak, mutasyon da oldukça alışılmadıktı. Miyotonik distrofi geni, birkaç kez tekrar eden küçük bir DNA dizisi içeriyordu.² Bu küçük dizi, DNA'nın genetik alfabesinde kullanılan dört "harf" in üçünden oluşuyordu. Miyotonik distrofi geninde bu tekrarlayan dizi C, T ve G harflerinden meydana geliyordu (genetik alfabedeki dördüncü harf ise A'dır).

Miyotonik distrofi mutasyonu olmayan insanlar, bu CTG motifinin birbiri ardına gelen ve beşten otuza kadar artan kopyasından herhangi birine sahip olabilir. Çocuklar, ebeveynleriyle aynı sayıda tekrar dizisini kalıtırlar. Ancak tekrar sayısı 35 veya daha üstü olduğunda, dizi biraz kararsızlaşabilir ve ebeveynlerden çocuğa geçerken tekrar sayısı değişebilir. Motifin kopya sayısı bir kez 50'nin üstüne çıktığında ise dizi gerçekten kararsız bir hale gelir. Bu durum gerçekleştiğinde, ebeveynler çocuklarına, sahip olduklarından çok daha fazla sayıda tekrar aktarabilir. Tekrar sayısı arttıkça, hastalık belirtileri daha şiddetli hale gelir ve daha erken yaşlarda görülmeye başlar. Bu yüzden de tıpkı bölümün başında değindiğimiz aile örneği gibi, hastalık nesiller boyu aktarıldıkça giderek

daha da kötüleşir. Yapılan araştırmalar sonucunda hastalığın doğuştan gelen ağır formuna yol açan gerçekten büyük sayıdaki tekrarların, genellikle yalnızca annelerden geçtiği de ayrıca netlik kazandı.

DNA'nın tekrarlayan dizisindeki bu devamlı artış, çok sıra dışı bir mutasyon mekanizmasıydı. Fakat Miyotonik Distrofiye neden olan bu artışın tanımlanması, çok daha olağandışı bir gelişmeye ışık tuttu.

DNA örgüsü

Yakın zamana kadar, gen dizilerindeki mutasyonların, DNA dizisinde yaptıkları değişikliklerden dolayı değil, sonrasında ortaya çıkan sonuçlardan dolayı önemli olduğu düşünülüyordu. Sanki biraz örgü modelinde yapılmış bir hata gibiydi. Örneğin bu hata, bir parça kâğıt üzerinde yer alan simgelerden birindeyse, o kadar da önemli olmayabilir. Ama bu hatayı örerken yapıyorsanız ve örgünüz bittiğinde süveterinizin üzerinde bir delik görüyorsanız ya da örgü modelinizdeki bir yanlışlıktan dolayı hırkanızda üç kol oluşmuşsa, bu hata, bir sorun olmaya başlar.

Bir gen (örgü modeli), en nihayetinde bir protein (süveter) kodlar. Hücrelerimizde bütün işleri yapan moleküller bu proteinlerdir ve çok fazla sayıda işlevi yerine getirirler. Bunlardan biri, kırmızı kan hücrelerimizde bulunan ve oksijeni taşıyan hemogloblin proteindir. Bir diğer protein ise, pankreastan salınan ve kas hücrelerinin glikozu almasını sağlayan insülinidir. Bunlar gibi daha binlerce protein, yaşamın temelini oluşturan baş döndürücü çeşitlilikteki işlevleri gerçekleştirir.

Proteinler, amino asitler olarak adlandırılan yapı taşlarından oluşurlar. Mutasyonlar genellikle bu amino asitlerin dizisini değiştirir. Mutasyona ve genin hangi bölgesinde meydana geldiğine bağlı olarak değişen amino asit dizisi birtakım

sonuçlara yol açabilir. Bu anormal protein, hücre içinde yanlış bir işlevi yerine getirebilir ya da hiçbir şekilde çalışmayabilir.

Ancak, miyotonik distrofi mutasyonu, amino asit dizisini değiştirmez. Mutasyona uğramış gen hâlâ tamamen aynı proteini kodlar. Proteinde hiçbir yanlışlık yokken mutasyonun bir hastalığa nasıl yol açtığını anlamak inanılmaz derecede zordur.

Biyolojik durumların çeşitliliği düşünüldüğünde, uç bir örnek sergilemesinden dolayı miyotonik distrofi mutasyonunu göz ardı etmek cazip gelebilir. Ama bu tip mutasyonların tek örneği, miyotonik distrofi mutasyonu değil.

Frajil X Sendromu, kalıtsal öğrenme bozukluğunun en yaygın şeklidir. Anneler genellikle hiçbir hastalık belirtisi göstermez ancak hastalığı erkek çocuklarına aktarırlar. Anneler mutasyonu taşırlar fakat ondan etkilenmezler. Miyotonik Distrofideki gibi, bu hastalığa da üç harfli bir dizinin uzunluğundaki artışlar neden olur. Buradaki ilgili harf dizisi CCG'dir ve tıpkı Miyotonik Distrofide olduğu gibi, bu dizideki artış Frajil X geni tarafından kodlanan proteinin dizisini değiştirmez.

Friedreich Ataksisi, belirtilerinin normalde geç çocukluk veya erken ergenlik döneminde ortaya çıktığı ilerleyen bir kas zayıflığı formudur. Miyotonik Distrofinin aksine, ebeveynler hastalıktan genellikle etkilenmezler. Hem anne hem de baba taşıyıcıdır, yani her ebeveyn, ilgili genin bir normal bir de anormal kopyasına sahiptir. Ancak çocuk her iki ebeveyninden de mutasyon taşıyan kopyayı alırsa, hastalığı geliştirir. Friedreich Ataksisi de üç harfli bir dizideki artıştan kaynaklanır ve bu harfler GAA'dır. Tıpkı diğerlerinde olduğu gibi, buradaki artış da ilgili gen tarafından kodlanan proteinin dizisini değiştirmez.³

Aile hikâyeleri, belirtileri ve kalıtım şekilleri düşünüldüğünde, bu üç genetik hastalık birbirinden çok farklı olması-

na rağmen, bilim insanlarına oldukça tutarlı bir mesaj verdi: proteinlerin amino asit dizisini değiştirmeden hastalığa yol açabilecek mutasyonlar vardır.

İmkânsız bir hastalık

Bunlardan birkaç yıl sonra daha da şaşırtıcı bir keşif yapıldı. Yüzdeki, omuzlardaki ve üst kollardaki kasların giderek zayıfladığı ve bozulmaya başladığı başka bir kalıtsal hastalık vardı. Belirtilerin olduğu bölgelerden dolayı hastalık, Fasiyoskapulohumeral Musküler Distrofi olarak adlandırıldı ve pek de şaşırtıcı olmayan bir şekilde FSHD olarak kısaltıldı. Belirtiler genellikle hastalar 20'li yaşların başındayken tespit edilebilir. Miyotonik Distrofide olduğu gibi hastalık dominanttır ve etkilenen ebeveyninden çocuğuna geçer.⁴

Bilim insanları FSHD'ye neden olan mutasyonu bulabilmek için yıllarını harcadılar ve sonunda tekrarlanan bir DNA dizisine kadar izini sürdüler. Ancak bu sefer mutasyon; Miyotonik Distrofide, Frajil X Sendromunda ve Friedreich Ataksisinde olduğu gibi üç harfli tekrarlardan oldukça farklıydı. Mutasyonun ortaya çıktığı DNA dizisi, 3000'den fazla harften oluşuyordu. Bunu bir blok olarak tanımlayalım. FSHD'den etkilenmeyen insanlarda, arka arkaya on birden yaklaşık 100'e kadar artan bloklar vardır. FSHD'li hastalarda ise bu blokların sayısı en fazla on tanedir. Bu, beklenmedik bir bulguydu ama daha da şaşırtıcı olan sonuç, araştırmacıların, mutasyona yakın bir gen bulmak için gerçekten mücadele etmeleriyle ortaya çıktı.

Genetik hastalıklar bize, son yüz yılı aşkın süre boyunca biyolojiyle ilgili yeni bilgiler verdi. Bu bilgilerin bir kısmının ne kadar zor kazanıldığını unutup, hafife almak son derece kolaydır. Burada anlatılan mutasyonların tanımlanması, onlarca yıl süren çalışmalar sonucunda gerçekleşmiştir. Mutasyonları taşıyan insanların sayısı hiç de az değildir ve bu çalışmalar,

onlar sayesinde gerçekleşmiştir. Hastalıkların genetik olarak araştırılmasına yönelik çalışmalar, DNA'larını analiz edebilmek için hastaların ve aile bireylerinin bilim insanlarına kan örneklerini vermeye gönüllü olmasına tamamen bağımlıdır. Kısacası, elde edilen tüm bu sonuçlara, gönüllü aileler sayesinde ulaşılabilmektedir.

Bu tür bir analizin bu kadar zor olmasının nedeni, araştırmacıların çok geniş bir alandaki çok küçük bir değişikliği aramasından kaynaklanır ve bu, samanlıkta iğne aramaktan farksızdır. Öte yandan, insan genom dizisinin yani hücrelerimizdeki DNA dizisinin tamamının yayınlandığı 2001 ve sonrasında bunların hepsi, çok daha kolay hale geldi.

İnsan Genom Projesi sayesinde, tüm genlerin birbirlerine göre nerede konumlandıklarını ve dizilerini biliyoruz. DNA dizilemede kullanılan teknolojilerdeki muazzam gelişmelerle birlikte bu bilgi, çok nadir görülen genetik hastalıkların bile altında yatan mutasyonları bulmayı çok daha hızlı ve ucuz hale getirmiştir.

Ancak insan genom dizisinin tamamlanması, hastalıklara neden olan mutasyonların tanımlanmasının çok ötesinde bir etkiye sahip olmuştur. DNA'nın genetik materyalimiz olduğunu anladığımız ilk andan bu zamana kadar biyolojide egemen olan en temel fikirlerimizden bazıları hakkındaki düşüncelerimizin çoğunu değiştiriyordu.

Hücrelerimizin nasıl çalıştığını düşünürsek, son altmış yılda neredeyse her bilim insanı proteinlerin etkilerine odaklanmıştı. Ancak insan genomunun dizilenmesiyle birlikte, bilim insanları oldukça kafa karıştırıcı bir ikilemle yüzleşmek zorunda kaldılar. Eğer proteinler bu kadar önemliyse, DNA'mızın neden sadece %2'si proteinlerin yapı taşları olan amino asitleri kodlamaya ayrılmıştır? Peki ya diğer %98'lik kısım ne yapmaktadır?



2

Karanlık Madde İyice Karardığında

Genomun protein kodlamayan kısmının şaşırtıcı oranı bir çok etkisi yarattı ama asıl şaşırtıcı olan fenomenin kendisi değil, ölçeğiydi. Bilim insanları protein kodlamayan DNA dizilerinin olduğunu zaten yıllardır biliyorlardı. Aslında bu, DNA'nın yapısının ortaya çıkmasından sonraki ilk büyük sürprizlerden biriydi. Ancak neredeyse hiç kimse bu bölgele-
rin ne kadar önemli olabileceğini ya da belirli genetik hasta-
lıklar için açıklama sağlayabileceğini tahmin edemedi.

Bu noktada, genomumuzun yapı taşlarına biraz daha ya-
kından bakalım. DNA bir alfabedir ve aslında alfabelerin en
basitidir diyebiliriz. Sadece dört harften oluşur: A, C, G ve
T. Bunlar aynı zamanda bazlar olarak da bilinir. Öte yandan,
hücrelerimiz çok fazla DNA içerdiği için, bu basit alfabe ina-
nılmaz miktarda bilgi taşır. İnsanlar, genetik kodlarını oluş-
turmak için annelerinden ve babalarından üçer milyar baz
kalıt alırlar. DNA'yı bir merdiven olarak hayal edin; her baz
bir basamağı temsil etsin ve basamaklar arasındaki mesafe ise
25 cm olsun. Bu merdivenin toplam uzunluğu 75 milyon ki-
lometre olacaktı ki bu da kabaca Dünya ile Mars arasındaki
mesafedir (elbette bu mesafe yörüngelerin göreceli konumları-
na göre değişir).

Başka şekilde düşünelim. Shakespeare'in tüm eserlerinin
3.695.990 harf içerdiği bildiriliyor.¹ Bu da annemizden ve ba-
bamızdan eşit sayıda olmak üzere, şairin 811'den fazla kita-

bına denk gelen miktarda bilgiyi kalıt alıyoruz demektir. Bu, çok büyük miktarda bilgidir.

Alfabetik benzetmemizi biraz daha genişletirsek, DNA alfabesi, her biri sadece üç harften oluşan kelimeleri kodlar. Her üç harfli kelime, proteinlerin yapı taşları olan belirli bir amino asit için atanmıştır. Bir geni, üç harfli kelimelerden oluşan bir cümle olarak düşünersek, bu cümledeki her üç harfli kelime, proteini oluşturacak olan amino asit dizisinin kodlarıdır. Bu, Şekil 2.1’de özetlenmiştir.

Genellikle hücreler, sahip olduğu herhangi bir genin iki kopyasını içerir. Bunlarda biri anneden, diğeri ise babadan kalıt alınır. Ancak her ne kadar bir hücrede her genden sadece iki kopya olsa da, aynı hücre belirli bir gen tarafından kodlanan binlerce protein molekülü oluşturabilir.

Bunun nedeni ise, gen ifadesine yerleşik iki çoğaltma (amplifikasyon) mekanizması olmasıdır. DNA’daki baz dizisi, protein için doğrudan kalıp olarak işlev görmez. Bunun yerine hücre, genin kopyalarını yapar. Bu kopyalar, DNA’nın kendisine çok benzer ama tıpatıp aynısı değildir. Biraz farklı bir kimyasal bileşime sahiptirler ve RNA (ribonükleik asit) olarak bilinirler (DNA = deoksiribonükleik asit). RNA’daki bir diğer farklılık ise, T bazının yerini U bazının almış olmasıdır. DNA, baz çiftleriyle bir araya getirilen iki zincirden oluşur. Bunu sanki bir demiryolu gibi hayalimizde canlandırabiliriz. Bu iki ray, bir baz bir rayda diğer baz da karşı rayda olacak şekilde, sanki bazlar el ele tutuşuyormuş gibi bir arada tutulur. Bazlar, sadece belirli bir modelde bağlanırlar. T, A ile el ele tutuşur ve C de G ile. Bu düzenden dolayı da DNA’yı baz çiftleri cinsinden ifade ederiz. RNA ise tek zincirli bir moleküldür, sadece bir rayı vardır. DNA ve RNA arasındaki temel farklılıklar Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Bir hücre, genin DNA dizisinden çok hızlı bir şekilde binlerce RNA kopyası yapabilir ve bu da gen ifadesindeki çoğaltmanın ilk basamağıdır.

HEPİYİBİRSESDUY

← Gen



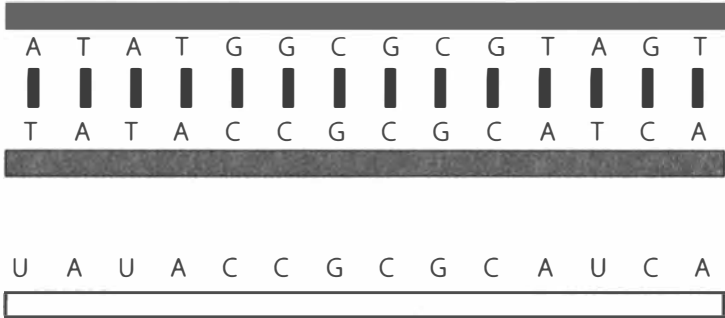
MÜZİK



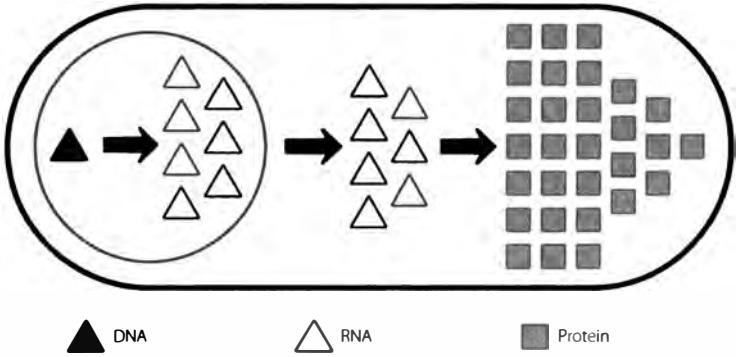
• Protein

Şekil 2.1. Gen ve protein arasındaki ilişki. Gendeki her üç harfli dizi, proteinlerin yapı taşları için kod taşır.

Bir genin RNA kopyaları, DNA'dan uzakta, hücrenin başka bir kısmı olan sitoplazmaya taşınır. Hücrenin bu farklı bölgesinde RNA molekülleri, proteini oluşturan amino asitler için kalıp görevi görür. Şekil 2.3'te de gösterildiği gibi her RNA molekülü, birçok kez kalıp olarak kullanılabilir ve bu da gen ifadesindeki ikinci çoğaltma basamağını oluşturur.



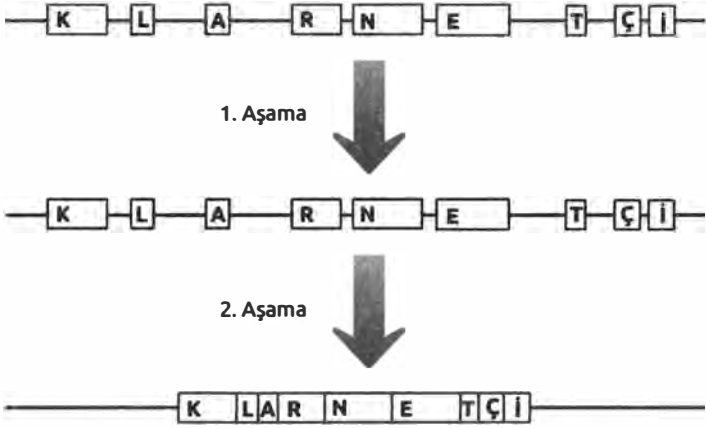
Şekil 2.2. Üstteki panel, çift zincirli DNA'yı temsil eder. Bazlar (A, C, G ve T) birbirleriyle eşleşerek iki zinciri bir arada tutar. A her zaman T ile ve C de her zaman G ile eşleşir. Altındaki dizi ise tek zincirli RNA'yı temsil eder. Farklı bir renklendirmeye de gösterildiği gibi, RNA zincirinin omurgası DNA'dan biraz farklı bir yapıya sahiptir. RNA'da T bazı, U bazı ile yer değiştirmiştir.



Şekil 2.3. Çekirdeğin içinde tek bir genin DNA dizisi, bir mesajcı RNA molekülünün çok sayıda kopyalarını oluşturmak için şablon olarak kullanılır. Oluşturulan çoklu RNA molekülleri çekirdeğin dışına taşınır. Daha sonra her biri, bir proteinin üretiminde kullanılacak bilgi için kalıp olarak kullanılabilir. Her bir mesajcı RNA molekülünden aynı proteinin çok sayıda kopyası üretilebilir. Dolayısıyla bir DNA kodundan protein üretimine giden yolda iki çoğaltma basamağı vardır. Buradaki görselde, hücrede meydana gelen işleme basitçe yaklaşabilmek için, genin sadece bir kopyası gösterilmiştir. Ancak genellikle her bir ebeveyninden birer tane olmak üzere iki kopya kalıt alırız.

Bunu, 1. Bölüm’de anlatılan örgü modeli benzetmesiyle gözümüzde canlandırabiliriz. Genin DNA dizisi, orijinal örgü modelimizdir. Bu modelin birden fazla kopyasını yapabiliriz ve bunu RNA üretimine benzetebiliriz. Tıpkı proteinin oluşturulması gibi, RNA kopyalarını da, her biri aynı modeli pek çok kez örebilen birçok kişiye gönderebiliriz. Basit ama etkili bir işletim modelidir. Örneğin böyle bir sistem, savaş sırasında çok sayıda askerin ayaklarının sıcak kalmasını sağladı. Nasıl olduğuna birazdan tekrar değineceğim.

RNA molekülü, DNA’dan protein üretme fabrikasına gen dizisi taşıyan mesajcı molekül olarak davranır. Tam da bu sebeple, oldukça makul bir gerekçeyle, mesajcı RNA olarak bilinir.

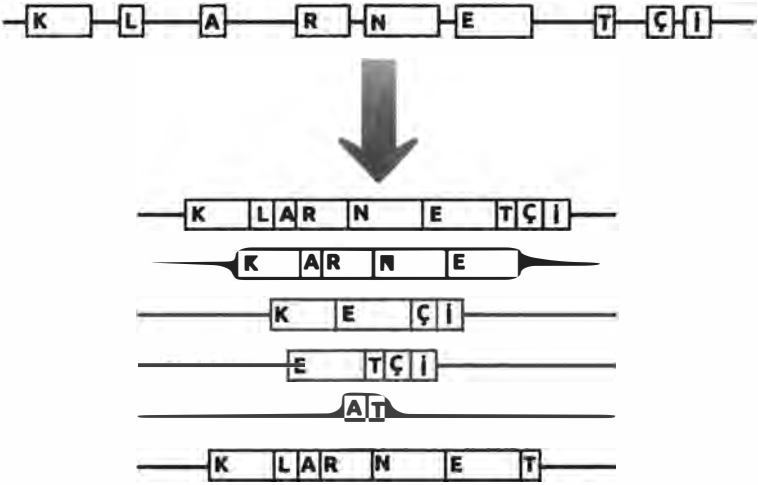


Şekil 2.4. Görseldeki her bir kutuda yer alan harf, amino asit kodlayan bölgeleri (ekzonları) temsil etmektedir. Birinci aşamada DNA, RNA'ya kopyalanır. İkinci aşamada ise RNA işlenerek, sadece amino asit kodlayan bölgeler bir araya getirilir. Araya giren çöp bölgeler, olgun mesajcı RNA'lardan uzaklaştırılır.

Anlamsızların çıkartılması

Şu ana dek işler çok basit görünebilir, ancak kısa bir süre önce bilim insanları garip bir karmaşa olduğunu keşfetti. Çoğu gen, bir proteini oluşturacak amino asitleri kodlayan parçalarla birlikte, amino asit kodlamayan ara parçalar da içeriyordu. Anlamlı sözler dizisinin ortasında yer alan bu parçalar, anlaşılması zor olan bürokrasi dili gibi değildi. Anlamı olmayan bu ara parçalar, intronlar olarak adlandırıldı.

Hücre, RNA üretirken, amino asit kodlamayacak kısımlar da dahil olmak üzere, bir gendeki tüm DNA harflerini aslında uygun olarak kopyalar, ama sonra, protein kodlamayan bütün parçaları çıkartır ve böylece son şeklini alan mesajcı RNA, üretilecek nihai protein için iyi bir talimatname haline gelir. Kodlanmayan kısımların çıkartılıp geri kalan kısımların birleştirilmesi işlemi, uçbirleştirme (splays yapma, splicing) olarak bilinir (Şekil 2.4).



Şekil 2.5. Bir RNA molekülü farklı şekillerde işlenebilir ve sonuçta amino asit kodlayan farklı bölgeler birleştirilebilir. Bu işlem, başlangıçtaki bir DNA'dan, bir protein molekülünün farklı versiyonlarının üretilmesine imkân sağlar.

Şekil 2.4'te şematik olarak gösterildiği gibi bir protein, modüler bilgi bloklarından kodlanır. Bu modülerlik hücreye, RNA'yı nasıl işleyeceği konusunda çok fazla esneklik sağlar. Bağlantılı olan modülleri mesajcı RNA molekülünü oluşturmak için bir araya getirebileceği gibi, modülleri çeşitlendirerek, birbirine benzeyen ama aynı olmayan proteinler için kod taşıyan bir dizi nihai mesajcı yaratabilir. Bunun nasıl olduğu ise Şekil 2.5'te gösterilmiştir.

Bir genin amino asit kodlayacak dizilerinin arasındaki bu anlaşılması zor diziler başlangıçta anlamsız veya ıvır zıvır olarak değerlendirildi. Bu yüzden de çöp DNA olarak adlandırıldı ve büyük ölçüde alakasız olduğu düşünülerek gözden çıkarıldı. Daha önce de belirtildiği gibi, bu andan itibaren, protein kodlamayan herhangi bir DNA'yı belirtmek için "çöp" terimini kullanacağız.

Ama artık onların çok büyük bir etkisi olabileceğini biliyoruz. 1. Bölüm’de bahsettiğimiz Friedreich Ataksisinde hastalık, amino asit kodlayan iki bölüm arasındaki çöp bölgelerden birindeki GAA tekrar dizisinin anormal şekilde uzamasından kaynaklanmaktaydı. Bu da kusursuz derecede mantıklı bir soruyu gündeme getirdi: eğer mutasyon amino asit dizisine etki etmiyorsa, neden bu mutasyona sahip insanlar bu denli elden ayaktan düşüren belirtiler geliştiriyorlar?

Friedreich Ataksisi genindeki mutasyon, ilk iki amino asit kodlayan bölge arasındaki çöp kısımda meydana gelir. Şekil 2.5’te bu kısım, “K” ve “L” bölgeleri arasına denk gelir. Normal bir gen, beşten 30’a kadar artabilen sayıda GAA tekrarı içerirken, mutasyonlu gen 70’ten 1000’e kadar tekrarlayan GAA motifi içerir.² Araştırmacılar, hücreler bu uzamış tekrarı içerdiğinde, gen tarafından kodlanan mesajcı RNA’nın üretiminin durduğunu gösterdiler. Mesajcı RNA üretilemediğinde, protein de üretilmemekteydi. Eğer örgü modelinin kopyalarını göndermezseniz, askerler çoraplarını alamazlar.

Aslında hücreler, genin uzun, işlenmemiş RNA kopyasını bile yapmadılar.³ Uzun GAA dizisi, DNA’nın iyi bir şekilde kopyalanmasını önleyen “yapışkan” bir bölge olarak işlev görür. Bu da tıpkı, dörtten on ikiye kadar olan sayfaların birbirine yapıştığı 50 sayfalık bir belgenin fotokopisini çekmeye benzer. Fotokopi makinesine kâğıtlar düzgün bir şekilde giremez ve o belge için işlem, durma noktasına gelir. Friedreich Ataksisi genindeki durumda da, kopyalamanın olmaması RNA’nın ve dolayısıyla da proteinin olmaması demektir.

Friedreich Ataksisi geni tarafından kodlanan proteinin eksikliğinde hastalık belirtilerine neyin sebep olduğu tam olarak belli değil. Protein, hücrenin enerji üreten kısımlarında aşırı demir yüklenmesinin önlenmesinde rol oynuyor gibi görünüyor.⁴ Bir hücre bu proteini üretilmediğinde, demir toksik seviyelere yükselir. Anlaşılan o ki bazı hücre tipleri, demir

seviyelerine diğer hücrelerden daha duyarlı ve bu duyarlı hücreler de hastalıktan etkilenenleri içeriyor.

Benzer ama farklı bir mekanizmayla işleyen bir diğer hastalık ise, 1. Bölüm’de öğrenme bozukluğunun bir formu olarak değindiğimiz Frajil X Sendromudur. Bu sendromda mutasyon, CCG üçlü baz tekrarının uzamasıdır. Friedreich Ataksisi mutasyonuna benzer şekilde, normal bir kromozomda, tekrarın genellikle 15’ten 65’e kadar artan sayıda kopyası bulunur. Frajil X mutasyonu taşıyan bir kromozomda ise, yaklaşık olarak 200 ila birkaç bin kadar kopya bulunabilir.^{5,6} Ancak Friedreich Ataksisine kıyasla Frajil X’te tekrar artışı genin farklı bir kısmında görülmektedir. Mutasyon, amino asit kodlayan ilk bölgenin önünde oluşur. Yani, Şekil 2.5’teki “D” bloğunun solundaki çöp kısımdadır. Çöp kısımdaki tekrar sayısı çok fazla artığında, mesajcı RNA üretilemez ve sonuç olarak da bu genden hiçbir protein üretilmez.⁷

Frajil X proteininin işlevi, hücre içinde birçok farklı RNA molekülü taşımaktır. Bu taşınım, RNA’ları doğru bölgelere götürür ve onların nasıl işleneceğiyle birlikte nasıl protein üreteceklerine de etki eder. Frajil X proteini yoksa, diğer RNA molekülleri uygun şekilde düzenlenemez ve bu da hücrenin normal işleyişini altüst eder.⁸ Nedenleri açık olmasa da, beyindeki nöronlar bu etkiye özellikle hassas görünüyor ve böylelikle bu hastalıkta öğrenme bozukluğu gelişiyor.

Günlük hayatta karşılaşılabileceğimiz bazı örnekler, bunun hayal edilebilmesi için bize yardımcı olabilir. Ülkemizdeki bazı bölgelerde, görece olarak az miktarda yağan kar, o bölgeye ulaşımı engelleyebilir. Kar, kara ve tren yollarını kaplayarak, arabaların ve trenlerin hareket etmesini önleyebilir. Böyle bir durum olduğunda, insanlar iş yerlerine ulaşamazlar ve bu da her türlü sorunu yaratır. Okullar tatil edilir, teslimatlar yapılamaz, bankalar işlemlerini gerçekleştiremez, vs. Kar yağışı, o bölgedeki ulaşım sistemlerini mahvettiği için istenmeyen birçok sonucu doğurur. Frajil X Sendromunda da

benzer bir durum söz konusudur. Tıpkı kara ve tren yollarındaki kar gibi, mutasyonun etkisi hücredeki taşıma sistemini zincirleme bir etkiyle karıştırır.

Hem Frajil X Sendromunda hem de Friedreich Ataksisinde görülen patolojideki temel basamak, spesifik bir genin ifadesinin durdurulmasıdır. Her iki hastalık için de bu hipoteze destek, klinikte çok nadir görülen hastalarla sağlanmıştır. Çöp bölgelerdeki tekrar sayısının, sağlıklı insanlarda bulunan tekrar sayısı ile aynı olduğu hasta sayısı çok azdır. Bu hastalarda, amino asit kodlayan bölgelerdeki diziyi değiştiren mutasyonlar vardır. Amino asit dizisindeki bu belirli değişiklikler, aslında hücrenin protein üretmesini imkânsız kılar. Başka bir deyişle, proteinin neden ifade edilmediği önemli değildir. Eğer ifade edilmezse, hastalar hastalık belirtilerine sahip olur.

İyi bir teoriye sahip olduğunuz an

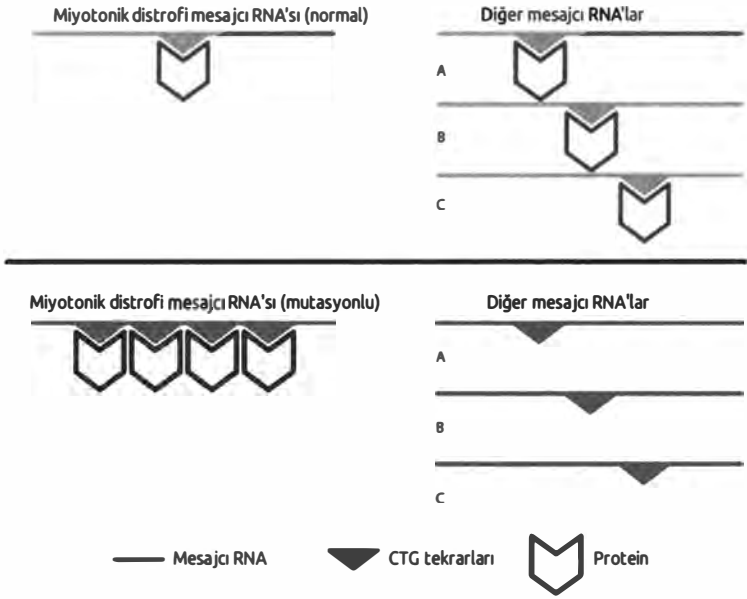
Şimdiye dek anlatılanlar, güzel ve basit bir konuyla karşı karşıya olduğumuz izlenimini uyandırabilir. Çöp bölgelerdeki zamanın sadece anormal bir DNA yaratılmasından dolayı önemli olduklarına dair bir varsayımda bulunabiliriz. Bu DNA, hücreler tarafından düzgün bir şekilde işlenmez ve bu da belirgin önemli proteinlerin eksikliği ile sonuçlanır. Normal olarak, bu çöp bölgelerin önemsiz olduğunu ve hücrede anlamlı bir rolü olmadığını söyleyebiliriz. Ancak bu yoruma aykırı düşen bir detay var: Hem Frajil X hem de Friedreich Ataksisi genlerindeki tekrarların normal sınırlardaki aralığı, tüm insan popülasyonlarında bulunur ve insan evrimi boyunca korunmuştur. Eğer bu bölgeler saçma sapan olsaydı, zaman içinde rastgele değişmelerini beklerdik, ama değişmediler. Bu da normal tekrarların bazı işlevlere sahip olduğunu göstermektedir.

Ancak bu genetik istiridye içindeki asıl kum tanesi, 1. Bölüm'ün başında ele aldığımız hastalık olan Miyotonik Distrofiden gelir. Miyotonik Distrofideki tekrar artışı, nesiller

boyu giderek uzar. Bir ebeveynin kromozomu, art arda 100 kez tekrarlanan CTG dizisini içerebilir ama bunu çocuğuna aktardığında, bu dizi daha da uzayabilir ve böylece çocuğun kromozomu, 500 kez tekrarlayan CTG dizisine sahip olabilir. CTG tekrarlarının sayısı arttıkça, hastalık giderek şiddetlenir. Eğer tekrar dizisinin uzaması sadece yakındaki geni kapatıyorsa, tekrar sayısının nesilden nesile artması beklediğimiz bir durum değildir. Miyotonik Distrofi olan bir kişinin bütün hücreleri genin iki kopyasını içerir. Bunlardan biri normal tekrar sayısını taşıırken, diğeri artmış sayıdaki tekrar taşır. Bu yüzden genin bir kopyası, her zaman normal miktarda protein ürettiği olmalıdır. Bu da, bütün protein seviyesindeki düşüşün %50 olması demektir.

Tekrarların sayısı arttıkça, genin mutant versiyonunda, gen ifadesinin giderek daha az olması gerektiğini varsayabiliriz. Bu durum, üretilen toplam protein miktarında kademeli bir düşüşe yol açabilir. Örneğin az sayıda tekrar için %1'lik bir düşüş ile çok sayıda tekrar için %50'ye ulaşan düşüş arasındaki bir aralıkta üretilen protein miktarı değişebilir. Bu da, farklı hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasını sağlayabilir. Sorun, bunun gibi kalıtsal herhangi bir genetik hastalığın bulunmamasıdır. Gen ifadesindeki çok küçük değişikliklerin bu kadar büyük etkiye sahip olduğunu (tekrar sayısı artan her hastada belirtilerin görüldüğü), hastalar arasındaki çok küçük farklılıklar hariç (tekrar sayısı uzadıkça hastalık belirtilerinin daha da şiddetlenmesi) neredeyse görmüyoruz.

Gelin, Miyotonik Distrofi geninde uzamanın nerede gerçekleştiğine bakalım. Mutasyon, amino asit kodlayan son bölgeden sonraki en sağ tarafta oluşuyor. Yani, Şekil 2.5'te gösterilen "I" kutusunun sağ tarafındaki yatay çizgi üzerine denk geliyor. Bu da, kopyalama makinesi uzayan tekrar sayısı ile karşılaşmadan önce tüm amino asit kodlayan bölgelerin, RNA'ya kopyalanabileceği anlamına geliyor.



Şekil 2.6. Üstteki görsel, normal durumu göstermektedir. Belirli proteinler, miyotonik distrofi mesajcı RNA'sındaki CTG tekrar bölgelerine bağlanır. Diğer mesajcı RNA'lara bağlanarak onları düzenleyen bir dizi protein molekülü vardır. Aşağıda yer alan görselde ise CTG dizisi, mutasyona uğramış miyotonik distrofi mesajcı RNA'sında birçok kez tekrar eder. Artan tekrar sayısı, spesifik proteinleri kendisine çeker ve diğer mesajcı RNA'ları düzenlemek için yeterli miktarda protein kalmaz. Net bir şekilde anlaşılabilmesi için burada sadece az sayıda tekrar görselleştirilmiştir. Ağır etkilenen hastalarda bu sayı binlere ulaşabilir.

Bu hastalık için, uzamanın da RNA'ya kopyalandığı gün gibi ortada ve anlaşılan o ki bu bölge, mesajcı RNA'yı oluşturacak uzun RNA'nın işlenmesinde bile korunuyor. Bu durumda, miyotonik distrofi mesajcı RNA'sının olağandışı bir iş yapıyor olması gerekir. Aslında yaptığı tam olarak, hücrede bulunan birçok protein molekülüne bağlanmaktır. Uzama arttıkça, bağlanan protein molekülleri de artar. Mutant miyotonik distrofi mesajcı RNA'sı, adeta bir sünger gibi davranır.

rak ortamdaki proteinlerin çoğunu kendine çeker. Miyotonik distrofi mesajcı RNA'sındaki uzayan tekrarlarla bağlanan proteinler, normalde birçok başka mesajcı RNA molekülünün düzenlenmesine katılırlar. Ayrıca, mesajcı RNA'nın hücre içine ne kadar iyi taşındığını, hücrede mesajcı RNA'nın ne kadar süre hayatta kalacağını ve proteinleri ne kadar etkili kodlayacaklarını da etkilerler. Ancak, miyotonik distrofi geni mesajcı RNA'sı tarafından tüm bu düzenleyiciler ortamdan çekilirse, Şekil 2.6'da gösterildiği gibi normal işlevlerini yerine getiremezler.⁹

Yine bir benzetme, durumu daha iyi anlamamız için bize yardımcı olabilir. Bir şehir düşünelim. Bu şehirdeki tüm polisler, tek bir bölgede çıkan isyanı kontrol etmekle görevlendirilmiş olsun. Rutin polislik işleri için hiçbir memur kalmayınca, soyguncular ve araba hırsızları şehrin başka bir yerinde kontrolsüz bir şekilde cirit atabilirler. Miyotonik distrofi mutasyonu olan kişilerin hücrelerinde de aynı olay meydana gelir. Sonuç olarak, tek bir gendeki –miyotonik distrofi genindeki– CTG tekrar sayısının artması, hücrede çok sayıda başka genin yanlış düzenlenmesine yol açar.

Tekrar sayısı arttıkça, diziye bağlanan protein sayısı da artar. Böylece, daha fazla sayıda diğer mesajcı RNA'lar bu durumdan etkilenmeye başlayarak işlevlerini göremez hale gelirler ve bu da hücresel fonksiyon bozukluklarının artmasına neden olur. Bu da, miyotonik distrofi mutasyonu taşıyan hastalardaki belirtilerin çok çeşitli olmasıyla sonuçlanır ve neden daha uzun diziye sahip olan hastaların en ciddi klinik problemlere sahip olduğunu açıklar.

Friedreich Ataksisi ve Frajil X Sendromunda da gördüğümüz gibi, miyotonik distrofi genindeki normal CTG tekrar dizileri insan evriminde büyük ölçüde korunmuştur. Bu sonuç da, büyük ve önemli bir işlevsel role sahip olmalarıyla tutarlıdır. Mesajcı RNA'daki tekrarlarla bağlanan proteinlerden

dolayı miyotonik distrofi geni için hastalığın şekilde ortaya çıktığına artık daha da ikna olduk. Bu proteinler, normal genlerde mevcut olan daha kısa uzunluktaki tekrarlar da bağlanır. Aradaki fark, tekrar sayısı uzadığındaki kadar çok sayıda bağlanmamalarıdır.

Miyotonik Distrofi örneğinden de açıkça anlaşıldığı üzere, mesajcı RNA moleküllerinin protein kodlamayan bölgeler içermesinin bir nedeni vardır. Bu bölgeler, mesajcı RNA'ların hücreler tarafından nasıl kullanıldığını düzenlemek için kritik öneme sahip olmanın yanı sıra, bir genden üretilecek olan protein miktarının hassas bir şekilde ayarlanmasını sağlayan başka bir kontrol seviyesi de oluşturur. Öte yandan, miyotonik distrofi mutasyonu insan genom dizisinin çıkarılmasından neredeyse on yıl kadar önce tanımlandığında herkesin gözden kaçırdığı nokta, bu ince ayarın ne kadar olağanüstü derecede karmaşık ve değişken olduğuydu.



3

Bütün Genler Nereye Gitti?

26 Haziran 2000’de, insan genomunun ilk taslak dizisinin tamamlandığı açıklandı. 2001 yılının Şubat ayında, bu taslak diziyi ayrıntılı olarak tanımlayan ilk makaleler yayınlandı. Yıllarca süren çalışmaların ve teknolojik ilerlemelerin doruk noktasıydı ve küçük bir rekabetten çok daha fazlasıydı. ABD’deki Ulusal Sağlık Enstitüleri ve İngiltere’deki Wellcome Trust şirketi, araştırmayı finanse etmek için gereken yaklaşık 2,7 milyar dolarlık¹ bütçenin büyük kısmını karşılamıştı. Proje, uluslararası bir işbirliğiyle gerçekleştirildiği için, bulguları ayrıntılarıyla gösteren makalelerin ilki, dünya çapında 20’den fazla laboratuvarında çalışan 2500’den fazla yazarı içeriyordu. Dizilemenin büyük kısmı, dördü ABD’de ve biri de İngiltere’de olmak üzere toplam beş laboratuvar tarafından gerçekleştirildi. Eş zamanlı olarak, Celera Genomics adlı özel bir şirket, insan genomunu dizilemeye ve ticarileştirmeye çalışıyordu. Ancak, kamu tarafından finanse edilen konsorsiyum, insan genom dizisinin kamu alanına girmesini, veriler oluşturulduktan hemen sonra onları günlük olarak yayınlarak sağlayabildi.²

İnsan genom dizisinin taslağının tamamlandığı ilan edildiğinde, çok büyük bir heyecan da beraberinde geldi. Belki de en gösterişli açıklama, “Bugün Tanrı’nın yaşamı yarattığı dili öğreniyoruz,” diyen ABD Başkanı Bill Clinton’dan geldi.³ Projede bu kadar büyük bir rol oynamış bazı bilim insanları-

nın, teknolojik bir zafer anında Tanrı'dan söz eden bir politikacıya olan içsel duyguları hakkında sadece spekülasyonlar yapabiliriz. Neyse ki araştırmacılar, özellikle ünlüler ve TV kameraları ile karşı karşıya kaldıklarında fazlasıyla utangaç olma eğilimindedirler.

Michael Dexter, İnsan Genomu Projesi'ne muazzam miktarda para harcayan Wellcome Trust şirketinin direktörüydü. Her ne kadar Tanrı'yı işin içine daha az karıştırma eğiliminde olsa da, taslak dizinin tanımlanmasını "Sadece yaşamımız için değil, insanlık tarihi açısından da göze çarpan bir başarı" olarak tarif ettiğinde, o da daha az abartıyor sayılmazdı.⁴

Ateşi, tekerleği, sıfır sayısını, alfabeyi ve hatta listenizdeki diğer tarihi gelişmeleri birden bire hatırlamış olabilirsiniz. Bu yüzden de belki başka keşiflerin, İnsan Genom Projesi'nin etkisi açısından ona para kazanma şansı verdiğini düşünmekte yalnız olmayabilirsiniz. İnsan genomunun çözülmesinin bize insan hastalıklarına çok çabuk etki edecek araçlar sunacağı iddialarının henüz gerçekleşmediği de ileri sürülebilir. Örneğin, o zamanki İngiltere Bilim Bakanı David Sainsbury, "Artık tıptan beklediğimiz bütün tedavileri başarma olanağına sahibiz," demişti.⁵

Ancak pek çok bilim insanı bunların çok büyük iddialar olduğunu biliyordu çünkü genetik tarihi bunu öğretmişti. Görece olarak daha iyi bilinen birkaç genetik hastalığı ele alalım. Duchenne Musküler Distrofisi, etkilenen erkek çocukların kademeli olarak kas kütlesini kaybettiği, fiziksel olarak dejenere olduğu, hareketliliğini kaybettiği ve tipik olarak ergenlikte öldüğü, çok üzüntü verici bir hastalıktır. Kistik fibroz, akciğerlerin mukusu temizleyemediği genetik bir hastalıktır ve hastalar, hayatlarını tehdit eden ciddi enfeksiyonlara yatkınlık gösterirler. Günümüzde her ne kadar bazı kistik fibroz hastaları yaklaşık 40 yaşına kadar yaşayabilseler de, bu ancak fazla miktarda antibiyotik tedavisine ek olarak akciğerlerin

yoğun fiziksel tedavi uygulanarak her gün temizlenmesiyle ilgilidir.

Duchenne Musküler Distrofisinde mutasyona uğrayan gen 1987’de ve Kistik Fibrozda mutasyona uğrayan gen ise 1989’da tanımlandı. Bu genlerdeki mutasyonların hastalığa neden olduğu, insan genom dizisinin tamamlanmasından çok önce gösterilmiş olmasına rağmen, yaklaşık 30 yıldır süren denemeden sonra bile hâlâ bu hastalıklar için etkili bir tedavi geliştirilemedi. Açıkçası, insan genom dizisinin bilinmesi ile yaygın hastalıklar için hayat kurtaran tedaviler geliştirilmesi arasında uzun bir boşluk var. Özellikle, birden fazla sayıda genin neden olduğu hastalıklar veya çevre ile bir veya daha fazla genin etkileşimi sonucu ortaya çıkan hastalıklar için durum bu şekildedir ve çoğu hastalık için de bu gen-çevre etkileşimi geçerlidir.

Öte yandan, alıntı yaptığımız politikacılar için de çok sert olmamalıyız. Bilim insanlarının kendileri de bu abartılı reklamı uzun süre devam ettirdiler. Eğer veznedarınızdan 3 milyar dolarlık fonun büyükçe bir kısmını talep ediyorsanız, oldukça iddialı bir adım atmanız gerekir. İnsan genom dizisini bilmek, aslında kendi içinde ulaşılabilecek bir son nokta değildir ama bu, elbette, bilimsel bir çaba olarak, dizinin bilinmesini önemsiz yapmaz. Aslında İnsan Genom Projesi, asla cevaplanamayacak çok sayıda diğer sorulardan uzak bir veri seti sunan bir altyapı projesiydi.

Elbette, sadece bir insan genom dizisi yoktur. Dizi, bireyler arasında farklılıklar gösterir. 2001 yılında, DNA’nın bir milyon baz çiftini dizilemenin maliyeti 5.300 doların biraz altındaydı. 2013 yılının Nisan ayı itibarıyla aynı dizilemenin maliyeti 6 sente kadar düşmüştü. Yani eğer 2001’de kendi genomunuzun dizilenmesini isteseydiniz, bu size 95 milyon dolardan fazlasına mal olacaktı. Bugün ise aynı dizileme işleminin maliyeti 6.000 dolar bile tutmuyor,⁶ hatta en az bir şirket,

1.000 dolarlık genom çağının çok yakında olduğunu iddia ediyor.^{7*} Dizileme maliyetindeki bu büyük düşüş ile birlikte, bireyler arasındaki genetik çeşitliliğin derecesini araştırmak, bilim insanları için artık çok daha kolay. Bu da pek çok faydalı bilgi sağlayacak. Artık araştırmacılar, genellikle Amerika'daki Amish topluluğu gibi genetik olarak oldukça izole popülasyonlardaki az sayıda hastada görülen ve ciddi hastalıklara neden olan nadir mutasyonları bile tanımlayabiliyorlar.⁸ Bir kanserin ilerlemesini sağlayan mutasyonları tanımlamak için hastalardan alınan tümör hücrelerini dizilemek de artık mümkün. Bazı durumlarda bu, bir hasta ne tür bir kansere yakalanmışsa o kansere uygun hale getirilmiş özel tedavi almalarıyla sonuçlanır.⁹ Bunların yanı sıra, DNA dizisinin analiz edilmesiyle, insan evrimi ve insan göçü çalışmaları da büyük ölçüde geliştirilmiştir.¹⁰

Tatlım, genleri kaybettim

Fakat bunların hepsi gelecek içindi. 2001'de, bütün bu coşkunun içinde, bilim insanları, insan genom dizisinden elde edilen verileri inceliyor ve basit bir soruyu düşünüyorlardı: Tüm bu genler nerede? Hücrelerin ve bireylerin işlevlerini yerine getiren proteinleri kodlayan tüm diziler neredeydi? İnsanlar kadar karmaşık bir tür daha yoktur. Başka hiçbir tür şehir kurmaz, sanat yaratmaz, mahsul yetiştirmez veya masa tenisi oynamaz. Bunlardan herhangi birinin bizi diğer türlerden "daha iyi" yapıp yapmadığını felsefi olarak tartışabiliriz. Ancak bu tartışmayı yapabileceğimiz gerçeği de, şüphesiz ki dünyadaki diğer türlere kıyasla karmaşıklığımızın daha fazla olduğunun bir göstergesidir.

* Günümüzde tüm genom dizileme analizinin maliyeti artık 1.000 doların altına indi. Hatta bu işi 500 dolara yapan firmalar bile var. (çev.)

Organizmalar olarak karmaşıklığımızın moleküler açıklaması nedir? Bu açıklamanın genlerimizde yatacağı konusunda makul bir fikir birliği vardı. İnsanların; solucanlar, sinekler veya tavşanlar gibi daha basit organizmalardan daha fazla sayıda protein kodlayan gen içermesi bekleniyordu. İnsan genom dizisinin taslağı yayınlanıncaya kadar bilim insanları, bir dizi başka organizmanın da dizilimini tamamlamışlardı. İnsanlardan daha küçük ve daha basit genomlara sahip olanlara odaklanmışlardı ve 2001 yılına kadar yüzlerce virüsü, onlarca bakteriyi, iki basit hayvan türünü, bir mantarı ve bir bitkiyi dizilemişlerdi. Araştırmacılar bu türlerden elde edilen veriyle birlikte çeşitli başka deneysel yaklaşımlardan elde edilen veriyi de kullanarak, insan genomunda kaç tane genin bulunabileceğini tahmin etmeye çalıştılar. Tahminler, 30.000 ila 120.000 arasında değişen önemli bir belirsizlik ortaya çıkardı. Kesin bir tahminde bulunmamakla birlikte, popüler basında sıklıkla yaklaşık 100.000 civarında bir rakam ağızdan ağza dolaşıyordu. 40.000 civarında bir sayı, pek çok araştırmacı tarafından makul kabul edildi.

Fakat insan genomunun taslak dizisi 2001 yılının Şubat ayında yayınlandığında, araştırmacılar bırakın 100.000'i, protein kodlayan 40.000 gen bile bulamadılar. Cenera Genomics adlı şirkette çalışan araştırmacılar 26.000 protein kodlayan ve 12.000 tane de tereddüt edilerek tanımlanmış ek gen buldular. Kamu konsorsiyumundan olan bilim insanları ise 22.000 geni tanımlayabildi ve toplamda 31.000 olacağını öngördü. Taslak dizinin yayınlanmasından bu zamana kadar geçen sürede, toplam gen sayısı sürekli olarak azalmıştır ve günümüzde, insan genomunun yaklaşık 20.000 protein kodlayan gen içerdiği kabul edilmektedir.¹¹

Bilim insanlarının, taslak dizi yayınlanır yayınlanmaz genlerin sayısı konusunda hemen hemfikir olmamaları garip görünebilir. Ancak bunun nedeni, genleri tanımlamanın dizi ve-

risini analiz etmeye dayanmasıdır ve bu da görüldüğü kadar kolay değildir. Genler, renk kodlu değildir ya da genomun diğer kısımlarından farklı bir genetik harf seti kullanmaz. Protein kodlayan bir geni tanımlamak için, amino asitlerin bir bölümünü kodlayabilen diziler gibi spesifik özellikleri analiz etmeniz gerekir.

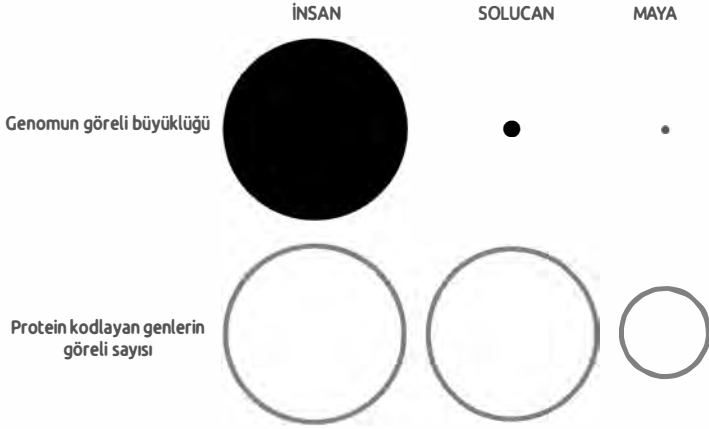
2. Bölüm’de de gördüğümüz gibi, protein kodlayan genler, sürekli bir DNA dizisinden oluşmaz. Protein kodlayan bölgeler, çöp diziler tarafından kesintiye uğratılarak, modüler tarzda inşa edilmiştir. Genel olarak insan genleri, genetik çalışmalarda model organizma olarak çok yaygın bir şekilde kullanılan mikroskobik solucan *C. elegans*’taki ya da meyve sineğindeki genlerden çok daha uzundur. Ancak insan proteinleri genellikle sinekteki veya solucandaki eşdeğer proteinlerle yaklaşık aynı büyüklüktedir. İnsan genlerinin çok büyük olan kısımları, protein kodlayan bölgeler değil, çöp dizilerin oluşturduğu kesintilerdir. İnsanlarda, bu araya giren diziler genellikle basit organizmalardakilerden on kat daha uzundur ve bazıları on binlerce baz çifti uzunluğunda olabilir. Bu da, insan dizilerindeki genler analiz edilirken büyük bir sinyal-gürültü sorunu yaratır. Bir genin içinde bile, proteinleri kodlayan çok küçük bir kısım vardır ve bunlar da çöp dizilerin içine gömülmüştür.

Şimdi ilk soruya geri dönelim. Eğer protein kodlayan genlerimiz, sineklerininki ve solucanlarıninki gibiyse, insanlar neden bu kadar karmaşık organizmalardır? Açıklamaların bir kısmı, 2. Bölüm’de gördüğümüz uçbirleştirmeye dayanıyor. Daha basit organizmalarla kıyaslandığında insan hücreleri, tek bir genden çok çeşitli protein varyantları üretebilir. İnsan genlerinin yüzde 60’tan fazlası, çoklu uçbirleştirme varyantları üretir. Şekil 2.5’e tekrar bakalım (sayfa 18). Bir insan hücresi KLARNETÇİ, KARNE, KEÇİ, ETÇİ, ATİ ve KLARNET proteinlerini üretebilir. Bu proteinleri, farklı dokularda farklı oranlarda üretebilir. Örneğin; KLARNETÇİ, KEÇİ ve ATİ

proteinlerinin hepsi beyinde yüksek miktarda üretilebilirken, böbrekte sadece KLARNETÇİ ve KLARNET proteinleri üretilebilir. Bunun yanı sıra, böbrek hücrelerinde KLARNETÇİ'nin 20 katı kadar KLARNET proteini de üretilebilir. Daha az gelişmiş organizmaların hücreleri, sadece KLARNETÇİ ve ETÇİ proteinlerini, farklı hücrelerde görece olarak sabit oranlarda olacak şekilde üretebilirler. Bu uçbirleştirme esnekliği, daha az gelişmiş organizmalara kıyasla insan hücrelerinin, çok daha fazla çeşitte protein molekülü üretmesine izin verir.

İnsan genomunu analiz eden bilim insanları, sadece insanlara özgü protein kodlayan genler olabileceğini ve bunların da artan karmaşıklığımızla ilgili olabileceğini iddia ettiler. Ancak sonuç öyle olmadı. İnsan genomunda yaklaşık olarak 1.300 gen ailesi vardır. Bu gen ailelerinin neredeyse hepsi, en basit organizmalardan en gelişmiş olanlara kadar uzanan canlılar âlemi ağacının tüm dallarında mevcuttur. Omurgalı hayvanlara özgü yaklaşık 100 aileden oluşan bir alt küme vardır, ancak bunlar bile omurgalı evriminde çok erken ortaya çıkmıştır. Bu omurgalılara özgü gen aileleri; bağışıklık sisteminin bir enfeksiyonu hatırlayan kısmı, çok yönlü beyin bağlantıları, karın pıhtılaşması, hücreler arası sinyalleşme gibi karmaşık süreçlerde yer alma eğilimindedir.

Protein kodlayan genomumuz, dev bir LEGO setinden yapılmış gibidir. Çoğu LEGO seti, özellikle de büyük başlangıç kutuları, az sayıda tema üzerinde değişkenlik gösteren tuğlaların seçimini içerir. Örneğin; dikdörtgenler ve kareler, bazı eğimli parçalar, belki de birkaç ara parça. Birbirinden çeşitli renklere, sayılara ve kalınlıklara sahip olsalar da hepsi temelde benzerdir. Bu parçaları kullanarak, iki tuğlalık bir basamaktan, bütün bir binaya kadar hemen hemen tüm temel yapıları inşa edebilirsiniz. Sadece, Ölüm Yıldızı gibi çok özel bir silah inşa etmeniz gerektiğinde, temel LEGO kalıplarına uymayan olağandışı parçalara sahip olmanız gerekir.



Şekil 3.1. Üstte yer alan dairelerin kapladığı alan; insandaki, mikroskobik solucandaki ve tek hücreli mayadaki genomun göreceli büyüklüklerini temsil etmektedir. İnsan genomu, basit organizmaların genomlarından çok daha büyüktür. Altta yer alan daireler ise, bu üç türün her birindeki protein kodlayan genlerin göreceli sayısını temsil etmektedir. Kolayca görülebildiği üzere, insan ve diğer iki organizma arasındaki fark, üstteki farktan çok daha azdır. İnsan genomunun göreceli büyüklüğü, basitçe sadece protein kodlayan genlerin sayılarıyla ifade edilemez.

Evrimsel süreçte genomlar, LEGO kalıplarının standart bir setini oluşturarak gelişti ve sadece çok nadiren tamamen yeni bir yapı oluşturdu. Tam da bu yüzden, çok sayıda olağandışı insana özgü protein kodlayan genlere sahip olduğumuzu iddia ederek insan karmaşıklığını açıklayamayız. Yapamayız.

Ancak tüm bunlar, insan genomunun büyüklüğünü diğer organizmalarinkiyile karşılaştırdığımızda daha da garip bir hal alır. Şekil 3.1'i incelediğimizde, insan genomunun *C. elegans*'tan ve mayadan çok daha büyük olduğunu görebiliriz. Öte yandan, protein kodlayan genlerin sayısı bakımından büyük bir fark yoktur.

Bu veri, insan genomunun olağanüstü miktarda protein kodlamayan DNA içerdiğini ikna edici bir şekilde göstermiş-

tir. Genetik materyalimizin yüzde doksan sekizi, bir hücrenin veya bir organizmanın temel fonksiyonlarını yerine getirdiğine inanılan tüm önemli moleküllerin kalıbı olarak işlev görmez. Peki, neden bu kadar çok çöpümüz var?

Zehirli balıklar ve genetik izolasyon

Bir olasılık, sorunun yersiz veya uygunsuz olmasıdır. Belki çöpün hiçbir işlevi veya biyolojik önemi yoktur. Belki de sadece var olduğu için, orada olmasının bir nedeni olduğunu varsaymak yanlıştır. Örneğin, insan apandisinin hiçbir işe yaramadığı ve sadece atasal soyumuzdan gelen evrimsel bir kalıntı olduğu düşünülüyordu (artık böyle olmadığını biliyoruz). 2001 yılında bazı bilim insanları, insan genomundaki çöp DNA'nın çoğu için de böyle bir durumun geçerli olabileceğini iddia ettiler.

Bu öneri için gerekçenin bir kısmını, ilginç bir hayvan olan balon balığı (aynı zamanda kirpi balığı olarak da bilinir) sağlamıştır. Balon balıkları dikkat çekici yaratıklardır. Yavaş olduklarından dolayı bu acemi yüzücüler, avcılardan kaçamazlar. Herhangi bir tehditle karşı karşıya kalırlarsa, hızla çok miktarda su alırlar ve bir küre gibi şişerler. Bu küre, balon balıklarının bazı türlerinde dikenle kaplıdır. Dikenler aç bir avcıyı kaçırmak için yeterli gelmezse, siyanürden bin kat daha güçlü olan zehirlerini kullanırlar. Zaman içinde bu zehir, balon balığına garip bir kötü şöhret kazandırdı. Japonya'da oldukça lezzetli bir yemek (*fugu* deniyor) olarak kabul edilse de, popüleritesi oldukça inişli çıkışlı bir tarihe sahiptir çünkü uzman olmayan biri tarafından hazırlanırsa, akşam yemeğini yiyen kişi için ölümcül sonuçlar doğurabilir.

Genetik araştırmacıları balon balığını, ya da en azından onun DNA'sını diyelim, çok seviyorlardı. *Fugu rubripes* olarak adlandırılan balon balığının genomu, omurgalılar arasında-

ki en küçük genomdur. Uzunluğu, insan genomunun sadece %13'ü kadardır ama normal omurgalı genlerinin neredeyse tamamını içerir.¹² Balon balığı genomunun bu kadar küçük olmasının nedeni, çok fazla çöp DNA içermemesidir. DNA dizilemenin çok yüksek maliyetli olduğu zamanlarda, farklı organizmaların genomlarını kıyaslamada kullanmak için balon balıkları çok kullanışlı bir türdü. Üstelik genomlarının çok az çöp içermesinden dolayı da, her bir geni tanımlamak görece olarak daha kolaydı. İnsan genomunu araştırırken karşılaşılan sinyal-gürültü problemi de, balon balıklarında yoktu. Bilim insanları *Fugu rubripes*'teki genleri kolayca tespit edebildiler ve daha sonra da bu dizi verisini, bizimki gibi daha gürültülü genomlarda benzer genleri aramak için kullandılar.

Balon balıkları sahip oldukları az miktardaki çöp DNA'ya rağmen oldukça işlevsel ve başarılı bir organizma olduğu için, insan genomundaki kodlanmayan bölgelerin, "genomu elverişli bir konakçı olarak kullanan kısaca parazitik, bencil DNA ögeleri" olabileceği önerildi.¹³ Fakat bu çok da mantıklı bir tahmin değildir. Bir bölgenin, belirli bir organizmada görünür bir fonksiyonunun olmaması, bunun tüm türlerde de böyle olacağı anlamına gelmez. Evrim, genellikle göreceli olarak sınırlı bir bileşen repertuarından (LEGO setini hatırlayın) oluştuğu için, yeni işlevlerin kazanılması açısından birlikte seçilme eğilimi var. Bu yüzden de çöp DNA, diğer organizmalarda, özellikle de daha karmaşık yapıları olanlarda kolayca rol oynayabilir.

Ayrıca, çok fazla çöp DNA'ya sahip olmanın hücreye işlevsel bir maliyet çıkaracağı da göz önünde bulundurulmalıdır. İnsanların hepsi, bir yumurtanın bir spermle kaynaşması sonucu ortaya çıkan bir hücre olarak hayata başlar. Bu tek başlangıç hücresi, iki hücre oluşturmak için bölünür. Bu iki hücre de dört hücre oluşturmak için bölünür ve süreç bu şekilde devam eder. Yetişkin bir insan, yaklaşık olarak 50-70 trilyon hücreden oluşur. Bu da hayal edilemeyecek kadar çok sayıda

hücre demek olduğundan gelin şöyle deneyelim: Eğer her bir hücre, bir dolarlık bir banknot olsaydı ve 50 trilyon dolarlık banknotu uç uca ekleysek, elde edeceğimiz uzunluk, Dünya'dan Ay'a gidip yolun yarısını geri dönecek kadar olacaktı.

Bu kadar çok hücre oluşturmak için yaklaşık olarak en az 46 döngülük hücre bölünmesi gerekir. Bir hücrenin her bölünüşünde, öncelikle tüm DNA'sını kopyalaması gerekir. Eğer DNA'nın %2' den daha az bir kısmı önemliyse, sadece işlevsiz bir çöplük olmasına rağmen evrim neden diğer %98'lik kısmı da koruyor? Daha önce de belirttiğimiz gibi, türlerin evrimi lehine en büyük kanıt, atalarımızdan dolayı sahip olduklarımıza dayanıyor (apandisimiz gibi). Ancak diğer taraftan, bir işlevi yerine getiren her bir baz çiftiyle birlikte 49 "işe yaramaz" baz çiftini de çoğaltmak, büyük miktarda kaynak kullanmak ve gereğinden fazla efor harcamak gibi görünüyor.

İnsan genomunun neden bu kadar DNA içerdiğine dair ilk teorilerden biri, insan genom dizisinin taslağı tamamlanmadan önce ortaya çıktı. Araştırmacılar, genomumuzun önemli bir kısmının protein kodlamadığını çoktan fark etmişlerdi. Bu, izolasyon teorisiydi.

Bir saat aldığınızı hayal edin. Fakat eski bir saat değil, milyonlarca dolara satılan klasik bir Patek Philippe gibi olağanüstü pahalı bir saat olsun. Civarda gerçekten büyük bir sopa taşıyan iri ve çok kızgın bir babun var. Siz saatinizi iki odadan birine koymak zorundasınız. Babunun odalara girmesine engel olamazsınız, ancak saati hangi odaya koyacağınıza karar verebilirsiniz. Size sunulan seçenekler ise şunlar:

- A. İçinde, üzerine saatinizi bırakmanız gereken bir masadan başka hiçbir malzemenin olmadığı küçük bir oda.
- B. Saatinizi herhangi birinin içine saklayabileceğiniz, 5 metreye 20 santimetre ölçülerinde 50 rulo izolasyon malzemesi içeren büyük bir oda.

Saatin hasar almama şansını en yüksek seviyeye çıkarmak için hangi odanın seçilmesi gerektiğine karar vermek çok da zor değil, değil mi? Çöp DNA izolasyon teorisi de aynı temel üzerine kurulmuştu. Protein kodlayan genler, inanılmaz derecede önemlidir. Yüksek düzeyde evrimsel baskıya maruz kalmışlardır ve bu yüzden de herhangi bir organizmadaki tek bir protein dizisi bile genellikle olabileceği en iyi şekildedir. Protein dizisini değiştiren DNA'daki bir mutasyonun –bir baz çiftindeki değişikliğin– bir proteini daha etkili hale getirmesi uzak bir ihtimaldir. Mutasyonun, proteinin işlevine veya aktivitesine olumsuz sonuçları olacak şekilde müdahale etmesi daha muhtemeldir.

Sorun, genomumuzun çevremizdeki potansiyel olarak zararlı uyanlarla sürekli olarak bombardımana uğramasıdır. Bazen bu saldırıyı, özellikle de Çernobil veya Fukuşima nükleer santrallerindeki felaketlerden gelen radyasyonu göz önünde bulundurduğumuzda, modern bir fenomen olarak düşünüyoruz. Fakat gerçekte bu durum, insanın var olduğu süre boyunca bir sorun olmuştur. Güneş ışığındaki ultraviyole radyasyondan, yiyeceklerdeki kanserojenlere veya granit kayalardan kaynaklanan radon gazı emisyonlarına kadar genomik bütünlüğümüze yönelik potansiyel tehditler tarafından sürekli olarak saldırı altındayız.

Öte yandan bazen bombardıman, o kadar da önemli olmayabilir. Örneğin ultraviyole ışınları tek bir deri hücresinde mutasyona neden oluyorsa ve bu mutasyon o hücrenin ölümlüyle sonuçlanıyorsa, bu o kadar da önemli değildir. Sonuçta çok fazla deri hücremiz var ve hücreler doğal olarak ölüp, yerlerini her zaman yeni hücrelere bırakabilirler. Fazladan bir hücrenin kaybı sorun olmaz.

Ancak mutasyon bir hücrenin, komşularından daha iyi hayatta kalmasına neden oluyorsa, bu durum potansiyel kanserin gelişiminde bir adımdır ve işte bunun sonuçları gerçekten

çok büyük bir sorun olabilir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 75.000'den fazla yeni hastaya melonom tanısı konuyor ve her yıl neredeyse 10.000 kişi bu sebeple hayatını kaybediyor.¹⁴ Ultraviyole ışınlarına fazla miktarda maruz kalmak, büyük bir risk faktörüdür. Evrimsel olarak ele alırsak, mutasyonlar yumurta veya spermde meydana gelirse, yavru-lara aktarılabilceği için sonuçlar daha da kötüleşir.

Genomumuzun sürekli olarak saldırı altında olduğunu düşünürsek, çöp DNA'nın izolasyon (yalıtım) teorisi de belli bir çekiciliğe sahiptir. Eğer 50 baz çiftimizden 49'u sadece çöpse ve sadece biri protein dizisi için önemliyse, o zaman DNA molekülüne çarpan zarar verici bir uyarının gerçekten de önemli bir bölgeye denk gelme ihtimali sadece ellide birdir. Şekil 3.1'de de gördüğümüz gibi solucan ve maya gibi daha az karmaşık türlerde bulunan görelî olarak az çöp DNA miktarıyla kıyaslandığında, insan genomunun neden bu kadar çok çöp DNA içerdiği de tutarlı bir hal alıyor. Solucanlar ve mayalar kısa ömürlüdür ve çok sayıda yavru üretebilirler. Onlar için maliyet-fayda denklemi, üremeleri uzun zaman alan ve sadece çok az sayıda yavruya sahip olan insan gibi karmaşık bir türdekinden farklıdır. Solucan ve mayaların, büyük bir çaba sarf ederek protein kodlayan genleri bu kadar iyi korumasının pek bir anlamı yoktur. Yavruların birkaçı, onları çevreleri için daha az uygun hale getiren mutasyonlar taşımasa bile, çoğunluğu muhtemelen iyi olacaktır. Fakat genetik materyalinizi gelecek nesillere aktarmak için çok az fırsatınız varsa, bu önemli protein kodlayan genleri korumak, evrimsel olarak oldukça mantıklı olacaktır.

Diğer taraftan, her ne kadar izolasyon teorisi mantıklı olsa da, birkaç soruya daha yol açmaktadır: İzolasyon, çöp DNA'nın tek rolü müdür? Tüm bu yalıtım malzemesi ilk olarak nereden geldi?



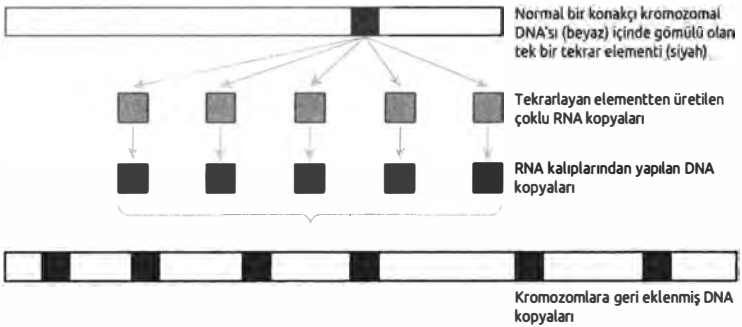
4

Gereğinden Fazla Uzayan Davet

İngiltere’de okula giden her çocuk, 1066 tarihini bilir. Bu yıl, günümüz Fransa’sı olan Normandiya’dan Fatih William ve askerlerinin İngiltere’yi istila ettiği yıldır. Bu gelip geçici bir akın değildi. İstilacılar işgal ettikleri bölgeye yerleştiler, ailelerini getirdiler ve zamanla nüfusları arttı. Nihayetinde de, İngiliz siyasal, kültürel, sosyal ve dilbilimsel manzarasının ayrılmaz bir parçası olarak asimile oldular.

Amerika’da okula giden her çocuk ise 1620 tarihini bilir. Bu yıl, İngiltere’den Amerika’ya giden *Mayflower* adlı geminin Cop burnuna demirlendiği, Avrupa’dan Kuzey Amerika’ya göçün ve yerleşmenin büyük dalgasının tetiklendiği yıldır. Tıpkı yaklaşık 500 yıl önce İngiltere’deki Normanlar gibi, bu ilk yerleşimciler manzarayı sonsuza dek değiştirerek, sayılarını hızla arttırdılar.

Benzer bir olay, binlerce yıl önce insan genomunda meydana geldi. Genomumuz, yabancı DNA elementleri tarafından istila edildi ve bu elementler daha sonra sayılarını hızla artırarak, genetik mirasımızın istikrarlı ve değişmez parçaları haline geldiler. Bu yabancı elementler, genomumuza yerleşmiş ve diğer türlerden gelen kayıtlarla karşılaştırılabilecek bir çeşit fosil kaydı gibi davranırlar. Fakat bunlar aynı zamanda protein kodlayan genlerin işlevine müdahale ederek, sağlığı ve hastalığı etkiler. Her ne kadar protein kodlayan genlerin ifadelerini etkileseler de, bu yabancı elementlerin kendileri protein kodlamazlar. Bu da onları çöp DNA örneği yapar.



Şekil 4.1. Tek bir DNA parçası, çoklu RNA kopyaları oluşturmak için kopyalanır. Nispeten sıra dışı bir işlemle, bu çoklu RNA molekülleri DNA'ya geri kopyalanabilir ve genom içine tekrar yerleştirilebilir. Sonuç olarak, genomda bu parçaların sayısı artar. Erken evrimsel süreçte birçok kez bu işlem gerçekleşmiş olabilir, ancak açık bir şekilde anlatabilmek için burada sadece bir tur gösterilmiştir.

İnsan genom dizisinin taslağı yayınlandığında, bu genetik ara bağlantıların DNA'mız boyunca ne kadar yayıldığı-nı anlamak oldukça şaşırtıcıydı.¹ İnsan genomunun yüzde 40'ından fazlası, bu paraziter elementlerden oluşur. Bunlar, serpiştirilmiş tekrar elementleri olarak adlandırılır ve dört ana sınıfa ayrılırlar.* Adlarından da anlaşılacağı gibi bunlar, belirli dizilerin tekrarlandığı DNA parçalarıdır. Sayıları olağanüstüdür. İnsan genomunda 4 milyondan fazla bu serpiştirilmiş tekrar elementlerinden vardır. Sadece bir sınıfı, genom boyunca 850.000 kez yer alır ve bu da DNA'mızın yüzde 20'sinden fazlasını oluşturur.

Geçmişte bu dizilerin çoğu, genom içindeki sayılarını artırmanın yollarını buldu. Genellikle, AIDS'e neden olan virüse benzer şekilde, belirli virüslerin eylemini taklit ettiler. Şekil 4.1'de bunun temel mekanizması gösterilmektedir. Bu sistem,

* Bu dört sınıf SINE'ler (serpiştirilmiş kısa tekrar dizileri), LINE'ler (serpiştirilmiş uzun tekrar dizileri), LTR'ler (uzun uç tekrar dizileri) ve DNA transpozonlarıdır.

hücreesel bir dizinin, tekrar tekrar kopyalanıp genomun içine yeniden yerleştirilebileceği bir mekanizma sağlar. Bu, tekrarlayan dizilerin, genomun geri kalanından daha hızlı bir şekilde artmasıyla sonuçlanan bir çoğaltma döngüsü yaratır.

Birçok yönden tekrarlar, genomdaki kopyala-yapıştırma benzer bir işleminden geçmiştir. Kromozomlarımızın her tarafına yayılmalarını sağlayan da budur.

Bu çoğaltmanın bir sonucu olarak, bu elementlerin çok büyük bir bölümünü genomumuzda taşıyoruz. Asıl soru, bunun gerçekten önemli olup olmadığı. Bu dizilerin herhangi bir etkisi var mı, yoksa sadece genomdaki ne pozitif ne de negatif etkileri olan yolcular mı?

Bu soruyu ele alabileceğimiz çeşitli yollar var. Tekrarların çoğu evrimsel açıdan çok eski. Diğer hayvanlarla yapılan karşılaştırmalar, tekrarların çoğunun plasentalı memelilerin diğer hayvan soylarından henüz ayrılmadığı 125 milyon yıldan daha öncesine tekabül eden bir dönemde ortaya çıktığını göstermektedir. Tekrar sınıflarından en az biri için, Eski Dünya maymunlarından ayrıldığımız yaklaşık 25 milyon yıl önceden beri yeni herhangi bir ekleme yapmadık. Dolayısıyla insan genomunda yer alan tekrarlardaki büyük bir genişlemenin uzak geçmişimizde olduğu görülüyor. Sonrasında sayılar önemli ölçüde artmadı ve bu da tolere edebileceğimiz tekrar sayılarında bir üst sınır olduğunu gösteriyor olabilir. Fakat genomdan çok yavaşça çıkarılmış gibi de görünüyorlar ki bu da, tekrar sayısı belli bir sınırın altında olduğu sürece onlarla başa çıkabileceğimizi gösteriyor.

Bununla birlikte, insan genomunun bu tür tekrarlarla başa çıkma biçiminde diğer türlerle karşılaştırıldığında bazı farklılıklar olduğu görülüyor. Diğer türlere kıyasla, genel olarak memelilerin yüksek çeşitlilikte belirli tekrar dizilerine sahip olduğu görülüyor. Ancak memelilerde bu tekrarlar, uzun süreden beri çakılı kalmış çok eski dizilerden kaynaklanıyor.

Diğer organizmalarda ise eski tekrarlar bir dereceye kadar temizlenmiş ve yerini yenilerine bırakmış durumda. İnsan genom dizisinin taslağını yayınlayan araştırmacılar, meyve sineğinde fonksiyonel olmayan bir DNA elementinin, yaklaşık 12 milyon yıllık bir yarı ömre sahip olduğunu hesapladılar. Bu yarı ömür memelilerde yaklaşık 800 milyon yıldır.

Ancak memeliler arasında bile insanlar, sıra dışı görünüyor. Memeli türlerinin sayısındaki artıştan bu yana, hominid (insanımsı) soyundaki tekrar elementlerinin sayısı azalmaktadır. Böyle bir azalma örneğin kemirgenlerde olmadı. İnsan genomundaki tekrarların çoğunluğu artık kopyala-yapıştır yapmaz. Aslına bakarsanız tekrarlar kemirgenlerde primatlardan daha aktiftir.

Belki de bunun bir sonucu olarak tekrarlar, kemirgenlerde insanlardan daha büyük bir sorun nedenidir. Eğer tekrarlar genomda çoğalırsa, protein kodlayan fonksiyonel genlerin içine ya da yakınına girebilir ve onların normal rollerine müdahale edebilirler. Hatta bazı durumlarda doğru proteinin ifadesini önleyebilirken, diğerlerinde proteinin fazla miktarda üretilmesini sağlayabilirler. Farelerde, tekrarların genomun yeni bölgelerine eklenmesi ve daha yeni bir genetik formun oluşma ihtimali, insan hücrelerinde olduğundan 60 kat daha fazladır. Ayrıca bunlar, farelerdeki tüm yeni genetik mutasyonların yüzde 10'unu oluştururken, bu rakam insanlar için 600'de birdir. Kısacası genomlarımızın, kemirgen kuzenlerimizden daha sıkı bir kontrol altında olduğu görünüyor.

Tehlikeli tekrar

Durumu iyi tarafından ele alacak olursak, aradaki farklılıklar kemirgenlerdeki bu tür mutasyon mekanizmalarının ne gibi sonuçlar doğuracağına yakından bakabilmemizi sağlar. Örneğin, bir fare türünde kuyruksuzluğa neden olan böyle bir mutasyon vardır. Böbreklerin gelişmesini de engelleme-

seydi bu mutasyon çok büyük bir problem teşkil etmeyebilirdi.² Sorun, eklenmenin (insersiyon) yakındaki bir genin aşırı ifadesine yol açmasından kaynaklanmıştı. Farklı bir türde ise eklenme merkezi sinir sistemindeki önemli bir geni kapatır. Bu da farenin spazmlar yaşamasına ve ömrünün iki hafta kadar olmasına yola açar.³

Bu tekrarların potansiyel etkilerine yönelik benzer bir sonucu zıt bir fenomenle de çıkarabiliriz. Örneğin, bu tekrarların neredeyse hiç görülmediği genom bölgelerine bakabiliriz.

Karmaşık hücresel organizmaların doğru gelişimini sağlamada oldukça önemli olan ve HOX (homeobox) olarak adlandırılan bir grup gen vardır. Bu gruptaki genler, gelişim sürecinde belirli bir sırada açılırlar ve çok iyi bir şekilde ayarlanmış seviyelerde ifade edilirler.

Eğer bu düzende işler ters giderse, etkileri çok derin olabilir. HOX genlerinin önemi ilk olarak meyve sineklerinde gösterilmiştir. Bu genlerde mutasyon taşıyan sinekler bazı olağanüstü özellikler geliştirmiştir. En meşhur örneklerden biri, kafalarında antenler yerine bir çift bacak olan sineklerdir.⁴

Tıpkı sinekler gibi memeliler de, doğru vücut örüntülerinin geliştirilmesi için HOX genlerinin uygun bir şekilde ifade edilmesine bel bağlar. İnsanlardaki HOX genlerinde mutasyonlar nadir görülür, çünkü muhtemelen bu genler çok önemlidir. Diğer taraftan, en az bir HOX genindeki mutasyonun kol ve bacak gibi eklemlı organların uç kısımlarında kusurlara yol açtığı gösterilmiştir.⁵

HOX grubu, insan genomundaki serpiştirilmiş tekrar dizilerinin neredeyse hiç olmadığı birkaç yerden biridir. Bu, nispeten iyi huylu genetik ara bağlantıların bile, gen ifadesini etkileme potansiyeline sahip olduğu izlenimini uyandırır. Evrimin, bu ara bağlantıların uzak tutulduğundan emin olduğu bazı genomik bölgeler vardır. HOX genlerinin bu tekrarsız yönü diğer primatlarda ve kemirgenlerde de bulunur.

Genomda serpiştirilmiş tekrarların varlığı beklenmedik sonuçlara yol açabilir. ERV'lerin neden olduğu olağandışı bir tekrar sınıfı vardır. ERV, endojen retrovirüs demektir. İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV, AIDS'e neden olan ajan) de bir retrovirüs örneğidir. Bu virüslerin genetik materyali DNA değil, RNA'dır. Viral RNA, DNA oluşturmak üzere kopyalanır ve sonrasında da konakçının genomuna girer. Konak hücre bu DNA'ya kendi DNA'sı gibi davranır ve sonuçta, önce yeni viral bileşenler sonra da yeni virüsler üretir.

Evrimsel sürecimiz içinde bazı retrovirüsler, genomlarımıza tamamen yerleşmişlerdir. Günümüzde bunların çoğu genomik fosillerdir. Retroviral dizilerin bazı kısımları kaybolmuştur ve bu nedenle bir daha asla viral bileşenler üretemezler. Ancak hâlâ bazıları yeni virüsler yapmak için gereken tüm bileşenleri içerir. Bunlar normalde hücre tarafından çok sıkı kontrol altında tutulur.⁶ Bilim insanları, bağışıklık sisteminin sadece dış dünyadan bizi etkileyen virüslerle savaşmadığını, aynı zamanda bu endojen virüslerin de kontrol altında tutulmasını sağladıklarını keşfettiler. Normal bağışıklık sisteminin belirli bileşenlerine sahip olmayacak şekilde genetiği değiştirilmiş fareler, kendi genlerinde gizlenen bu virüslerin yeniden aktifleşmesinden dolayı sorun yaşarlar.⁷

Endojen retrovirüslerin bu kontrolü, bir taraftan insan sağlığının sorunlu bir alanını ele almak için potansiyel bir alandır. Her yıl binlerce insan, yeterli miktarda organ bağıışı olmadığı için, nakil sırası beklerken ölüyor. Örneğin, kalp nakliyle hayatları kurtulacak olan yaklaşık her üç kişiden biri, nakil beklerken hayatını kaybediyor.⁸

Bunu önlemek için izlenebilecek potansiyel yollardan biri, hayvanlardan gelen kalpleri yedek organlar olarak kullanabilmemiz olabilirdi. Buna, ksenotransplantasyon deniyor ("kseno" Yunanca "yabancı" demek). Örneğin kalp nakli için

tercih edilen hayvan, domuzdur. Domuz kalbi, insan kalbiyle neredeyse aynı büyüklük ve güçtedir.

Bununla birlikte, etik ve dini sorunların yanı sıra, üstesinden gelinmesi gereken çok sayıda teknik engel var.⁹ Bunlardan bazıları, domuz hücrelerini insan kardiyovasküler sisteme sokarken bağışıklık sistemini çok saldırgan bir şekilde tetiklemesini önlemek için genetiği değiştirilmiş domuzların yaratılmasıyla ilgilidir. Ama başka bir sorun da olabilir. Tıpkı insan genomunda olduğu gibi, domuz genomu da endojen retrovirüsler içerir. Ancak domuzdakiler, insandakilerden farklıdır. 20. yüzyıl sonunda yapılmış bir araştırma, bu domuz retrovirüslerinin bazılarının, doğru koşullar oluştuğunda, insan hücrelerini enfekte edebileceğini gösterdi.¹⁰

Bazı bilim insanlarını endişelendiren olası bir senaryo daha var. Domuz kalbi alan herhangi bir kişi, yabancı organın reddedilmesini önlemek için kaçınılmaz olarak bağışıklığı baskılayacak (immüsupresif) ilaçlar alacaktır. Bu ilaçları alan kişilerde, endojen virüslerin yeniden aktivasyonu söz konusu olabilir. Evrildiğimizden beri, insan sistemleri, genomumuzdaki endojen retrovirüsleri kontrol edecek şekilde gelişse de domuz genomunda saklananları kontrol etmede etkili olmayabilirler. Teorik olarak bu da, endojen retrovirüslerin domuz kalbinden kaçabileceği, alıcı insandaki diğer hücrelere saldırabileceği ve içlerine girebileceği anlamına gelir. Oradan da daha geniş popülasyona bile kaçabilirler.

Daha yakın tarihli veriler, bu olayın ortaya çıkma riskinin geçmişte abartıldığını,¹¹ ancak ksenotransplantasyonun bir gerçek haline gelmesi durumunda kesinlikle yakından incelenmesi gereken kısmın, çöp DNA alanı olduğunu öne sürdü.

Genomdaki diğer tekrar dizileri, sağlık sorunlarına doğrudan neden olabilir. Örneğin, genomda, bazen yüz binlerce baz çifti uzunluğunda olabilen ve insanın evrim süreci içerisinde nispeten yakın geçmişte kopyalanmış büyük bölümler

mevcuttur. “Orijinal” ve “kopya”, genomun çok farklı bölümlerinde, hatta birbirlerinden farklı kromozomlarda bile ortaya çıkabilir.

Bu bölgeler, yumurta veya sperm oluşturulurken sorunlara neden olabilir. Bu oluşum sırasında, kromozomların parça değişimi adı verilen bir işleme tabi tutulduğu çok önemli bir aşama vardır. Annenizden aktarılan bir kromozom, babanızdan aktarılan eşdeğer kromozomla eşleşir ve ikisi arasında DNA parçaları değiş tokuş edilir. Böylece, genlerin kombinasyonları oluşturularak, gen havuzundaki çeşitlilik miktarı artırılır. Tekrarlanan dizilerden dolayı genomun birbirine çok benzeyen iki kısmı varsa ancak bunlar gerçekte eşleşen bir kromozom çifti değil ise, bu parça değişimi, değiş tokuşun amaçlanmadığı genom bölgeleri arasında gerçekleşebilir. Bunun sonucu da, ekstra DNA bölümlerine sahip olan veya kritik bölgeleri olmayan yumurtaların veya spermlerin üretilmesi olabilir.¹²

Hatalı bir değiş tokuş, bu genomik kusurları kalıt alan bireylerde hastalığa neden olabilir. Charcot-Marie-Tooth hastalığı buna bir örnektir. Bu hastalık, duyuları ileten ve motor fonksiyonları kontrol eden sinirlerde kusurlara yol açar.¹³ Bir diğer hastalık ise; gelişme geriliği, göreceli kısa boyluluk, yakını görememe ve hafif öğrenme güçlüğü ile birlikte birtakım alışılmadık davranış özelliklerine yol açan Williams-Beuren sendromudur.¹⁴

Parça değişimi sırasında problemlere yol açan genomdaki kopyalanmış bölgeler, sıklıkla birkaç protein kodlayan gen içerir. Anormal parça değişiminden etkilenen hastalarda, hastalık belirtilerinin genellikle oldukça karmaşık olması şaşırtıcı değildir. Birden fazla yolağın, çoklu gen sayısındaki değişiklikten etkilenmesi muhtemeldir.

Kopyalanan bölgelerin, bu tür sorunlara yol açabilmelerine rağmen, insanın evrimi boyunca korunmuş olmaları garip

görünebilir. Fakat gerçekte, çoğu zaman yumurta ve sperm oluşturan hücreler parça değişimini çok iyi yerine getiriyorlar ve kromozomların yanlış kısımlarını karıştırmıyorlar. Evrimsel olarak, kopyalama aynı zamanda insan genomunun, belirli genlerin sayısını oldukça hızlı bir şekilde artırmasının bir yolu olarak da hareket etmiştir. Bu, yararlı olabilir. “Yedek” kopya, evrimsel adaptasyon için hammadde görevi görebilir. Protein kodlayan gen dizisindeki birkaç değişiklik, orijinaline benzer fakat ayrı fonksiyona sahip bir protein oluşturabilir. Belki de memelilerin birbirinden farklı kokuları tespit etmesine izin veren geniş bir gen ailesinin nasıl evrildiğinin yanıtı budur.¹⁵ Bu, insan genomunun sıfırdan başlamak yerine, mevcut genleri ve proteinleri adapte ederek evrildiğinin bir başka temel örneğidir. Bu, genom bağlamında “bir alana bir bedava” teklifinden farksızdır.

Çöp DNA aracılığıyla suçluluktan masumiyete

Bu bölümde şimdiye kadar üzerinde durduğumuz tekrarlayan çöp DNA’nın çoğu, oldukça büyük birimlerden oluşuyor. Bunlar, uzunluğu en az 100 baz çifti olma eğilimindedir ve çoğu zaman daha uzundur. Bu da onların neden genomun çoğunu oluşturduğunu kısmen açıklar. Ancak, birkaç baz çiftinin tekrarından oluşan, çok daha küçük başka çöp birimler de vardır. Bunlara basit tekrar dizileri denir. Frajl X Sendromunu, Friedreich Ataksisini ve Miyotonik Distrofiyi inceleyen bunlara birkaç örnek verdik. Bu vakaların her birinde, üç baz çiftli diziler birkaç kez tekrarlandı ve hastalarda bu sayı maksimum seviyelere ulaştı.

Kısa motiflerin tekrarı insan genomunun yaklaşık yüzde 3’ünü oluşturur. Bireyler arasında oldukça değişkendirler. 6. kromozomun belirli bir yerinde iki baz çiftinin, örneğin GT’nin, keyfi bir şekilde tekrarlandığını düşünelim. Annemden gelen 6. kromozomda bu tekrarın sekiz kopyasını (dizi

GTGTGTGTGTGTGTGT olurdu), babamdan gelen 6. kromozomda ise yedi kopyasını taşıyor olabilirim. Diğer taraftan sen, annenden on kopya, babandan ise dört kopya almış olabilirsin.

Bu basit dizi tekrarlarının çok kullanışlı oldukları anlaşılmıştır. Genomun her yerinde bulunurlar, genomdaki yerleri bireyden bireye çok değişiklik gösterir ve ucuz, hassas yöntemler kullanılarak tespit edilmeleri kolaydır.

Bu özelliklerden dolayı bu tür tekrarlar günümüzde DNA parmak izi olarak kullanılmaktadır. DNA parmak izi, kan veya doku örneklerinin belirli bir birey ile kesin olarak ilişkilendirilebildiği bir işlemdir. Bu işlem hem babalık testini kolaylaştırdı ve hem de adli tıp biliminde devrim yarattı. Adli tıp alanındaki uygulamalarıyla; katliam mağdurlarının tespiti, suçluların mahkûmiyetleri ve yanlış kişinin on yıllardır hapiste olduğu durumlar da dâhil olmak üzere masumların aklanması sağlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 300'den fazla kişi, DNA testi masumiyetlerini belirledikten sonra serbest bırakıldı; bunların yaklaşık 20'si idam cezalarının infazını bekleyen kişilerdi.¹⁶ Üstelik bu davaların yaklaşık yarısında DNA kanıtları sayesinde gerçek suçlu belirlenebildi.

Bir parça çöp için hiç de fena değil.



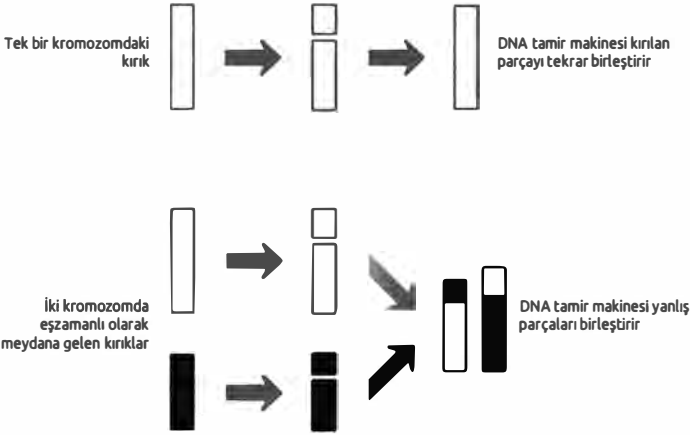
5

Yaşlandıkça Kısalan Yapılar

Dan Aykroyd, Eddie Murphy ve Jamie Lee Curtis'in rol olduğu *Zengin ve Sefil* adlı film 1983 yılında ABD'de gişede 90 milyon doların üzerinde hâsılat elde etti.¹ Karmakarışık bir komedi olmakla birlikte arka planında gen-çevre incelemesi yatıyordu. Başarılı bir insan, doğuştan gelen meziyetlerinden ötürü mü yoksa yerleştirildiği ortamdan dolayı mı başarılıdır? Film hiç tartışmaya yer bırakmayacak şekilde ikinci şıkkın doğru olduğu mesajını veriyordu.

Benzer bir fenomen genomlarımızda da olabilir. Her bir gen, tabiri caizse, bir hücrenin varlığının devam etmesine yardımcı olmak gibi nispeten masum bir rol oynayabilir. Gen sadece işini yapması için gereken miktarda protein üretir. Üretilen proteinin miktarını kontrol etmedeki ana faktör, genin kromozom üzerindeki pozisyonudur.

Gelin şimdi genin yeni bir semte taşındığını hayal edelim, tıpkı Dan Aykroyd'un oynadığı karakterin gecekonduya veya Eddie Murphy'nin oynadığı karakterin ise köşke taşınması gibi. Bu yeni semtte genimiz, daha fazla miktarda protein üretmesini sağlayan yeni genomik bilgilerle çevrilidir. Yüksek miktarda protein, hücreye baskı yaparak, onun büyümesini ve normalden çok daha hızlı bölünmesini sağlar. Bu, kansere yol açan adımlardan biri olabilir. Genin kendisiyle ilgili kötü bir durum yoktur, sadece yanlış zamanda yanlış yerdedir.



Şekil 5.1. Üstte tek bir kromozom kırığı ve hücre tarafından tamiri gösterilmektedir. Altta ise iki kromozom eşzamanlı olarak kırılır. Hücredeki tamir makinesi hangi kromozomda hangi kırığın oluştuğunu ayırt edemeyebilir. Sonuç olarak kromozomlar, uygun olmayan şekilde birleştirilerek hibrit yapılar yaratılabilir.

Bu süreç, bir hücrede iki kromozom aynı anda kırıldığında meydana gelir. Bir kromozom kırıldığında, bir tamir makinesi derhal kırığı hedef alır ve iki ucu tekrar birleştirir. Genellikle bu oldukça düzgün çalışan bir işlemdir ama aynı anda iki (veya daha fazla) kromozom kırığı meydana gelirse, problem yaratabilir. Şekil 5.1’de de gösterildiği gibi kromozomların uçları yanlış bir şekilde birleştirilebilir. Bu, “iyi” bir genin “kötü” bir semte yerleşmesine ve problemlerin kendiliğinden başlamasına neden olabilir. Bu başlı başına bir sorundur çünkü yeniden düzenlenmiş kromozomlar, her hücre bölünmesinde tüm kardeş hücrelere geçecektir. Mekanizmanın muhtemelen en iyi bilinen örneği, Burkitt Lenfoması adı verilen insan kan kanserinde görülür. Burkitt Lenfomasında, 8. ve 14. kromozomları etkileyen bir yeniden düzenlenme yapılır ve bu da hücreleri saldırgan bir şekilde çoğalmaya teşvik eden

bir genin* gerektiğinden çok daha fazla ifade edilmesiyle sonuçlanır.²

Neyse ki, iki kromozomun aynı anda kırılması oldukça nadirdir. Sıklıkla aralarında bir zaman farkı vardır. Böylece çok hızlı hareket edecek şekilde gelişmiş olan DNA'yı onaracak makineler, bu kırıkları tamir edebilirler. Sonuçta, bir kırık ne kadar hızlı tamir edilirse, tek bir hücrede aynı anda birden fazla kırık olma olasılığı o kadar düşük olur. Bir hücrede, kırık uçları belirlemeyi sağlayan mekanizmalar vardır. Hücre, kırık bir DNA parçası olduğunu tespit eder etmez, DNA tamir mekanizması çalışmaya başlar.

Ancak bu bambaşka problemler yaratır. Hücrelerimiz, her biri doğrusal olan 46 kromozom içerir. Diğer bir deyişle, hücrelerimiz daima bir kromozomun her bir ucunda birer tane olmak üzere 92 kromozom ucuna sahiptir. DNA tamir mekanizmasının, kromozomların kusursuz normal uçlarını, kırılmalar sonucu oluşan anormal uçlardan ayırmanın bir yoluna sahip olması gerekir.

DNA bağcıkları

Hücrelerin bunu çözme yolu, kromozomların normal uçlarında özel yapılara sahip olmasında yatar. Bağcıklı ayakkabılar giyiyor musunuz? Eğer yanıtınız evet ise, şu bağcıklara hızlıca bir göz atın. Her iki uçta da metal veya plastikten yapılmış küçük bir kapsül vardır. Bu kapsül bağcığın liflere ayrılmasını önler. Kromozomlarımızın da kendi kapsülleri vardır ve bunlar genomumuzun bütünlüğünü korumak için son derece önemlidir.

Bu kromozom kapsüllerine telomerler denir ve uzun yıllardır bildiğimiz bir tür çöp DNA'ya ek olarak çeşitli protein komplekslerinden yapılır. Telomerik DNA, aynı altı baz çifti-

* Bu, *Myc* adı verilen gendir.

nin, TTAGGG'nin, art arda pek çok kez tekrarlanmasıyla oluşur.³ Bu tekrar dizisi, yeni doğmuş bir bebeğin göbek kordon kanundaki hücrelerde yer alan her kromozomun her bir ucunda toplamda yaklaşık 10.000 baz çifti uzunluğundadır.⁴

Telomerik DNA, yapısal bütünlüğün korunmasına yardımcı olan protein kompleksleri tarafından bağlanır.* Aslında telomer terimi, çöp DNA'yı ve onunla ilişkili proteinlerin kombinasyonunu ifade eder. Bu proteinlerin öneminin grafiksel bir gösterimi, fareler üzerinde çalışan bazı araştırmacılar tarafından 2007'de gösterilmiştir. Proteinlerinden birinin ifadesini, genini tamamen etkisiz hale getirerek devre dışı bıraktılar ve ortaya çıkan fare embriyolarının, gelişimin erken aşamalarında öldüğü sonucuna ulaştılar.**

Araştırmacılar, genetiği değiştirilmiş farelerdeki kromozomları incelediklerinde, kromozomların çoğunun birleştiğini buldular. Uçlar birbirlerine bağlanmıştı çünkü DNA tamir mekanizması telomerleri tanımamıştı; çok sayıda kırık kromozomla karşılaşmış gibi tepki vermiş, elinden geleni yapmış ve hepsini birbirine yapıştırmıştı. Ne yazık ki bunu yaparak, gen ifadesini tamamen düzensiz hale getirmişti. Sonunda, kromozomlar ve hücreler öylesine işlevsiz hale geldi ki, bir tür hücresel intiharı tetikleyerek,*** gelişimi tamamen durdurdular.

Telomerlerin, biyoloji ve insan sağlığı ile ilgili başka bir özelliği daha vardır. 1960'lı yıllarda araştırmacılar, hücrelerin laboratuvarında nasıl bölündüğünü araştırıyorlardı. Anormal değişiklikler sonucu ölümsüz hale gelen hücreler oldukları için kanserli hücrelerle çalışmadılar. Bunun yerine, fibroblast

* Evet, *Uzay Yolu*'nu severim. Bazen.

** Bu gen, *Gcn5* genidir. Proteinlerdeki lizin amino asidine asetil adı verilen küçük bir moleküler grup eklemek de dâhil olmak üzere pek çok fonksiyona sahip bir proteini kodlar.

*** Bu hücre intiharı için teknik terimler programlanmış hücre ölümü veya apoptozdur.

olarak bilinen bir tür hücre üzerinde çalıştılar. Fibroblastlar çok çeşitli insan dokularında bulunur. Fibroblastlar, hücreleri yerinde tutan bir tür kalın duvar kâğıdı yapıştırıcısı gibi olan hücre dışı matrisi salgılar. Ayrıca, biyopsi örneği almak ve fibroblastları izole etmek de oldukça kolaydır. Örneğin biyopsiyi deriden yapabilirsiniz. Fibroblast hücreleri, kültürde büyüyecek ve bölünecektir. Araştırmacıların yıllar önce keşfettikleri bilgi, hücrelerin sonsuza dek bölünmeye devam etmeyecekleriydi. İhtiyaç duydukları tüm besinleri ve oksijeni sağladıklarında bile hücreler, bölünmeyi bıraktıkları bir noktaya geldi. Hücreler ölmediler, sadece çoğalmayı bıraktılar. Buna, yaşlanma denir.⁵

Daha sonra bilim insanları, hücrelerdeki telomerlerin her hücre bölünmesiyle kısalacağını fark ettiler. Bir hücre, her bölünüşünde, içerdiği tüm DNA'yı kopyalar. Bu kopyalama, iki kardeş hücrenin de ana hücreyle aynı 46 kromozomu taşımasını sağlar. Ancak kromozomlardaki DNA'yı kopyalayan sistem, uçlara kadar hatasız gelemmez. Bu yüzden de hücre bölünmeye devam ettikçe, telomerler giderek kısalır.⁶

Fakat bu, telomerlerin kısalmasının aslında hücre yaşlanmasına neden olduğunu kanıtlayamadı. Telomer uzunluğunun hücre çoğalması için bir tür belirteç görevi görmesi oldukça muhtemeldir, ancak hücre davranışındaki değişikliklerde oynayabileceği hiçbir gerçek rolü yoktur.

Bu, bilimsel araştırmada gerçekten önemli bir kavramdır. İki unsur arasında bir ilişki olduğunu görebileceğimiz pek çok durum vardır, ancak otomatik olarak nedensel bir ilişki olduğunu varsaymamalıyız. Örneğin şöyle bir ilişkiyi ele alalım. Gelişen akciğer kanseri ile öksürük pastillerinin tüketilmesi arasında güçlü bir ilişki vardır. Bu elbette ki, öksürük pastili tüketmenin sizi akciğer kanseri yapacağını kanıtlamaz. Birçok insanda akciğer kanserinin ilk belirtirenden biri, sürekli bir öksürük gelişimidir ve öksürüğü olan

biri, rahatsızlıklarını azaltmak için bu pastilleri tüketmeye çalışır.

Telomer kısalmasının gerçekten de yaşlanmaya yol açtığına dair onay, 1990'larda geldi. Bilim insanları, fibroblastlardaki telomerlerin uzunluğu artırılırsa, hücrelerin yaşlanmayı es geçip süresiz olarak büyüyeceğini gösterdiler.⁷

Artık genel olarak telomerlerin moleküler bir saat gibi hareket ettikleri kabul ediliyor. Henüz tüm detaylar belirlenbilmiş değil çünkü çeşitli nedenlerden dolayı araştırılması zor bir biyoloji alanı. Birincisi, herhangi bir hücrede (her kromozomun her iki ucunda birer tane bulunan) 92 telomer bölgesinin hepsi aynı uzunlukta değildir. Bu, bırakın insanı, bir hücre boyunca uygulanabilecek anlamlı bir telomer uzunluğu ölçüsü bulmayı zorlaştırır.⁸ Ayrıca, bilim insanlarının, telomer biyolojisi ile yaşlanma arasındaki ilişkileri araştırmak için en sevdikleri model hayvanı (fare) kullanmaları bile çok zordur. Bunun nedeni ise kemirgenlerin, insanların sahip olduğundan çok daha uzun telomerlere sahip olmasıdır. Haliyle kemirgenlerin insanlardan çok daha kısa ömürlü olması, telomer uzunluğunun yaşlanmanın tek hâkimi olmadığını düşündürmektedir, ancak giderek artan kanıtlar insanlarda büyük bir önem taşıdıklarını göstermektedir.

Bağcıklara sahip çıkın

Şu an için bildiğimiz, hücrelerimizin mücadele etmeden yaşlanma sürecine yenik düşmedikleridir. Hücreler, telomerleri mümkün olduğunca uzun ve sağlam tutmaya çalışmak için bazı mekanizmalar içerir. Bu, hücrelerimizde telomeraz aktivitesiyle başılır. Telomeraz sistemi, kromozomların uçlarına yeni TTAGGG motifleri ekleyerek, temelde hücreler bölündükçe kaybedilen bu çöp DNA parçalarını geri takar. Telomeraz aktivitesi için iki bileşen gerekir. Bunlardan biri, tekrar dizilerini kromozomun uç kısımlarına tekrar ekleyen

bir enzimdir. Diğerisi ise, enzimin doğru bazları eklemesi için bir kalıp olarak iş gören tanımlanmış bir RNA dizisidir.

Dolayısıyla kromozomlarımızın uçları, protein kodlamayan genomik bir malzeme olan çöp DNA'ya ciddi ölçüde bel bağlıyor. Telomerlerin kendileri çöptür ve onları korumak için hücre, RNA üreten bir genin çıktısını kullanır. Ancak bu RNA, asla bir protein için şablon olarak kullanılmaz. Bu RNA'nın kendisi işlevsel bir moleküldür ve hayati bir rol üstlenir.*⁹

Fakat eğer hücrelerimiz, telomeraz sisteminin aktivitesi aracılığıyla telomer uzunluğunu korumak için bir mekanizma içeriyorsa, telomerler neden giderek kısalıyor? Sistemdeki sorun ne, neden düzgün çalışmıyor?

Muhtemelen bunun nedeni, biyolojide, denetlenmeden çalışmasına izin verildiği takdirde iyi çalışabilecek sadece birkaç sistemin mevcut olmasıdır. Ancak, telomeraz aktivitesi hücrelerimizde gerçekten çok sıkı kontrol altında tutulur. Bunun patolojik istisnası kanser hücrelerinde görülür. Kanser hücreleri sıklıkla, yüksek düzeyde telomeraz aktivitesi gösterecek ve uzun telomerlere sahip olacak şekilde adapte olmuştur. Bu da, birçok tümörün agresif büyümesine ve çoğalmasına katkıda bulunur. Hücresel sistemlerimiz muhtemelen evrimsel bir uzlaşmaya varmıştır. Telomerler, üremek için yeteri kadar uzun yaşayabileceğimiz elverişli bir süreye kadar korunmuştur (evrimsel açıdan önemli olan neslin devamını sağlamaktır). Fakat telomerler çok uzun olamıyor çünkü kansere çok erken yenik düşüyoruz.

Bireyin temel telomer uzunluğu, gelişimin oldukça erken aşamalarında, telomeraz aktivitesinde karakteristik olmayan ani bir yükseliş olduğunda, makul bir şekilde ayarlanır.¹⁰ Telomeraz aktivitesi, yumurtaları ve spermeleri meydana getiren

* Ana enzim, *TERT* geni tarafından kodlanır ve RNA kalıbı ise *TERC* olarak da bilinen *TR* geni tarafından kodlanır.

germ hücrelerinde de yüksektir.¹¹ Bu, yavrularımızın telomerlerinin iyi birer uzunluğa sahip olmasını sağlamak içindir.

Pek çok insan dokusu, kök hücre olarak bilinen hücreleri içerir. Bunlar, gerektiğinde yedek hücrelerin üretilmesinden sorumludur. Yeni hücrelere ihtiyaç duyulduğunda, bir kök hücre DNA'sını kopyalar ve sonra onu iki yeni yavru hücreye eşit bir şekilde böler. Tipik olarak, bu yavru hücrelerden biri, tam teşekküllü bir yedek hücreye gelişecektir. Diğer de, aynı şekilde yedek hücre oluşturmaya devam edebilen yeni bir kök hücre olacaktır.

İnsan vücudundaki "en yoğun" hücre tiplerinden biri, kırmızı kan hücreleri ve enfeksiyonla savaşmak için görevdiğimiz hücreler de dâhil olmak üzere tüm kan hücrelerini* meydana getiren kök hücre türüdür. Bu tip kök hücreler, inanılmaz bir oranda çoğalır çünkü hayatımızın her günü karşılaştığımız yabancı patojenlerle savaşan bağışıklık hücrelerini sürekli olarak yenilememiz gerekir. Ayrıca kırmızı kan hücrelerini de yenilememiz gerekir çünkü bu hücreler de yaklaşık dört ay kadar hayatta kalır. İnanılmaz bir şekilde, insan vücudu her saniye yaklaşık 2 milyon kırmızı kan hücresi üretir.¹² Bu da, hücre bölünmesinin bir süreklilik içinde olduğu, muazzam aktif bir kök hücre popülasyonu gerektirir. Bu kök hücreler, telomeraz aktivitesince zenginleştirilmiştir, ama eninde sonunda işlerini düzgün yapamayacak kadar kısa telomerlerden nasibini alır.^{13,14} Yaşlıların, genç erişkinlerden daha fazla enfeksiyon riski altında olmasının bir nedeni de budur. Aslında onların bağışıklık hücreleri tükenir. Kanser oranının yaşla birlikte yükselmesinin sebeplerinden biri de budur. Bağışıklık sistemimiz genellikle anormal hücreleri yok etme konusunda iyi bir iş çıkarmaktadır, ancak bu denetimin etkinliği kök hücreler ölürken azalmaktadır.

* Bu hücre popülasyonunun teknik ismi, hematopoetik kök hücredir (HKH).

Telomerlerimizin uzunluğu neden bu kadar önemli? Onlar sadece birer çöp DNA ise, birkaç bin kodlanmayan TTAGGG'nin yerine birkaç yüz kopya olması neden önemli olsun? Problemin büyük kısmı, telomerlerdeki DNA ile bu DNA'da biriken protein kompleksleri arasındaki ilişkide yatmaktadır. Eğer tekrarlayan DNA dizisinin uzunluğu kritik bir seviyenin altına düşerse, kromozomun ucu koruyucu proteinleri yeterince bağlayamaz. Doğmadan ölen farelerdeki ilgili protein eksikliğinin sonuçlarından birini daha önce görmüştük.

Bu çok uç bir örnekti ama şüphesiz ki telomerlerin birçok koruyucu protein kompleksini bağlayacak kadar uzun olması hayati önem taşır. Bunun farelerde olduğu kadar insanlarda da doğru olduğunu biliyoruz, çünkü telomerleri korumak için gerekli olan sistemlerin belli başlı anahtar bileşenlerinde mutasyonu olan insanlar var. Ancak bildiğimiz mutasyonlar, normal olarak, yaşa bağlı olan belli bozukluklarla ilişkili durumlara yol açmaktadır.

Telomerler ve hastalıklar

Büyük bir çoğunlukla hastalıklara yol açan mutasyonlar; telomeraz genindeki, RNA kalıbını kodlayan gendeki, telomerleri koruyan proteinleri kodlayan genlerdeki ya da telomeraz sisteminin etkili bir şekilde çalışmasına yardımcı olan gendeki* mutasyonlardır.

Temel olarak, bu genlerin herhangi birindeki mutasyonların benzer etkileri olabilir. Basitçe, hücrelerin telomerlerini korumalarını zorlaştırır. Sonuç olarak, bu mutasyonlara sahip hastalarda telomerler, sağlıklı bireylerdekinden daha hızlı bir şekilde kısalır. Böylece, erken yaşlanmayı düşündüren belirtiler geliştirirler. Bu bozukluklar, telomer sendromları olarak bilinir.¹⁵

* Bu gen Diskeratozis konjenita 1 (DKC1) ya da diskerin olarak bilinir.

Diskeratozis konjenita, milyonda bir kişiyi etkileyen nadir bir genetik hastalıktır. Hastalar, bir sürü problemten mustarıptır. Derileri, gelişigüzel koyu renk lekeler içerir. Ağızlarında, ağız kanserine kadar ilerleyebilecek beyaz lekeler gelişir. El ve ayak tırnakları ince ve zayıftır. Başlangıçta kemik iliği yetmezliği ve akciğer problemleri ile başlayan ve bunlar tarafından tetiklenen, ilerleyici ve görünüşe göre geri dönüşü olmayan organ yetmezlikleri yaşarlar. Bu hastalarda, kanser riski de artar.

Bilim insanları, hastalıktan etkilenen farklı ailelerde hastalığın, farklı genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanabileceğini fark ettiler. Günümüzde en az sekiz adet mutasyona uğramış gen biliniyor ve sayısının daha fazla olması da bir hayli mümkün.¹⁶ Tüm genlerin sahip olduğu ortak özellik ise, telomerlerin korunmasında görev almalarıdır. Bu da bize, çöp DNA'nın bu bölgesi nasıl bozulursa bozulsun, son belirtilerin benzer olma eğiliminde olduğunu gösteriyor.

Akciğer problemleri Pulmoner Fibrozis olarak bilinir. Bu durumdan mustarıp olan hastalarda, elden ayaktan düşüren belirtiler görülür. Nefes darlığı çekerler ve çok fazla öksürürler çünkü karbondioksiti ciğerlerinden etkili bir şekilde uzaklaştıramaz ya da oksijeni akciğerlerine kolay bir şekilde alamazlar. Patologlar, bu hastaların akciğerlerine mikroskop altında baktığında, sanki bir yara oluşumu gibi, normal dokunun yerini iltihaplanma ve fibröz doku ile değiştiren büyük bölgelere bıraktığını görürler.¹⁷

Akciğerlerdeki bu klinik ve patolojik bulguların, solunum yolu hastalıklarında oldukça yaygın görülen bulgular olması, bilim insanlarını, idiyopatik pulmoner fibrozisi olan hastalardan alınan örneklerle de bakmaya teşvik etti. İdiyopatik, hastalık için bariz bir sebep olmadığı anlamına gelir.

Araştırmacılar, bu hastaların telomerleri koruyan genlerinde bir kusur olup olmadığını görmek için bazı testler yaptılar ve böylece bu hastalardan herhangi birinin telomerlerinde bir

sorun olmadığını görmek istediler. Toplamda, ailede başka bireylerde de bu hastalık öyküsü olan altı kişiden birinde, ilgili genlerde daha önce tanımlanmamış mutasyonların olduğu gösterildi.^{18,19} Ailede başka hiçbir kişide belirgin pulmoner fibrozis öyküsü bulunmayan hastalarda bile, telomer-ilişkili genlerdeki mutasyonlar, hastaların %1 ila %3'ünde bulundu.^{20,21} Amerika'da, yaklaşık olarak 100.000 İdiyopatik Pulmoner Fibrozis hastası var. Yani, ılımlı bir tahminle, bu hastalardan 15.000'i telomerlerini uygun şekilde koruyamadıkları için muhtemelen hastalığı geliştirmişlerdir.

Telomerleri koruyan mekanizmalardaki kusurlar da farklı bir hastalığa neden olabilir: Kemik iliğinin yeteri kadar kan hücresi üretememesine neden olan aplastik anemi.²² Oldukça nadir rastlanan bu hastalık, yarım milyonda bir kişiyi etkiler. Bu hastalığa yakalanmış kişilerin yaklaşık yirmide birinin telomeraz enziminde veya suç ortağı olan RNA kalıbında mutasyonlar meydana gelmiştir.

Bu hastaların bazılarında hem kemik iliği hem de akciğer problemleri meydana gelebilir ama bir problem klinik olarak diğerinden önce belirgin hale gelir. Bu da hasta tedavi edilirken beklenmeyen sonuçların ortaya çıkmasına yol açabilir. Aplastik anemili hastalar için kullanılan tedavilerden biri, kemik iliği naklidir. Hastaların bağışıklık sistemlerinin yeni kemik iliğini reddetmesini önlemek için hastalara bağışıklık sistemini baskılayacak ilaçlar verilir. Bu ilaçların bazılarının akciğerlerde toksik etkileri olduğu bilinmektedir. Aplastik anemili çoğu hasta için bu gerçekten bir sorun değildir. Ancak telomeraz sistemleri kusurlu olan hastalar için bu ilaçlar, gerçekten ölümcül olabilen akciğer fibrozisini tetikleyebilir.²³ Tedavi, ölüm nedeni haline gelir.

Hekimlerin, bir hastada gördükleri klinik bulguların kalıtsal bir telomer probleminin parçası olduğunu anlayamamalarının garip bir genetik nedeni vardır. Telomeraz kompleksi

genellikle germ hücrelerinde aktiftir, böylece ebeveynler çocuklarına uzun telomerler aktarırlar. Ancak, telomeraz enzimini veya onun suç ortağı RNA faktörünü kodlayan genlerde mutasyon taşıyan ailelerin bazılarında durum böyle değildir. Bunun bir sonucu olarak da her nesil, yavrularına daha kısa telomerler aktarır. Telomerler belirli bir uzunluğun altına düştüğünde hastalık belirtileri geliştiği için, art arda gelen her nesil, telomer uzunluklarının kritik seviyeye düştüğü noktaya daha yakın doğar.²⁴

Bunun etkileri oldukça dramatiktir. Bir büyükanne ya da büyükbaba, görelî olarak uzun telomerlere sahip olabilir ve pulmoner fibrozisini 60'lı yaşlarda geliştirebilir. Onların çocuğu, orta uzunlukta telomerlere sahip olabilir ve akciğer belirtilerini 40'lı yaşlarında gösterebilir. Ancak üçüncü nesil, gerçekten kısa telomerleri miras olarak alabilir ve çocukluk çağında aplastik anemi geliştirebilir.

Ebeveynlerdeki ve büyük ebeveynlerdeki şikâyetler oldukça ileri yaşlarda ortaya çıktığı için, büyüklerden biri henüz herhangi bir hastalık belirtisi göstermeye başlamadan önce torun hasta olabilir. Bu da bir hekimin, ailede genetik bir hastalığın bulunduğunu fark etmesini zorlaştıracaktır. Üstüne bir de hastalıktan en çok etkilenen ile en az etkilenen bireyler arasındaki belirtilerin farklılığı da eklendiğinde, tanı zorluğu iyice artacaktır.

Yaşlı bireylerin gençlerden daha ileri yaşta, hafif ve daha farklı seyreden belirtiler gösterme modeli, 1. Bölüm'de gördüğümüz Miyotonik Distrofideki kalıtım modeline oldukça benzer. Bu çok sıra dışı bir genetik fenomendir ve bunun en açık iki örneğinde etkinin, en nihayetinde çöp DNA'nın uzunluğundaki bir değişiklikten kaynaklandığı dikkat çekicidir.

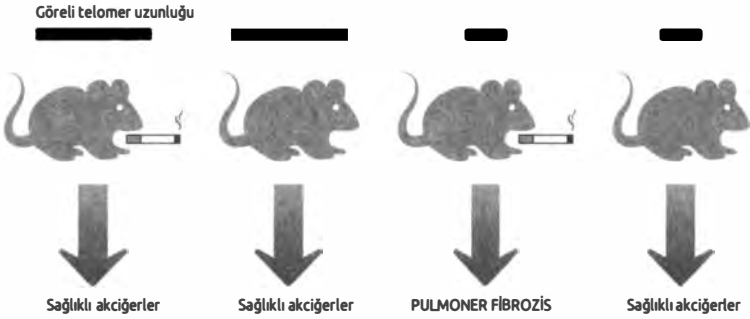
Apaçık ortada olan bir soru ise, diğer dokularla kıyaslandığında bazı dokuların kısa telomerlere neden daha duyarlı olduğudur. Bu sorunun net bir cevabı olmamakla birlikte,

bazı ilginç modeller de ortaya çıkmıyor değil. Örneğin, çok fazla çoğalmanın (proliferasyonun) olduğu dokularda telomerler daha hızlı kısılacağı için, bu dokuların telomer kısalmasından kaynaklanabilecek hatalara duyarlı olması muhtemeldir. Klasik örnek, bu bölümde daha önce de anlatılan kan kök hücre popülasyonudur. Eğer bu hücreler telomerlerinin uzunluğunu korumakta güçlük çekerse, kök hücre popülasyonu önünde sonunda tükenir.

Bu durum aplastik anemi için olası bir açıklama gibi gözüktükçe de pulmoner fibrozis için işe yaramaz. Akciğer dokusu oldukça yavaş çoğalan bir dokudur ama telomer kusurları olan kişilerde pulmoner fibrozis yaygındır. Akciğer hücrelerinde kısaltılmış telomerlerin etkilerinin, genom ve hücre fonksiyonunu etkileyen diğer faktörlerle birlikte çalışması mümkündür. Haliyle bunların gelişmesi zaman alır. Bu nedenle akciğer belirtileri, tipik olarak kan kök hücrelerindeki problemlerden kaynaklanan belirtilerden daha sonra gelişir.

Akciğerlerimiz aldığımız her nefeste potansiyel olarak zararlı kimyasallara maruz kalır, bu yüzden de hatalı telomer yükünü tolere etmek için mücadele etmeleri belki de şaşırtıcı değildir. Solunan tehlikeli kimyasal maddelerin en yaygın kaynaklarından biri tütündür. Tütün kullanımının insan sağlığı üzerindeki küresel etkisi çok büyük. Dünya Sağlık Örgütü, her yıl yaklaşık 6 milyon insanın sigara tüketimi sonucu öldüğünü, bunların yarım milyondan fazlasının ise pasif içici olduğunu tahmin ediyor.²⁵

Araştırmacılar, sigara dumanının etkilerini deneysel olarak incelediler. Fareleri genetik olarak değiştirerek, bazılarının kısa telomerlere sahip olmasını sağladılar ve daha sonra da çeşitli fareleri sigara dumanına maruz bıraktılar.²⁶ Şekil 5.2’de de gösterildiği gibi temelde Pulmoner Fibrozis geliştiren fareler, kısa telomerlere sahip olan ve sigara dumanına maruz kalanlardı.



Şekil 5.2. Farelerde pulmoner fibrozis geliştirmek için genetik bir kusur ve çevresel bir uyarın gerekir. Telomerleri kısaltılan ve sigara dumanına maruz kalmayan fareler fibrozis geliştirmezken, hem kısa telomerlere sahip olup hem de sigara dumanına maruz kalan fareler pulmoner fibrozis hastalığını geliştirmiştir.

Elbette sigara tüketimi insan sağlığını etkileyen tek faktör değildir. Bununla birlikte, sigara içmemek muhtemelen kendiniz için yapabileceğiniz en zekice davranıştır. Zengin ülkelerde insan sağlığını etkileyen en önemli faktör yaşıns kendisidir. Bulaşıcı hastalıklar, erken çocukluk ölümleri ve yetersiz beslenme gibi bizi erken öldüren tüm eski moda etkenlerle mücadelede dev tıbbi, farmakolojik, sosyal ve teknolojik ilerlemeler kaydettiğimizden beri durum böyle.

Tik tak telomer gider

Günümüzde yaşlanmak, kronik durumların gelişimi için en önemli risk faktörüdür. 2025 yılı itibarıyla dünya çapında 60 yaşın üzerinde 1,2 milyardan fazla insanın olduğunu fark ettiğimizde, bu büyük bir sorun olacak.²⁷ Kanseri oranları, 40 yaşın üzerinde çarpıcı bir şekilde yükseliyor. Eğer 80 yaşına kadar yaşarsanız, kansere yakalanma olasılığınız yüzde elli. Eğer 65 yaşın üzerindeyseniz ve bir Amerikalıysanız, kardiyovasküler hastalığa yakalanma olasılığınız da aynı.²⁸ Benzer

şekilde kasvetli bir resim ortaya koyan çok fazla istatistik var, ama neden kendimizi depresyona sokalım? Ama o da ne? İngiltere'deki Royal College of Psychiatrists, 65 yaş üstü kişilerin yaklaşık yüzde 3'ünün klinik depresyona sahip olduğunu ve altı kişiden birinin, başkaları tarafından fark edilen daha hafif depresyon belirtileri olduğunu belirtti.²⁹ Tamam, bu sonuncuydu.

Hepimizin de bildiği gibi, aynı kronolojik yaştaki iki bireyin sağlık durumları birbirinden çok farklı olabilir. Apple'ın kurucu ortağı Steve Jobs, 56 yaşında kanserden öldü. Fauja Singh ilk maratonunu koştuğunda 89, sonuncusunda ise 101 yaşındaydı (hayır, aynı maraton değildi). Hemen hemen her zaman genetik, çevre ve saf şansın bir birleşimi olan uzun ömürlülüğü kontrol eden etkenler hakkında bilmediklerimiz çok fazla. Tek bildiğimiz şudur: Bir kişinin kaç yıl yaşadığını saymak resmin yalnızca bir kısmını görmemizi sağlar.

Geçtiğimiz yıllar içinde telomerlerin, oldukça karmaşık birer moleküler saat olabileceğini anlamaya başladık. Telomerlerin kısalma hızının çevresel faktörlerden etkilenebileceğini fark ettik. Bu da onları, basit bir zaman dizisinden ziyade sağlıklı yılların birer belirteci olarak kullanabileceğimiz anlamına geliyor. Şimdiye kadar elde edilen veri, oldukça öncül ve ne yazık ki her zaman da tutarlı değil. Bunun nedeni, daha önce de belirttiğimiz gibi, telomerlerin tutarlı bir şekilde ölçülmesinin zorluğudur. Ayrıca, onları çoğunlukla kolay ulaşılabildiğimiz hücrelerden ölçmemiz de bir sorun. Bu hücreler, tipik olarak beyaz kan hücreleridir ve her zaman incelenecek en uygun hücre tipi olmayabilir. Fakat tüm bunlara rağmen bazı ilginç bilgiler de ortaya çıkmıyor değil.

Eski düşmanımız olan tütüne geri dönelim. 1000'den fazla kadının beyaz kan hücrelerindeki telomerlerin uzunluğunun

analiz edildiği bir çalışmada araştırmacılar, telomerlerin sigara içenlerde daha kısa olduğunu ve sigara içilen her yıl bu uzunluğun yaklaşık %18'lik bir oranda kısalıldığını buldular. 40 yıl boyunca günde 20 sigara içmenin, telomer ömrünün yaklaşık yedi buçuk yılının kaybedilmesine eşdeğer olduğunu hesapladılar.³⁰

2003 yılında, yaşları 60 ve üzeri olan kişilerin ölüm oranlarına bakılarak yapılan bir araştırma, en kısa telomerlere sahip kişilerin ölüm oranlarının en yüksek olduğunu iddia etti.³¹ Ölüm nedenleri çoğunlukla kardiyovasküler hastalıklarla ilişkiliydi ve bulgular daha sonra ileri yaştaki farklı bir popülasyonda yapılan daha büyük bir çalışmayla da desteklendi.³²

Aşkenazi Yahudilerinden yüz yaş üstü bir grup insanla yapılan bir çalışmada, aynı yaştaki daha kısa telomerlere sahip bireylerle kıyaslandıklarında, uzun telomerlere sahip olanların yaşlanmaya bağlı hastalıklara ait belirtileri daha az gösterdikleri ve daha iyi bilişsel fonksiyona sahip oldukları bulundu.³³

Bazen, sağlığı ve uzun ömrü etkileyen faktörlerin sadece fiziksel faktörler olmadığını unutuyoruz. Kronik psikolojik stres, insanlar için çok zararlı olabilir. Özellikle de kardiyovasküler sağlık ve bağışıklık yanıtı da dâhil pek çok sistem üzerinde olumsuz etkisi vardır.³⁴ Kronik psikolojik stresten mustarip bireyler, daha az stresli bireylerden daha genç yaşta ölme eğilimindedir. Yaşları 20 ile 50 arasında değişen kadınlar üzerinde yapılan bir çalışma, stresli olmayan grupta yer alan kadınlarla kıyaslandığında, kronik stresli grupta bulunanların daha kısa telomerlere sahip olduğunu gösterdi. Bu da, yaklaşık on yıllık bir ömre eşit olarak hesaplandı.³⁵

Küresel insan sağlığına korkunç etkisi olan ve kesinlikle önlenabilir tehditler arasında yer alan obezite, öyle görün-

yor ki sigarayla sıkı bir rekabet halinde. Yine Dünya Sağlık Örgütü'ne dönersek, her yıl yaklaşık 3 milyon yetişkinin obez ya da aşırı kilolu olmasından dolayı öldüğünü öğreniyoruz. Kalp hastalıklarının yaklaşık dörtte biri, fazla kilolu veya obez olan insanlara dayandırılabilir. Obezitenin, tip 2 diyabete ve kanserlerin önemli bir kısmına katkısı daha da kötüdür. Neredeyse tüm tip 2 diyabetlilerin yarısından fazlası aşırı kiloludur ve kanserde bu oran %7 ila %41 arasında değişmektedir.³⁶ Bu küresel salgının ekonomik ve sosyal maliyetleri korkutucudur.

Son bilgiler, hücrelerimizdeki enerji ve metabolizma dalgalanmalarını düzenlemeye ve bunlara yanıt vermeye çalışan sistemler ile telomerlerin kararlılığı da dâhil, genomik bütünlüğü koruyan sistemler arasında önemli bir etkileşim olduğunu göstermiştir.³⁷ Bu nedenle, bilim insanlarının obez bireylerden alınan hücrelerdeki telomerlerin uzunluğunu analiz etmeleri pek de şaşırtıcı değildir. Daha önce ele aldığımız sigara tüketiminin telomer uzunluğu üzerindeki etkisini inceleyen makalede, obezitenin etkilerine de değinilmiştir. Araştırmacılar, sigara tüketimine kıyasla, obeziteyle ilişkili telomer kısalmasının daha belirgin olduğunu ve bunun da yaklaşık dokuz yıllık bir ömre eşit olduğunu buldular.³⁸

Bütün bunlar size kilonuzu kontrol altında tutmanız için ilham verdiyse, bunu dikkatli bir şekilde nasıl yapacağınızı seçin. Birleşmiş Milletler'e göre, 100 yaş ve üstü insanların en yüksek yüzdesine sahip ülke Japonya.³⁹ Bunda geleneksel Japon diyeti hemen hemen kesin bir rol oynar çünkü diyetlerini batı diyetiyle değiştiren Japonların batı bölgelerde görülen kronik hastalıkları geliştirdiği görülmüştür. Geleneksel diyetleri, düşük protein alımına ve nispeten yüksek karbonhidrat seviyelerine dayanır. Ayrıca, sıçanlarda yapı-

lan çalışmalar, erken yaşta düşük proteinli bir diyetin artan yaşam süresiyle ve bunun da uzun telomerlerle ilişkili olduğunu göstermiştir.⁴⁰

Bu nedenle, yüksek proteinli ve düşük karbonhidratlı Atkins veya Dukan diyetlerini benimsemeyi düşünüyorsanız, meseleyi önce bir çöp DNA'nızla görüşün.

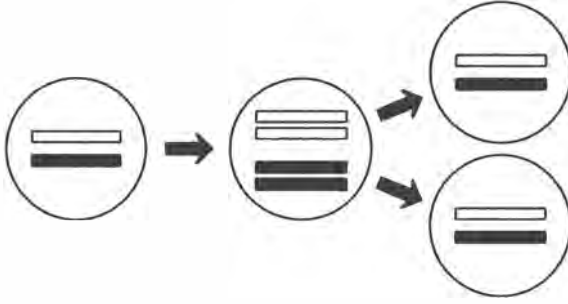
Telomerlerinizin hayır diyebileceğinden şüpheleniyorum.



Mükemmel Sayı: İki

Bir hücre iki olur, iki dört olur, dört sekiz olur (*Kral ve Ben*'de kralın söylediği gibi) “vesaire, vesaire”.¹ İnsan vücudundaki hücre sayısı olan yaklaşık 50 trilyona ulaşana kadar bu böyle devam eder. Bir insan hücresi bölünürken, her iki kardeş hücreye de kendi içerdiği genetik materyalin aynısını tam olarak aktarmak zorundadır. Hücre bunu yapmak için, kendi DNA'sının mükemmel bir kopyasını çıkarır. Bu, her bir kromozomun bir kopyası ile sonuçlanır. İki kopya başlangıçta birbirine bağlı kalır, ancak daha sonra hücrenin zıt kutuplarına çekilir. Şekil 6.1, bunun basit bir şematik gösterimidir.

İster yeni vücut hücreleri oluştururken ister germ hücreleri yumurta veya sperm oluştururken olsun, hücre bölünmesi yanlış giderse, bu bölümde daha sonra göreceğimiz gibi ortaya çıkan etkiler gerçekten ciddi olabilir. Hücre bölünmesi, oldukça koordineli çalışan yüzlerce farklı proteini içeren, son derece karmaşık bir işlemdir. Ne kadar karmaşık olduğu ve hücre bölünmesinin sorunsuz ve başarılı bir şekilde gerçekleşmesinin ne kadar hayati olduğu göz önünde tutulursa, bunun büyük bir kısmının uzun bir çöp DNA dizisine kritik bir şekilde bağlı olması şaşırtıcı görünebilir.

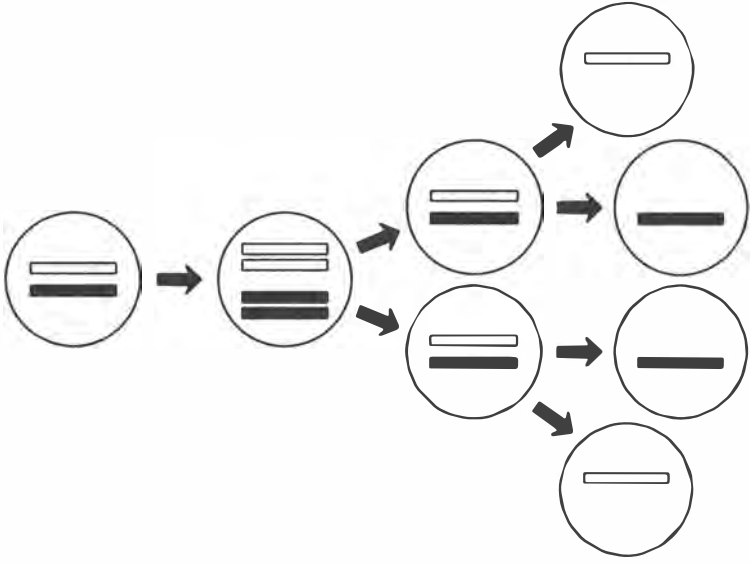


Şekil 6.1. Normal bir hücre, her biri bir ebeveynden olmak üzere, her kromozomun iki kopyasını içerir. Bir hücre bölünmeden önce her kromozom, mükemmel bir kopyası oluşturularak çoğaltılır. Hücre bölünürken bu kopyalar birbirinden ayrılır. Böylece iki yavru hücre oluşturulur ve bu iki hücrede başlangıçtaki hücreyle tamamen aynı kromozomları içerir. Basit bir şekilde ele alabilmek için buradaki görsel, bir insan hücresinde yer alan 23 çift kromozomu göstermek yerine sadece bir çift kromozomu göstermektedir. Farklı renkler, kromozom çiftinin farklı orijinden geldiğini yani her bir ebeveynden bir tane geldiğini göstermektedir. Her ne kadar diyagram sadece çekirdeğin bölünmesini gösterse de, hücrenin geri kalanının bölünmesi de buna eşlik eder.

Çöp DNA'nın bu özel bölgesine sentromer denir ve son bölümdeki telomerlerden farklı olarak sentromer, kromozomun iç kısmında bulunur. Kromozomun yapısına bağlı olarak, aşağı yukarı ortada veya bir uca yakın olabilir. Örneğin, 1. kromozomda her zaman ortaya yakın, 14. kromozomda ise her zaman uçta yer alır.

Aslında sentromerler, kromozomları hücrenin zıt kutuplarına çekerek ayıran bir dizi protein için bağlantı noktalarıdır. Örümcek Adam'ın belli bir konumda durduğunu ve örneğin karşısındaki bir yiyeceği almak istediğini hayal edin. İsteddiği yiyeceğe bir ağ atıyor ve sonra onu kendisine çekiyor. Şimdi de çok küçük bir Örümcek Adam'ın hücrenin bir ucunda durduğunu hayal edin. İsteddiği kromozomun üstüne bir ağ atıyor, ağ yapıyor ve kromozomu hücrenin sonuna kadar çekiyor. Küçük bir Örümcek Adam klonu, aynı çiftteki diğer

kromozom için hücrenin diğer ucunda aynı işlemi yapıyor.



Şekil 6.2. Burada, her bir kromozom çiftinin sadece birini içeren gamet (yumurta ve sperm) üreten hücre bölünmesi işlemi gösterilmektedir. Başlangıçta işlem, Şekil 6.1’de gösterilen standart hücre bölünmesine benzer. Fakat gametler normal kromozom sayısının yarısına sahiptirler ve dolayısıyla, sayıyı yarıya indirmek için ikinci bir bölünme işlemi daha gerçekleşir. Aslında yavrularda daha fazla genetik çeşitlilik yaratmak için genetik materyalin kromozom çiftleri içinde değiş tokuş edildiği bir işlem daha vardır ancak bu işlem şekilde gösterilmemiştir.

Örümcek Adam’ın işi pek de kolay değildir, çünkü kromozom yüzeyinin çoğu, ağ-kovucu ile kaplanmıştır. Ağının yapışabileceği tek bir yer vardır. Burası da sentromerdir. Hücrede sentromer, kromozomu merkezden kutba çeken ve iğ iplikleri denen uzun bir protein dizisine bağlanır.

Sentromerler, tüm türlerde çok önemli ve tutarlı bir rol oynar. İğ iplikleri için gerekli bağlanma noktasını oluşturur. Bu sistemin düzgün çalışması gerekir yoksa hücre bölünmesi hayatla sonuçlanır. Bunun hayati bir süreç olduğu göz önünde

bulundurulduğunda, sentromer DNA dizisinin evrim ağacı boyunca yüksek oranda korunmasını beklerdik. Fakat ne gariptir ki, durum böyle değil. Maya* ve mikroskobik solucanların** ötesine geçip farklı türlere baktığımızda, sentromerlerin DNA dizisinin oldukça değişken olduğunu görürüz.² Aslına bakarsanız, bir sentromerin DNA dizisi aynı hücredeki iki kromozom arasında bile farklılık gösterebilir. İşlevsel tutarlılık karşısında bu dizi çeşitliliği düzeyi gerçekten de oldukça mantığa aykırıdır. Neyse ki, çöp DNA'nın bu hayati bölgesinin bu garip evrimsel hileyi nasıl başardığını anlamaya başladık.

İnsan kromozomlarında sentromerler, 171 baz çifti uzunluğundaki bir DNA dizisinin tekrarlarından oluşur.^{***} Bu 171 baz çifti üst üste tekrarlanır ve toplamda 5 milyon baz uzunluğuna ulaşabilir.³ Sentromerin kritik özelliği, CENP-A (*Sentromerik Protein-A*) olarak adlandırılan proteinin bağlanması için bir yer görevi görmesidir.⁴ CENP-A geni, sentromer DNA'sının aksine türler arasında yüksek oranda korunmuştur.

Bu noktada Örümcek Adam benzetmemiz, daha önce ortaya koyduğumuz görünür evrimsel bilmeceyi anlamak açısından yine faydalı olabilir. Örümcek Adam'ın ağı CENP-A proteinine bağlanabilir. CENP-A proteininin et, tuğla, patates ya da ampullere bağlı olması önemli değildir. CENP-A proteinini herhangi bir yere bağlı olduğu sürece, Örümcek Adam'ın ağı buna yapışacak ve CENP-A ile birlikte bağlandığı nesneyi de süper kahramanımıza doğru çekecektir.

Bu nedenle, sentromerdeki DNA dizisi, türler arasında çok büyük farklılıklar gösterebilir. Önemli olan, CENP-A protei-

* Spesifik olarak, *Saccharomyces cerevisiae* gibi tomurcuklanan maya.

** *Caenorhabditis elegans*.

*** 171 baz çiftlik diziyeye alfa (α) satelit dizisi denir.

ninin aynı kalmasıdır, böylece yüksek oranda korunan iğ iplikleri ona yapışabilir ve kromozomları, bölünen hücrenin zıt kutuplarına çekebilir.

CENP-A, sentromerde bulunan tek protein değildir; başkaları da vardır. Laboratuvar ortamında hücrelerdeki CENP-A'nın ifadesini yok ederek etkilerini araştırmak mümkündür. Normal şartlar altında sentromere bağlanması gereken diğer proteinler bu yok etme işleminden sonra bağlanmayı bırakır.^{5,6} Diğer taraftan, deney başka bir yolla yapıldığında –yani diğer proteinlerden birinin ifadesi engellendiğinde– CENP-A sentromere bağlamaya devam eder.⁷ Bu, CENP-A'nın temel taşı olarak hareket ettiğini göstermektedir.

Araştırmacılar meyve sineklerinden elde edilen hücrelerde CENP-A'yı aşırı ifade ettirdiklerinde, kromozomların alışılmadık pozisyonlarda sentromerler oluşturmaya başladıklarını buldular.⁸ Ancak, insan hücrelerindeki durum daha karmaşık görünmektedir, çünkü CENP-A'nın aşırı ifadesi, yeni, anormal şekilde yerleştirilmiş sentromerlerle sonuçlanmamaktadır.⁹ İnsanlarda CENP-A'nın sentromer oluşumu için gerekli olduğu görülüyor, ancak bu yeterli değil.

CENP-A, iğ ipliklerinin işini yapması için gerekli olan tüm diğer proteinlerin işe alınması için temel köşe taşı görevi görür. Bir hücre aktif olarak bölündüğünde, CENP-A'dan 40'ın üzerinde farklı protein oluşur. LEGO tuğlalarını belirli bir sırayla eklemek gibi, adım adım yapar. Çoğaltılan kromozomlar hücrenin karşı uçlarına çekildikten hemen sonra, bu büyük kompleks tekrar ayrılır. Tüm bu süreç, bir saatten az sürebilir. Bunların hepsini neyin kontrol ettiğini bilmiyoruz, ancak bir kısmı basit bir fiziksel özelliğe bağlı. Normalde, çekirdeğin etrafında bir zar vardır ve büyük protein molekülleri için bu zarı geçebilmek gerçekten zordur. Hücre, çoğaltılan kromozomlarını ayırmaya hazır olduğunda, bu bariyer geçici olarak parçalanır ve proteinler sentromerdeki komplekste

birleşebilir.¹⁰ Bu, evden eve nakliyat kamyonunun kapınızın önüne yanaşmış olmasına benzer bir durumdur. Mobilyalarınızı kamyonu yüklemeye hazırdırlar, ancak siz kapıyı açıp içeri girmelerine izin vermezseniz işe devam edemezler.

Konum, konum, konum

Hâlâ zor bir kavramsal problemle karşı karşıyayız. Eğer sentromerdeki DNA dizisi iyi bir şekilde korunmuyorsa ve kritik faktör CENP-A proteininin yerleşimiye, hücre, her kromozomda sentromerin nerede olduğunu nasıl “biliyor”? Sentromer neden her zaman 1. kromozomun ortasına yakinken, 14. kromozom ucuna yakın?

Bunu anlamak için, hücrelerimizdeki DNA’nın daha kapsamlı bir görüntüsünü elde etmek zorundayız. DNA çift sarmalı, simgesel ve muhtemelen biyolojide tanımlayıcı bir görüntüdür. Fakat bu, DNA’nın neye benzediğini gerçekten de temsil etmez. DNA, çok uzun ve ince bir moleküldür. Bir insan hücresindeki DNA’yı uzatırsanız ve tüm kromozomları uç uca birleştirirseniz, boyu iki metreye varacaktır. Fakat bu DNA, bir hücrenin çekirdeğine sığmak zorundadır ve çekirdeğin çapı sadece bir milimetrenin yüzde biri uzunluğundadır.

Bu, boyu Everest Dağı’nın yüksekliğine eşit olan bir nesneyi, golf topu büyüklüğündeki bir kapsülün içine sığdırmaya çalışmaktan farksızdır. Uzunluğu Everest Dağı’nın yüksekliği kadar olan bir tırmanma halatını bir golf topuna sığdırmaya çalışırsanız kesinlikle sonuç alamazsınız. Öte yandan, tırmanma ipini insan saçından daha ince bir iplikle değiştirirseniz, muhtemelen başarırırsınızdır.

Evet, insan DNA’sı çok uzundur, ama çok da incedir, bu yüzden onu çekirdeğe sığdırmak mümkündür. Öte yandan bir başka zorluk söz konusudur. DNA’yı sadece küçük bir alana sıkıştırmak yeterli değildir. Neden yeterli olmadığı-

nı göstermenin en kolay yolu, yılbaşı ağacını süslemek için kullanılan, üzerine küçük led ampuller dizilmiş kabloları düşünmektir. Yeni yılın ilk günleri geçtikten sonra ışıklı kabloları ağaçtan alıp bir kutuya koyarsanız, çok fazla yer kaplayacaktır. Ayrıca, ertesi yıl tekrar kullanmak üzere kutudan çıkardığınızda kablolar çok büyük olasılıkla birbirlerine dolanacaktır. Dolaşıklığı çözmek çok zamanınızı alacak ve üstelik ledlerin bazılarını kırmanız işten bile olmayacaktır. Bütün bu karmaşıklık içinde, sadece belirli bir ampule ulaşmak için gerçekten mücadele etmeniz gerekir.

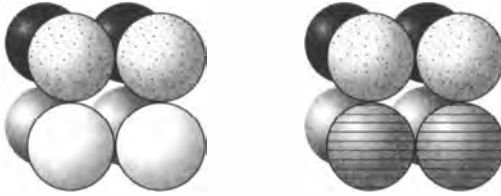
Fakat eğer çok tertipli biriyseniz, her bir kabloyu bir karton parçasına sardıktan sonra kabloların tamamını çok daha küçük bir kutuya sığdırabilirsiniz. Gelecek yılbaşı o küçük kutuda sakladığınız kabloları çıkardığınızda keskin organizasyonel zekânızı kullanmanın ödülünü alırsınız. Sadece saklama alanından tasarruf etmekle kalmaz, kablolar birbirlerine dolaşmadığı için onları kolayca açabilirsiniz, kabloları açarken ledlerin hiçbiri zarar görmez ve favori ampulünüze çok kolay erişirsiniz.

Aynı süreç hücrelerimizde de olur. DNA, rastgele bir tomar buruşuk genetik materyal paketi olarak depolanmaz. Bunun yerine, bazı proteinlerin etrafına sarılır. Böylece, DNA'nın dolaşması ve kırılması önlenir. Ayrıca, düzenli bir şekilde küçük bir alana sıkıştırılması ve gerektiğinde hücrenin her bir geni ayrı ayrı açıp kapamak için farklı bölgelere erişebileceği şekilde yapılandırılması sağlanır.

Hücrelerimizdeki DNA, histon adı verilen belirli proteinlerin etrafına sarılır ve ana hatlarıyla Şekil 6.3'te gösterilmiştir. Her birinden ikişer adet olmak üzere dört farklı yapıdaki histonlar (toplamda sekiz histon proteini) bir araya gelerek bir oktameri oluşturur. DNA, bu oktamerin etrafına sarılır, tıpkı sekiz tenis topunun etrafındaki bir ip gibi. Bütün genomumuzda bu oktamerlerden bol miktarda vardır.



Şekil 6.3. Siyah şerit ile temsil edilen DNA, sekiz histon proteininden (her biri ikiye tane olmak üzere dört farklı protein) oluşan paketin etrafına sarılır.



Şekil 6.4. Solda görülen histon proteinlerinin oktam (sekizli) yapısı, genomun çoğunda bulunan standart düzenlemeyi temsil eder. Sağdaki sekizli ise sentromerlerde bulunan özelleşmiş oktamleri temsil eder. Histon proteinlerinin standart çiftlerinden birinin yerini, CENP-A olarak adlandırılan özelleşmiş sentromer histon protein çifti alır ve şekilde çizgili küreler olarak gösterilmiştir.

CENP-A, bu histon proteinlerinden birinin yakın bir kuzenidir. Aynı amino asit dizisinin çoğunu paylaşır ama bazı önemli farklılıkları vardır. Sentromerde, standart histon proteinlerinden birinin her iki kopyası da eksiktir* ve Şekil 6.4'te de gösterildiği gibi bu eksik olanın yerini CENP-A almıştır.¹¹ Her bir kromozomun sentromerinde CENP-A içeren bu oktamlerden binlerce vardır.

Sentromerlerdeki bu binlerce oktamerde yer alan CENP-A, kromozomları hücrenin zıt kutuplarına ayırmaya çalışırken, iç iplikçiklerine tutunacak bir yer sağlar. CENP-A'yı oktamelerin içine yerleştirmenin etkilerinden biri, sentromer bölgeleri-

* H3 histonları olarak adlandırılır.

nin daha sert hale getirilmesidir.¹² Bir parça jöleye kıyasla, daha sert olan şekerlemeyi çekmeyi denediğimizi düşünürsek, artan sertlik iğ iplikçinin hareketi için bir avantaj olacaktır.

Dönüp dolaşıp aynı sorunla karşılaşmaya devam ediyoruz. CENP-A neden diğer bölgelerde değil de sentromerdeki oktamerlere yerleşiyor? Bu yerleşim, DNA dizisi tarafından yönlendirilmez. Genomumuzun diğer bölgeleri de sentromerlerde bulunanlara benzer dizilere sahip çöp DNA içerir, fakat CENP-A buralarda birikmez.¹³ CENP-A sadece sentromerlerde bulunur. Aslına bakarsanız bazı yönlerden sentromerin ne olduğunu tanımlayan CENP-A'nın varlığıdır. İnsan hücreleri, doğası gereği değişken olan bir ycrin, hücre bölünmesi açısından genetik kararlılığı tamamlamasına neden olacak şekilde nasıl gelişti? Cevap, kendi kendine tohumlanan bir paradigmada yatar. CENP-A bir kez yerleştikten sonra, kendi pozisyonunun devamlılığını sağlamaya ve bunun tüm yavru hücrelere aktarılmasını garanti altına almaya devam eder.¹⁴ Bu, DNA dizisinden bağımsızdır. Daha çok, histon oktamerlerindeki küçük modifikasyonlara bağılıymış gibi görünüyor.

Oktamerlerdeki histon proteinleri, çok çeşitli şekillerde değiştirilebilir. Proteinler, 20 farklı amino asit kombinasyonundan oluşur ve bunların çoğu modifiye edilebilir. Bir proteinde yapılabilecek birçok farklı değişiklik vardır. Bu, diğer proteinler kadar histonlar için de geçerlidir. İnsan sentromerlerinde, CENP-A içeren oktamerlerin ayrılmaz bir bütünlüğü yoktur. Bunun yerine, Şekil 6.5'te de gösterildiği gibi, bu oktamer blokları, standart histon proteinini içeren bloklarla birbiri ardına gelecek şekilde sıralanır. Standart oktamerler, kimyasal modifikasyonların çok karakteristik bir kombinasyonunu taşır. Bunlar sırayla bu modifikasyonlara bağlanan diğer proteinleri de çeker ve bunların görevi bu modifikasyonların korunmasını sağlamaktır.¹⁵ Bütün bunlar, CENP-A içeren oktamerlerin genomda

aynı konuma yerleşmesini sağlar ve bu da sadece kromozom üzerinde tek bir pozisyonunda oluşmaları anlamına gelir. Sentromerlerdeki çöp DNA dizisinin, herhangi bir hücredeki en temel işlemlerden biri için coğrafi iskeleyi sağlamasına rağmen, türler arasında çok değişken olmasının muhtemel nedeni budur.

Sentromerdeki kimyasal modifikasyonlar da genomun o bölgesini sessiz tutma etkisine sahiptir. Bazı sentromerik bölgelerden düşük seviyeli RNA ifadesi olabileceğini gösteren yeni sonuçlar olmasına rağmen, bunun herhangi bir işlevsel önemi olup olmadığı çok net değildir. Esasen, sentromerlerdeki DNA'nın çöp olmak dışında gerçek bir işlevi yoktur. Sadece CENP-A'nın ve onunla ilişkili tüm proteinlerin bağlanabileceği bir konum olarak işlev görür. Hücrenin ondan beklediği tek işlev budur. Açıkçası başka bir amacının olmaması da iyidir, çünkü CENP-A içeren oktamerler bağlanırken diğer amaç bozulabilir. Tam da bu yüzden DNA'nın bu bölgesi evrim sürecinde çok fazla değişebildi, çünkü dizi gerçekten önemli değildi.

Hiçbir unsur yoktan var olmaz

Hâlâ eksik bir aşama var gibi görünebilir. CENP-A, çöp DNA'nın doğru bölgesine ilk sırada bağlanacağını nasıl "bilir?" Bunu düşünme eğilimindeyiz çünkü bir varlığı neyin harekete geçirdiğini bilmek istiyoruz. Fakat bu varsayımı incelersek, bizi çıkmaza soktuğunu fark ediyoruz. Bu noktada *Kral ve Ben*'in yazarı Oscar Hammerstein'dan bir yardım daha isteyebiliriz.



Standart oktamer (sekizli)



CENP-A içeren oktamer

Şekil 6.5. Sentromerlerdeki standart ve CENP-A histon oktamerlerinin alternatif modeli. Netlik sağlamak için, burada sadece az sayıda oktamer gösterilmiştir ancak normalde hücrede binlerce vardır. Her daire

bir oktamerin tamamını temsil eder.

Neşeli Günler (The Sound of Music) adlı müzikalde yüzbaşı von Trapp ile Maria, birlikte söyledikleri “İyi Bir Şey” adlı şarkıda, “Hiçbir şey yoktan var olmaz. Olamaz,” diyorlardı.¹⁶

Ne kadar haklıydılar.

Çıplak insan DNA’sı tamamen işlevsiz bir moleküldür. Hiçbir işlev görmez ve kesinlikle yeni bir insanın hayata gelmesini yönlendiremez. Histonlar ve onların modifikasyonları gibi tüm yardımcı bilgilere ihtiyaç duymanın yanı sıra doğal olarak işlevsel bir hücrenin içinde olması gerekir. Çoğaltılan kromozomlar ayrılıp hücrenin zıt kutuplarına çekildiğinde, her biri bazı histon oktamerlerini doğru pozisyonlarda ve uygun modifikasyonlarla taşır. Yavru hücrelerde, bunlardan, histonların ve modifikasyonların tam resmini yeniden oluşturacak şekilde tohum bölgesi olarak işlev görebilecek yeterli miktarda bulunur. Bu sadece standart histon oktamerleri için değil, CENP-A içerenler için de geçerlidir ve bu yüzden sentromerlerin nerede oluşacağını gösterir. Standart olmayan oktamerler için, standart histonlardan farklı amino asitler içeren CENP-A proteininin yeri, uygun proteinleri çekmek için önemlidir.¹⁷

Kimyasal modifikasyonların bilgisi, yumurta ve sperm üretildiğinde bile korunur.¹⁸ İnsan vücudundaki trilyonlarca hücreye hayat verecek olan bir hücreyi oluşturmak için yumurta ve sperm kaynaşırken, CENP-A içeren oktamerler yerinde kalır. Sentromerlerimiz, çok önce yaşamış uzak atalarımızdan bu zamana kadar insanlığın evrimi boyunca DNA dizilimine değil, proteinlerin pozisyonlarına dayanarak nesilden nesle aktarılmıştır.

İğ iplikçiklerinin çoğaltılan kromozomları hücrelerin zıt kutuplarına çekme şeklini engelleyen ilaçlar vardır. İğ iplikçiği, çok sayıda proteinin bir araya gelmesiyle oluşturulur ve bu proteinler sadece bir hücre kromozomları ayırmaya hazır

olduğunda birleştirir. Paklitaksel adı verilen bir ilaç, iğ iplikçiklerini çok kararlı hale getirerek çalışır, böylece protein kompleksi ayrılamaz.¹⁹

Uzayan bir merdiven taşıyan itfaiye araçlarından biriyle ilgili bir senaryoyla karşılaştırarak bunun neden hücre için kötü bir durum olduğunu görselleştirebiliriz. Yanan bir binanın üst katlarından insanları kurtarmak için merdivenin uzatılabilmesi harikadır. Ancak itfaiye ekibi acil durumdan sonra merdiveni tekrar katlayamazsa ve aracı tamamen uzatılmış merdivenle sürmek zorunda kalırsa, oldukça ciddi bir kaza geçirmeleri çok uzun sürmez. Aynısı paklitaksel ile tedavi edilen hücrelerde de olur. Hücredeki sistemler, iğ iplikçiğinin düzgün bir şekilde devre dışı bırakılmadığını fark eder ve hücrenin yıkımını tetikler. İngiltere’de paklitakselin; küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, meme kanseri ve yumurtalık kanseri de dâhil olmak üzere birçok kanserde kullanımına izin verilmektedir.²⁰

Kanser hücreleri hızlı bölünen hücreler olduğu için paklitaksel muhtemelen etkilidir. Hücre bölünmesini hedef alan bir ilacı kullanarak, kanser hücrelerini normal vücut hücrelerinden daha hızlı bir şekilde öldürmek mümkündür çünkü normal vücut hücreleri o kadar hızlı çoğalmaz. Ancak, kromozomların anormal ayrılmasının da birçok kanser için ayırt edici bir özellik olduğunu biliyoruz.

Sayılar önemli

Eğer kromozomların ayrılması yanlış giderse, yavru hücrelerden biri hem “orijinal” kromozomunu hem de kopyasını alabilir. Diğer yavru hücreye ise hiçbirini aktarlamayacaktır. İlk yavru hücrede fazladan bir kromozom olurken, diğerinde eksik bir kromozom olacak. Kromozom sayısının yanlış olduğu bu durum, anöploidi olarak bilinir. Kelime Yunancadan

türetilmiştir ve *an* “-sız”, *eu* “iyi” ve *ploos* da kat (“iki kat”, “üç kat”taki gibi) demektir. Başka bir deyişle, dengesiz bir genomik durumu temsil eder.

Şaşırtıcı bir şekilde, solid (katı) tümörlerin yaklaşık yüzde 90’ı anöploid olan hücreleri içerir. Yani bu hücreler, yanlış sayıda kromozomu içeren hücrelerdir.²¹ Anöploidinin şekli gerçekten karmaşık olabilir, çünkü işlem yanlış giderse, kromozomların nasıl yanlış ayrıldığına dair kuvvetli bir rastlantısallık derecesi vardır. Tek bir kanser hücresinde; bir kromozomun dört kopyası, diğerinin iki kopyası ve üçüncü kromozomun sadece bir kopyası veya başka kombinasyonlarda kromozomlar olabilir. Bu çeşitlilik nedeniyle, anöploidinin kendisinin mi kanser sürecini başlattığını yoksa sadece hücrelerin kanser durumunun masum bir belirtici mi olduğunu belirlemek çok zordur. Anormal kromozom sayılarının aslında rastgele şekillerinden dolayı, sonuç muhtemelen bir olasılıklar spektrumudur. Bazı kanser hücreleri, daha hızlı hücre çoğalmasını teşvik eden kromozom kombinasyonları geliştirebilir. Diğer kanser hücrelerinin ise tam tersi bir etkiye sahip kombinasyonları olabilir ve bunlar kanser hücresinin intihar sistemini tetikleyebilir. Bazı hücrelerde kombinasyon nötr bir etkiye de sahip olabilir.²²

Dikkat çekici bir şekilde, anöploidi bazı normal hücrelerde de ortaya çıkmaktadır. Yapılan bir araştırmada, farelerin ve insanların beynindeki hücrelerin muhtemelen yüzde 10’unun anöploid olduğu bildirildi.²³ Gelişim sırasında bu oran yükselip yüzde 30 civarına kadar çıkabiliyor, ancak bunların çoğu elimine edilir.²⁴ Söyleyebileceğimiz kadarıyla, beyinde kalan anöploid hücreler fonksiyonel olarak aktiftir.²⁵ Beyin hücrelerindeki anormal sayıda kromozomlara neden sahip olduğumuzu ya da karaciğerde tespit edilen benzer anöploidi bulgularının önemini net bir şekilde bilemiyoruz.²⁶

Yukarıda belirtilen durumlarda, anöploidi, vücut hücrele-

rinin esas kısmı üretildikten sonra gelişir. Öte yandan, kanser gibi bazı durumlarda, yeni vücut hücreleri oluşturan hücre bölünmeleri sırasında ortaya çıkar. Kromozom ayrılmasındaki bu başarısızlıkların etkileri, eğer varsa, nispeten hafiftir. Muhtemelen bunun nedeni, telafi edebilecek çok sayıda normal hücrenin varlığıdır.

Ancak, eğer anöploidi yumurtaların veya spermelerin (gametlerin) oluşumu sırasında meydana gelirse durum çok farklıdır. Eğer bir çift kromozom düzgün şekilde ayrılmazsa, ortaya çıkan gametlerden biri kromozomun ekstra bir kopyasına sahip olacak ve diğeri de bu kromozomdan yoksun kalacaktır. Diyelim ki bu, yumurta oluşumunda oldu ve 21. kromozom, yumurtalar oluşturulurken anormal şekilde ayrıldı. Yumurtalardan biri 21. kromozomun iki kopyasına sahip olurken, diğesinde hiç olmayacak.

Eğer 21. kromozomu olmayan yumurta döllenirse, ortaya çıkan embriyonun sadece bir tane 21. kromozomu olacaktır ve çok hızlı bir şekilde ölecektir. Fakat 21. kromozomun iki kopyasına sahip olan yumurta döllenirse, embriyo bu kromozomun üç kopyasına sahip olacaktır. Her ne kadar bu embriyoların düşük riski, normal düşük riskinden daha yüksek olsa da, birçoğu tamamen gelişir ve çocuk doğar.

Çoğumuz 21. kromozomun üç kopyasına (üç kopyaya sahip olmak trizomi olarak bilinir, bu yüzden trizomi 21 olarak da adlandırılır) sahip olan insanlarla tanışmışızdır veya en azından görmüşüzdür: Kromozom ayrılmasındaki bu bozukluk Down Sendromunun nedenidir.²⁷ Kromozomun iki kopyasına sahip bir spermden veya döllenmeden sonraki ilk birkaç bölünmedeki kromozom ayrılmasının başarısız olmasından dolayı da oluşabilir, ancak maternal (anneye ait) yol en yaygın olanıdır.

Down Sendromu, yaklaşık 700 canlı doğumdan birini etkiler. Genellikle kalp problemleri, karakteristik bir fiziksel ve

yüz görünümü ve artan ya da azalan seviyede öğrenme güçlüğü ile ilişkili karmaşık ve değişken bir hastalıktır. Geçmişe kıyasla günümüzde, Down Sendromlu bireylerin daha iyi tıbbi ve cerrahi müdahaleler sayesinde erişkinliğe erişme ihtimalleri çok daha yüksektir. Ancak nispeten erken başlangıçlı Alzheimer hastalığına tutulma riskleri de yüksektir.²⁸

Down Sendromu özelliklerinin karmaşık doğası, hücrelerimizin doğru sayıda kromozom içermesinin gerçekten önemli olduğunu açıkça göstermektedir. Down Sendromlu hastalarda 21. kromozomun iki yerine üç kopyası vardır. Ancak, kromozom ve dolayısıyla kromozomdaki genlerin sayısındaki bu %50'lik artışın, hücre ve birey üzerinde çarpıcı etkileri vardır. Hücrelerimiz, bu fazlalıkla başa çıkamayacak durumdadır. Bu da bize gen ifadesinin kontrolünün normalde sıkı bir şekilde düzenlenmesi gerektiğini ve büyük bir incelelikle dengelendiğini, sadece nispeten dar parametrelerdeki değişiklikleri telafi edebileceğimizi göstermektedir.

İnsanlarda, her ikisi de Down Sendromundan çok daha ağır koşullarla ilişkili olan, başka iki trizomi daha bulunmuştur. Edward Sendromu, 18. kromozomun trizomisinden kaynaklanır ve 3.000 canlı doğumdan birini etkiler. Trizomi 18'li fetüslerin yaklaşık dörtte üçü anne karnında ölmektedir. Hayatta kalabilen bebeklerin yaklaşık yüzde 90'ı doğumu takip eden ilk bir yılda kardiyovasküler bozukluklar nedeniyle ölmektedir. Bebekler anne karnında çok yavaş büyür ve doğum ağırlıkları düşüktür. Başları, çeneleri ve ağızları küçüktür. Ciddi öğrenme güçlüğü de dâhil olmak üzere bir dizi çoklu sistem problemleri vardır.²⁹

En nadir görüleni ise 13. kromozomun trizomisinden kaynaklanan Patau Sendromudur ve 7.000 canlı doğumdan birini etkiler. Hayatta kalan bebeklerde ciddi gelişimsel anormallikler vardır ve nadiren ilk yıllarında hayatta kalırlar. Kalp ve böbrekler de dâhil olmak üzere çok çeşitli organ sistemleri et-

kilenir. Kafatası şekil bozuklukları ciddi oranda yaygındır ve öğrenme bozukluğu son derece şiddetlidir.³⁰

Fazladan bir kromozomun olmasının bariz gelişim sorunları ile sonuçlanması dikkat çekicidir. Her üç trizomide de, bebeğin doğduğu andan itibaren büyük bir sorunu olduğu çok açıktır. Aslında, doğum öncesi tarama sayesinde, etkilenen fetüslerin çoğu hamilelik sırasında tespit edilebilmektedir. Bu bize, doğru sayıda kromozoma sahip olmanın yüksek koordineli gelişim süreci için hayati öneme sahip olduğunu söylemektedir.

13, 18 ve 21 numaralı kromozomlar hakkında olağandışı bir durum olup olmadığını merak etmek son derece normaldir. Örneğin, yumurtanın ve spermin oluşumu sırasında, kromozomların eşit olmayan şekilde ayrılmasına karşı fazlasıyla duyarlı olmalarına yol açan, sentromerleriyle ilgili farklı bir mekanizma olabilir mi? Ya da klinik bir etkisi olmadığını varsayarak araştırmayı düşünmediğimiz diğer kromozomların trizomileri de olabilir mi?

Bu, görmediklerimizden ziyade gördüklerimize odaklanma tuzağına düşmektir ve bu tuzakla şaşılacak kadar sık karşılaşırız. 13, 18 ve 21. kromozomların trizomileriyle doğan bebekleri görmemizin nedeni, her ne kadar kulağa öyle gelmesede, görece olarak iyi huylu olmalarındandır. Bunlar, en küçük kromozomlardan üçüdür ve her biri nispeten az sayıda gen içerir. Genel olarak, kromozom büyüdükçe, içerdiği gen sayısı da artar. Bu nedenle, örneğin 1. kromozomun trizomisini hiç görmememizin nedeni, büyüklüğüdür. 1. kromozom çok büyüktür ve çok sayıda gen içerir. Bir yumurta ve sperm birleşip, bu kromozomun üç kopyasını taşıyan bir zigot yaratırsa, çok sayıda gen aşırı ifade edileceği ve hücre fonksiyonları felakete uğrarcasına bozulacağı için embriyo çok erken yok edilecektir. Bu, muhtemelen kadın hamile olduğunu bile fark etmeden gerçekleşir.

25 ila 40 yaşları arasındaki kadınlar için, bağışlanan yumurtalar kullanılarak gerçekleştirilen in vitro fertilizasyonda başarı oranı yaştan etkilenmez.³¹ Ancak bir kadının doğal olarak hamile kalma olasılığı, 20'li yaşların ortalarından sonra azalmaktadır. Bu iki durum arasındaki fark, rahminden ziyade annenin yaşının yumurtalarını kritik şekilde etkilediğini önermektedir. Anne yaşının, yumurtalardaki kromozom ayrılmasının başarısını etkilediğini Down Sendromundan dolayı zaten biliyoruz. Bu nedenle, 20'li yaşların ortalarından sonra hamilelik oranındaki düşüşün kısmen embriyo gelişimindeki çok erken başarısızlıklar nedeniyle olabileceğini varsaymak, çok büyük bir adım değildir. Gelişemeyen embriyoların altında yatan nedenler ise işlevsiz sentromer aktivitesi ve büyük kromozomların fena halde yanlış dağılmasıyla yaratılan yumurtalar olabilir.



7

Yağlı Boya Çöp Tablosu

2011-2012 arasında, on iki aylık bir süre içerisinde İngiltere’de 813.200 bebek doğdu.¹ Önceki bölümde belirtilen oranları kullanarak, bu bebeklerin yaklaşık 1.200’ünün Down Sendromuna, yaklaşık 270’inin Edward Sendromuna ve yaklaşık 120’sinin de Patau Sendromuna sahip olduğunu tahmin edebiliriz. Bu, bir kromozomun çok fazla kopyasına sahip olmanın çok zararlı olduğu şeklindeki düşünceyle tutarlıdır çünkü genel olarak, kromozom artışlarının ortaya çıktığı durumlarda yüksek hayatta kalma oranları beklemeziz.

Bu, o dönemde doğan bebeklerin yaklaşık yarısının ki bu da 400.000’den fazla çocuk demek, fazladan bir kromozomla doğduğunu öğrenmeyi daha da şaşırtıcı hale getiriyor. Yani doğan her iki bebekten biri, fazladan kromozomla doğdu. Daha da kafa karıştıranı ise, fazladan kromozom, küçük mink bir genetik kalıntı değildir. Bu gerçekten büyük bir kromozomdur. Nasıl oluyor da çok küçük bir kromozomun fazladan bir kopyası Edward veya Patau Sendromları gibi yıkıcı durumlara neden olabiliyor?

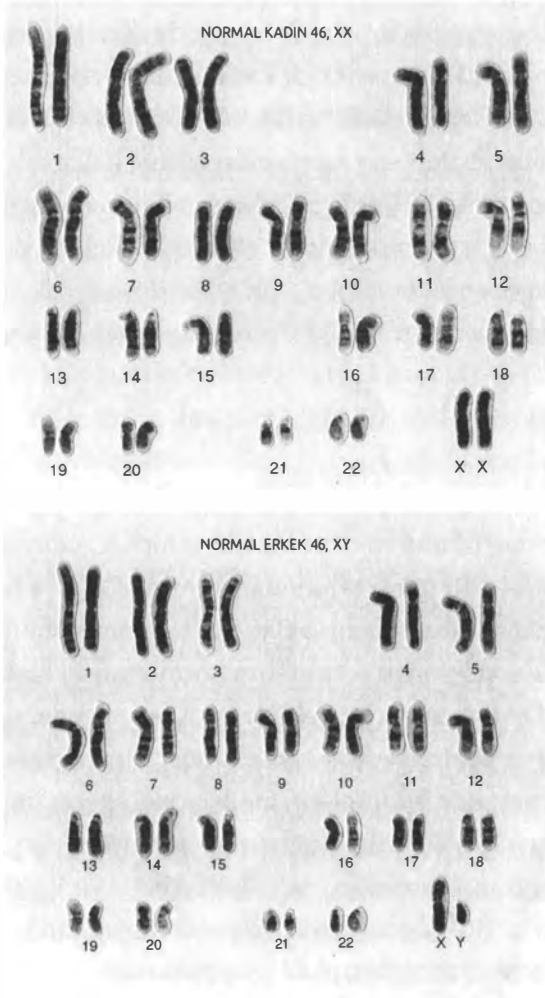
Buradaki suçlu, X kromozomu olarak bilinir ve zarar vermesinin önlenmesi, tamamen çöp DNA’ya dayanan bir işlemdir. Fakat bu korumanın nasıl gerçekleştiğini keşfetmeye geç-

meden önce, bizzat X kromozomunun doğasını anlamamız gerekir.

Çoğu zaman bir hücredeki kromozomlar çok uzun ve iplik ipliklidir. Onları birbirinden ayırt etmek zordur. Normal bir ışık mikroskobu altında incelendiğinde, büyük bir dolaşmış yün yumağı gibi görünür. Ancak hücre bölünmeye hazır olduğunda, kromozomlar şekillenerek kompakt bir hale gelir ve gerçekten bireysel varlık gösterirler. Doğru teknikleri biliyorsanız, kompakt hale gelen kromozomları çekirdekten izole edebilir, onları belirli kimyasallarla boyayabilir ve tek tek mikroskop altında inceleyebilirsiniz. Bu aşamada kromozomlar daha çok ayrı ayrı nakış ipi yumaklarına benzer ve sentromer de sanki iplik yumağının çevresine sarılarak onu bir arada tutan kâğıt şerit gibidir.

Günümüzde, insan hücresindeki kromozom setinin fotoğraflarını analiz ederek, bilim insanları her bir kromozomu tanımlayabilmektedirler. Kelimenin tam anlamıyla, her bir kromozom görüntüsünü kesip yapıştırarak sıraya dizerler. Kromozomların sıralanması sayesinde araştırmacılar, etkilenen çocuklardan alınan hücrelerde bulunan kromozomları analiz ederek Down, Edward ve Patau Sendromlarının nedenlerini keşfedebildiler.

Bu ciddi durumların altında yatan sorunları tespit etmeden önce ilk araştırmacılar, genetik materyalimizin temel organizasyonunu keşfettiler. İnsan hücresindeki normal kromozom sayısının 46 olduğunu gösterdiler. Bunun tek istisnası, her biri 23 kromozom taşıyan yumurtalar ve spermelerdir. Kromozomlarımız, annemizden ve babamızdan eşit şekilde kalıt alınarak çiftler halinde düzenlenir. Başka bir deyişle, 1. kromozomun bir kopyası anneden diğeri ise babadan gelir. Aynısı 2. ve diğer tüm kromozomlar için de geçerlidir.



Şekil 7.1. Bir hücrede bulunan tüm kromozomları gösteren standart kadın ve erkek karyotipleri. Üst panelde kadın karyotipi, alt panelde ise erkek karyotipi gösterilmiştir. Aradaki tek fark son kromozom çiftindedir. Kadınlar iki büyük X kromozomuna sahipken, erkekler bir büyük X ve bir küçük Y kromozomuna sahiptir (Wessex Bölgesel Genetik Merkezi, Wellcome Images).

1'den 22'ye kadar olan kromozomlar için bu durum geçerlidir. Bunlar otozomlar olarak bilinir. Sadece hücredeki otozomlara bakarak, hücrenin bir kadına mı yoksa erkeğe mi ait olduğunu söyleyemeyiz. Ancak cinsiyet (seks) kromozomu olarak bilinen kalan son kromozom çiftine bakarsak, bu bilgi hemen belirginleşir. Dişiler, X olarak bilinen iki aynı büyüklükteki cinsiyet kromozomuna sahiptir. Erkekler ise, sadece bir X kromozomuna ve Y olarak adlandırılan çok küçük bir kromozoma sahiptir. Bu iki durum da Şekil 7.1'de gösterilmektedir.

Y kromozomu küçük olabilir, ancak şaşırtıcı bir etkiye sahiptir. Gelişen embriyonun cinsiyetini belirleyen, Y kromozomunun varlığıdır. Çok az sayıda gen içerir ama bu genler cinsiyet yönetiminde hayati öneme sahiptir. Aslında, büyük ölçüde sadece bir gen^{*2} tarafından kontrol edilir ve bu gen de testislerin oluşturulmasını sağlar. Bu da, embriyonun erkeksileşmesiyle sonuçlanan testosteron hormonunun üretilmesine yol açar. Dikkat çekici bir şekilde yeni bir çalışma, sadece bu ve bir diğer genin, sadece erkek fareler oluşturmak için değil, aynı zamanda bu farelerin fonksiyonel sperm üretmesi ve baba olması için yeterli olduğunu göstermiştir.³

Öte yandan, X kromozomu çok büyüktür ve 1.000'den fazla gen içerir.⁴ Bu da potansiyel bir problem yaratır. Erkeklerde X kromozomunun yalnızca bir kopyası vardır ve dolayısıyla bu genlerin her birinin bir kopyası vardır. Fakat dişilerde bu sayı ikiye katlanır. Bu yüzden teorik olarak erkeklerde X kromozomu tarafından kodlanan ürünlerin iki katını üretirler. 6. Bölüm'de tarif edilen trizomik koşullar, küçük bir kromozomdaki genlerin ifadesindeki yüzde 50'lik bir artışın bile gelişme üzerinde oldukça zararlı bir etkiye sahip olduğunu gösterdi.

* Bu gen, SRY olarak adlandırılır.

O halde kadınlar, erkeklere kıyasla, 1.000'den fazla gen ifade-sindeki yüzde 100'lük bir artışı nasıl tolere edebiliyorlar?

Kadınlardaki kapatma düğmesi

Cevap, tolere etmedikleridir. Dişiler hücrelerinde, erkeklerle aynı miktarda X kromozomundan kodlanan protein üretir. Bunu da, her hücredeki iki X kromozomundan birinin kapatıldığı oldukça zekice bir düzenleme ile başarırlar. Bu işlem, X-inaktivasyonu olarak bilinir. Bu işlem insan yaşamı için son derece gerekli olmakla birlikte, ortaya çıkan süreç, hâlâ yoğun bir inceleme konusu olan yeni ve tamamen beklenmedik bi-yoloji alanları da açtı.

Fark ettiğimiz en garip detaylardan biri, hücrelerimizin X kromozomlarının sayısını sayabilmesidir. Erkek hücreleri bir X ve bir Y kromozomu içerir ve hiçbir zaman tek X'i inaktive edip etkisiz hale getirmezler. Ama bazen iki X ve bir Y kromozomu olan erkekler doğar. Onlar hâlâ erkektir, çünkü erkeklığe neden olan Y kromozomudur. Fakat hücreleri, dişî hücrelerin de yaptığı gibi ekstra X'i etkisiz hale getirir.

Benzer bir işlem kadınlarda olur. Bazen, her hücresinde üç X kromozomu olan dişiler doğar. Bu olduğunda, hücreler bir yerine iki X kromozomunu kapatarak etkisizleştirir. Bunun tersi, yalnızca bir X kromozomuna sahip olarak doğan dişîlerdir ve bu durumda hücreler, X'i kapatmaz.

Hücrelerimiz sayabilmenin yanı sıra hatırlayabilir de. Bir dişî yumurta üretirken, genellikle her bir yumurtaya, X kromozomu da dâhil olmak üzere her bir kromozom çiftinden birini verir. Bir erkek ise, bir X veya bir Y kromozomu içeren spermler üretir. X kromozomu içeren bir sperm, bir yumurtayla birleştğinde ortaya çıkan tek hücreli zigot, iki X kromozomu içerir ve her ikisi de aktiftir. Fakat gelişimin çok erken aşamalarında, yalnızca birkaç tur hücre bölünmesinden sonra, embriyonun her bir hücresinde bir X kromozomu inakti-

ve edilir. Bu bazen babadan gelen, bazen de anneden gelen X kromozomudur. Daha sonra gelişen her bir yavru hücre, ana hücreyle aynı X kromozomunu kapatır. Bu, yetişkin kadın vücudundaki 50 trilyon civarındaki hücrenin ortalama olarak yaklaşık yarısının yumurta tarafından sağlanan X kromozomunu ifade edeceği ve diğer yarısının sperm tarafından sağlanan X kromozomunu ifade edeceği anlamına gelir.

Bir X kromozomu inaktive edildiğinde, çok sıra dışı bir şekle girer. DNA inanılmaz derecede sıkıştırılır. Arkadaşınızla karşı karşıya geçip, bir havluyu uçlarından tuttuğunuzu hayal edin. Havlunun uçlarını saat yönünde çevirmeye başlarsınız. Havlu hızla buruldu ve ikiniz birbirinize yaklaştınız. Şimdi, havlunun yaklaşık beş metre uzunluğunda olduğunu hayal edin. Bu havluyu doğrusal uzunluğu bir milimetreye inene kadar burmaya devam ettiğinizi varsayın. Bu aşamada havlu, olağanüstü ölçüde sıkı ve gergin olacaktır. Aslında X kromozomu, o havlu kadar sıkıştırılır. Bu sıkılaştırmanın sonuçlarından biri, diğer tüm kromozomların uzun ve ipliksi olduğu ve görselleştirilemediği durumlarda, bir dişi hücrenin çekirdeğine mikroskopla bakıldığında görülebilen yoğun bir yapı oluşturmastır. Yoğunlaştırılmış X kromozomuna, Barr cisimciği denir.

X kromozomu inaktivasyonunun nasıl gerçekleştiğini anlamak için bilim insanları, sıra dışı hücre hatları ve fare suşları üzerinde çalıştılar. X kromozomunun parçalarının kaybolduğu veya bir parçasının diğer kromozomlara aktarıldığı örneklerle odaklandılar. X kromozomunun bir kısmını kaybetmiş olan bazı hücreler, Barr cisimciğinin varlığından anlaşıldığı üzere, X kromozomlarından birini etkisiz hale getirmeye devam edebildi. Ancak X'in farklı bir bölümünü kaybeden hücreler, Barr cisimciğini oluşturmamışlar yani kromozomu inaktive edemediler. X kromozomunun parçaları başka kromozomlara transfer edildiğinde ise, bu anormal kromozom-

lar bazen inaktive edilebildi ama bazen edilemedi. Hepsi, X kromozomunun hangi parçasının aktarıldığına bağlıydı.

Bu veriler araştırmacıların, X kromozomu üzerindeki inaktivasyon için anahtar olabilecek bölgeyi daraltmasını sağlamıştır. Akılcı bir şekilde bu bölgeye, X inaktivasyon merkezi dediler. 1991’de bir grup araştırmacı, bu bölgenin, Xist* olarak adlandırdıkları bir geni içerdiğini bildirdiler. Sadece inaktif kromozom üzerindeki Xist geni, Xist RNA’sını ifade eder.^{5,6} Bu çok anlamlıdır çünkü X inaktivasyonu asimetrik bir işlemdir. Eşdeğer X kromozomu çiftinden biri etkisiz hale getirilirken, diğeri getirilmez. Dolayısıyla bu sürecin, X kromozomunun biri gen ifade ederken diğerinin ifade etmediği bir senaryo tarafından yönlendirilmesi tutarlı görünüyordu.

Devasa bir çöp

Bir sonraki sorunun, Xist’in nasıl çalıştığı olacağı açıktı ve araştırmacıların yaptığı ilk iş, ürettiği protein dizisini tahmin etmeye çalışmak oldu. Bu işlem genellikle görece olarak basittir. Xist RNA molekülünün sırasını bir kez bulduktan sonra, bilim insanlarının tek yapmaları gereken, amino asit kodlarının dizisini tahmin edebilecek basit bir bilgisayar programı çalıştırmaktır. Xist RNA’sı çok uzundur ve yaklaşık 17.000 baz içerir. Her amino asit, üçlü bazlar halinde kodlanır, böylece 17.000 bazlık bir RNA, 5.700’den fazla amino asitten oluşan bir proteini teorik olarak kodlayabilir. Ancak, Xist RNA’sının dizisi incelendiğinde, amino asitlerin en uzununun 300’ün altında olduğunu gördüler. İlk olarak 2. Bölüm’de de gördüğümüz gibi, Xist RNA’sı uçbirleştirme işlemine rağmen, araya giren tüm çöp dizilerini kaybetmişti.

“Sorun”; Xist RNA’sının, amino asit kodlamayan, ancak protein zincirleri oluşturulurken durdurma sinyalleri gibi

* Xist ismi, X-inaktif ifadesinden türetilmiştir.

davranan dizileri serbestçe dağıtmış olmasıydı. Bunu, LEGO'dan yapılmış yüksek bir kule inşa etmeye çalışmak gibi düşünebiliriz. Üstünde hiçbir bağlantı çıkıntısı bulunmayan çatı tuğlalarından birini yerleştirdikten sonra, kulenizi daha fazla yükseltebilirsiniz.

Eğer Xist bir proteini kodlamış olsaydı, bir hücre, uzunluğunun yaklaşık yüzde 5'ine sahip bir RNA tarafından kodlanabilecek olan bir proteini üretmek için, uzunluğu 17.000 baz* olan bir RNA oluşturma çabasına girerdi ki bu çok garip görünürdü. Bu alandaki araştırmacılar da, görece olarak hızlı bir şekilde olayın böyle olmadığını anladılar. Gerçek, çok daha tuhaftı.

DNA, çekirdekte bulunur ve RNA oluşturmak için kopyalanır. Mesajcı RNA, protein oluşturmak için kalıp görevi göreceği çekirdeğin dışındaki yapılara taşınır. Ancak yapılan analizler, Xist RNA'sının çekirdeği asla terk etmediğini gösterdi. Küçük bir proteini bile kodlamıyordu.^{7,8}

Xist aslında, bir protein için bilgi taşıyıcısı olarak değil, kendi başına işlevsel olan bir RNA molekülünün ilk örneklerinden biriydi. Bu, çöp DNA'nın, yani bir protein üretimine yol açmayan DNA'nın, çöp olamayacağını gösteren harika bir örnektir. Kendi başına son derece önemlidir, çünkü onsuz X inaktivasyonu gerçekleşemez.

Xist'in tek garip özelliği sadece çekirdeği terk etmemesi değildir. Onu üreten X kromozomunu bile terk etmez. Bunun yerine, öncelikli olarak inaktif X'e yapışır ve sonra kromozoma yayılır. Gitgide daha fazla Xist RNA üretildikçe, tuhaf bir şekilde "boyama" olarak adlandırılan bir süreçte, aktif olmayan X kromozomuna yayılır ve onu kapatmaya başlar. Bu oldukça açıklayıcı terimin kullanılması, özellikle anlamadığımız bir durum olduğuna dair oldukça iyi bir göstergedir.

* RNA, tek zincirli olduğu için baz çifti yerine baz kullanılır.

Hiç kimse, Xist RNA'sının bir duvarı hızla saran bir sarmaşık gibi kromozom boyunca nasıl süründüğünün fiziksel temelini gerçekten bilmiyor. Yirmi yıldan fazla bir süre geçmesine rağmen, bunun nasıl gerçekleştiği konusunda hâlâ oldukça kararsızız. Tek bildiğimiz, X kromozomu dizisine dayanmadığı. Eğer X inaktivasyon merkezi, hücre içindeki bir otozoma aktarılırsa, o zaman otozom sanki bir X'miş gibi inaktive edilebilir.⁹

Her ne kadar Xist, X inaktivasyonunu başlatmak için gerekli olsa da, süreci güçlendiren ve sürdüren yardımcıları vardır. Xist, X kromozomunu boyarken, çekirdekteki proteinler için bir bağlanma noktası olarak işlev görür. Bunlar inaktif X'e bağlanır ve onun ifade edilmesini daha da sıkı bir şekilde kapatacak olan diğer proteini çeker. Xist RNA'sı ve bu proteinlerle kaplı olmayan tek gen, Xist geninin kendisidir ve inaktif X'in kromozomal karanlığında küçük bir ışık olarak kalır.¹⁰

Soldan sağa, sağdan sola

İnsan ırkının yarısı için bir parça protein kodlamayan “çöp” DNA'nın kesinlikle gerekli olduğu bir durum vardır. Yakın bir zamanda bilim insanları, X inaktivasyonu işleminin en az bir başka çöp DNA parçasına daha gereksinim gösterdiğini keşfetti. Kafa karıştırıcı bir şekilde, bu, X kromozomunda Xist ile tamamen aynı yerde kodlanır. Bildiğimiz üzere DNA, iki zincirden (ikonik çift sarmal) oluşur. RNA oluşturmak için DNA'yı kopyalan makine her zaman bir yöndeki DNA'yı “okur” ve bu yönü de başlangıcı ve bitişi olan belirli bir dizi olarak tanımlayabiliriz. Ancak DNA'nın iki zinciri birbirine zıt yönde ilerler. Tıpkı eski tatil beldelerinde bulduğumuz föniküler demiryollarından birine benzer. Bu, belirli bir DNA bölgesinin, birbirine zıt yönde ilerleyen mevcut bir noktasında iki farklı bilgi taşıyabileceği anlamına gelir.

Basit bir örnek, soldan sağa okunarak oluşan ELİF kelimesidir. Aynı harfleri sağdan sola da okuyabilirdik ve bu durumda FİLE kelimesini elde ederdik. Aynı harfler, farklı kelimeler, farklı anlamlar.

X inaktivasyonunda yer alan çöp DNA'sının diğer önemli parçasına, oldukça uygun bir şekilde Tsix denir. Elbette bu, Xist'in tersten okunuşudur. Xist ile aynı bölgede, ancak diğer zincirde bulunur. Tsix, uzunluğu 40.000 baz olan bir RNA kodlar ve bu Xist RNA'sının iki katı büyüklüğündedir. Tıpkı Xist gibi, Tsix de çekirdeği asla terk etmez.

Her ne kadar Tsix ve Xist, X kromozomunun aynı bölgesi üzerinden kodlansa da, birlikte ifade edilmez. Bir X kromozomunun Tsix'i ifade etmesi, aynı kromozomun Xist'i ifade etmesini engeller. Bu da, her zaman inaktif X'ten ifade edilen Xist'in aksine, Tsix'in aktif X kromozomu tarafından ifade edilmesi gerektiği anlamına gelir.

Tsix ve Xist'in bu birbirini dışlayan ifadesi, erken gelişim aşamasında kritik öneme sahiptir. Örneğin, yumurtadaki X kromozomu, inaktive edileceğini (tabi ediliyorsa) gösteren protein işaretlerinden birini kaybetsin ve spermdeki X kromozomu ise hiçbir zaman inaktif edilmeyecek olsun. Birleşmeyi takip eden hücre bölünmesinin altıncı ya da yedinci döngüsünde, embriyoda yüzlerce hücre olacaktır. Bu aşamada, dişi embriyodaki her bir hücre, iki X kromozomundan birini rastgele kapatır. Bu, bir hücredeki X kromozomu çifti arasında kısacık ama yoğun bir fiziksel ilişki gerektirir. İki X kromozomu, birinin etkisiz hale gelmesiyle sona eren sadece birkaç saatlik kısa bir karşılaşmada fiziksel olarak ilişkilidir. İlişki, sadece X kromozomunun küçük bir bölgesi üzerindedir ki burası da hem Xist hem de Tsix RNA'sını kodlayan X inaktivasyon merkezidir.¹¹

Kısacık bir an sonsuza kadar sürer

Bu tüm tek gecelik ilişkilerin anasıdır. Bu iki saat içinde, daha sonra yaşamın geri kalanı için sürdürülecek kromozomal kararlar alınır. Sadece fetal gelişim sırasında değil, yüz yıldan fazla sürecek bile olsa, kadın ölene kadar geçerlidir. Üstelik sadece yüz kadar hücreyi değil, onlardan gelen trilyonları da etkiler, çünkü aynı X kromozomu tüm yavru hücrelerde inaktif edilir.

Gelişimin erken aşamalarında X kromozomunun bu özelleşme sürecinin ilk başladığı anlarda ne olduğu henüz tam olarak bilinmiyor. Mevcut teoride, iki kromozom arasındaki çöp RNA'nın yeniden paylaştırılması vardır ve bu iki X kromozomundan biri Xist'le sonuçlanarak inaktifleşir. Nasıl olduğunu bilmiyoruz ama bir kromozom biraz daha fazla veya daha az Xist veya bir başka önemli faktörü ifade ediyor olabilir. Bildiğimiz, Tsix seviyelerinin düşmeye başlamasıyla birlikte sürecin başladığı. Seviyeleri belirli bir kritik eşiğin altına düştüğünde Xist, X kromozomlarından birinde ifade edilmeye başlıyor olabilir.

Gen ifadesi, tahmini bir bileşene sahip olma eğilimindedir ki bununla da aslında ifade seviyelerinde biraz rastgele değişiklik olabileceğini söylemek istiyoruz. Örneğin kromozomlardan biri, bir veya daha fazla kilit faktörü biraz daha yüksek miktarda ifade ediyorsa bu, protein ve RNA moleküllerinin kendiliğinden çoğalan bağlantılarını oluşturması için yeterli olabilir. İfadedeki eşitsizliğin aslında rastgele (düzensiz “gürültü” nedeniyle) olmasından dolayı, inaktivasyon da yüzlerce hücre boyunca rastgele olacaktır.

Gelin bunu daha kolay bir şekilde hayal etmeye çalışalım. Bir akşam eve geç saatte döndüğünüzü ve canınızın iki dilim kızarmış ekmek üzerinde eritilmiş peynir çektiğini düşünün. Bu lezzetli akşam yemeğini hazırlamaya başladığınızda, buz-

dolabında yeteri kadar peynir bulunmadığını fark ediyorsunuz. Ne yaparsınız? Kendinizi doyurmak için gerçekten yeterli miktarda peynir içermeyen iki dilim mi yaparsınız? Ya da hepsini tek bir dilimin üzerine koyup, yemeye can attığınız sonucu mu elde edersiniz? Muhtemelen çoğu insan ikincisini seçer. Bir şekilde bu, embriyoda rastgele inaktivasyonun gerçekleştiği faz sırasında X kromozom çiftinin yaptığıdır. Evrim, her birinin kritik bir anahtar faktöre sahip olmasından ziyade faktörün, başlangıçta biraz daha fazla olduğu kromozoma göç ettiği bir süreci destekledi. Ne kadar eklemek, o kadar köfte.

X inaktivasyonu tamamen “çöp” DNA’ya bağlıdır ve gerçekten bu terminolojiyi yalanlar. Dişilerde bu süreç normal hücre fonksiyonu ve sağlıklı bir yaşam için kesinlikle önemlidir. Ayrıca, çeşitli hastalık durumlarıyla da ilişkilidir. 1. Bölüm’de karışlaştığımız zihinsel gelişim geriliğinin görüldüğü tam gelişmiş Frajil X Sendromu, sadece erkekleri etkiler. Bunun nedeni, genin X kromozomu üzerinde taşınır. Kadınların iki X kromozomu vardır. Kromozomlarından biri mutasyon taşısa bile, normal olan diğerinden kötü belirtilerin görülmesini engelleyecek kadar yeterli protein üretilir. Ancak, erkekler sadece bir X ve bir Y kromozomuna sahiptir. Y kromozomu çok küçüktür ve cinsiyet belirleyici genler dışında pek fazla gen taşımamaktadır. Sonuç olarak, X kromozomlarında bir mutasyon taşıyan erkeklerde, telafi edici normal bir Frajil X geni yoktur. Eğer tek X kromozomları Frajil X’teki tekrar sayısı artışını taşırsa, proteini üretemezler ve böylece hastalık belirtileri geliştirirler.

Bu durum, X kromozomu üzerinde taşınan genlerin mutasyona uğraması sonucu gelişen bir dizi genetik hastalık için de geçerlidir. Erkeklerde, X’e bağlı genetik bir hastalığın belirtilerinin görülme olasılığı, kızlardan daha fazladır, çünkü erkekler sahip oldukları tek X kromozomundaki hatalı bir geni telafi edemezler. İlgili tıbbi durumlar, kırmızı-yeşil renk körlüğü gibi nispeten hafif sorunlardan çok daha ciddi hastalıklara kadar değişiklik gösterir. Örneğin, kan pıhtılaşma

bozukluğu olan hemofili B gibi. Kraliçe Victoria, bu hastalığın taşıyıcısıydı ve oğullarından biri (Leopold) hastalığa yakalanarak, 31 yaşında beyin kanamasından öldü. Victoria'nın kızlarından en az ikisi de hastalığın taşıyıcısıydı. O dönem, Avrupa'nın kraliyet ailelerinin, farklı ülkeden biriyle evlenmeye (tabiri caizse kız alıp vermeye) eğilim göstermesinin sonucunda, bu mutasyon çeşitli hanedanlara da geçti ve bunlardan en ünlüsü Rusya'nın Romanov hanedanıydı.¹²

Hemofiliye yol açan mutasyonu taşıyan kadınlar, pıhtılaşma faktörünün normal miktarının sadece yüzde 50'sini üretebilmesine rağmen, bu miktar onları hastalık belirtilerinden korumak için yeterlidir. Üretilen pıhtılaşma faktörünün hücrelerden salınması ve kan akışında dolaşabiliyor olması, kanama nerede meydana gelirse gelsin, bu kanamaya karşı bireyi korumak için pıhtılaşma faktörü yeterince yüksek seviyelere ulaşır.

Öte yandan, bir kadındaki iki X kromozomunun varlığının, X'e bağlı bir hastalıktan korunmayı garanti etmediği durumlar da vardır. Örneğin, Rett Sendromu, yıkıcı bir nörolojik hastalıktır ve bazı açılardan otizmin gerçekten uç bir formu olarak da sunulur. Kız bebekler doğduğunda tamamen sağlıklı görünür ve yaşamın ilk altı ila on sekiz ayı boyunca tüm normal gelişimsel kilometre taşlarına ulaşırlar. Fakat daha sonra gelişimsel olarak gerilemeye başlarlar. Geliştirdikleri sözlü dil becerilerini kaybederler. Ayrıca, tekrarlayan el hareketleri geliştirmekle birlikte, işaret etme gibi amaçlı olanları kaybederler. Kızlar hayatlarının geri kalanında ciddi öğrenme güçlüğü çekerler.¹³

Rett Sendromu, X kromozomu üzerinde bulunan protein kodlayan bir gendeki mutasyonlardan kaynaklanır.^{*14} Etkilenen dişiler, bu genin bir normal kopyasına bir de mutasyona

* Gen, *MeCP2* olarak adlandırılır ve rolü epigenetik olarak değiştirilmiş (metillenmiş) olan DNA'ya bağlanmaktadır. Bağlandığı bölgelerde diğer proteinlerle etkileşime girerek, gen ifadesini baskılar.

uğramış ve fonksiyonel protein üretemeyen bir kopyasına sahiptir. Rastgele X inaktivasyonu göz önüne alınacak olursa, beyindeki hücrelerin ortalama yarısında, proteinin normal miktarının ifade edileceğini ve diğer yarısında hiçbir ifadenin olmayacağını tahmin ediyoruz. Fakat klinik gözlemler sonucunda ulaşılan nokta, beyin hücrelerinin yarısı bu proteini ifade edemiyorsa, ciddi problemlerin ortaya çıktığıdır.

Rett Sendromu büyük ölçüde sadece kızları etkiler. Bu, kızların genellikle taşıyıcı olduğu ve erkeklerin etkilendiği X'e bağlı bir hastalık için alışılmadık bir durumdur. Eldeki bu bilgiler, erkeklerin bir Rett mutasyonunun etkilerinden nasıl korunduğunu merak etmemize neden olabilir. Ama gerçek şu ki, korunamıyorlar. Neredeyse hiçbir zaman Rett Sendromundan etkilenen erkekleri bulamamamızın nedeni, etkilenen erkek embriyoların doğru şekilde gelişmemesi ve fetüslerin gebelik döneminde hayatta kalamamasıdır.

İyi ya da kötü, asla şanslı hafife alma

Bilim insanları olarak bizler, eğitimleri ve kariyerleri boyunca pek çok konu hakkında düşünmek için eğitilmişizdir. Ancak, nadiren kafa yormamızı istedikleri nokta, şansın oynadığı roldür. Bunu yaptığımızda bile, genellikle çalışmalarımızı “rastgele dalgalanmalar” veya “rastlantısal değişim” gibi terimlerle süsleriz. Aslında bu utanç verici, çünkü bazen “şans” muhtemelen daha iyi bir açıklamadır.

3. Bölüm'de ele aldığımız Duchenne Musküler Distrofisi, ciddi bir kas erimesi hastalığıdır. Bu hastalığa yakalanmış olan çocuklar başlangıçta iyidir, ancak çocukluk döneminde kasları karakteristik bir şekilde bozulmaya başlar. Örneğin, ilk olarak bacaklarda uyluk kasları zayıflamaya başlar. Vücutları bu zayıflamayı telafi etmeye çalışırken erkekler, çok büyük baldırlar geliştirirler ama bir süre sonra bu kaslar da azalır. Çocuklar genellikle 10'lu yaşlarında tekerlekli sandalye kullanmaya

başlar ve ortalama ömürleri sadece 27 yıldır. Erken ölüm, büyük ölçüde nefes almada yer alan kasların zayıflaması nedeniyle ortaya çıkar.¹⁵

Duchenne Musküler Distrofisi, distrofin adı verilen büyük bir proteini kodlayan ve X kromozomu üzerinde yer alan bir gendeki mutasyondan kaynaklanır.¹⁶ Bu protein, kas hücrelerinde bir çeşit amortisör görevi görmektedir. Mutasyon nedeniyle erkekler işlevsel protein üretemezler ve önünde sonunda bu, kasın tahribatına yol açar. Taşıyıcı kadınlar genellikle fonksiyonel distrofin proteininin normal miktarlarının yüzde 50'sini üretir. Bu miktar da, tuhaf bir anatomik özellik nedeniyle genellikle yeterlidir. Bizler gelişirken, her bir kas hücresi, içinde birçok ayrı ayrı çekirdek olan büyük bir süper-hücre oluşturmak için birleşir. Bu, her süper-hücrenin içinde yer alan bütün farklı çekirdeklerin, gerekli genlerin çoklu kopyalarına erişimi olduğu anlamına gelir. Dolayısıyla, bir hücrede yeteri kadar olan, bir hücre hiç olmayan şeklinde bir yapılanmanın yerine, taşıyıcı kadınların kasları genel olarak normal aktivite için yeterli distrofin proteini içerir.

Duchenne Musküler Distrofisinin tüm klasik belirtilerine sahip olan olağandışı bir kadın vardı. Çok nadir olmakla birlikte, bunun nasıl olabileceğine dair tahminler yürütüldü. Olasılıklardan biri, annesinin taşıyıcı ve babasının da bir çocuk sahibi olabilecek kadar uzun süre hayatta kalan bir Duchenne hastası olmasıydı. Böyle bir durumda, babasından kesinlikle mutasyon taşıyan geni kalıt alacaktı (çünkü babası sadece etkilenmiş bir X kromozomuna sahip olacaktı). Annesi de taşıyıcı olduğu için, üretilen herhangi bir yumurtanın mutasyona uğramış bir distrofin genini içermesi ihtimali ikide birdir. Bu senaryonun gerçekleşmesi durumunda, X kromozomlarından hiçbirisi genin normal bir kopyasına sahip olmazdı ve gerekli proteini üretemezdi.

Fakat bu hastayı tedavi eden doktorlar hastanın aile öyküsünü almıştı ve babasının Duchenne Musküler Distrofisine sahip olmadığını biliyorlardı, bu yüzden başka bir açıklama gerekliydi. Bazen, yumurta veya sperm üretilirken, mutasyonlar tam olarak kendiliğinden ortaya çıkar. Distrofin kodlayan gen çok büyüktür. Sadece bu yüzden bile genomdaki diğer genlerle kıyaslandığında, şans eseri mutasyon oluşma riski nispeten yüksektir. Bunun nedeni ise, mutasyonun temelde bir sayı oyunu olmasıdır. Gen ne kadar büyükse, mutasyona uğrama olasılığı o kadar yüksektir. Dolayısıyla, bir kadının Duchenne Musküler Distrofisini kalıt alabileceği mekanizmalardan biri, hastalık için taşıyıcı olan annenin mutasyonlu X kromozomunu taşıyan yumurtasının, hasta olmayan babanın, yeni bir mutasyon taşıyan kromozoma sahip spermi tarafından döllenmesidir.

Normal şartlar altında bu gerekçe, bu hastanın neden bu rahatsızlığı geliştirdiğini açıklamak için oldukça iyi bir bahis gibi görünmektedir. Fakat bir problem vardı. Hastanın bir kız kardeşi vardı. İkiz kardeşi. Aynı yumurta ve spermden gelişen özdeş yani tek yumurta ikiziydiler ve ikiz kız kardeş, tamamen sağlıklıydı. Tek bir Duchenne Musküler Distrofisi belirtisi yoktu. Genetik olarak tamamen özdeş olan iki kadın, genetik olarak kalıtsal bir hastalık açısından nasıl olur da bu kadar farklı olabilir?

Embriyonik gelişimin erken safhalarında, X inaktivasyonu geçiren yüzlerce hücreyi tekrar düşünelim. Tamamen şans eseri, hücrelerin yaklaşık yüzde 50'si bir X kromozomunu kapatacak, geri kalanı diğerini kapatacak. Hücrenin sahip olduğu X inaktivasyon modeli, yaşam boyunca tüm yavru hücrelere iletilecektir.

Duchenne Musküler Distrofisi olan kız kardeş, bu aşamada inanılmaz derecede şanssızdı. Tamamen şans eseri, sonunda kas dokusu yaratacak olan tüm hücreler, X kromozomu-

nun normal kopyasını kapatmıştı. Yani, babasından aldığı X kromozomunu. Bu da, kas hücrelerinde açık olan tek X kromozomunun, taşıyıcı annesinden aldığı hatalı X kromozomu olduğu anlamına geliyordu. Böylece, etkilenen ikizin kas hücrelerinin hiçbirisi distrofini ifade edemedi ve normalde sadece erkeklerde görülen belirtileri geliştirdi.

Diğer taraftan, genetik olarak özdeş ikizi gelişirken, kas dokusunu oluşturacak olan hücrelerin bazıları normal, bazıları ise mutasyona uğrayan X kromozomunu kapatmıştı. Bu da, kaslarının sağlıklı kalacak kadar distrofin ifade ettiğini ve tıpkı annesi gibi asemptomatik yani hastalık belirtisi göstermeyen bir taşıyıcı olduğu anlamına geliyordu.¹⁷

Tüm bunların, çöp DNA'dan türetilen uzun bir RNA parçası olan Xist'in dağılımındaki basit bir dalgalanmadan kaynaklandığını düşünmek oldukça sıra dışı. Dalgalanma birkaç saatten fazla sürmedi ve insan saçının çapının milyonda birinden daha az bir mesafede meydana geldi. Yine de bu, sağlık piyangosundaki kazanma ve kaybetme arasındaki fark demekti.

Şans, yamalı olabilir

Belki de aramızdaki kedi severlerin bazılarının, her gün X inaktivasyonunun sonuçlarına baktığını ve hatta onu sevdiğini düşünmek bile gariptir. Bazı kedilerin kürküne turuncu ve siyah renkleri hâkimdir. Bu tüy renkleri, yamalar halinde ortaya çıkar ve tüy rengini kontrol eden gen, iki şekilde seçilir. Tek bir X kromozomu, ya turuncu ya da siyah versiyonu taşır.

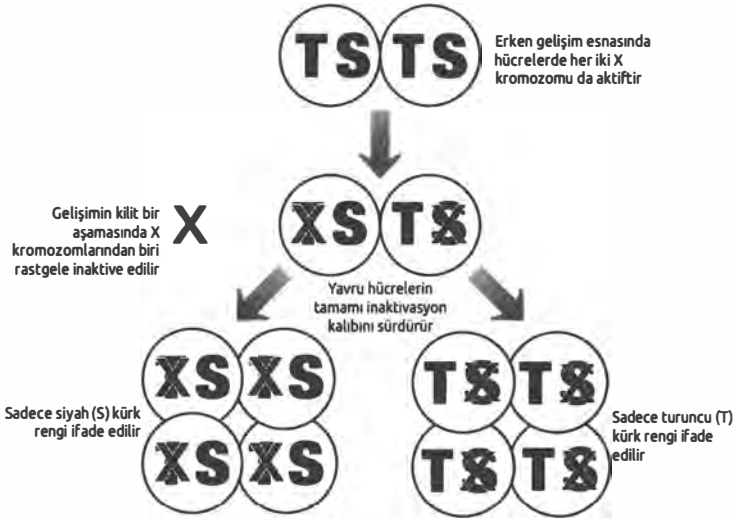
Eğer siyah versiyonu taşıyan X kromozomu inaktive edilirse, diğer X kromozomundaki turuncu versiyon ifade edilecektir, ya da bunun tam tersi geçerlidir. Kedi embriyosu yaklaşık yüz hücre büyüklüğünde olduğunda, X kromozomlarından biri her hücrede etkisiz hale gelir. Daha önce bahsettiğimiz diğer örneklerde de olduğu gibi, tüm yavru hücreler,

aynı X kromozomunu kapatır. Bu yavru hücrelerin bazıları, kürkte pigment oluşturan hücrelere yol verir. Bu hücrelerin giderek daha fazla bölünmesi ve gelişmesiyle, hücreler birbirine daha yakın konumlanır. Böylece, yavru hücreler yamalar halinde kümelenme eğiliminde olur. Yavru hücrelerdeki bu X inaktivasyon modeli de, turuncu ve siyah kürk lekelerine yol açar. Bu işlemin bir özeti, Şekil 7.2’de gösterilmiştir.

2002 yılında bilim insanları, turuncu-siyah kürklü bir kediye klonlayarak X inaktivasyon sürecinin gerçekte ne kadar rastgele olduğunu güzel bir şekilde gösterdiler. Yetişkin bir dişi kediden hücreler aldılar ve standart klonlama işlemini gerçekleştirdiler. Bunun için, yetişkin kedi hücresindeki çekirdeği çıkardılar ve içindeki kromozomları uzaklaştırdıkları bir kedi yumurtasına bu çekirdeği koydular. Bu yumurta, bir taşıyıcı kedi anneye yerleştirildi ve sonunda canlı ve güzel bir dişi yavru kedi doğdu. Fakat yeni doğan kedi, klonu olduğu genetik olarak özdeş kediye hiçbir şekilde benzemiyordu.¹⁸

Bu yöntem hayvanları klonlamak için kullanıldığında, yumurta yeni çekirdeğe, spermle birleşen bir yumurtanın gerçek ürünüymüş gibi davranır. DNA’dan olabildiğince fazla bilgi çıkarır ve onu temel genetik dizisine geri götürür. Öte yandan, gerçek bir yumurta ve spermde olduğu kadar etkili bir şekilde gerçekleşmez ki bu da bu tür bir klonlamanın başarı oranının hâlâ çok düşük olmasının nedenlerinden biridir. Fakat bazen, tıpkı burada olduğu gibi, yöntem çalışır ve klonlanmış bir hayvan doğar.

Ana kedideki çekirdek bir kedi yumurtasına konduğunda yumurta, kromozomlarda değişikliklere neden oldu. Bu değişikliklerden biri, X kromozomlarından birinin üzerindeki inaktifleştirici proteinlerin uzaklaştırılması ve Xist ifadesinin kapatılmasıydı. Böylece, gelişimin ilk safhalarında, kısa bir süre için, X kromozomunun her iki kopyası da aktifleşti. Embriyo, her hücrede bir X kromozomunun rastgele inaktive



Şekil 7.2. Şema, rastgele X kromozomu inaktivasyonuna bağlı olarak dişi bir turuncu-siyah kürklü kedide yamaların nasıl geliştiğini göstermektedir. Kürk rengini belirleyen genler, X kromozomu üzerinde yer almaktadır. Eğer erken gelişim sürecinde hücrede inaktive edilen kromozom siyah renk sağlayan versiyonu taşıyorsa, bu hücreden oluşan tüm yavru hücreler sadece turuncu geni ifade edecektir. Eğer turuncu geni taşıyan X kromozomu inaktive edilmişse, durum tersine çevrilir ve sadece siyah renk ifade edilir.

edileceği, embriyonun yaklaşık 100 hücreli olduğu aşamaya gelene dek normal bir süreçten geçti. X inaktivasyon modeli yavru hücrelere standart bir şekilde aktarıldı ve yavru kedi böylece klonal “ebeveyni”nden farklı bir turuncu ve siyah kürk dağılımı geliştirdi.

Peki, bu hikâyeden alınacak ders ne? Eğer bir turuncu-siyah yamalı kediniz varsa ve son derece güzel olduğunu düşünüyorsanız, bol bol videosunu ve fotoğrafını çekin. Daha garip davranmak istiyorsanız, öldüğü zaman bir taksidermist (hayvan postlarını dolduran kişi) çağırın. Ama eğer kapı kapı dolaşan bir klonlayıcıya denk gelerseniz, onları başınızdan defedin.



Sabreden Derviş, Muradına Ermiş

Birkaç yıl boyunca Xist, gen ifadesi üzerinde olağanüstü sıradışı bir etkiye sahip garip bir moleküler uçdeğer olan bir anormallik olarak kabul edildi. Tsix tanımlandığında bile çöp RNA'ların, X inaktivasyonunun hayati ama eşsiz süreciyle sınırlı olduğunu düşünmek mümkündü. Sadece son yıllarda, insan genomunun bu tip binlerce molekülü ifade ettiğini ve bunların da normal hücresel fonksiyonda şaşırtıcı derecede önemli olduklarını fark etmeye başladık.

Artık Xist ve Tsix'i, uzun kodlanmayan RNA'lar olarak bilinen geniş bir sınıfın üyeleri olarak sınıflandırıyoruz. Terim, biraz yanıltıcıdır çünkü aslında proteine kodlanmayan anlamındadır. Göreceğimiz gibi, kodlanmayan uzun RNA'lar, fonksiyonel molekülleri kodlar ve bu fonksiyonel moleküller, uzun kodlanmayan RNA'ların ta kendileridir.

Uzun kodlanmayan RNA'lar, 200 bazdan daha uzun olan ve protein kodlamayan moleküller olarak tanımlanır. Protein kodlamamaları, onları mesajcı RNA'dan farklı kılar. 200 baz, en düşük alt sınırdır ve uzun kodlanmayan RNA'ların en büyüğü 100.000 baz uzunluğunda olabilir. Kesin sayıları konusunda henüz bir anlaşma olmasa da, sayılarının çok fazla olduğu düşünülüyor. Tahminler, insan genomunda 10.000 ila 32.000 arasında olduğu yönünde.^{1,2,3,4} Ancak birçok uzun kodlanmayan RNA olmasına rağmen bunlar, proteinleri kodlayan klasik mesajcı RNA'lar kadar yüksek bir seviyede ifade

edilme eğiliminde değildir. Normal olarak, uzun kodlanmayan bir RNA'nın ifade (ekspresyon) seviyesi, ortalama bir mesajcı RNA seviyesinin yüzde 10'undan azdır.⁵

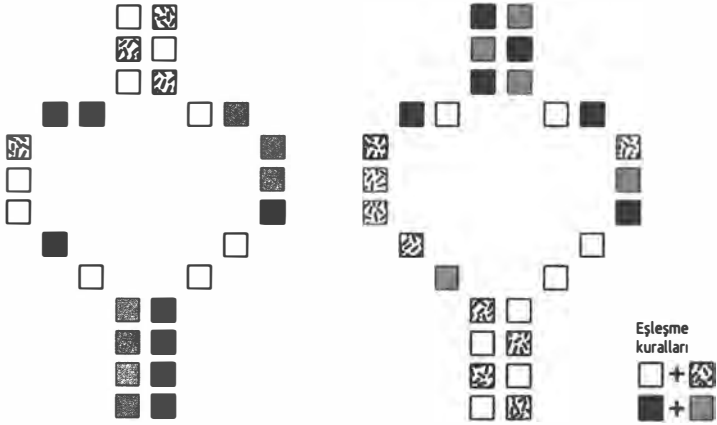
Herhangi bir uzun kodlanmayan RNA'nın bu nispeten düşük miktarı, bu tip bir molekülü oldukça yakın zamana kadar neden göz ardı ettiğimizden sebeplerinden biridir. Temel olarak, hücrelerdeki RNA moleküllerinin ifadesi analiz edilirken, kullanılan teknolojinin yeterince hassas olmamasından dolayı, uzun kodlanmayan RNA'lar çok da güvenilir bir şekilde tespit edilememiştir. Ancak, artık onların varlığını bildiğimize göre, insanlar da dâhil olmak üzere herhangi bir organizmanın genomunu analiz edebilmemiz ve onların varlığını DNA dizisinden tahmin edebilmemiz gerektiğini düşünebiliriz. Sonuçta, protein kodlayan genler için bunu yapmakta oldukça iyiyiz.

Gelin görün ki bunu zorlaştıran çok sayıda özellik vardır. Protein kodladığı kabul edilen genleri, sahip oldukları bir dizi özellik nedeniyle tanımlayabiliriz. Genlerin başlangıcına ve sonuna yakın yerlerde genleri bulmamıza yardım eden bazı diziler vardır. Ayrıca, amino asitlerin tahmin edilebilir dizilerini kodlar ki bu da yine protein kodlayan bir gen olabileceğine dair bize güvence verir. Son olarak, farklı türlere baktığınızda, protein kodlayan genlerin çoğunun çok benzer olduğunu görebilirsiniz. Bu da, balon balığı gibi bir hayvan da bulunan klasik bir geni tanımladığımızda, bu genin dizisini temel alarak, insan genomunu analiz edebileceğimiz ve kendimizde bu diziye benzer bir genin varlığını tahmin edip edemeyeceğimizi görebileceğimiz anlamına gelir.

Bununla birlikte, uzun kodlanmayan RNA'lar, protein kodlayan genlerdeki gibi güçlü dizi belirteçlerine sahip değildir ve türler arasındaki korunmuşluğu da zayıftır. Dolayısıyla, başka bir türdeki uzun kodlanmayan RNA dizisinin bilinmesi, insan genomundaki fonksiyonel olarak ilişkili bir

diziye tanımlamamıza yardımcı olmayabilir. Örneğin, yaygın bir model organizma olan zebra balığındaki uzun kodlanmayan RNA'nın belirli bir sınıfının yüzde 6'sından azı, farelerdeki ve insanlardaki dizilere eşdeğerdir.⁶ İnsanlarda ve farelerde bulunan uzun kodlanmayan RNA'ların aynı sınıfının sadece yüzde 12'si, hayvanlar âleminin başka bir yerinde tespit edilebilir.^{7,8} Uzun kodlanmayan RNA'ların görece az korunmuş olduğu, farklı tetrapod (dört bacaklılar) türlerinin çeşitli dokularından ifade edilen uzun kodlanmayan RNA'ları karşılaştıran yakın tarihli bir çalışmada doğrulandı. Tetrapod, balinalar ve yunuslar gibi "denize geri dönenler" dâhil, tüm karada yaşayan omurgalıları ifade eder. Az önce bahsettiğim yakın tarihli çalışmada, 11.000 uzun kodlanmayan RNA'nın sadece primatlarda bulunduğu bildirilmiştir. Bunların sadece 2500'ü tetrapodlar arasında korunmuştur ve bunların da sadece 400'ü antik olarak sınıflandırılmıştır. Yani 300 milyon yıldan daha eski bir dönemde, yaklaşık olarak amfibilerin ve diğer tetrapodların birbirlerinden ayrıldığı zaman dolaylarında ortaya çıktığı yazarlar tarafından öne sürülmüştür. Yazarlar, bu antik uzun kodlanmayan RNA'ların, tüm organizmalarda en aktif şekilde düzenlenen ve muhtemelen çoğunlukla erken gelişim aşamalarında rol aldıklarından şüphelenmektedir.⁹ Omurgalıların çoğu embriyogenezin en erken evrelerinde çok benzer görünür, bu yüzden de bizim ve tüm uzak kuzenlerimizden başlamak için benzer yollar kullandığı mantıklı olabilir.

Genel olarak türler arasındaki bu yetersiz korunmuşluk, bazı yazarların uzun kodlanmayan RNA'ların çok da önemli olmadığını iddia etmesine neden olmuştur. Bunun altında yatan gerekçe ise, eğer bu diziler anlamlı olsaydı, evrim ve türlerin gelişimi sırasında benzer kalmaya daha mecbur olacağı ama bunun yerine, bu "çöp" RNA'ları kodlayan dizilerin, proteinleri kodlayanlardan çok daha hızlı bir şekilde gelişmekte ve değişmekte olduğudur.



Şekil 8.1. Burada, farklı baz dizilerine sahip iki tek zincirli uzun kodlanmayan RNA molekülünün aynı şekli nasıl oluşturabildiği gösterilmektedir. Şekiller, her biri farklı boyanmış/gölgelendirilmiş kutularla temsil edilen A ve U ya da C ve G bazlarının eşleştirilmesiyle belirlenir. Kolay anlaşılabilmesi adına görsel, oldukça basitleştirilmiştir. Gerçekte, uzun kodlanmayan RNA'lar, karmaşık yapılar oluşturabilen birçok bölgeye sahip olabilir. Ayrıca şekildeki gibi düzlemsel olmak yerine üç boyutlu olacaktır.

Bu adil bir nokta olsa da, belki de aşırı bir basitleştirme-dir. Uzun kodlanmayan RNA molekülüleri, içerdikleri bazların sayısı bakımından uzun olabilir, ancak bu, hücredeki uzamış ipliksi molekülü oldukları anlamına gelmez. Bunun nedeni, uzun RNA molekülünün üç boyutlu (3D) yapılar oluşturarak kendi üzerine katlanabilmesidir. RNA'daki bazlar, DNA'nın iki zincirinin birbirine bağlanma şekline benzer kuralları izleyerek eşleşir. RNA tek zincirli bir moleküldür, dolaşısıyla molekülü karmaşık sabit şekillere bükerek bazları, görece olarak kısa mesafeler içinde eşleştirir. Bu 3D yapılar uzun kodlanmayan RNA'nın işlevinde çok önemli olabilir ve baz dizisi olmasa bile bu 3D yapının türler arasında korunması mümkündür.¹⁰ Tıpkı Şekil 8.1'de gösterildiği gibi. Ne yazık ki, dizi verisini kullanarak benzer yapıları tahmin etmek zordur

ve işlevsel olarak korunan uzun kodlanmayan RNA'ları bulmamıza yardımcı olacak bu tekniğin faydasını sınırlar.

Kütük mü, talaş mı?

İnsan genom dizisindeki uzun kodlanmayan RNA'ları tanımlamaya çalışırken ortaya çıkan zorluklar nedeniyle, çoğu araştırmacı, hücrelerde bulunan moleküllerin kendisini tespit ederek uzun kodlanmayan RNA'ları tanımlamanın daha pragmatik bir yaklaşımına yönelmekteydi. Ancak, bilimsel camiada sonuçların nasıl yorumlanacağı konusunda önemli ölçüde bir anlaşmazlık vardı. Sabit fikirli çöp meraklıları, bir dizinin, uzun kodlanmayan RNA molekülü olarak ifade edilmesi durumunda, o molekülün bir sebepten dolayı ifade edilmesi gerektiğini iddia ediyordu. Diğer bilim insanları ise çok daha şüpheciydi ve uzun kodlanmayan RNA'ların ifadesinin temelde herhangi bir olaya müdahale etmeyen seyirciler olduğunu söylüyordu. Bu da, uzun kodlanmayan RNA'ların, "gerçek" bir geni açmanın bir yan ürünü olarak ifade edildiği anlamına geliyordu.

Seyirci olayının ne anlama geldiğini anlamak için, ağaç dallarını testere ile kestiğimizi hayal edelim. Faaliyetimizin temel amacı, bir kabin inşa etmek veya bir sobaya yakıt sağlamak için kullanabileceğimiz kütükleri oluşturmak olsun. Odun yongası veya talaş oluşturmaya çalışmıyoruz ama testereyle yaptığımız işlemin bir sonucu olarak yine de gerçekleşiyor. Bunları oluşturmamaya çalışmak faydasız bir eylemdir. Ana hedefimize gerçekten müdahale etmediğinden, eğer onları üretmekten kaçınmanın bir yolunu bulursak, kütüklerin verimli bir şekilde üretilmemesiyle karşı karşıya kalabiliriz. Sadece arada sırada, yan ürünümüz olan bu talaşları kullanmanın yollarını bulabiliriz. Örneğin bir saksıyı kaplayabiliriz ya da evcil yılanımız için bir yatak oluşturabiliriz.

Benzer bir modelde, çöp şüpheleri, uzun kodlanmayan RNA ifadesinin, basitçe belirli bir bölgedeki genler ifade edilirken engellemenin gevşemesinin sonucu olduğunu varsaymaktadır. Bu modelde uzun kodlanmayan RNA'ların üretimi, sadece önemli bir işlemin kaçınılmaz, zararsız ve önemsiz bir sonucudur. Destekçiler ise, uzun kodlanmayan RNA ifadesinin bazı yönlerini irdelememelerine karşı çıkarlar. Örneğin, beyin farklı bölgelerinden örnekler alıp incelersek, uzun kodlanmayan RNA'ların farklı türlerinin ifade edildiği görülür.¹¹ Uzun kodlanmayan RNA meraklıları, bahsi geçen çalışmanın sonuçlarının bu RNA moleküllerinin önemini desteklediğini iddia ettiler, çünkü aksi takdirde farklı beyin bölgeleri neden farklı uzun kodlanmayan RNA'ları devreye sokacaktı ki? Şüpheli ise, farklı uzun kodlanmayan RNA'ların tespit edilmesinin nedeninin, basitçe çeşitli beyin bölgelerinin farklı klasik protein kodlayan genleri açmasından kaynaklandığı iddia ettiler. Testere örneğimizi ele alacak olursak, bu durum, meşe odunu mu yoksa çam mı kestiğimize bağlı olarak ortaya farklı tipte talaşlar çıkacak olmasına benzer.

Bir yorumda bulunmak için henüz çok erken ama mevcut veriler, her iki taraftaki aşırılık yanlılarının muhtemelen biraz rahatlamlarını sağlayacaktır çünkü bu veri, gerçeğin iki konum arasında bir yerde bulunabileceğini öneriyor. Uzun kodlanmayan RNA'ların hücrede bir fonksiyonlarının olduğu hipotezini gerçekten test edebilmemizin tek yolu, her birini doğru hücre tipinde test etmektir. Her ne kadar bu bir yaklaşım olarak kusursuz derecede mantıklı olsa da, görüldüğü kadar kolay değildir. Eğer bir doku ya da hücrede yüzlerce ya da binlerce uzun kodlanmayan RNA tespit edersek, hangisini test etmek istediğimize karar vermemiz gerekir. Bunu yapabilmek için de, o belirlediğimiz uzun kodlanmayan RNA'nın hücrede ne yapabileceğine dair bir hipotez geliştirmemiz gerekir. Bu hipotez olmadan, o molekülün ifadesine veya işle-

vine müdahale edersek, hangi etkileri aramamız gerektiğini bilemeyiz.

Bir diğer zorluk ise, uzun kodlanmayan RNA'ların çoğunun, klasik protein kodlayan genlerle aynı bölgede bulunmasıdır. Bazen tamamen aynı pozisyonda ama zıt zincirlerden kodlanıyor olabilir, tıpkı 7. Bölüm'de gördüğümüz Xist ve Tsix gibi. Ya da, ilk olarak 2. Bölüm'deki Friedreich Ataksisinde gördüğümüz gibi (bkz. s. 37), bir gendeki iki amino asit kodlayan bölge arasındaki çöp dizisinin içinde bulunabilir. Uzun kodlanmayan RNA'ların, protein kodlayan genlerle aynı bölgede bir arada bulunabilmelerinin pek çok yolu vardır ve bu da, işlevlerini araştırmaya çalışırken ciddi deneysel zorluklar yaratır.

Genellikle genlerin fonksiyonları, mutasyona uğratarak test edilir. Uygulanabilecek bin bir türlü mutasyon vardır, fakat en yaygın kullanılan yöntemlerde gen ya kapatılır ya da genin normalden daha yüksek bir düzeyde ifade edilmesine yol açılır. Ancak uzun kodlanmayan RNA'ların çoğu, protein kodlayan genlerle çakıştığı için, aynı anda birini mutasyona uğrattırken diğerini uğratmamak zordur. Aksi takdirde daha sonra göreceğimiz etkilerin uzun kodlanmayan RNA'daki değişiklikten mi yoksa protein kodlayan gendeki değişiklikten mi kaynaklandığını bilememe sorunuyla karşılaşırız.

Basit bir örnek bu sorunun görselleştirilmesine yardımcı olabilir. Bir doktora öğrencisinin, kurbağaların nasıl duyduğunu araştırdığını düşünelim. Öğrencimiz, kurbağanın bazı kısımlarını cerrahi olarak çıkardığı ve daha sonra silah sesi gibi gürültülü bir sesi duyup duyamadığını gözlemlediği deneysel bir sistem geliştirmişti. Bir gün, amirinin ofisine koştu ve kurbağaların nasıl işittiğini çözdüğünü söyledi. Kendisine şaşkın bir şekilde bakan danışmanına, "Bacaklarıyla duyuyorlar," dedi. Danışmanı ona nasıl bu kadar emin olabildiğini sorduğunda ise, "Basit," dedi. "Normalde silahı ateşlediğimde,

kurbağa onu duyuyor ve korkudan sıçırıyordu. Fakat kurbağanın bacaklarını uzaklaştırdığımda ve silahı ateşlediğimde artık zıplamıyordu, bu yüzden bacaklarından duyması gerekiyor.”*

Teorik olarak, elbette, protein kodlayan genleri mutasyona uğrattığımızda, beklenmedik etkilerin bazıları da gerçekleşir. Bunlar, deneyi gerçekleştirdiğimiz zamanlarda var olduklarına dikkat bile etmediğimiz aynı bölgede yer alan uzun kodlanmayan RNA’lardaki fark edilmeyen değişikliklerden kaynaklanabilir.

Protein kodlayan genlerin bu olası ikincil hasarları nedeniyle, birçok araştırmacı çabalarını, bölgeleri örtüşmeyen bir uzun kodlanmayan RNA alt kümesine yoğunlaştırmaktadır. Bu kategoride en az 3.500 tane uzun kodlanmayan RNA bulunduğu için, pek çok seçenek vardır. Literatürde bu daha uzak yerleşimli uzun kodlanmayan RNA’lar özel bir sınıf olarak belirtilmiş ve onlara ayrı bir ad verilmiştir.**¹² Ancak, bu adlandırma yapılırken bu molekülleri ne olduklarıyla değil ne olmadıklarıyla sınıflandırdıklarını, yani protein kodlayan genlerle birlikte bulunmadıklarını belirttiklerini göz önünde bulundurmalıyız. Bu da, gerçekten işlevsel olarak birbirlerinden oldukça farklı oldukları ortaya çıkınca, çok sayıda uzun kodlanmayan RNA’yı bir araya getirdiğimiz anlamına gelebilir.

Kategoriler ve isimlendirme oluşturma çabası genom analizinin tüm alanlarındaki gerçek bir problem olmuştur ve olmaya devam etmektedir çünkü genom analizi, ilgili kategorileri oluşturmak için gerçekten yeterli biyolojik anlayışa sahip olmadan önce bizi tanımlara kitleme eğilimindedir. Örneğin, daha önce hiç film izlemediğinizi ve sonra bir haf-

* Bu çok ünlü bir düşünce deneyidir. Bu anekdotun oluşturulmasında hiçbir kurbağaya zarar verilmemiştir.

** Bunlar, uzun intergenik kodlanmayan RNA’lar anlamına gelen lincRNA’lar olarak bilinir.

ta boyunca filmlerle haşır neşir olduğunuzu hayal edin. Bu filmler mesela *Silindir Şapka (Top Hat)*, *Yağmur Altında (Singin' in the Rain)*, *İyi, Kötü ve Çirkin (The Good, the Bad and the Ugly)*, *Muhteşem Yedili (The Magnificent Seven)*, *Kabare (Cabaret)*, *İz Peşinde (True Grit)*, *Affedilmeyen (Unforgiven)* ve *Batı Yakası Hikâyesi (West Side Story)* olsun. Sizden bu filmleri kategorize etmeniz istenirse, iki çeşit olduğunu söylersiniz: müzikaller ve kovboy filmleri. Buraya kadar bir sorun yok ama ya gelecek hafta size *Bridget Jones'un Günlüğü (Bridget Jones's Diary)* ve *Yerçekimi (Gravity)* gösterilirse? Ya da hepsinde hem şarkı ve dansların hem de kovboyların olduğu *İki Kabadayı (Paint Your Wagon)*, *Yedi Kardeşe Yedi Gelin (Seven Brides for Seven Brothers)* ve *Silahşörler Kraliçesi (Calamity Jane)* adlı filmler gösterilirse? Sinematik kategorilendirmeyi anlamadan önce filmleri, geliştirdiğiniz tür tanımlarına sokmaya çalışırken takılıp kalırsınız. Benzer bir nedenle, uzun kodlanmayan RNA'nın her bir sınıfının tanımlamasından kaçınmaya çalışıp, deneysel olarak gerçekten bildiklerimize odaklanacağız.

İyi bir başlangıç yapmanın hayattaki önemi

Gen ifadesinin uygun şekilde kontrol edilmesi yaşam boyunca gereklidir ama özellikle gelişimin çok erken dönemlerinde kritik bir öneme sahiptir, çünkü ilk birkaç hücrenin bölünmesi sırasındaki olaylarda yaşanabilecek en ufak bir kayma bile çarpıcı etkilere neden olabilir. Bu, bir yumurta ve bir spermin birleşmesinden oluşan tek bir hücre olan zigotta özellikle geçerlidir. Zigot ve zigotun bölünmesiyle üretilen ilk birkaç hücre, totipotent olarak bilinir. Bu hücreler, embriyo ve plasentadaki tüm hücreleri oluşturabilir. Araştırmacılar bu hücrelerle çalışmayı çok isteseler de bunlar sayıca azdır. Bunun yerine çoğu araştırma, EK hücreleri olarak da bilinen embriyonik kök hücrelerde yapılır. Bu hücreler ilk olarak, yıllar önce orijinal embriyolardan elde edildi, fakat hücre kültüründe gelişt-

rilebildikleri için artık orijinal embriyolara erişmemize gerek yok. EK hücreler, gelişmenin biraz daha geç bir safhasındandır ve zigot kadar da serbest değildir. Vücutta plasental hücreler hariç herhangi bir hücre tipini oluşturma potansiyeline sahip olduklarından pluripotent olarak da bilinir.

Doğru ve dikkatli bir şekilde kontrol edilen kültür koşullarında, EK hücreleri daha fazla pluripotent kök hücreler oluşturmak için bölünür. Ancak kültür koşullarındaki nispeten küçük değişiklikler, pluripotensi kaybına neden olur. EK hücreleri çok daha özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşmaya başlar. En çarpıcı değişikliklerden biri, EK hücrelerinin bir Petri kabında kendiliğinden ve senkronize olarak atan kalp hücrelerine farklılaşmasıdır. Ancak, özünde EK hücreleri, maruz kaldıkları yöntemlere bağlı olarak birçok farklı gelişim rotasında hareket edebilir.

Araştırmacılar, bilinen herhangi bir protein kodlayan gen-den uzakta yerleşik olan uzun kodlanmayan RNA'ların yaklaşık 150'sinin ifadesini azaltarak kültürdeki EK hücrelerini manipüle ettiler. Her deneyde sadece bir uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesini azalttılar. Düzinelerce örnekte, sadece bir uzun kodlanmayan RNA'nın azaltılmasının, EK hücrelerinin pluripotent olmaktan çıkıp diğer hücrelere farklılaşmaya başlaması için yeterli olduğunu buldular. Araştırmacılar ayrıca, uzun kodlanmayan RNA'ların ifadesini azaltmadan önce ve azalttıktan sonra hangi genlerin ifade edildiğini de analiz ettiler. Uzun kodlanmayan RNA'ların yüzde 90'ından fazlasının, doğrudan veya dolaylı olarak protein kodlayan genlerin ifadesini kontrol ettiğini buldular. Örneklerin çoğunda, protein kodlayan yüzlerce genin ifadesi etkilenmişti. Bu genler, ifadesini azalttıkları uzun kodlanmayan RNA'lara en yakın olanlar değil, neredeyse her zaman genomda uzakta bulunan genlerdi.

Bilim insanları, çift taraflı (resiprokal) deney de yaptılar. EK hücrelerini, farklılaşmalarına neden olacağı bilinen bir kimyasal maddeyle muamele ettiler ve daha sonra ilgilendikleri belirli uzun kodlanmayan RNA sınıfının ifadesini analiz ettiler. Araştırmacılar, uzun kodlanmayan RNA'ların yaklaşık yüzde 75'inin ifadesinin, hücreler pluripotent olmaktan çıkıp bir gelişim yolağına bağlanırken düştüğünü buldular. İki veri seti, belirli uzun kodlanmayan RNA'ların ifade seviyelerinin, EK hücreleri pluripotent bir durumda tutmak için adeta bir bekçi gibi hareket ettiği fikriyle tutarlıdır.¹³ Bu da, protein kodlamayan RNA'ların, en azından erken gelişim sırasında hücrede bir işlevi olduğuna dair bir güven yarattı.

Bazı uzun kodlanmayan RNA'lar daha sonraki gelişim aşamalarını da etkileyebilir. 4. Bölüm'de tanıştığımız HOX genleri gibi. Bunlar, vücut parçalarının doğru biçimde olması için önemli olan genlerdir ve bunlarda oluşan mutasyonlar, meyve sineğinin kafasında bacak gelişmesi gibi tuhaf etkilere yol açabilir. HOX genleri, genomda kümeler halinde bulunur ve bu bölgeler, antik viral tekrarların eksikliğinin aksine, uzun kodlanmayan RNA'lar açısından olağanüstü zengindir. Bilim insanları, uzun kodlanmayan RNA'ların, genomun aynı bölgesindeki HOX genlerinin aktivitesini etkileyip etkilemediğini araştırmaya istekliydiler. Araştırmacılar bunu test etmek için, civciv embriyolarının HOX gen bölgesindeki belirli bir uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesini azaltacak bir teknik kullandılar. Deneyin sonucunda, uzuv gelişiminde bir hata olduğunu gördüler. Uzunların uçlarına doğru olan kemikler anormal derecede kısaydı.¹⁴ Benzer şekilde, bu genom bölgesindeki başka bir uzun kodlanmayan RNA'nın farelerdeki ifadesi tamamen durdurulduğunda, omurga ve bilek kemiklerinde şekil bozukluğuna sahip hayvanlar doğdu.¹⁵ Her iki veri seti de uzun kodlanmayan RNA'ların, HOX genlerinin

ifadesinin ve dolayısıyla uzuv gelişiminin önemli düzenleyicileri olmasıyla tutarlıdır.

Uzun RNA'lar ve kanser

Kanser, bazı yönlerden, gelişimin diğer yüzü olarak düşünülebilir. Kanserdeki sorunlardan biri, olgun hücrelerin, kontrol edilemeyecek şekilde yüksek bölünme kapasitesi gibi daha az özelleşmiş hücrelerin bazı özelliklerine sahip olma yönünde dönüşmesi ve değişmesidir. Uzun kodlanmayan RNA'ların pluripotensideki ve gelişimdeki önemi göz önüne alındığında, belki de bazılarının şu anda kanserle ilişkilendirilmiş olması şaşırtıcı gelmeyecektir.

Geçtiğimiz yıllarda kapsamlı bir çalışmayla, dört farklı kanser türü (prostat, yumurtalık, glioblastoma adı verilen bir beyin tümörü ve akciğer kanserinin belirli bir türü) içeren toplamda 1.300'den fazla tümörde, uzun kodlanmayan RNA'ların ifadesi analiz edildi. Hastalıktan hızlı bir şekilde ölen hastalarda yaygın olarak bulunan ve en yüksek ifade seviyesine sahip yaklaşık 100 uzun kodlanmayan RNA vardı. Bu uzun kodlanmayan RNA'ların dokuzu, değerlendirilen kanserin tipi ne olursa olsun bu ilişkiyi göstermiştir ki bu da bir hastanın sağkalım şansını öngörmek için onlardan daha genel bir belirteç gibi yararlanılabileceğini akla getirmektedir.¹⁶

Yine aynı çalışmada, prostat kanseri hariç diğer üç kanser türü için, tümörün bir alt sınıfını diğerinden ayıran uzun kodlanmayan RNA'ların tespit edilebileceği bildirildi. Burada örneğin yumurtalık (over) kanserine atıfta bulunsak da, dâhil olan hücre tiplerine bağlı olarak farklı yumurtalık kanseri türleri vardır ve bu, bir hastadaki tümörün doğal seyrini etkiler. Bu da, hastalığın prognozu ve hastanın görmesi gereken tedavi üzerinde etki yaratabilir. Bir tümör örneğindeki belirli uzun kodlanmayan RNA'ların ifadesinin analiz edilmesi, ge-

lecekteki klinisyenlerin her bir hasta için en uygun tedaviyi seçmelerine yardımcı olabilir.

Uzun kodlanmayan RNA ifadesi ve kanser arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmaların sayısı günden güne artmaktadır. Kanser genetik olarak araştırıldığı çalışmalardan da ilginç sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Bazı kanserlere, aile içinde aktarılan tek bir gerçekten güçlü mutasyon neden olur. Muhtemelen en iyi bilinen örnek, kadınları agresif meme kanserinin yüksek riski altında bırakan, mutasyona uğramış BRCA1 genidir. 2013 yılında aktris Angelina Jolie'nin çifte mastektomi ameliyatı olmayı seçmesinin nedeni, bu gende bir mutasyona sahip olduğunu bilmesiydi. Aslında, bu tarz çok güçlü tek gen mutasyonları kanserde oldukça nadirdir. Ancak yapılan çalışmalar, çok sayıda kanserin genetik bir bileşene sahip olduğunu göstermiştir. Sorun, bilim insanları genetik çeşitliliklerin kanser riskiyle ilişkili olduğu yerleri haritalarken, sıklıkla protein kodlayan genlerin bulunmadığı genom bölgelerinde bu ilişkili bölgeleri bulmaları olmuştur. Kanserle ilişkili 300'den fazla genetik varyasyonun sadece yüzde 3,3'ü, bir protein içerisindeki amino asitleri değiştiriyordu ve yüzde 40'tan fazlası klasik protein kodlayan genler arasındaki bölgelerde yerleşti. Bu tip durumlarda varyasyonlar, belki protein kodlayan genleri değil ama uzun kodlanmayan RNA'ları etkileyebilir. Son araştırmalar, bunun en az iki kanser türündeki (papiller tiroid kanseri ve prostat kanseri) varyasyonların bazıları için geçerli olduğunu onaylamıştır.¹⁷

Cesaret verici bir şekilde, bazı durumlarda bu ilişkilerin sadece bir ilişkiden daha fazlası olduğunu, uzun kodlanmayan RNA'ların kendilerinin kanser hücrelerinin davranışlarında değişikliklere neden olduğunu gösteren işlevsel veriler toplamaya başlıyoruz.

Prostat kanserinde ifadesi artmış bir uzun kodlanmayan RNA vardır. Bu artan ifade, normalde hücreleri çok hızlı

bir proliferasyon sürecinden geri tutan kilit proteinlerin ifadesinin azalmasına neden olur.^{18,19} Bu uzun kodlanmayan RNA'nın aşırı ifadesi, aslında yokuş aşağı park edilmiş bir arabanın el frenini çekmemek gibidir. Yapılan bazı araştırmalar sonucunda, etkisizleştirilmesiyle gelişmekte olan farelerde iskelet deformasyonlarına neden olan bir uzun kodlanmayan RNA'nın karaciğer,²⁰ kolorektal,²¹ pankreas²² ve meme²³ dâhil olmak üzere çeşitli kanserlerde aşırı ifade edildiği ve bu aşırı ifadenin hastalar için zayıf prognoz ile ilişkili olduğu gösterildi. Laboratuvarlarda kültürdeki kanser hücreleri kullanılarak yapılan araştırmalar, bu uzun kodlanmayan RNA'nın aşırı ifadesinin, hücrelerin vücudun diğer kısımlarına göç etme ve orayı istila etme olasılığını artırabileceğini göstermektedir.

Uzun kodlanmayan RNA'ların, sadece laf olsun diye değil, kansere aktif olarak dâhil olduğunu doğrulayan en güçlü verilerden bazıları, prostat kanserinden gelir. Prostat kanseri gelişmeye başladığında, kanserin büyümesi, testosteron olarak adlandırılan erkeklik hormonuna bağlıdır. Testosteron bir reseptöre bağlanır ve bu hücre çoğalmasını destekleyen çeşitli genlerin aktivasyonuna yol açar. Testosteronun reseptörüne bağlanması, ayağınızı arabanızın gaz pedalına basmanız gibidir. Prostat kanseri öncelikli olarak hormonun reseptörüne bağlanmasını durduran ilaçlar kullanılarak tedavi edilir. Bu, ayağınızla gaz pedalı arasında bir cisim olması gibidir, böylece aracı daha da hızlandırmak isterseniz bile gaz pedalının üzerine basamazsınız.

Fakat zamanla kanser hücresi, sıklıkla alternatif bir yol bulur. Hormon reseptörü, etrafında testosteron olup olmadığına bakmaksızın genleri aktive etmenin yollarını bulur. Sanki biri, gaz pedalının üzerine bir çuval şeker koymuş gibidir. Ayaklarınız kontrol panelinde olsa bile, gaz pedalı her zaman aşağı basılıdır ve bu da aracı hızlandırır. Benzer bir durum agresif prostat kanserinde de gösterilmiş ve aşırı ifade edi-

len iki uzun kodlanmayan RNA'nın bu süreçte kritik bir rol oynadığı belirlenmiştir. Bu RNA'lar reseptöre yardım ederek çevresinde hormon olmadığında bile gen ifadesini yönlendirir ve hücre çoğalmasını hızlandırır. Yani, araba benzetmemizdeki şeker çuvalı rolünü oynar. Eğer kanser modellerinde bu spesifik uzun kodlanmayan RNA'ların ifadesi yok edilirse, tümörler, büyümede gerçekten çarpıcı bir düşüş gösterir ve bu da bu moleküllerin kritik rolünü destekler.²⁴

Başka bir uzun kodlanmayan RNA da prostat kanserinde işe karışmaktadır. Bu uzun kodlanmayan RNA'nın seviyesi ne kadar yüksekse, kanseri de o kadar agresif, tedaviden sonra kanserin tekrarlama süresi o kadar kısa ve ölüm riski de o kadar fazladır. Kanser modellerinde bu uzun kodlanmayan RNA'nın etkisizleştirilmesi, yukarıda tarif edilenlerle benzer bir koruyucu etkiye sahiptir, ancak bu defa etkilerin testosteron reseptörü ile olan etkileşimden kaynaklanmadığı görülmektedir.²⁵ Bu da bizlere, uzun kodlanmayan RNA'ların, tek bir tümör tipinde bile kanserin ilerlemesini farklı şekilde etkileyebileceğini gösterir.

Uzun RNA'lar ve beyin

Bu moleküllerin fonksiyonlarıyla ilgilenenler, sadece kanser uzmanları değil. Uzun kodlanmayan RNA'ların çoğu beyinde, diğer dokulara (testisler hariç) kıyasla daha fazla ifade ediliyor.²⁶ O kadar öyle ki, bazıları, aynı gelişim evrelerinde ve aynı bölgelerde meydana gelen ifade modeliyle kuşlardan insanlara kadar korunmuştur. Hal böyle olunca da, normal beyin gelişiminde korunmuş işlevlere sahip olabilecekleri fikri gündeme gelmiştir. Bununla birlikte, beyinde ifade edilen uzun kodlanmayan RNA'ların çoğu insanlara veya primatlara özgüdür ve bu da araştırmacıları, yüksek primatlarda bulunan oldukça karmaşık bilişsel ve davranışsal işlevlerden, en azından kısmen, sorumlu olup olmadıklarını merak etmeye yöneltmiştir.²⁷

Beyindeki hücrelerin birbirleriyle nasıl bağlantı kurduğunu etkileyen bir uzun kodlanmayan RNA geçtiğimiz yıllarda tespit edilmiştir.²⁸ Diğer büyük maymunlardan ayrıldığımızdan beri evrimleşen bir başka uzun kodlanmayan RNA, insan korteksini meydana getiren eşsiz gelişimsel işlemler için gerekli olan bir genin düzenlenmesinde rol oynuyor olabilir.²⁹

Yukarıdaki örneklerin hepsi, uzun kodlanmayan RNA'ların beyinde faydalı roller oynadığını göstermektedir. Fakat sağlıklı olduğu kadar hastalıkta da işe karışabilirler. Alzheimer hastalığı, genellikle yaşlanma ile ilişkilendirilen yıkıcı bir demanstır (bunama). İnsan ömrünün uzamasıyla birlikte, Alzheimer hastalığı giderek daha da yaygınlaşıyor. Dünya Sağlık Örgütü, dünya çapında 35 milyondan fazla insanın demanstan mustarip olduğunu ve bu sayının 2030'a kadar iki katına çıkacağını tahmin ediyor.³⁰ Ne yazık ki şu an kesin bir tedavisi yok. Klinik ilerlemeyi yavaşlatan ilaçlar mevcut olsa bile, bu ilaçlar belirtileri geri çeviremiyor ya da tamamen durduramıyor. Hastalığın duygusal ve ekonomik maliyeti çok yüksek, ancak tedaviye yönelik ilerleme oldukça yavaştır. Bunun nedeni, bu hastalıktan etkilenenlerin beyin hücrelerinde tam olarak neyin yanlış gittiğini hâlâ iyi anlayamamış olmamızdır.

Hastalık sürecindeki en az bir önemli adımın, otopside de tespit edilebilen, beyindeki çözünmeyen plakların üretimi olduğunu bildiğimizden eminiz. Aslında bunlar, proteinlerin yanlış katlanması sonucu oluşur ve bu proteinlerin en önemlilerinden biri de beta-amiloid olarak adlandırılır. BACE1 adlı bir enzimin, büyük bir proteini parçalara ayırması sonucunda bu plaklar oluşur. Tıpkı Xist ve Tsix arasında görülen ilişki gibi, BACE1'in bulunduğu genin aynı bölgesinden ama karşı DNA zincirinden, bir uzun kodlanmayan RNA üretilir.

Uzun kodlanmayan RNA ve standart BACE1 mesajcı RNA'sı birbirlerine bağlanır. BACE1'in mesajcı RNA'sı çok

daha stabil bir hale gelerek, hücrede daha uzun süre kalır. Bunun sonucunda da hücre BACE1 proteininin daha fazla sayıda kopyasını oluşturabilir. Bu da, plakların oluşumu için gerekli olan beta-amiloid üretiminin artmasına neden olur.³¹

Bu uzun kodlanmayan RNA seviyelerinin, Alzheimer hastalığı olan hastaların beyinlerinde arttığı bildirilmiştir ama bu veriyi yorumlamak bir hayli zor. Genel olarak o bölgedeki artan ifadenin sadece bir sonucu da olabilir. Daha önceki benzetmemizi hatırlayın; kütükleri ne kadar çok keserseniz o kadar fazla talaş yaratırsınız. Ancak araştırmacılar, Alzheimer'ın patolojisini sık sık geliştiren bir fare modelinde sadece uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesini spesifik olarak azaltmanın bir yolunu bulmayı başardılar. Uzun kodlanmayan RNA'nın etkisizleştirilmesi, BACE1 proteininin azalması ve dolayısıyla daha az beta-amiloid plağı oluşumuyla sonuçlandı. Elde edilen sonuç da, uzun kodlanmayan RNA'nın bu yıkıcı hastalığa sebebiyet veren bir rolü olabileceği fikrini desteklemektedir.³²

Uzun kodlanmayan RNA'lardan sadece merkezi sinir sistemi etkilenmez. Nöropatik ağrı, fiziksel bir uyarana olmasa bile, hastanın ağrı hissettiği bir durumdur. Vücudun çevresinden aldığı sinyalleri merkezi sinir sistemine (beyin ve omurilik) ileten sinirlerdeki anormal elektriksel aktivite nedeniyle oluşur. Hastalar için oldukça acı verici bir durum olabilir. Üstelik aspirin veya parasetamol gibi normal ağrı kesicilerin de pek bir faydası olmaz. Sinirlerin neden anormal davrandığı genellikle açık değildir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bazı hastalarda, elektrik kanallarından birinin ifade seviyesini değiştiren bir uzun kodlanmayan RNA'nın seviyesindeki artışın buna neden olabileceğini göstermiştir. Bunu, elektrik kanalını kodlayan mesajcı RNA'ya bağlanıp, onun stabilitesini ve dolayısıyla üretilen proteinin miktarını değiştirerek yapar.³³

Uzun kodlanmayan RNA'ların rol oynadığı iddia edilen hastalıkların çeşitliliği sürekli olarak artmaktadır.³⁴ Öte yan-

dan, bu uzun kodlanmayan RNA'ların gerçekte ne kadar işlevsel ve önemli olduğu konusundaki tartışmalar da devam ediyor. Gerçekten proteinler kadar önemli olabilirler mi? Muhtemelen teker teker ele alındıklarında cevap genellikle "hayır" dır. Tabii Xist gibi kesin olarak hayati bir molekülle karşılaşmadığımız sürece. Ancak, etkiyi tek bir uzun kodlanmayan RNA açısından düşünmek, olayı anlamamızı engellerebilir.

Yakın tarihli bir eleştiri, "Farklı bir olasılıkla bu uzun transkriptlerin çoğunun, en iyi ihtimalle, genom yönetiminin açma kapama düğmesi değil, hafif itekleyicisi ve küçük tornavidası" olduğunu önerdi.³⁵ Esnek bir yapı için en büyük zorluklar ve seçenekler, açık/kapalı veya siyah/beyazdan değil, ses seviyelerindeki ince değişikliklerden veya grinin pek çok tonundan gelir. Kısacası, biyolojik olarak, itekleyicilerimize ve küçük tornavidalarımıza olan borcumuz bir hayli fazladır.



Karanlık Maddenin Renklendirilmesi

Biyolojide, *Ne yapıyor?* sorusunu her zaman *Nasıl yapıyor?* sorusu takip eder. Uzun kodlanmayan RNA'ların ne olduklarını ve yaptıklarının en azından bazılarını –gen ifadesini düzenlediklerini– biliyoruz. Öyleyse sıra, sorulabilecek en mantıklı soruya geldi: bunu nasıl yapıyorlar?

Bu sorunun tek bir cevabı olmayacaktır. İnsan genomundan üretilen binlerce uzun kodlanmayan RNA var ve bunların neredeyse hiçbiri kesinlikle aynı şekilde çalışmaz. Öte yandan, bazı ana mekanizmalar da ortaya çıkmaya başladı.

En önemli mekanizmalardan biri, daha önce 6. Bölüm'de karşılaştığımız, sentromerler ve bunların hücre bölünmesindeki rolleriyle ilgilidir. Eğer Şekil 6.3'e (sayfa 94) tekrar baktarsak, hücrelerimizdeki DNA'nın sekiz histon proteininin etrafına sarılı olduğunu hatırlayabiliriz. Şimdiye kadar bunları paketleyen proteinler olarak adlandırdık ancak gerçekte bundan çok daha karmaşık rolleri vardır. Hücrelerimiz, histon proteinlerini veya DNA'nın kendisini değiştirebilir. Bunu onlara küçük kimyasal gruplar ekleyerek yapar. Bu kimyasal ilaveler, bir genin dizisini değiştirmez. Gen, hâlâ aynı RNA molekülünü ve aynı proteini kodlayacaktır (tabii bu bir protein kodlayan gense). Ancak modifikasyonlar, belirli bir genin ifade edilme olasılığını değiştirir. Diğer proteinler için bağlanma bölgesi olarak işlev görecekları için modifikasyonlar bunu yapabilmektedir. Modifikasyonlar, nihayetinde bir geni

açan ya da kapatan proteinlerin büyük komplekslerinin oluşacağı ilk bağlanma yerleridir.

DNA ve DNA'nın ilişkili olduğu proteinlerinde yapılan bu değişiklikler, epigenetik modifikasyonlar olarak bilinir.¹ *Epi*, Yunancadan gelir ve "üstünde", "üzerinde", "-e ek olarak" ve "yanı sıra" anlamlarına gelir. Bu modifikasyonlar, genetik diziye ek olarak bulunur. Anlaması en kolay değişiklik, DNA'nın bizzat kendisinin üzerinde olandır. DNA'nın en yaygın modifikasyonu, bir C bazının bir G bazı tarafından takip edilmesi durumunda meydana gelir. Bu dizi, CpG olarak adlandırılır ve hücredeki enzimler bu bölgelere modifikasyonlar ekleyebilir. Metil adı verilen bir kimsayal grup, C'ye eklenebilir. Metil, sadece bir karbon ve üç hidrojen atomundan oluşur ve çok küçüktür. Bunlardan birini C bazına yapıştırmak, çiçek açmış günebakanın bir yanına yonca yaprağı yapıştırmak gibidir.

Eğer bir DNA dizisinde çok fazla CpG motifi varsa, metil gruplarının epigenetik olarak eklenebileceği çok fazla bölge var demektir. Böylece, o genin ifadesini baskılayacak proteinler bölgeye çekilir. Yakınlarında çok sayıda CpG motifi bulunan bazı uç durumlarda, DNA metilasyonu, olağanüstü derin bir etkiye sahip olabilir. Fakat özünde, DNA şeklini değiştirir ve gen tamamen kapanır. Dikkat çekici bir şekilde, sadece o hücrede değil, o hücrenin bölünmesiyle oluşturulan tüm yavru hücreler de kapatılabilir. Beynimizdeki nöronlar gibi bölünmeyen hücrelerde ise bu DNA metilasyon kalıpları, biz daha henüz anne karnundayken oluşturulabilir. Bunların çoğu 100 yıl sonra bile hâlâ yerinde olacaktır, tabii eğer o kadar uzun yaşarsak.

DNA metilasyonunun, bireyin yaşamı boyunca neredeyse kalıcı olarak genleri kapatabileceği iddiası büyük heyecan yarattı. Bunun nedeni de bilim insanlarına, onlarca yıldır herkesi şaşırtmakta olan bir alanı derinlemesine incelemek için

bir mekanizma sağlamış olmasıydı. Aslında uzun zamandır, her durumun genetik ile açıklanamayacağını biliyorduk. Biliyorduk çünkü genetik olarak tıpa tıp aynı olsa da aslında birbirinden farklılık gösteren birçok durum vardı. Örneğin, pupa evresini atlatan bir tırtıl, kelebeğe dönüştüğünde, hâlâ aynı genomu kullanmaya devam eder. Tamamen standart laboratuvar koşullarında yetiştirilen ve genetik olarak aynı olan farelerin hiçbiri aynı ağırlıkta değildir.

Siz ve ben, sevgili okurlarım, epigenetiğin şaheserleriyiz. Bir insan vücudundaki 50-70 trilyon hücrenin neredeyse tamamı tıpatıp aynı genetik kodu içerir.* İster ter bezlerimizdeki tuz salgılayan hücreler olsun, ister göz kapaklarımızın üzerindeki deri hücreleri olsun ya da dizlerimizdeki darbe emici kıkırdak üreten hücreler olsun, hepsi tamamen aynı DNA'yı içerir. Bu hücreler sadece, bulundukları dokuya bağlı olarak, genlerdeki bilgiyi farklı şekillerde kullanır. Örneğin, beyindeki nöronlar, nörotransmitterler için reseptör genlerini ifade ederken, kırmızı kan hücrelerimizde oksijen taşıyan pigment olan hemoglobin genlerini kapatır.

Bunların hepsi, yıllarca epigenetik fenomen olarak adlandırığımız durumların örnekleridir. Evet, modifikasyonlar için kullandığımızla tamamen aynı kelime ve aslına bakarsanız da bu çok mantıklı. Bütün bunlar, genetik koda ek olarak veya genetik kodun yanı sıra, başka bir etkenin olduğu durumlardır.

DNA metilasyonunun keşfi bizlere, epigenetik olayların nasıl gerçekleştiğini anlamak için bir mekanizma verdi. Bir nöronda, hemoglobin üretiminden sorumlu olan genler yoğun bir şekilde metillenir ve kapatılır. Hayat boyu kapalı ka-

* Özel enfeksiyonlarla savaşan bağışıklık sistemi hücreleri istisnadır. Olağandışı olarak, bu hücreler çok çeşitli yabancı proteinlere cevap verebilecek farklı antikör ve reseptör kombinasyonları oluşturmak için bazı genlerini yeniden düzenler.

lır. Diğer taraftan, kırmızı kan hücrelerini meydana getiren hücrelerde, hemoglobin genleri metillenmez ve bu sayede hemoglobin üretilir. Fakat kan hücrelerinde de aynı epigenetik mekanizma kullanılarak nörotransmitter reseptörlerini kodlayan genler kapatılır.

DNA metilasyonu oldukça stabildir. Modifikasyonu kaldırmak, şaşırtıcı derecede zordur. Bu, hücrelerinizin belirli genleri uzun süre kapalı tutması gerektiğinde iyi bir durumdur. Ancak, bazen hücrelerimizin, çevrelerindeki kısa süreli değişikliklere cevap vermesi gerekir. Bu kısa süreli değişiklikler arasında örneğin alkol tüketmek ya da iş görüşmesi için strese girmek olabilir. İşte böyle bir durumda hücrelerimiz, ikinci bir sisteme dönerler ve bu sefer genlere bitişik histon proteinlerine modifikasyonlar eklerler. Histon modifikasyonlarının değiştirilmesi de genleri kapatabilir, ancak bu modifikasyonların uzaklaştırılması nispeten kolay olduğu için hücre, ihtiyaç halinde genleri oldukça hızlı bir şekilde tekrar açma seçeneğine sahiptir. Histon modifikasyonları aynı zamanda bir genin ifadesini düzenlemek için de kullanılabilir ve onu birazcık, çok az, oldukça fazla, çok fazla, vb. miktarlarda açabilir. Çok basit bir örnekle, DNA metilasyonunu açma/kapama düğmesi ve histon modifikasyonlarını da ses kontrol düğmesi olarak düşünebiliriz.

Histon modifikasyonlarının gen ifadesi için bir çeşit ince ayar mekanizması olarak işlev görmesinin nedeni, çok farklı ifade seviyelerinin olmasıdır. Mesela DNA, metilasyon seviyesine bağlı olarak grinin belki birkaç tonuyla birlikte aşağı yukarı siyah-beyaz bir yelpazeyse, histon modifikasyonları görkemli bir renk cümbüşüdür. Histon proteinlerinde modifiye edilebilen çok sayıda amino asit vardır ve çeşitli amino asitlere eklenebilecek en az 60 farklı kimyasal grup vardır. Bu da, olağanüstü bir karmaşıklık derecesi yaratır, çünkü farklı genlerde veya farklı hücre tiplerindeki aynı gende, histon modifikasyon-

larının binlerce olası kombinasyonu olduğu anlamına gelir. Ayrıca bunlar, hücre tarafından farklı şekillerde yorumlanacaktır, çünkü gen ifadesinin seviyelerini ve modellerini kontrol eden farklı protein komplekslerini çekeceklerdir. Bazı kombinasyonlar gen ifadesini artıracakken, bazıları azaltacaktır.

Genomda bir yer bulmak

Öte yandan, aslında yıllar boyunca bir bilmeceyle karşı karşıya kaldık. Histon proteinlerine modifikasyonlar ekleyen enzimler DNA dizisine karşı kördür. DNA'yı bağlamaz ve bir DNA dizisini diğerinden ayırt edemez. Yine de, herhangi bir ilgili uyaran varlığında enzimler, spesifik histonları nasıl değiştirecekleri konusunda çok hassastır. İlgili genlere yerleştirilmiş histonlara modifikasyonlar eklerken (veya kaldırırken), ilgisi olmayan genlerle ilişkili histonları görmezden gelir.

Uzun kodlanmayan RNA'ların bir diğer rolü, seçilen genlerin çevresine histon modifiye edici enzimleri çeken bir tür moleküler yapıştırıcı gibi davranmaktır. Bu özelliklerine dair kanıtlardan biri, 8. Bölüm'de bahsettiğimiz insan EK (embriyonik kök) hücrelerindeki belli uzun kodlanmayan RNA'ların etkilerini analiz eden bir çalışmadan geldi. Araştırmacılar, inceledikleri uzun kodlanmayan RNA'ların yaklaşık üçte birinin histon modifiye edici enzimler içeren protein komplekslerine bağlı olduğunu gösterdiler. Uzun kodlanmayan RNA'ların proteinlere bağlanmasının herhangi bir fonksiyonel sonucu olup olmadığını incelemek için araştırmacılar, kompleks içindeki histon modifiye edici enzimin ifadesini durdurdular. Örneklerin neredeyse yarısında, hücrenin ve gen ifadesinin üzerindeki etkiler, uzun kodlanmayan RNA'nın kendisinin durdurulmasıyla elde edilen etkinin aynısı gibi olmuştu. Bu sonuç bizlere, uzun kodlanmayan RNA ve histon modifiye edici enzimlerin hücrede gerçekten birlikte çalıştığını göstermişti.²

Uzun kodlanmayan RNA ve epigenetik sistemler arasındaki bu karşılıklı etkileşime yönelik araştırmalarının çoğu, belirli bir epigenetik enzime odaklanmıştır. Bu enzim, genlerin kapatılması ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olan belirli bir histon modifikasyonunu çeker. Bu enzimi, ana baskılayıcı (represör) olarak tanımlayabiliriz.* Bu ana baskılayıcının, birçok farklı uzun kodlanmayan RNA ile etkileşime girdiği gösterilmiştir.

Bir genin uzun kodlanmayan RNA'sı, o genin ana baskılayıcısını hedefler. Ana baskılayıcı enzim daha sonra, genlerin ifadesini yavaşlatan histonlarda baskılayıcı modifikasyonlar yaratır. Baskılayıcı modifikasyonlar da, gene bağlanıp onu daha da çok baskılayacak diğer proteinleri çeker.

Ana baskılayıcı epigenetik enzim tarafından yapılan bu kontrol, sıklıkla diğer epigenetik enzimleri kodlayan genleri kontrol etmek için kullanılır. Genellikle bu genler, ana baskılayıcının zıt etkisine sahip olan genlerdir, yani genleri açma eğilimindedir. İşin özünde toplam etki, ana baskılayıcının, gen ifadesinin genel kalıpları üzerinde güçlü bir etkiye sahip olmasıdır.³ Yani, sadece doğrudan değil, normalde diğer genleri açıp çalıştıracak olan epigenetik enzimlerin ifadesini önleyerek dolaylı yoldan genleri baskılar. Bir çeşit epigenetik çift vuruş diyebiliriz.

Genel olarak ele aldığımızda bu durum, hücrelerimizde gerçekleşen gen ifade kontrolünün tamamen normal bir parçasıdır ve sistem, tüm karmaşık hücresel yolların bütünleşmiş bir şekilde çalıştığından emin bir şekilde, tam olarak ne gerekiyorsa onu yapar. Ancak, uzun kodlanmayan RNA'lar

* Bu ana baskılayıcının adı EZH2'dir. Histon H3 üzerindeki 27. pozisyonunda bulunan lizin adı verilen bir amino aside üç metil molekülü eklenmesinden sorumludur. Bu modifikasyonun teknik adı H3K27me3'tür ve DNA metilasyonu dışındaki epigenetikte en iyi karakterize edilmiş baskılayıcı işarettir.

ve epigenetik makineler arasındaki karmaşık etkileşimin bir parçasının ayarı kaçarsa, problemler ortaya çıkabilir.

Ne yazık ki bazı kanser türlerinde olan, tam da budur. Ana baskılayıcı, prostat⁴ ve meme kanseri⁵ gibi bazı kanser türlerinde aşırı ifade edilir ve bu aşırı ifade, zayıf prognoz ile ilişkilidir. Bazı kan kanseri türlerinde, ana baskılayıcı mutasyona uğramıştır ve bu da onu anormal şekilde aktif hale getirir.⁶ Her durumda ortaya çıkan sonuç, “yanlış” genlerin bastırılmasıdır. Hal böyle olunca, genellikle bir fren görevi gören proteinlerin, hücreyi proliferasyona iterek kanseröz bir duruma teşvik ettiği bir dengesizlik ortaya çıkar. Günümüzde ana baskılayıcının aktivitesini engelleyen ilaçlar, henüz klinik denemelerin başlangıç aşamasında.⁷

Ana baskılayıcı, büyük bir protein kompleksinin bir parçası olarak çalışır* ve çeşitli uzun kodlanmayan RNA’ların bu kompleksle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Sonuçta da, hücre tipine ve davranışına bağlı olarak, baskıcı modifikasyonları hedeflemenin birçok yolu olabileceği öne sürülmüştür. Hatırlarsanız 8. Bölüm’de, artan ifade sonucu prostat kanserine neden olan bir uzun kodlanmayan RNA ile tanışmıştık (sayfa 136’ya bakınız). Bu RNA’nın, ana baskılayıcıya bağlandığı ve onu, normalde hücre proliferasyonunu durduranlar da dâhil olmak üzere, belirli genlere yönlendirdiği gösterilmiştir.⁸ Bu bulgu, uzun kodlanmayan RNA’lar ile epigenetik düzenleyiciler arasında hassas bir dengenin olduğunu ve bu dengenin bozmasının bir hücre veya birey için tehlikeli olabileceği fikrini pekiştirmiştir. Aynı bölümde karşılaştığımız iskelet bozukluklarında ve bir dizi kanserde yer alan uzun kodlanmayan

* Bu kompleks, Polikomb Baskılayıcı Kompleks 2 ya da PRC2 olarak bilinir. PRC2’nin aktivitesi, bir diğer baskılayıcı kompleks olan PRC1’in aktivitesi ile yakından koordinelidir. PRC2 genellikle genomik bir bölgedeki ilk baskılayıcı modifikasyonları oluşturur ve PRC1 baskılayıcı durumu stabilize edecek ilave modifikasyonlarla PRC2’yi takip eder.

RNA'nın bağlanmasıyla ilgili de benzer sonuçlar vardır (sayfa 138'e bakınız). Uzun kodlanmayan RNA, ana baskılayıcıyı içeren kompleksle aynı anda başka bir epigenetik enzime daha bağlanır ve bu enzim, ilave bir baskılayıcı modifikasyonu gerçekleştirir.⁹

Yukarıdaki açıklamada yer alan özelliklerden biri, uzun kodlanmayan RNA'nın transkripsiyonunun yapılacağı genin histonlarının, ana baskılayıcı ya da diğer epigenetik enzimler tarafından hedeflenmesidir. Her ne kadar bunu araştırmak zor da olsa, eldeki mevcut veri, bunun gerçekten böyle olabileceğini önermektedir. Ana baskılayıcı, uzun kodlanmayan RNA molekülünün her çeşidine bağlanabilir. Ana baskılayıcıyı içeren kompleks, histon modifikasyonlarının farklı tiplerini tanıyabilir, tabii bu biraz da kompleksin içerdiği bileşenlere bağlıdır ve bunlar da hücreden hücreye farklılık gösterebilir. Yakındaki histonları "tararken", kompleksler çeşitli modifikasyon modellerini tanıyabilir ve ana baskılayıcı modifikasyonları ekleyerek bunları güçlendirebilir. Alternatif olarak, eğer bir bölge gen ifadesine yol açan modifikasyonlar bakımından oldukça zenginse, kompleks engellenebilir ve ana baskılayıcı, histonları serbest bırakabilir. Böyle bir senaryo, akla ilk gelen, tamamen doğrusal olarak düşünmenin dezavantaj oluşturduğu senaryolardan bir diğeridir. Bunun yerine, modifikasyon modelleri sıklıkla ya korunur ya da genomda hali hazırda bulunan histon modifikasyon kombinasyonlarının bir sonucu olarak yaratılır.^{10,11}

Aynı zamanda bu durum, aktif bölgelerin aktif kaldığı zıt etki için de geçerli gibi görünmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda, uzun kodlanmayan RNA'ların, protein kodlayan genlerin açık olduğu bölgelerden de ifade edildiği bildirilmiştir. Bu uzun kodlanmayan RNA'lar, muhtemelen DNA'nın çift sarmalına eşlik edecek üçüncü bir zincir oluşturarak, üretildikleri genom bölgesine adeta demirlenmiştir. Görevleri ise,

DNA'ya metil modifikasyonları yerleştiren ve işini yapmasını engelleyen enzimlere bağlanmaktadır. Böylece, o bölgedeki genleri aktif halde tutar.¹²

İnaktifsen, inaktif kal

Dişi bir hücrede X kromozomlarından birinin ifadesini kapatmak için kritik olan Xist, tanımlanan ilk işlevsel uzun kodlanmayan RNA'lardan biriydi. Epigenetik sistemle olan etkileşimi en net şekilde gösterilenlerden biriydi ve aslında bu hiç de sürpriz değildi. Xist, X kromozomu boyunca yayılıp genişlerken, diğer proteinleri de ortama çeker. Bunların çoğu, ya DNA'ya ya da histon proteinine kimyasal modifikasyonlar ekleyen epigenetik enzimlerdir. Bunlar, histonların ana baskılayıcılarını ve DNA'ya metil grupları ekleyen enzimleri içerir.¹³ Ürettikleri epigenetik modifikasyonlar, genlerin kapatılmasını güçlendirir ve sonuçta inaktif X kromozomu sımsıkı bir hale getirilerek, Barr cisimciğinin oluşumu sağlanır ki 7. Bölüm'de bu konuyu ele almıştık (sayfa 110'a bakınız).

Hücre bölünmesinden sonra epigenetik modifikasyonların her zaman doğru X kromozomu üzerine yeniden yerleştirilmesi şaşırtıcı gelebilir. O halde fiziksel bir örnek kullanarak durumu hayal etmemizi biraz kolaylaştıralım. Şöyle düşünelim: İki tahta beyzbol sopanız var ve Xist'i temsil edecek olan sopayı manyetik boya ile kaplıyorsunuz. Boya kuruduktan sonra her iki sopayı da küçük demir diskler içeren bir küvete bırakın. Her diskin bir tarafı, cırt cırtlı bant ile kaplanmış olsun. Bu diskler, Xist kaplı kromozoma bağlanan epigenetik proteinleri temsil etsin. Manyetik boya kaplı olan sopanıza bu demir diskler yapışacak fakat diğer sopaya yapışmayacaktır. Daha sonra, bu iki sopayı da içinde bir parça cırt cırt ile desteklenmiş güzel kumaş çiçeklerin bulunduğu bir küvette bırakın. Bu çiçekler de modifikasyonları temsil etsin. Tıpkı

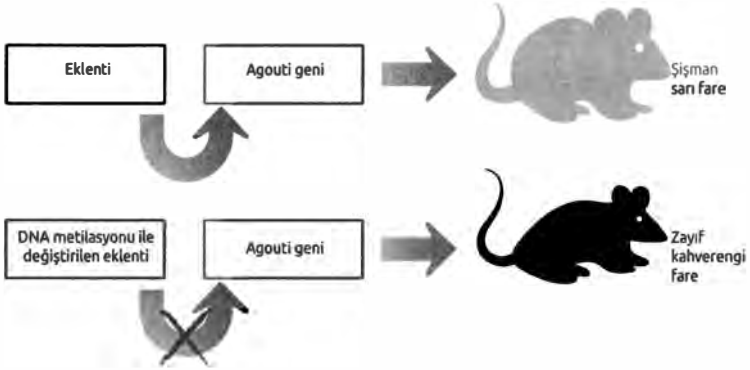
tahmin ettiğiniz gibi, çiçekler, manyetik olmadıkları halde, yalnızca manyetik boya ile kaplanmış sopaya yapışacaktır.

Biraz tuhaf olan bu düşünce deneyini isterseniz daha da ileri götürebilirsiniz. Çiçekleri sopadan ayırdınız ama bu defa da cırt cırtlı çiçekler içeren başka bir küvete düşürdünüz diyelim, sopa tekrar çiçekle kaplanacaktır. Hatta, küçük demir diskleri de sopadan uzaklaştırabilirsiniz ama sopayı birinci ve ikinci küvetlere geri koyduğunuz sürece sopa tekrar çiçeklerle kaplanacaktır.

Aslında, sopanın çiçeklerle kaplanmasını önlemenin tek bir yolu vardır: manyetik boyayı çıkarmak. Kadınlar yumurta üretirken olan tam da budur. İnaktive edici işaretlerin tümü X kromozomlarından uzaklaştırılır ve tüm yavru hücreler, başka bir deyişle tüm yumurtalar, “temizlenmiş” olacağı için yavrularına bu inaktivasyonu geçirmeyecektir. Manyetik boya, erken gelişim sırasında iki X kromozomundan birine tekrar uygulanmak zorundadır.

Antik yabancıları sessiz tutmak

Uzun kodlanmayan RNA’lar, epigenetik proteinlerle açık bir biçimde etkileşime girer ve onların işlevinin düzenlenmesine yardım eder. Ancak çöpün, epigenetik sistemle konuşmasının tek yolunun bu olduğunu düşünmek hatalı olur. Bilakis. İnsan genomunun çok sayıda tekrarlayan DNA elementleri tarafından istila edildiğini ve bunların kapatılmasının ne kadar önemli olduğunu 4. Bölüm’de görmüştük. O kadar öyle ki bazı araştırmacılar, gen ifadesinin epigenetik kontrolünün, başlangıçta belirli çöp bölgelerin kontrol altında tutulması için geliştiğini iddia edecek kadar ileri gittiler.¹⁴ Ama daha sonra, epigenetik sistemin, normal endojen genleri düzenlediği yeni bir alan bulundu.



Şekil 9.1. Üstteki şekilde Agouti genine eklenen bölge, genin ifade olmasını sağlayarak şişman ve sarı fare gelişmesini sağlar. Altta ise eklenen bölge, DNA metilasyonu aracılığıyla değiştirilmiştir. Değişen bölge artık Agouti geninin ifadesini yönlendiremez ve fare, zayıf ve kahverengi olacak şekilde gelişir.

Çöp DNA, epigenetik ve bir memelinin nihai görünümü ve davranışı arasındaki etkileşime yönelik gerçekten çarpıcı örneklerden biri, yaşayan sarı Agouti fareleri olarak adlandırılan bir fare soyunda bulunmuştur. Bu farelerin hepsi genetik olarak aynıdır, ancak çok farklı görünebilirler. Bazıları şişman ve sarı, bazıları ince ve kahverengi, bazıları ise ikisi arasında bir yerdedir. Farelerin görünüşlerindeki bu farklılıklar, bir çöp DNA bölgesinin değişken epigenetik düzenlenmesinden kaynaklanmaktadır. Bu farelerde, tekrarlayan bir DNA elementi, belirli bir genin önündeki bölgeye yerleşmeye başlamıştır. Bahsi geçen DNA elementi değişken ve rastgele seviyelerde metilasyona maruz kalabilir. Metilasyon ne kadar fazla olursa, tekrarlayan DNA elementinin aktivitesi o kadar fazla baskılanır ve bu da yakınındaki genin ifadesini etkiler.¹⁵ Sonuçta, farenin ne kadar şişman ve ne kadar sarı olacağını belirleyen, yakındaki genin ifade seviyesidir. Şekil 9.1’de farelerdeki bu durum özetlenmiştir.

Epigenetik ve tekrar uzaması

Epigenetik ve çöp DNA arasındaki etkileşim, bazı genetik mutasyonların etkisinden de sorumludur. 1. ve 2. Bölüm’de ele aldığımız Frajil X Sendromu bunun klasik bir örneğidir. Hastalığa yol açan mutasyon, bazen binlerce kopyaya ulaşabilen CCG üçlü tekrarlarının uzamasıdır. Fark ettiğiniz üzere bu tekrar, kendisinden sonra bir G gelen C içermektedir ki bu da bölüm başında ele aldığımız, DNA metilasyonu için bir hedef dizi olan CpG’yi oluşturur. Bu çöp tekrar dizisi çok fazla uzadığında, CpG motifine metil grubu takacak protein ve enzimlere karşı koyamaz hale gelir. Gen ifadesini baskılayan tüm proteinler sırayla bölgeye çekilerek tekrarın çok ağır metilasyonuna ve hatta DNA’nın yapısında bile değişikliklere yol açılır. En nihayetinde hücrenin Frajil X proteinini ifade etmesi imkânsızlaşır ve çöp DNA ile epigenetik arasındaki bu etkileşimin sonucu, yaşam boyu öğrenme güçlüğü ve sosyal dezavantajlılık olur.



10

Ebeveynler Çöpü Neden Sever?

Yahudi-Hristiyan inançları aşılanarak yetiştirilen çocukların öğrendiği ilk İncil hikâyelerinden biri yaratılış hikâyesidir. Bu hikâyede Tanrı; dünyayı, gök kubbeyi ve bunların içlerinde olan her şeyi ve en nihayetinde de Âdem ve Havva'yı yaratır. Daha sonra, Yeni Ahit'in başlangıcında Hristiyan geleneğindeki bariz istisna dışında hiçbir ilahi müdahaleye gerek kalmadan, dünyadaki insanların hepsi, onların soyundan gelir.

Âdem ve Havva hikâyesinin güçlü etkisi, belki de içimize işlemiş olan biyolojinin basit bir parçası oluşumuzu kabullenmemizi yansıtır. Bir çocuk yaratmak için bir kadına ve bir erkeğe ihtiyacınız vardır. Biyolojik bakımdan, yeni bir çocuğun iki erkek, iki kadın veya kendi başına tek bir kadın tarafından hayata getirilmesi mümkün değildir.

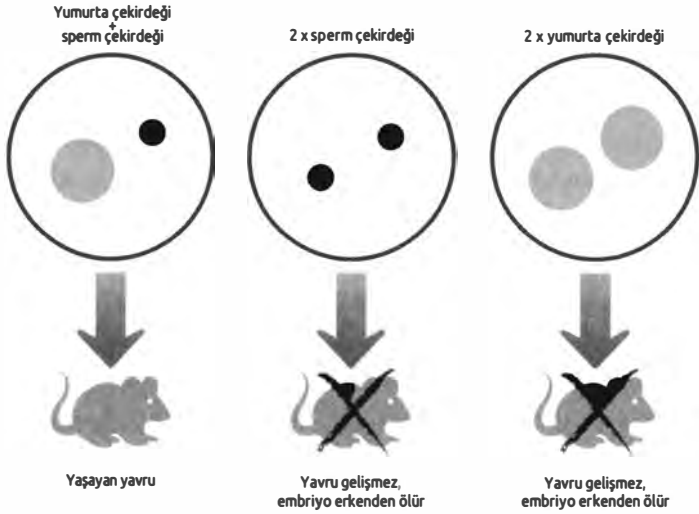
Bu biyolojik kesinlik o kadar barizdir ki, neredeyse hiçbir şekilde bunu sorgulamayı düşünmeyiz. Ama sorgulamalıyız çünkü bazen en olağanüstü biyoloji, en açık ve sıradan varsayımlarda gizlidir. Sorgulamalıyız, çünkü insanlar, yavrularını örneğin bir yumurta içinde değil de canlı olarak doğuran diğer tüm memeliler gibi, hayvanlar âleminde bakireden doğumun mümkün olmadığı yegâne canlı sınıfı içinde yer alırlar. Yeni bir birey yaratmak için memeli yumurtalarının bir sperm tarafından döllenmesi gerekir. Hayvanlar âleminin diğer tüm sınıflarında dişilerin, karşı cinsle hiçbir eşleşme olmaksızın canlı doğum yapabildiği örnekler vardır. Üstelik bu sadece

böcekler gibi, daha alt sınıflarla da kısıtlı değildir. Balıkların, amfibilerin, sürüngenlerin ve hatta bazı kuşların bile bunu yapabildiğini biliyoruz. Memeliler bunu yapamaz. Bu da bakireden doğumdaki kısıtlamanın, 300 milyon yıldan daha uzun bir süre önce, memeli ve sürüngen hatlarının ayrılmasının ardından, nispeten yakın bir zamanda ortaya çıktığını öne sürer.

Memelilerdeki bu yetersizliğin, temel biyolojiden ziyade bir nevi teslimat sorunu olduğunu söyleyebiliriz. İki memeli yumurtası kaynaşmaz, dolayısıyla da diğer tüm hücreleri oluşturacak olan zigotu meydana getiremez. Sonuç olarak, memeli üremesinin bir erkek donöre ihtiyacı olacaktır, çünkü sadece bir sperm, bir yumurtaya nüfuz edebilir ve kendi DNA'sını ona aktarabilir. Memeli yumurtalarının normalde kaynaşamayacakları kesinlikle doğru olsa da, aslında neden bir sperme ihtiyaç duyulduğuna dair gerçek bir açıklama değildir. Aslında, açıklama bundan çok daha ilginçtir ve 1980'lerin ortalarında model organizma olarak farelerin kullanıldığı sistemlerle gerçekleştirilen bir dizi zarif deneyle de gösterilmiştir.

Araştırmacılar önce, döllenmiş ve çekirdeği çıkarılmış fare yumurtalarını elde ettiler. Yumurtaları, yumurtalardan veya spermlerden izole ettikleri çekirdeği kullanarak yeniden yapılandırıp, alıcı dişi farelerin uterusuna yerleştirdiler. Sonuçlar, Şekil 10.1'de gösterilmektedir.

Yaşayan fare, sadece bir yumurtanın ve bir spermin çekirdeğini taşıyacak şekilde oluşturulan yumurtadan doğmuştur. İki sperm ya da iki yumurta çekirdeği kullanıldığında, embriyoların bir süre geliştiği ancak gelişmelerini tamamlamadıkları görülmüştür. Genetik açıdan ele aldığımızda bu sonuç, gerçekten tuhaftır. Her üç deney sisteminde de yeniden yapılandırılan yumurtalar, doğru miktarda DNA içermektedir. DNA dizisi açısından ele aldığımızda, spermdeki



Şekil 10.1. Eğer bir yumurta çekirdeği ve bir sperm çekirdeği, kendi çekirdeğini kaybeden boş bir yumurtaya yerleştirilirse, canlı bir fare üretilir. Eğer iki yumurta çekirdeği ya da iki sperm çekirdeği kullanılırsa, ortaya çıkan embriyolar düzgün şekilde gelişemez. Her üç senaryoda da aynı genetik bilgi mevcuttur.

DNA ile yumurtadaki DNA arasında gerçek bir fark yoktur çünkü yapılan deney, yumurtanın ve spermin her biri bir X kromozomu taşıyacak şekilde özellikle tasarlanmıştır. Deneğin sonucu, garip bir paradoks yarattı. Her üç deneysel durumda, hücrelerin içerdiği DNA dizileri tamamen aynıydı. Fakat canlı doğum sadece bir dişinin ve bir erkeğin DNA dizisinin kullanılmasıyla gerçekleşmişti.¹

İnsanlarda görülen ve hidatidiform mol (mol gebeliği ya da üzüm gebeliği de denir) adı verilen bir durum nedeniyle, hem yumurtaya hem de sperme olan bu gereksinimin sadece farelerle sınırlı bir durum olmadığını biliyoruz. Kilo alan ve sabah bulantılarından sık sık mustarip olan bir kadın hamile gibi durabilir. Ancak bir ultrason taraması; sıvı dolu kistler oluşturmuş, genişlemiş anormal bir plasantanın varlığını tes-

pit ederken, embriyonun bulunmadığını gösterecektir. Buna hidatidiform mol denir ve her 1200 gebelikten birinde tespit edilir. Bazı Asya toplumlarında bu oran, 200 gebelikte 1'e kadar çıkabilmektedir. Bu yapı, döllenmeden yaklaşık dört ila beş ay kadar sonra kendiliğinden ortadan kalkar, ancak doğum öncesi kontrolleri iyi olan toplumlarda klinisyenler, potansiyel olarak tehlikeli tümörlerin gelişmesini önlemek için bunlara daha erken müdahale edeceklerdir.

Anormal plasenta üzerinde yapılan genetik analizler, bizler için çok bilgilendirici olmuştur. Araştırmacılar, örneklerin çoğunda, hidatidiform mollerin, herhangi bir sebepten dolayı çekirdeği olmayan bir yumurtanın, bir sperm tarafından döllenmesiyle ortaya çıktığını gösterdiler. Bu yumurtalarda, normal bir insandaki kromozom sayısı olan 46'yı oluşturmak için, spermdeki 23 kromozom kendini kopyalar. Örneklerin yaklaşık beşte birinde ise iki sperm, alışılmadık bir şekilde çekirdeksiz olan yumurtalardan birine aynı anda nüfuz ederek, yine doğru sayıda kromozom içeren molü oluşturur. Tıpkı fare deneylerinde olduğu gibi, doğru sayıda kromozom içermesine rağmen hidatidiform mol, sadece bir ebeveynden türetilir ve bu da yine gelişim yollarında ciddi bir başarısızlığa yol açar.

Klinik örnekler ve fare deneyleri gerçekten temel bir noktayı ortaya koydu. O da, gametlerin (yumurta ve sperm), genetik kodun yanı sıra başka bilgilere de katkıda bulunduğudur çünkü elde edilen bulgular, DNA'nın miktarı veya dizilimiyle açıklanamamaktadır. Bu, tam da bir epigenetik örneğidir ve bizler artık bu fenomenin moleküler temelinde, epigenetik sistemin ve çöp DNA'nın etkileşiminin olduğunu biliyoruz.

DNA'nın nereden geldiğini hatırlamak

Bilim insanları DNA'nın bazı bölgelerinin, "ben anneden geldim" ya da "ben babadan geldim" bilgisini içeren epigenetik modifikasyonlar taşıdığını keşfettiler. Bu durum, ebeveyn kö-

kenli etkiler olarak bilinmektedir. Genomun bu bölgelerinde normal gelişim, belirli bir genin (veya genlerin) bir kopyasının maternal (anneden) ve diğerinin paternal olarak (babadan) kalıt alınmasına kritik derecede bağlıdır.

Epigenetik modifikasyonlar sadece, size bir genin hangi kopyasını kimin verdiğini gösteren mavi veya pembe renkli genetik dekorasyon parçaları gibi davranmaz. Modifikasyonlar, daha önce de değindiğimiz gibi, spesifik genlerin ifadesini kontrol ettiği için, eşleşen her bir gen çiftinde genlerin biri açılacaktır (örneğin, babanızdan kalıt aldığınız), ancak diğer ebeveyninden aldığınız (bu durumda annenizden olan) kapatılacaktır. Bu sistem, damgalama (imprinting) olarak bilinir çünkü genler, kökenleri hakkındaki bilgiyle damgalanmıştır.

Normalde, hücrelerin protein kodlayan bir genin iki kopyasını ifade etmesi, bu hücreye bir tür sigorta poliçesi verir. Yani, kopyalardan biri bir mutasyon geçirmiş veya belki de anormal epigenetik modifikasyonlar yoluyla uygun olmayan şekilde susturulmuş olsa bile, hücrenin bunu telafi edebilecek başka bir kopyası daha vardır. Ancak, eğer hücre kopyalardan birini damgalama yoluyla kapatmışsa, diğer kopya rastgele kapatılmanın etkilerine karşı daha savunmasız bir hale gelir. Bazı genler için hücrenin bu riski almaya istekli olması, bize dezavantajdan daha ağır basan önemli bir avantajın varlığını gösterir.

Sistemin yalnızca memelilerde ortaya çıkması tesadüf değildir. Memelilerin dişileri, yavrularının gelişimine olağanüstü büyük bir yatırım yaparlar. Yavrularını vücutlarında tutarlar ve plasenta aracılığıyla besinlerini onlarla paylaşırlar. Günümüzde, diğer hayvan sınıflarındaki bir dişinin de yavrularına yatırım yaptığı birçok örnek biliyoruz. Yumurtalarını kuluçkalayan kuşları veya özenle yuva hazırlayan ve sıcaklığı dikkatlice ayarlayan timsahları düşünün. Buna rağmen, hiçbir hayvan sınıfında dişi, memelilerin yaptığı gibi aslında gelişmekte olan embriyoları bu kadar dramatik bir şekilde beslemez.

Fakat evrimsel olarak haklı sebeplerden dolayı, anneye bu kadar bağlılığın da bir sınırı vardır. Genlerini başarıyla geçirme açısından memelilerin dişileri, kaleyi tutturan birden fazla atış yapmayı tercih ederdi. Çocuğunu taşımakta olduğu eşten daha uygun (evrimsel anlamda) olan başka potansiyel eşlerin olması da mümkündür. Bu yüzden, her ne kadar her hamileliğe çok fazla yatırım da yapsa, dişinin birden fazla kez üreyebilmesi mantıklıdır. Gelişmekte olan embriyo veya embriyoların, anneden yeterince beslenmesini sağlayan ve böylece hayatta kalmak ve kendilerini yeniden üretmek üzere mükemmel bir şansa sahip olmalarının kesin bir faydası vardır. Ancak, hayatta kalamamasına veya sonrasında kısır olmasına yol açabilecek çok fazla koşuldan annenin zararlı çıkacağı böylesine büyük miktardaki bir beslenmeyi embriyoya yönlendirmesi anlamlı değildir.

Aynı durum erkekler için geçerli değildir. Yavruların annelerinden, annelerinin bir daha asla çoğalamayacağı kadar çok beslenmesi, erkekler için çok da önemli değildir. Evrimsel anlamda, bir erkeğin yavruları için tek istediği, yavrularının mümkün olduğu kadar iyi beslenmesi ve güçlü olmasıdır. Böylece, yavrular cinsel olgunluğa erişip, babalarının genlerini yeni kuşaklara aktarma konusunda büyük şanslara sahip olabileceklerdir. Yaşam için nispeten az sayıda memeli çifti eşleşeceği için, diğer dişilerle üremesi de muhtemeldir.

Memelilerin dişileri, rahimdeki embriyolara verecekleri besinin oranı hakkında karar veremezler. Yuvayı terk edecek kuşlar gibi değildirler. Beslenme silahı yarışında evrim, epigenetik olarak arayı açmıştır. Damgalama, dişi ve erkeğin genoma olan katkılarının rekabet yaratan taleplerini dengelemek için gelişmiştir. Az sayıda gende, babadan aktarılan DNA üzerindeki epigenetik modifikasyonlar, embriyo büyümesini teşvik eden gen ifade kalıplarını oluşturur. Aynı genlerde, anneden aktarılan DNA üzerindeki farklı bir epigenetik modifikasyon kalıbı bunun tam tersi bir etkiye sahiptir.

Gelişim sırasında, ilgili paternal (babadan kalıt alınan) genler, genellikle embriyoları besleyen organ olan, büyük ve etkili bir plasantanın ifadesini sağlar. Tam da bu yüzden, tüm genetik materyalin babadan geldiği hidatidiform mollerde, anormal ve çok büyük bir plaseenta vardır.

Açarak kapatmak

Damgalanmış protein kodlayan genlerin sayısı kısmen azdır. Farelerde yaklaşık 140 civarındadır.² İki ila on iki gen içeren kümeler şeklinde ortaya çıkarlar ve bu kümelerin çoğu insan genomundakilere oldukça benzerdir.³ Belki de şaşırtıcı olmayan bir şekilde, yavruların sadece kısa bir süre uterusunda beslendiği keseli hayvanlarda, damgalanan genlerin sayısı çok daha düşüktür.⁴

Her kümedeki en kritik bileşen, protein kodlayan genlerin ifadesini kontrol eden bir çöp DNA bölgesidir. Bu kritik bileşen, damgalama kontrol elemanı ya da DKE (ICE) denir. Bu biraz, on iki ampul içeren bir odayı aydınlatmak gibidir. Oadaki ışık seviyesini ayarlamak isterseniz, farklı parlaklıklara sahip bir dizi ampul kullanabilir ve her biri için ayrı bir elektrik düğmesi kullanabilirsiniz. Ancak bu, genel ışık seviyesini kontrol etmenin oldukça yoğun işgücü gerektiren bir yoldur. Tüm on iki ampulün tek bir devrede olması ve hepsinin tek bir açma / kapama düğmesi ile aynı anda kontrol edilmesi çok daha iyidir ya da daha fazla aydınlatma esnekliği istiyorsanız, karartma ayarlı anahtarları da tercih edebilirsiniz.

DKE, merkezi karartma ayarlı anahtar olarak işlev görür, ancak elektriksel benzetmemizle karşılaştırıldığında hafif bir zorluk vardır. DKE'nin önemli olmasının nedeni, büyük bir uzun kodlanmayan RNA molekülünün ifadesinin yönlendirilmesinden sorumlu olmasıdır. Bu uzun kodlanmayan RNA da, çevresindeki kümede yer alan genlerin ifadesini kapatabilir. Bu yüzden, işin özünde damgalama, iki tip çöp DNA'ya

kritik olarak bağlıdır: genomdaki DKE bölgeleri ve DKE'lerin kontrol ettiği uzun kodlanmayan RNA'lar. Eğer belirli bir kümedeki uzun kodlanmayan RNA açılırsa, o kümedeki protein kodlayan genlerin ifadesini kapatacaktır. Diğer taraftan, DKE aracılığıyla kontrol edilen uzun kodlanmayan RNA baskılanırsa, kümedeki protein kodlayan genler açılabilir.

Damgalama, çöp DNA ve epigenetik sistem arasındaki ilişkiye kritik bir şekilde bağlıdır. DKE, epigenetik olarak modifiye edilebilir. Uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesi, DNA'sındaki DKE'lerin metillenip metillenmemesine bağlıdır. Eğer DKE DNA'sı metillenirse, uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesi engellenir. Eğer DKE metilasyondan kaçarsa, uzun kodlanmayan RNA ifade edilecektir. Temelde, karşılıklı bir düzenleme vardır. Eğer uzun kodlanmayan RNA ifade edilirse, aynı kromozom üzerindeki kümede yer alan genler kapatılır. Eğer uzun kodlanmayan RNA ifade edilmezse, aynı kromozom üzerindeki kümede yer alan genler açılır. Damgalanan bölgelerdeki uzun kodlanmayan RNA'lar bazen olağanüstü uzundur, o kadar öyle ki, afallatıcı bir şekilde, en büyüğü 1 milyon baz uzunluğundadır.⁵

Ne yazık ki, uzun kodlanmayan RNA'ların yakındaki gen kümesinin ifadesini bastırmak için kullandıkları mekanizmaları anlamada hâlâ biraz eksikiz. Yine, protein kodlayan genlerdeki baskılayıcı epigenetik modifikasyonların birikmesiyle sonuçlanan epigenetik bir sistemi içerdiği neredeyse şüphesiz görünüyor. 9. Bölüm'de tanıştığımız ana baskılayıcı gibi temel epigenetik genler gelişmekte olan embriyolarda etkisizleştirilirse, normalde kapatılması gereken damgalanmış genlerin bazıları ifade edilir.⁶ Baskılayıcı histon modifikasyonlarını belirleyen diğer epigenetik genlerin etkisizleştirilmesi de benzer etkilere sahip olduğundan, bu durum sadece ana baskılayıcıyla sınırlı değildir.^{7,8} Bu da epigenetik sistemin, uzun kodlanmayan RNA'nın talimatlarını yerine getirmedeki önemini göstermektedir. Muhtemelen bunun nedeni de,

uzun kodlanmayan RNA'nın damgalanmış kümeye enzimle-ri çekmesiyle, protein kodlayan genlerdeki histon modifikasyonlarının hedeflenmesidir.

Epigenetik modifikasyonlar DKE'nin kendisinde de mevcuttur. Tam da beklediğimiz gibi, eğer DKE DNA'sı metillenirse, ilişkili olan histon modifikasyonları genleri kapatacaktır. Eğer DKE metillenmemişse, ilişkili olan histon modifikasyonları genleri açacaktır. Yani, DKE üzerindeki epigenetik modifikasyonların motifi, DNA ve histon proteinleri arasında tamamen tutarlıdır.⁹

Damgalama sürecinin kritik belirleyicisi, DKE'yi oluşturan çöp DNA'nın metillenmiş olup olmadığıdır. Bazı araştırmacılar tarafından, 4. Bölüm'de de gördüğümüz gibi, komşu bölgelere yayılan yakındaki parazitik elementlerin susturulması sırasında DKE'lerin metilasyonunun geliştiği yönünde öneriler sunulmuştur. Sonuçta, başarılı bir uyumsal avantaj kazanmış olmalı ki, sonraki nesillerde seçilebilsin.¹⁰ Ördek-gagalı platipus ve dikenli karıncayiyenler gibi yumurtlayan tek delikliler (Monotremata) gibi en ilkel memelilerde, daha yüksek memelilerde DKE'yi bulmayı beklediğimiz bölgelerin yakınında, karakteristik olmayan az miktarda parazitik unsurların bulunması da ayrıca ilginçtir.¹¹

Damganın yeniden düzenlenmesi

Peki, o halde modern memelilerde DKE'deki metilasyon kalıbı nasıl ortaya çıkar ve nesiller boyunca nasıl aktarılır? Üstelik annenin ve babanın genomlarından köken alan DNA dizilerindeki farklılıklara bağlı olmadan nasıl başarır? Nasıl düzgün bir şekilde hazırlanır? Örneğin, babadan aktarılacak DKE'nin metillenmiş olup olmaması, kızının bu bölgeyi babasından alıp almayacağını belirleyecek olsun ve bir kadının babasından damgalanmış bölgeyi kalıt aldığını varsayalım. Eğer kadın aynı damgalanmış bölgeyi çocuğuna geçirirse, bu

paternal damganın çıkarılması ve damganın, maternal olarak geçtiğini gösteren bilgiyle değiştirilmesi gerekir.

Biraz içsel çelişkilerle dolu gibi görünse de bir kez daha müzikal dünyasını ziyaret edersek, anlaşılmasının biraz daha kolay hale geleceğini düşünüyorum. Bu sefer Oscar Hammerstein'ı değil de, Burt Bacharach ile uzun süre çalışmış olan söz yazarı Hal David'i konumuza davet edelim.

Bu ikili, 1973 yılında başarısızlığa uğramış bir müzikal film olan *Yitik Ufuklar (Lost Horizon)* için şarkılar yazdılar. Bu şarkılardan biri meşhur oldu ve aslında bizim için de oldukça kullanışlı bir kavram içeriyordu: "Dünya, başlangıcı olmayan bir daire ve hiç kimse gerçekten nerede bittiğini bilmiyor." Gelişimsel süreçleri, düz çizgilerden ziyade bitip tükenmeyen daireler olarak düşünürsek, bu süreçleri zihnimizde canlandırmamız çok daha kolay bir hale gelir. Damgalanmış DKE'nin oluşturulmasında "ekle-çıkarmak" döngüsü, Şekil 10.2'de gösterilmektedir. Bu şekil yumurtaların her zaman DKE metilasyonunun maternal kalıbını nasıl aktardığını gösterir. Benzer bir işlem sperm için de geçerlidir ve daima, paternal kalıbın aktarılmasına izin verilir.

Elbette, bu şemanın ortaya çıkardığı sorulardan biri, gelişmekte olan yumurtaların ve spermelerin DKE bölgelerini nasıl belirlediği ve hangilerinin metillenmesi ve hangilerinin metillenmemesi gerektiği "nasıl" bildiğidir. Bu çok aktif bir araştırma alanıdır. Bu kalıplar, hem her bir DKE için hem de erkek ve dişi germ hücreleri arasında farklılıklar gösterebilir. Doğrusunu isterseniz bazıları hâlâ bir gizem ama açıklığa kavuşturulmuş bazı özellikler de var. Maternal germ hattında, yani yumurtaları oluşturan hücrelerde işlemin, önceden metillenmemiş CpG motiflerine DNA metilasyonu ekleyebilen enzimlere kritik derecede bağlı olduğunu biliyoruz.*¹² Bu aşamadan sonra kalıp, mevcut metilasyon kalıplarını sürdürmek

* Kilit proteinler, de novo DNA metiltransferazlardan olan DNMT3A ve DNMT3L'dir.

Ebeveynler Çöpi Neden Sever?



Şekil 10.2. Metilasyon ve demetilasyon döngüleri, ebeveyn kökenini gösterecek şekilde, kromozomların doğru modifikasyonlarla çocuklara geçirilmesini sağlar.

için görevli olan bir enzim tarafından aktif olarak korunur.*¹³ Diğer proteinler, doğru metilasyon kalıplarının oluşturulmasında rol alabilirler ki bu kalıpların bazılarının gelişmekte olan germ hücrelerinde seçici olarak ifade edilmesi de muhtemeldir.

Bu noktada karşımıza yeni bir soru daha çıkıyor. Germ hücrelerindeki enzimler diğer tüm genomik DNA’lar arasındaki DKE bölgelerini nasıl tanır? Her ne kadar bilgimizde yine boşluklar olsa da, özel çöp DNA bölgelerindeki belirli tekrar dizilerinin rol oynayabileceği öne sürülmüştür.¹⁴ DNA dizisi düzeyinde bu bölgeler, türler arasında oldukça az korunur, ancak bu bölgelerin üç boyutlu yapılarını düşündüğümüzde çok daha benzer oldukları görülebilir. Yani hücre, onların dizilerini değil de şekillerini tanıyor olabilir.¹⁵ Tıpkı 8. Bölüm’de gördüğümüz uzun kodlanmayan RNA’lardaki bulgular gibi.

Her ne kadar damgalamayla ilgili apaçık ortada olan pek çok soru olmasına rağmen, her iki cinsiyetin de çocuğa katkıda bulunmak zorunda kaldığının bir sebebi olduğundan

* Bu proteine DNMT1 adı verilir ve koruma DNA metiltransferazı olarak bilinir.

kesinlikle eminiz. 2007 yılında, genetiği değiştirilmiş farelerin kullanıldığı bir dizi karmaşık üreme deneyleriyle araştırmacılar, iki yumurta çekirdeğini bir döllenenmiş yumurtanın içine yerleştirerek yaşayabilir fareler üretebileceklerini gösterdiler. Bunu başarabilmelerini sağlayan da, fare genomundaki iki bölgede, damgalama kalıbını yapay olarak değiştirmeleri idi. Yumurta çekirdeklerinden birinde, maternal değil de normal paternal kalıba benzeyen bir metilasyon kalıbı yaratmışlardı. Bu, gelişimsel yolların, genetik materyalin dışından ziyade bir erkekten olduğuna inanmasının sağlandığı bir kandırma-caydı. Deneyin sonuçları, bu iki damgalanan bölgenin gelişimi kontrol etmede özellikle güçlü bir rolü olduğunu gösterdi. Buna ek olarak iki-maternal genomlu üremenin önündeki tek gerçek engelin, kilit genlerdeki DNA metilasyon kalıbı olduğunu da gösterdi. Bu çalışma ayrıca, spermin kendisinin gerekli olan bazı proteinler ya da RNA molekülleri gibi yardımcı faktörleri taşıyor olmasından dolayı, gelişimin uygun şekilde başlaması için spermin gerekli olduğu hipotezini de çürüttü.¹⁶

Şekil 10.2'ye geri dönersek, damgalama kalıplarının gelişim sırasında değişebileceğini görebiliriz. Gen ifadesinin damgalama kontrolü, gelişim sırasında özellikle önemli görünüyor. Örneğin farelerde, 140 civarındaki damgalanan genin çoğu, sadece plasentada damgalanmaktadır. Yetişkin dokularda bu genlerin hiçbiri ifade edilemez. Bu da, damgalamanın evrimleşmesinin altında yatan muhtemel ana nedenin, erken gelişim sırasında büyümenin kontrol edilmesi olduğunu doğrulamaktadır. Hatta neredeyse coğrafi bir nedeni var gibi görünmektedir. Damgalanan kümelerde, DKE'ye en yakın olan genler tüm dokularda damgalı kalabilir, ancak kontrol merkezinden daha uzakta olanlar, sadece plasentada damgalanabilir. Her ne kadar çoğu durumda bu-

nun neden evrimsel olarak tercih edilebileceği konusunda net bir fikir birliği olmasa da, beyindeki seçili hücre tipleri, damgalamayı özellikle sürdürüyor gibi görünüyor. Elbette belli başlı önerilerde de bulunuldu. Örneğin bunlardan biri, DKE'den üretilen uzun kodlanmayan RNA'nın, DNA metilasyonunu en yakın genlere çekerken, histon modifikasyonlarını kümedeki daha uzak genlere çektiği yönündedir.¹⁷ Histon modifikasyonları, DNA metilasyonundan daha kolay bir şekilde değiştirilebildiğinden bu yönelim, dokular olgunlaşırken daha uzak genlerin damgalanmasını önlemek adına bir mekanizma sağlayabilir.

Dolayısıyla, evet, damgalama meydana geliyor ve bunun gerçekleştiği mekanizmaların en azından bazılarına dair kavrayabildiğimiz noktalar var. Damgalama işleminin, anne ve fetüsün (ve dolayısıyla dolaylı olarak babanın) rekabet eden evrimsel dürtülerini dengelemek için geliştiği teorisi ışığında ele alırsak, damgalama ile kontrol edilen protein kodlayan genlerin çoğunun, metabolizma ile birlikte, fetal büyümede ve bebek emzirmede rol oynayan genler olması şaşırtıcı değildir.¹⁸ Haliyle, damgalama işlemi yanlış gittiğinde, büyüme kusurlarının en sık görülen belirtileri oluşturması da şaşırtıcı değildir.

Yolunda gitmeyen damgalama

Kalıtsal hastalıklarla ilişkili genleri tanımlamanın ilk kez mümkün olmaya başladığı 1980'lerde, damgalama bozuklukları üzerine yapılan çalışmalar da gerçekten ivme kazandı. Uygulanan teknikler temel olarak, bir hastalıktan etkilenen birden fazla bireyi içeren aileleri bulmayı ve daha sonra hastalığa neden olan kromozom üzerindeki bölgeyi daraltmak için bu ailelerin analiz edilmesini içeriyordu.

Günümüzde bunu çok kolay bir şekilde yapabiliyoruz çünkü artık hem normal (sağlıklı) insan genomunun dizisi-ne sahibiz hem de dizileme teknolojilerine çok ucuz fiyatlarla ulaşabiliyoruz. Ancak 1980’lerde bir hastalığa neden olan mutasyonu bulabilmek, belirli bir kırık ampulü aramaya benziyordu ve bu ampul hakkında elimizde olan tek bilgi, Amerika’da bir evde olduğuydu. Bu yüzden, bir hastalığa neden olan mutasyonu tanımlamak, bilim insanlarından oluşan büyük bir grubun yıllar süren çalışmalarıyla başarılabilirdi.

O zamanlar birkaç araştırma grubu, Prader-Willi Sendromu adı verilen bir hastalığı araştırıyordu. Prader-Willi Sendromuyla doğan bebekler, düşük doğum ağırlığına sahiplerdi ve emme refleksleri zayıf olduğu için emzirme güçlüğü yaşıyordu. Kas tonusu, süten kesilinceye kadar tam olarak gelişmediği için bebekler, kas gevşekliği gösteriyordu ve bu yüzden gevşek bebek olarak da tanımlanabiliyordu. Hastalıktan etkilenen çocukların yaşı ilerledikçe iştahı tamamen doyumsuz hale gelir ve bunun sonucu olarak da erken ve aşırı şişmanlık geliştirirler. Ayrıca bu çocuklar, hafif zihinsel engellidir.¹⁹

Tamamen farklı bir araştırmacı grubu ise, Angelman Sendromu olarak tanımlanan ve çok farklı belirtileri olan bir hastalık üzerinde çalışıyordu. Bu hastalıktan mustarip olan çocuklar; küçük, az gelişmiş bir kafaya ve ciddi öğrenme güçlüğüne sahiptiler. Yaşıtlarına göre katı gıdaya geçmekte de çok geç kalıyorlardı. Çocuklar sebepsiz yere birden kahkaha atma eğilimindeydiler ve bu yüzden hastalık, “mutlu kukla” sendromu olarak da tanımlanmıştı. Neyse ki bu korkunç derecede duyarsız olan tanımlamaya artık izin verilmiyor.²⁰

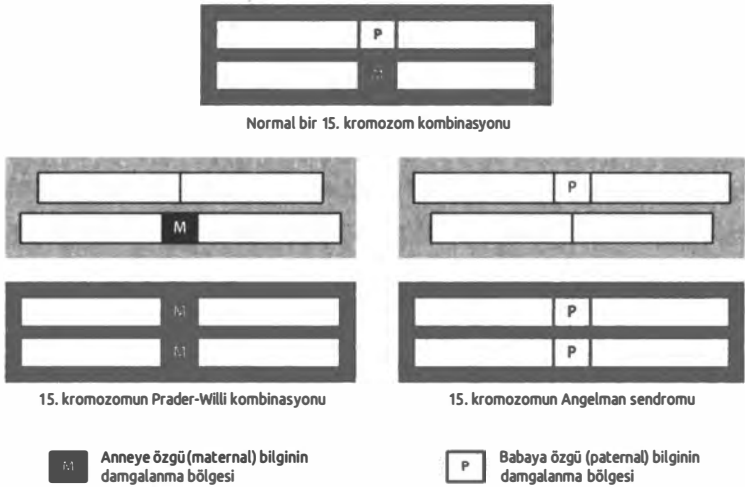
Gelin şimdi bu iki hastalık arasındaki bağlantıyı, basit bir benzetmeyle ifade edelim. Bir işçi grubunun doğudan başla-

yıp batıya doğru, diğer grubun ise batıdan başlayıp doğuya doğru bir kıta boyunca bir demiryolu inşa ettiğini hayal edin. İlk başta tamamen farklı bölgelerde bulunan işçiler, zaman geçtikçe giderek birbirlerine yaklaşıp, en nihayetinde de (işlerin yolunda gittiğini varsayarsak) bir noktada bir araya gelip tanışsınlar ve hatta belki de bir şeyler içip sohbet etsinler. İşte, Prader-Willi ve Angelman Sendromunu araştıran araştırmacıların başına gelen de aşağı yukarı budur. Sadece bir farkla. O da, demiryolu inşaatındaki benzetmemizin aksine, bilim insanları ortak bir noktada buluşmayı hiç beklemiyordu. Tamamen farklı şehirlere bağımsız demiryolları inşa ettiklerini düşünüyorlardı, ancak her iki grup da soluğu birbiriyle aynı noktada aldı.

Prader-Willi ve Angelman Sendromlarından sorumlu kromozomal bölgelerin haritalandırılması hız kazandıkça, iki hastalığın da genomun aynı bölgesinden kaynaklandığı ortaya çıktı. İlk başta öne sürülen en belirgin varsayım, hastalığa birbirlerinden farklı ancak birbirine çok yakın mesafedeki genlerin neden olduğu yönündeydi. Bir sokaktaki iki bitişik dükkân gibi düşünebiliriz. Fakat en sonunda, kesin bir şekilde tanımlanmış tam olarak aynı bölgedeki bir kusurdan kaynaklandığı anlaşıldı.

Her iki hastalık da aynı temel genetik nedene sahipti, 15. kromozom üzerindeki küçük bir bölgenin kaybı. Etkilenen çocukların ebeveynleri bu iki rahatsızlıktan da mustarip değildi ve araştırmacılar kromozomlarını analiz ettiklerinde, ebeveynlerin kromozomlarının tamamen normal olduğunu keşfettiler. 15. kromozom üzerindeki kilit bölgesinin kaybı, yumurta veya sperm oluşumu sırasında meydana gelmişti.*

* Bu, de novo mutasyon olarak bilinir ve yeni ortaya çıkan anlamına gelir.



Şekil 10.3. Normalde, 15. kromozomumuzun bir kopyasını annemizden, bir kopyasını da babamızdan alırız. Eğer her iki kopya da maternal olarak (anneden) kalıt alınırsa, etkilenen çocuk Prader-Willi Sendromuna sahip olacaktır. Aynı sendrom, babadan kalıt alınan kopyada, epigenetik değişikliklerin paternal (babaya ait) işaretini taşıyan damgalama bölgesinin kaybı sonucu da gelişir. Kısacası, babaya özgü bilgilerin eksikliği, Prader-Willi Sendromunun gelişmesine yol açar. Angelman Sendromu ise 15. kromozomun tamamen aynı bölgesindeki bir kusurdan kaynaklanır fakat bu defa sorun, anneye özgü bilgi eksikliğidir.

Bir kromozomun küçük bir kısmının silinmesinin birbirinden çok farklı olan iki hastalığa neden olması gerçekten tuhaftı. Ancak araştırmacılar, asıl önemli olanın 15. kromozomun üzerindeki bu küçük bölgenin kaybının olmadığı gerçeğini ortaya koyarak muammayı biraz daha artırdılar. Önemli olan, bu bölgenin neden eksik olduğu, neden kaybolduğuydu. Prader-Willi Sendromuna yakalanmış çocukların yüzde yetmiş, bu anormal 15. kromozomu mutasyona uğramış sperm hücrelerinden kalıt almıştı. Angelman Sendromuna sahip olan çocukların yüzde yetmiş ise anormal kromozomu mutasyona uğramış yumurta hücrelerinden kalıt almıştı. Kısa bir süre sonra bilim insanları Prader-Willi sendromu olan hastaların

yüzde 25'inde mükemmel bir şekilde sağlam iki tane kromozom olduğunu keşfettiler, hiçbir eksiklik yoktu. Bu hastalar-daki problem, her iki ebeveyn-den birer tane olacak şekilde değil de, 15. kromozomun her iki kopyasını da annelerinden almış olmalarıydı.* Angelman Sendromunun küçük bir yüz-desini oluşturan hastalarda da, 15. kromozomun iki mükem-mel kopyası vardı, ancak bu sefer her ikisini de babalarından almışlardı.

Şekil 10.3'te de gösterildiği gibi bu kalıtım modelleri yalnızca damgalama bağlamında anlamlıdır. Tüm anormal durumlarda, hücrelerin ebeveynlerin birinden aldıkları bir damgalama kontrol bölgesi eksiktir. Normalde sıkı bir şekilde ebeveyn-köken kontrolü altında tutulması gereken genler, anormal ifade seviyesine ulaşır ve bu, yetersiz veya aşırı büyümeyi de içeren patolojiye yol açar.

Araştırmacılar, damgalama kontrol bölgeleri tarafından kontrol edilen genleri analiz ederek bu koşullar ile sonuçlanan problemleri daha da daraltabildiler. Angelman Sendromuna sahip olan olguların yaklaşık yüzde 10'unda hastalar, uygun DNA'nın tamamını her iki ebeveyn-den de kalıt almışlardı. Problem, annelerinden aldıkları DNA'da bir mutasyon olmasıydı. Bu mutasyon DKE'de değil, DKE tarafından kontrol edilen bir gendeydi. Bu gen, normalde sadece maternal kromozomdan eksprese edilen bir protein kodlayan gen-dir. Aynı genin paternal kromozom üzerindeki versiyonu, damgalama ile susturulur. Eğer maternal olarak köken alan gen bir mutasyon nedeniyle protein üretemezse, paternal kopya da susturulmuş olduğundan, hücre bu proteini hiçbir şekilde üretemeyecek demektir ve bu da patolojiye yol açar.**

* Uniparental dizomi olarak bilinir ve burada her ikisi de anneden kalıtıldığı için maternal uniparental dizomi olarak adlandırılır.

** Bu gene UBE3A denir. Diğer proteinlere ubikutin adlı bir molekül ekler ve bu da o proteinlerin yıkılmasına yol açar.

Prader-Willi Sendromunda bu durum daha da garip bir hal alır. 15. kromozom üzerindeki kritik bölgede bulunan genlerden sadece birinin eksik olduğu çok az sayıda hasta tespit edilebilmiştir. Bu gen, protein kodlamaz. Bunun yerine, hepsi de benzer işleve sahip bir dizi uzun kodlanmayan RNA kodlar.^{21,22,23} Bu işlevler, protein kodlamayan başka bir RNA molekülü sınıfının kontrolünde işin içine girer. Prader-Willi Sendromunda hastalık belirtilerinin çoğu için kritik olan, protein kodlamayan genin yokluğudur.

Etkilerini bir düşünün. Çöp DNA'nın bir bölgesi (DKE), uzun kodlanmayan RNA'yı kodlayan çöp DNA'nın bir parçasının ifadesini kontrol eder. Bu uzun kodlanmayan RNA ise, bir dizi uzun kodlanmayan RNA için kod oluşturan genin ifadesinin düzenlenmesinde kritik derecede öneme sahiptir. Bu uzun kodlanmayan RNA'ların rolü ise, proteinler için kod oluşturmaman diğer RNA'ların düzenlenmesidir. Hepsini bir arada düşündüğümüzde, çöp DNA'nın hiçbir işlevi olmadığını iddia etmek oldukça zorlaşır.

Prader-Willi ve Angelman Sendromları, büyüme anormallikleri ve öğrenme güçlüğü gibi ilişkili ilave problemlere yol açan, damgalamadaki sorunlardan kaynaklanan tek insan hastalıkları değildir. Bunlara benzer karşılıkları olan koşullar arasında büyüme ve gelişme geriliğiyle karakterize edilen Silver-Russell Sendromu²⁴ ile aşırı büyüme ile karakterize edilen Beckwith-Wiedemann Sendromudur.²⁵ Bazı olgularda bu iki hastalık da, 11. kromozomun aynı bölgesindeki ebeveyn kökenli sorunlardan kaynaklanır. Bu bölge, çok sayıda genin ve birden fazla DKE'nin yer aldığı, özellikle karmaşık bir damgalama bölgesidir.

Diğer kromozomlarda da benzer ilişkiler bulunabilmektedir. 14. kromozomun her iki kopyasını da annelerinden alan çocuklar doğum öncesi ve sonrası dönemde büyüme geriliği

gösterirler, ancak daha sonra obez olurlar.²⁶ Diğer taraftan, 14. kromozomun her iki kopyası da babadan alınmışsa, anormal derecede büyük bir plasenta gelişir ve çocuk, karın duvarındaki kusurlar da dâhil olmak üzere farklı sorunlarla doğar.^{27,28}

Bu bozuklukların çoğu için, epigenetik hatalar nedeniyle gelişen hastalıkların nadir örnekleri de vardır. Doğru DNA'yı doğru ebeveyninden kalıt alan az sayıda hasta vardır. DNA mutasyona uğramamıştır ama yine de hastalar bir damgalama durumu geliştirmiştir. Bu tip nadir durumlarda, zigottaki ve erken gelişimdeki damgalamanın oluşturulması ve korunması genellikle hatalı olmuştur. Bu da, bir DKE'nin uygun olmayan şekilde metillenmesine veya metillenmemesine yol açarak, gerekli olmadığı halde kapatmaya veya açmaya neden olabilir. Bu da bizlere bir kez daha, çöp DNA ile epigenetik makine arasındaki karşılıklı etkileşimin önemini göstermektedir.

Dramatik bir olayın etkisi

1978 yılında, Louise Brown adında küçük bir kız doğdu. Eğer Louise Brown'u görmüş olsaydınız, onun mükemmel şekilde sıradan bir bebek olduğunu düşünürdünüz. Hiç kuşkusuz ailesi onun, dünyadaki en dikkat çekici bebek olduğunu düşünüyordu. Hangi ebeveyn, çocukları hakkında böyle düşünmez ki? Ancak bu olayda Bay ve Bayan Brown, iddialarında haklı oldukları için affedilebilirler. Louise Brown'un doğumu dünyanın dört bir yanındaki gazetelerde ön sayfa haberi olmuştu, çünkü ilk tüp bebektir.

Annesinin yumurtası, babasının spermiyle laboratuvar ortamında bir kapta döllenmiş ve daha sonra annesinin rahmine yerleştirilmişti. Louise'in annesinin fallop tüpleri tıkalı olduğu için doğal yoldan hamile kalamıyordu ve işlem, bu yüzden uygulanmıştı. Louise Brown'un başarılı bir şekilde

doğması, insan kısırlığının tedavisinde yeni bir çağ açtı. Bu ilk bebekten günümüze dek 5 milyondan fazla çocuğun yardımıyla üreme teknolojileri kullanılarak doğduğu tahmin edilmektedir.²⁹

Diğer taraftan, yardımla üreme teknolojilerinin damgalama bozukluklarına özellikle de Beckwith-Wiedemann, Silver-Russell ve Angelman Sendromlarına daha yüksek sıklıkta yol açabileceğine dair iddialar bulunmaktadır. Damgalamanın oluşturulduğu kritik dönemde embriyoların laboratuvar-da kültüre edilmesi, bu endişelerin altında yatan ana nedendir. Gerçekten bir sorun olup olmadığını bilmememiz garip görünebilir. Kuşkusuz 5 milyon çocuğu analiz etmek için gereken hesaplamaları yapmak oldukça kolay olmalı! Ancak sorun, damgalama bozukluklarının nadir olması, sadece birkaç bin kişide bir doğal olarak meydana gelmesidir. Çok nadir görülen olayları analiz ederken, istatistikler gerçekten kolayca çarpıtılabilir.

Ticari hizmete giren sadece iki süpersonik uçak modelinden biri olan Concorde'ü hatırlıyor musunuz? Onlarca yıl boyunca dünyadaki en güvenli yolcu uçağıydı çünkü hiç ölümcül bir kaza olmamıştı. Ancak, 2000 yılında 109 yolcu ve mürettebatın öldüğü Paris Charles de Gaulle havaalanındaki trajik kazayı takiben, istatistikî olarak söylüyorum, en güvenli uçaklardan biri haline geldi. Tabii ki bunun nedeni, çoğu uçakla karşılaştırıldığında nispeten daha az Concorde uçuşunun olması ve yolcu sayısının az olmasıydı (içerisi şaşırtıcı şekilde küçüktü). Bu yüzden, hesaplamalar basite indirgenerek yapılırsa, bir olayın istatistikler üzerindeki etkisi oldukça büyük olabilir.

Damgalama hastalıkları için de aynısı geçerlidir. Eğer doğan her 5 milyon çocuğun 50'sinde doğal olarak hastalığı görmeyi beklerseniz ve yardımla üreme teknolojileri kullanılarak doğan 55 çocukta bu hastalıkları tespit ederseniz, bu sonuç-

ları nasıl yorumlayabilirsiniz? Tıbbi müdahale, damgalama bozukluklarında yüzde 10'luk bir artışa mı neden olmuştur, yoksa bu sadece istatistiksel bir gürültü müdür?* Ayrıca, yardımla üreme teknikleriyle basitçe maskelenen kısırlığın kendisinin de damgalama sorunlarında hafif bir artışa yol açabileceğini de aklımızda tutmamız gerekir. Doğurganlığı düşük olan insanlardan gelen sperm veya yumurtaların damgalama kusurları taşıması çok daha muhtemeldir, ancak bunlar yalnızca, tıbbi teknolojiler sayesinde çocuk sahibi olduklarında belirgin hale gelebilir. Geçmişte bu teknolojiler olmadığı için çoğalamıyorlardı ve bizler de damgalama kusurlarının etkilerini göremiyorduk.³⁰ Biyolojideki kafa karıştırıcı durumlardan biri de, gördüğümüzü düşündüklerimizin, gözle göremediklerimizin etkisiyle çarpıtıldığı durumlardır.

* Buradaki sayılar rastgele sayılardır, sadece hedef noktayı göstermek için seçilmiştir.



11

Görevi Olan Çöp

Biyolojinin en harika ve çekici yanının, muhteşem tutarsızlığı olması oldukça muhtemeldir. Biyolojik sistemler, mümkün olan her yerde tamamen yeni kullanımlar için, süreçleri ele geçirip başka bir amaç doğrultusunda kullanan muhteşem bir şekilde yaratıcı yollarla geliştirdi. Bu da, bir mevzunun ortaya çıktığını düşündüğümüz neredeyse her zaman, bu konuyla ilgili istisnalar bulacağımız anlamına gelir. Üstelik bazen hangisinin istisna, hangisinin kaide olduğunu çözmek de bir hayli zor olabilir.

Gelin çöp DNA ve protein kodlamayan RNA'ları ele alalım. Şu ana kadar gördüğümüz tüm bilgilere dayanarak, tamamen mantıklı şöyle bir hipotez geliştirebiliriz:

Çöp DNA, protein kodlamayan bir RNA (çöp RNA) kodladığında, RNA'nın işlevi, proteinlerin aktivitesini genomun belirli bölgelerine yönlendiren bir tür iskele görevi yapmaktır.

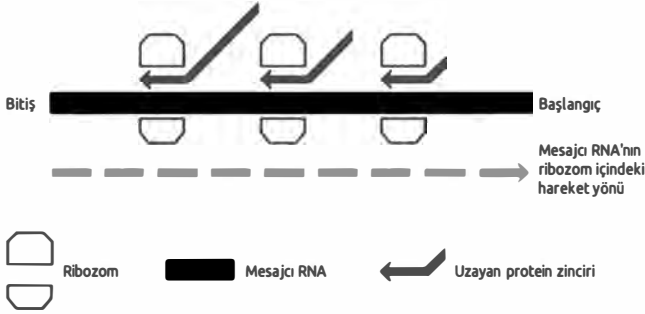
Böyle bir hipotez, uzun kodlanmayan RNA'ların rolleriyle ilgili olarak kesinlikle tutarlı olacaktır. Uzun kodlanmayan RNA'lar, epigenetik proteinler ve DNA ya da histonlar arasında adeta bir cırt cırtl bant gibi davranır. Proteinler sıklıkla bir kompleks içinde çalışır ve kompleksin en az bir üyesi sıklıkla bir enzim, yani kimyasal bir reaksiyon meydana getirebilen bir proteindir. Bu reaksiyonlar arasında DNA'ya veya histon

proteinlerine epigenetik modifikasyonlar eklemek veya uzaklaştırmak ya da büyüyen bir mesajcı RNA molekülüne başka bir baz eklemek olabilir.

Bütün bu durumlarda protein, moleküler cümle içindeki fiildir. İş, oluş, duruş ya da hareket bildiren eylem molekülüdür. Bu özellik kulağa her ne kadar çok çekici de gelse, talihsiz bir kusuru da beraberinde getirir. Rollerin tamamen tersine çevrildiği bir talihsizlik durumu. Bu ters durumda, proteinler nispeten sessizdir, ancak çöp RNA bir enzim gibi davranarak başka bir molekülde kimyasal değişikliğe neden olur.

Bu o kadar tuhaftır ki, bir defaya mahsus ilginç bir istisna olduğunu varsaymak cazip gelir. Ancak, eğer böyle bir durum söz konusuysa, bu gerçekten oldukça dikkat çekici bir istisnadır, çünkü bu işleve sahip olan çöp RNA molekülleri, herhangi bir zamanda bir insan hücresinde bulunan RNA moleküllerinin yaklaşık yüzde 80'ini oluşturur.¹ Aslında onlarca yıldır bu tuhaf RNA moleküllerini bilsek de, şaşırtıcı bir şekilde genomik çerçevemize yönelik böylesi bir protein merkezli bakış açısını koruyup, sürdürüyoruz.

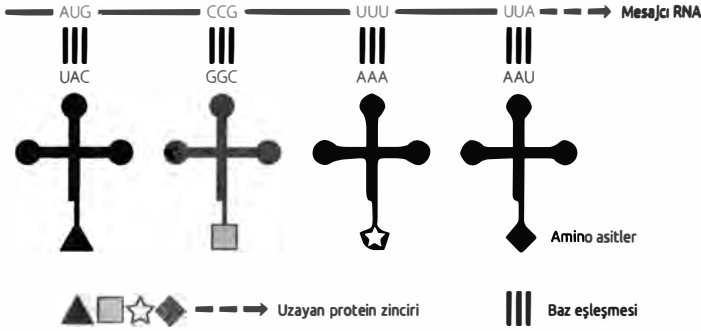
Bu tuhaf fonksiyona sahip RNA molekülleri, ribozomal RNA molekülleri veya kısaca rRNA olarak adlandırılır. Bunların çoğunlukla hücre içindeki ribozom adı verilen yapılar da bulunduğunu söylememiz de hiç şaşırtıcı olmayacaktır. İlk olarak 2. Bölüm'de ve Şekil 2.3'te (sayfa 34) gördüğümüz gibi ribozomlar, çekirdekte değil sitoplazmada yer alırlar. Ribozomlar, mesajcı RNA moleküllerinde yer alan bilgilerden, protein moleküllerinin oluşturulduğu yapılardır ve özetle bu süreçte, bir araya getirilen amino asit dizilerindeki bilgi dönüştürülür. 1. ve 2. Bölüm'deki örgü benzetmemizi tekrar kullanacak olursak eğer ribozomlar, örme işlevini gerçekleştiren ve denizaşırı görev yapan askerler için, modeli çıkarılan örneği sıcak çorap ve eldivenlere dönüştüren bütün kadınlar-
dır.²



Şekil 11.1. Bir mesajcı RNA molekülü, soldan sağa doğru hareket eden bir ribozom boyunca ilerler. Ribozom, protein zincirini oluşturur. Mesajcı RNA'nın başlangıç bölgesi, işlemde olan ribozomdan çıktıktan sonra, başka bir ribozoma bağlanabilir. Sonuç olarak, tek bir mesajcı RNA molekülü üzerinde, hepsi de tam uzunlukta protein oluşturan birçok ribozom olabilir.

Ağırlık açısından analiz edilip değerlendirilecek olursa rRNA, bir ribozom yapısının yüzde 60'ını oluştururken, proteinler diğer yüzde 40'ını oluşturur. rRNA molekülleri, iki ana alt üniteden oluşur. Bir tanesi üç tip rRNA ve yaklaşık 50 farklı protein içerir. Diğeri ise sadece bir tip rRNA ve yaklaşık 30 protein içerir. Bununla birlikte ribozom bazen, birçok farklı bileşenin gerçekten büyük ve yapısal bir kümelenmesi olduğu için makromoleküler bir kompleks olarak da adlandırılır. Biz ise onu, büyük bir protein sentez robotu olarak düşünebiliriz.

Protein kodlayan genler için mesajcı RNA molekülleri üretildiğinde, bu mesajcı RNA'lar çekirdeğin dışına, ribozom robotlarının bulunduğu hücre içindeki bölgeye taşınır. Mesajcı RNA moleküllerinde taşınan genetik talimatlar, ribozomlar tarafından "okunur". Böylece amino asitler, doğru sırayla birbirine bağlanır. Bir amino asidin komşu amino asitle birleştirilmesi reaksiyonunu gerçekleştiren ribozomal RNA'dır. En nihayetinde de, uzun ve kararlı bir protein molekülü oluşturulur.



Şekil 11.2. Mesajcı RNA ribozomların içinde hareket ederken, taşıyıcı RNA (tRNA) molekülüleri, baz eşleşmesini kullanarak uygun amino asitleri zincir üzerinde doğru pozisyona getirir. Ribozomal RNA (rRNA) makinesi ise protein zincirini oluşturmak için bitişik amino asitleri birleştirir.

Bir ribozom, mesajcı RNA üzerinde kayarak ilerlerken, başka bir ribozom da aynı mesajın başlangıcına bağlanır. Bağlanan ikinci ribozom da protein zinciri üretecektir. Tam da bu yüzden, bir mesajcı RNA molekülü, aynı proteinin birden fazla kopyası için kalıp olarak kullanılabilir. Bahsi geçen süreç, Şekil 11.1’de gösterildiği gibidir.

Amino asitler ribozomlara, transfer RNA veya tRNA adı verilen başka bir çöp RNA türü tarafından getirilir. tRNA’lar oldukça küçük, yaklaşık 75 ila 95 baz uzunluğunda, kodlanmayan RNA’lardır.³ Bununla birlikte, genellikle yonca yaprağı olarak adlandırılan karmaşık bir üç boyutlu yapı oluşturmak için kendi üzerlerine katlanabilirler. tRNA’nın bir ucuna spesifik bir amino asit eklenir. Yonca yaprağı şeklinin en uçtaki kıvrımında, üç bazlık bir dizi bulunur. Bu üçlü baz (triplet), mesajcı RNA üzerindeki bir dizile doğru eşleşme göstererek bağlanabilir. Aslında bunu da, DNA’daki baz eşleşmesiyle aynı kuralları kullanarak yapar.

tRNA molekülüleri, mesajcı RNA (ve aslen DNA) üzerinde taşınan nükleik asit dizisiyle son ürün protein arasında-

ki adaptör gibi davranır. Uygun proteinleri oluşturmak için amino asitlerin doğru sırada dizilmesini sağlar. Tıpkı Şekil 11.2'de gösterildiği gibi. Ribozomda iki amino asit yan yana geldiğinde rRNA, bir amino asidin ucunu bir sonrakinin başlangıcına bağlayan ve böylece protein zincirini oluşturan kimyasal bir reaksiyon gerçekleştirebilir.

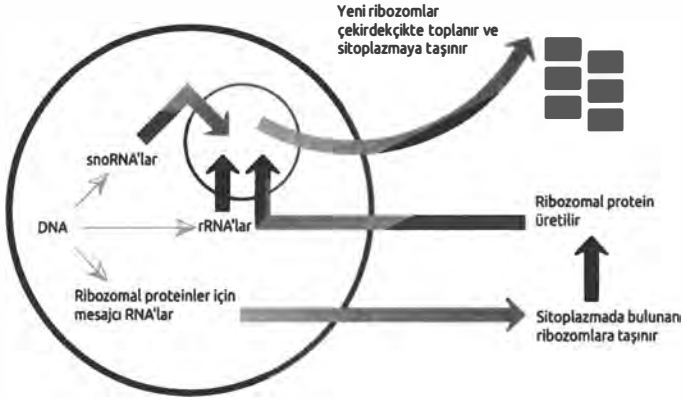
Mesajcı RNA'daki tripletlerin bazıları, tRNA üzerindeki hiçbir üçlü diziyle eşleşmez. Bu tripletler, dur sinyalleri olarak bilinir. Ribozom bunlardan birini okuduğunda, bu diziyi bir tRNA ile eşleyemez ve ribozom, mesajcı RNA üzerinden düşer. Böylece protein sentezi durur. Bu durdurucu diziler, 7. Bölüm'de karşılaştığımız çatıyı oluşturan LEGO tuğlalarıdır (sayfa 112'ye bakınız). Bu aşamadan sonra ribozom ya başka bir mesajcı RNA molekülü bulup onu proteine çevirebilir ya da birincisinin başlangıç noktasına geri dönebilir.

Prosedürün tamamının, dört tip ribozomal RNA ve ilişkili yaklaşık 80 proteinin oluşturduğu dev bir komplekse dayanmasına ve bunun oldukça karmaşık bir görev olmasına rağmen, büyüyen bir protein zincirine yeni amino asitler ekleme işlemi oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşir. Bu süreyi insan hücrelerinde kesin bir doğrulukla ölçmek zordur ancak bakterilerdeki her bir ribozom, saniyede yaklaşık 200 amino asit ekleyebilmektedir. İnsan hücrelerinde süre muhtemelen bu kadar hızlı değildir, ancak örneğin bir LEGO kulesi yapıyor olsaydık, iki tuğlayı birbirine ekleyebileceğimiz süreden on kat daha hızlı olacaktır dersek yaklaşık bir tahmin öne sürmüş olabiliriz. Tabii bu noktada, ribozomun rastgele LEGO tuğlalarını birbirine eklemediğini de unutmayın. Sanki, 20 farklı LEGO tuğla tipinden (çünkü 20 farklı amino asit var) sadece ikisini seçip, onları saniyenin bir kesri kadar kısa bir süre içinde tamamen doğru bir sırayla birbirinin üzerine tutturmak gibidir. Yapabilirsek, zoru başardık demektir.

Hücrelerimizin her saniye, milyonlarca protein molekülü üretmesi gerekir. Tam da bu yüzden, ribozomlarımızın çok etkin bir şekilde çalışmasına ihtiyaç duyarız. Ayrıca, hücrenin protein talebini karşılamak için çok sayıda ribozoma ihtiyacımız vardır ki bu da tek bir hücre için 10 milyona yakın robot demektir.⁴ Yeterli sayıda ribozom üretmek için de hücrelerimiz, çok sayıda rRNA geninin kopyasını biriktirmiştir. Her bir ebeveynden kalıtılan tek bir genden klasik bir şekilde rRNA oluşturmaya bağımlı olmak yerine, beş farklı kromozoma dağılmış yaklaşık 400 rRNA genini kalıt alırız.⁵

Bu kadar çok sayıda rRNA genine sahip olmanın bir diğer avantajı ise, bu genlerdeki mutasyonların neden olduğu rahatsızlıklara yatkın olmamamızdır. Bir kopya mutasyona uğrarsa, elimizde bunu telafi edebilecek fazla miktarda sağlıklı kopya bulunur. Yani, aynı rRNA molekülünü kodlayan tüm normal versiyonlardan elde ettiklerimizle, hatalı olanı telafi etme şansına sahibiz. Diğer taraftan, ribozomlarda bulunan protein kodlayan genlerdeki mutasyonlar için bu durum geçerli değildir. Bunların çoğunun ne yaptığını ayrıntılı olarak bilmiyoruz. Hatta bazıları, ribozom fonksiyonunda bile pek önemli gibi görünmüyor. Ancak aralarında, insan hastalıklarına neden olanlar da var.

En iyi bilinen iki örnek Diamond-Blackfan Anemisi ve Treacher-Collins Sendromudur. Bu hastalıklara, farklı protein kodlayan genlerdeki kalıtsal mutasyonlar neden olur. Her iki durumda da ortaya çıkan sonuç, ribozom sayısındaki azalmadır. Ancak bu mutasyonların hücre işlevini nasıl etkilediğini tam olarak açıklayamıyoruz çünkü eğer tek önemli faktör bu sayı azalması olsaydı, her iki hastalıkta da klinik sonuçların aynı olmasını beklerdik. Fakat değil. Diamond-Blackfan Anemisindeki ana belirti, kırmızı kan hücrelerinin üretimini kısırlıdır. Treacher-Collins Sendromundaki ana klinik bulgular ise solunum, yutkunma ve işitme gibi problemlere



Şekil 11.3. Ribozomal proteinler için mesajcı RNA molekülleri çekirdekte üretilir ve daha sonra sitoplazmada bulunan ribozomlara gönderilir. Yeni ribozomal proteinler, çekirdekteki özel bir bölgeye geri taşınır. Burada, görevlerini gerçekleştirmek için sitoplazmaya taşınacak yeni ribozomlar üretmek için ribozomal RNA molekülleriyle birleşirler.

yol açan kafa ve yüz malformasyonlarıdır.⁶ Çok fazla sayıda ribozoma ve dolayısıyla rRNA genine ihtiyaç duymamızdan dolayı, amino asitleri ribozoma taşıyacak olan bir dizi tRNA için de çok fazla tRNA genine ihtiyaç duymamız mantıksız değildir. İnsan genomu, neredeyse her kromozoma dağılmış olan yaklaşık 500 tRNA geni içerir.⁷ Bu da, daha önce değindiğimiz, rRNA genlerinin çoklu kopyaları için tarif edilenle aynı yararları sağlar.

Sadece bununla kalsa yine iyi, rRNA ile damgalama arasında da garip ve oldukça merak uyandıran bir olası örtüşme vardır. 10. Bölüm’de de tanımlandığı üzere, Prader-Willi Sendromlu hastaların küçük bir kısmında hastalık, kodlanmayan RNA’ların bir grubunu kodlayan çöp DNA bölgesine lokalizedir (sayfa 168’e bakınız). Bu RNA grubuna, küçük

nükleolar RNA'lar yani snoRNA'lar denir.* Bu kodlanmayan RNA'lar, çekirdeğin, çekirdekçik (nükleolus) adı verilen bir bölgesine göç eder. Çekirdekçik, ribozom biyolojisi açısından çok önemlidir. Şekil 11.3'te de gösterildiği gibi çekirdekçik, olgun ribozomların toplandığı yerdir.

Çekirdekçikte, rRNA'lar ve proteinler modifiye edilir ve daha sonra, protein oluşturuıcı robotlar olarak işlevlerini yerine getirmeye hazır olduklarında, sitoplazmaya geri taşınan olgun ribozomlarda toplanırlar. snoRNA'lar ise, rRNA molekülleri üzerindeki belirli modifikasyonların doğru şekilde yapıldığından emin olmak için gereklidir. Tıpkı DNA ve histon proteinlerinin bir metil grubu eklenerek modifiye edilebilmesi gibi, rRNA molekülleri de metillenebilir. Muhtemelen snoRNA'lar, rRNA'ların çiftler oluşturabileceği bölgeleri bu-larak bunu kolaylaştırır. İki nükleik asit molekülü üzerindeki tamamlayıcı (komplementer) bazlar arasındaki bağlanmadan dolayı bunun mümkün olabileceğini söyleyebiliriz. Bir kez bağladıktan sonra snoRNA'lar, rRNA'lara metil grubu ekleyebilen enzimleri çeker. Bunu, histonları modifiye edecek enzimleri çeken uzun kodlanmayan RNA'ların kullandığına benzer bir yolla yapabilir.** Bu modifikasyonların rRNA için neden önemli olduğu tam anlamıyla belli değildir, ancak olası bir öneri, rRNA'lar ile ribozomal proteinler arasındaki etkileşimi dengelemeye yardımcı oldukları yönündedir. Her ne kadar Prader-Willi Sendromundaki semptomların, rRNA modifikasyonlarının kontrolünü sağlayan snoRNA'daki problemlerden kaynaklandığı yönünde bir spekülasyonda bulunmak cazip gelse de bu, şimdilik sadece bir teodir. Sorun şu ki, snoRNA'ların birçok başka tipte RNA molekülünü

* Burada tarif edilen işleme katılanlar snoRNA C/D kutusu olarak adlandırılan belirli bir sınıfa aittir.

** Bu işlem için gerekli olan metiltransferaz enzimine, diğer üç protein ve snoRNA ile birlikte bir kompleks içinde çalışan fibrillarin adı verilir.

de hedefleyebileceğini artık biliyoruz ve bu nedenle de hastalığı olan çocuklarda hangi sürecin yanlış gittiğinden emin olamıyoruz.

Gelin şimdi konuyu biraz daha geri sararak ele almaya çalışalım. Ribozomlar son derece eski, antik yapılardır ve gerçekten ilkel organizmalarda bile tespit edilebilir. Hatta hücre içinde DNA'sını sitoplazmasından ayıran bir çekirdeği olmayan çok küçük, tek hücreli bakterilerde bile bulunur. Evrimsel biyologlar, türlerin zaman içinde nasıl farklılaştığını izlemek için genellikle rRNA'ları kodlayan genlerin DNA dizilerini kullanırlar.

Bakteriler ve daha yüksek organizmalar yaklaşık 2 milyar yıl önce ayrıldılar,⁸ bu nedenle her ne kadar tek hücreli (çok) uzak kuzenlerimizdeki rRNA genlerini hâlâ ayırt edebilsek de, bunlar bizdeki rRNA'lardan gerçekten farklıdır. Bu, "iyi bir durum" olarak ortaya çıkmıştır. En yaygın ve başarılı antibiyotiklerin bazıları, bakteriyel ribozomları engelleyerek çalışır.⁹ Örneğin tetrasiklin ve eritromisin bu grupta yer alır. Bahsi geçen antibiyotikler bakteriyel ribozomların aktivitelerini bozarken, insanlarınkine zarar vermez.

Batı'da antibiyotiklere o kadar alıştık ki, bazen onların ne kadar önemli olduklarını unutuyoruz. Antibiyotikler, 1940'larda tıp sahnesine adım attıklarından beri, ölçülü bir tahminle, kelimenin tam anlamıyla milyonlarca insanın hayatını kurtardı. Sadelik yanlılarının çöp DNA olarak ele alacağı türler arasındaki bu çeşitlilik sayesinde milyonlarca insandan çoğunun hayatının kurtarıldığını düşünmek garip.

İstilacılara bağlılık

Evrimsel gelişim sürecinde atalarımız, modern bakterilerin atalarından ayrıldı ve muhtemelen yaklaşık aynı zamanda atalarımız gelişmeye başladı. Her birimizin bu organizmalardan kolonileştiğini düşünmek bile başlı başına zor gelebilir.

Aslında “kolonileşmek” kelimesi bu noktada gerçekten anlatmak istediğimiz durum için yetersiz kalır. Sadece tür olarak bizim değil, çimenlerden zebralara, balinalardan solucanlara kadar bu gezegendeki tüm diğer çok hücreli organizmaların tamamının hayatta kalımı bu kolonileşmeye dayanır. Ekmek ve bira yapımında kullandığımız maya için bile bu geçerlidir.

Milyarlarca yıl önce ilk atalarımızın hücreleri, minik organizmalar tarafından istila edildi. O zamanlarda muhtemelen dört hücreden daha fazla hücreye sahip herhangi bir organizma yoktu ve bu dört hücreliler, gerçekleştirdikleri görevler açısından çok da uzmanlaşmamışlardı. Birbirleriyle savaşmak yerine, bu hücreler ve minik işgalcileri bir uzlaşmaya vardılar. Her biri bu uzlaşmadan yararlandı ve milyarlarca yıl sürecek güzel bir dostluk başladı.

Bu minik organizmalar, hücrelerimizin kritik bileşenlerine dönüştü ve biz onlara mitokondri diyoruz. Mitokondri-ler, sitoplâzma da bulunurlar ve küçük güç üreticilerdir. Tüm standart fonksiyonları yerine getirebilmek için ihtiyaç duyulan enerjiyi üreten, hücre organellerinden biridir. Oksijeni kullanarak besin kaynaklarından enerji üretmemizi sağlayan, mitokondridir. Mitokondrilerimiz olmasaydı muhtemelen, yararlı işler yapmak için yeterince enerjiye sahip olamayan küçük ve önemsiz bir dört hücreli olurduk.

Mitokondrinin bu serbest yaşayan organizmaların soyundan geldiğine emin olmamızın nedenlerinden biri, kendi genomlarına sahip olmalarıdır. Genomları, çekirdekte bulunan “standart” insan genomundan çok daha küçüktür. 3 milyar baz çifti içeren çekirdek genomuna kıyasla, mitokondri genomu düz hesap 16.500 baz çifti uzunluğundadır. Kromozomlarımızın aksine, halkasal yapıdadır. Mitokondri genomu sadece 37 gen kodlar. Dikkat çekici bir şekilde, bunların yarısından fazlası protein kodlamaz. 22 tanesi mitokondriyal tRNA mo-

lekülünü¹⁰ ve iki tanesi de mitokondriyal rRNA molekülünü kodlar. Böylece mitokondrinin ribozom üretebilmesini ve bu ribozomları da DNA'sındaki diğer genlerden protein sentezlemek için kullanabilmesini mümkün kılar.*¹¹

Evrimsel açıdan ele alındığında bu, oldukça riskli bir strateji gibi görünüyor. Ribozomal fonksiyon, mitokondriyal fonksiyon için ve mitokondriyal fonksiyon da, hayat için kritik derecede önemlidir. Öyleyse, güç jeneratörlerimizdeki ribozomal genlerin ekstra kopyalarını sağlama almadığımız bu kadar önemli bir sürece neden sahibiz?

Öncelikle, mitokondriyal DNA, çekirdek DNA'sı ile aynı şekilde kalıt bırakılmaz. Çekirdekte, her bir kromozom setini bir ebeveynimizden alırız. Ancak mitokondriyal kalıtım farklıdır. Mitokondrilerimizi sadece annelerimizden alırız.** Yani, eğer annemizden mutant bir mitokondriyal gen aldıysak, bu geni telafi edecek, babadan aldığımız yedek normal bir genimiz yoktur. Bu da çok daha riskli senaryoların ortaya çıkabileceği anlamına gelir.

Fakat (elbette) bir karmaşıklık daha vardır. Annelerimizden sadece bir tane mitokondriyon kalıt almıyoruz; yüz binlerce hatta belki milyonlarca alıyoruz. Bunların hiçbirisi genetik olarak birbiriyle aynı değildir çünkü aynı kökenden gelmezler. Her hücre bölünmesinde, mitokondri de bölünür ve oluşan yeni yavru hücrelere aktarılır. Bu mitokondrilerden bazıları mutasyon geliştirmiş olsa bile, hücrede iyi durumda olan birçok başka mitokondri de olacaktır.

* Biyokimyasal işlemleri için mitokondriler pek çok protein kullanırlar ancak bunların çoğunu sitoplazmadan alırlar. Mitokondride benzersiz bir şekilde kodlanan proteinlerin tamamı, mitokondrinin kendi içinde gerçekleşen ve elektron transport (taşıma) zinciri olarak adlandırılan bir süreçte yer alır. Hücrelerimizi güçlendirmek için depolanabilir, kullanılabilir enerji ürettiğimiz bu süreç, yaşam için hayatidir.

** En son araştırmalar, çok düşük miktarda da olsa babadan da mitokondri aktarılabildiğini göstermiştir. (çev.)

Diğer taraftan bu, hiçbir zaman sorun gelişmediği anlamına da gelmez. Bugüne kadar yapılan çalışmalar ele alındığında, sorunların çoğunun mitokondriyal DNA üzerindeki tRNA genlerinde olduğu görülmektedir. Sonuçta hastada görülen klinik belirtiler arasında kas zayıflığı ve erimesi¹², işitme kaybı¹³, hipertansiyon¹⁴ ve kalp problemleri¹⁵ yer almaktadır. Ancak aynı aile içinde bile klinik belirtiler hastadan hastaya değişiklik gösterebilir. Bunun altında yatan en olası neden ise, bir dokudaki mutant mitokondri yüzdesi belli bir eşiğe ulaşana kadar semptomların gelişmemesidir. Bir hücre bölünürken “iyi” ve “kötü” mitokondriler rastgele eşit olmayan bir şekilde yavru hücrelere dağılır. Bu dağılımın bir sonucu olarak da, nispeten ileri yaşlara kadar kendini göstermeyebilir.

Eğer bütün bunlar, proteinlerle kıyaslandığında RNA’nın DNA’yla ya da alt bir türle sadece zayıf bir ilişkisi olmadığını göstermek için size yeterli gelmediyse, bir de şunu göz önünde bulundurun. Her ne kadar DNA, biyolojinin meşhur çocuğu olsa da, dünya üzerindeki tüm yaşamın kaynağı DNA değil RNA olabilir.

Başlangıçta (muhtemelen) RNA vardı

DNA muazzam bir moleküldür. Üzerinde çok fazla bilgi depolar. Çift zincirli doğasından ötürü, diziyi istikrarlı bir şekilde kopyalamak ve korumak kolaydır. Ancak milyarlarca yıl öncesini, yaşamın gelişmeye başladığı zamanları düşünmeyi denersek, bunun bir DNA genomuna dayanarak nasıl gerçekleşebileceğini anlamak zordur.

Bilgiyi depolama açısından her ne kadar DNA fantastik de olsa, o bilgiden bırakın bir molekül yaratmayı, kendisini bile kopyalayamaz. DNA hiçbir zaman bir enzim olarak işlev göremez. Üstelik DNA her zaman proteinlerine güvenir. Hal böyle olunca, kendi kopyasını bile yapamayan bir molekül, başlangıçtaki genetik materyal nasıl olabilir?

Diğer taraftan, bilim insanlarının arasında bile çok az dikkat çekebilmiş olan rRNA molekülünü ele alacak olursak, bir çeşit *evreka* anına ulaşabiliriz. rRNA, hem dizi bilgisi içerir hem de bir enzimdir. Bu, RNA'nın geçmişte bir dizi enzimatik aktiviteye sahip olma olasılığını artırmakla birlikte, kendi kendine devam edebilen ve kendiliğinden yayılan genetik bilginin evrimsel gelişimine yol açabilir.

2009 yılında araştırmacılar, böyle bir sistemi oluşturabildikleri olağanüstü bir çalışma yayınladılar. Her ikisi de enzim olarak iş görebilecek iki RNA molekülünü genetik olarak yarattılar. Laboratuvarında bu iki molekülü karıştırdıklarında ve onlara tek RNA bazları da dâhil olmak üzere ihtiyaç duyacakları hammaddeleri verdiklerinde, bu iki molekül birbirinin kopyasını yaptı. Hazırda var olan RNA dizilerini yeni moleküller için kalıp olarak kullanıp, mükemmel kopyalar yarattılar. Araştırmacılar ortamda azalan önemli hammaddeleri tedarik ettikçe, giderek daha fazla sayıda kopya yaptılar. Böylece sistem, kendi kendini sürdürebilir bir hale geldi. Araştırmacılar işi biraz daha ileriye götürdüler ve her biri enzimatik aktiviteye sahip daha fazla sayıda farklı RNA moleküllerini karıştırdılar. Deneyi aktive ettiklerinde, iki dizinin diğerlerine göre çok daha hızlı bir şekilde sayısını artırdığını buldular. Böylece sistemin sadece kendi kendini sürdüren değil, aynı zamanda kendi kendini seçen bir sistem olduğunu gördüler. Bunun altında yatan neden ise, RNA molekül çiftlerinden etkili ve verimli olanların, diğer çiftlere kıyasla, kendilerini çok daha hızlı bir şekilde yeniden yaratmalarıydı.¹⁶ Geline son noktada, çok kısa bir süre önce bilim insanları, kendi kopyasını üretebilecek enzimatik bir RNA oluşturmaya bile başladılar.¹⁷

“Altın çöpe düşse değer kaybeder mi?” demiş ozanın biri. Belki de çöpün olduğu yerde, hayat vardır.



12

Düğmesine Bas, Sesini Aç

Sadece (!) 1.700.000\$'lık fiyat etiketiyle Bugatti Veyron, dünyanın en pahalı arabasıdır. Öte yandan, en ucuz arabanın hangisi olduğuna karar vermek bir hayli zordur. Yine de, Veyron'un maliyetinin yaklaşık yüzde 1'i kadar bir maliyete sahip olan Dacia Sandero bu şerefe layık görülebilir. Ancak, her iki arabanın da birtakım ortak özellikleri vardır. Bunlardan biri, herhangi bir yere gitmeden önce ikisinin de motorunu çalıştırmanızın gerekli olmasıdır. Eğer motoru çalıştırmazsanız, hiçbir işlev gerçekleşmeyecektir.

Protein kodlayan genlerimiz için de aynısı geçerlidir. Aktive edilip mesajcı RNA'ya kopyalanmadıkça, hiçbir işlev yapamazlar. Bunlar basitçe DNA'nın etkisiz uzantılarıdır. Tıpkı siz motoru çalıştırmadıkça Veyron'un iri kıyım, hareketsiz bir metal ve aksesuar yığınınından başka bir nesne olmaması gibi. Bir genin düğmesine basarak onu çalıştırmak, promotor olarak adlandırılan çöp DNA bölgesine bağlıdır. Her bir protein kodlayan genin başlangıç bölgesinde bir promotor vardır.

Eğer bir arabayı geleneksel bir şekilde düşünürsek promotor, kontak anahtarının yuvasıdır. Anahtar, promotora bağlanan bir protein kompleksi ile temsil edilir ve bu kompleks, transkripsiyon faktörleri olarak bilinir. Transkripsiyon faktörleri, geni mesajcı RNA'ya kopyalayacak olan enzimi bağlar. Bu olay dizisi, genin ifadesini yönlendirir.

DNA dizisini analiz ederek promotor bölgeleri belirlemek nispeten kolaydır. Promotorlar her zaman protein kodlayan bölgelerin hemen önünde yer alır. Ayrıca, genellikle belirli DNA dizi motifleri içermeye eğilimindedirler. Bunun nedeni de transkripsiyon faktörlerinin, spesifik DNA dizilerini tanıyabilen ve onlara bağlanabilen özel bir protein tipi olmasıdır. Eğer promotorlardaki epigenetik modifikasyonları analiz edersek, ortaya çıkan istikrarlı kalıpları da buluruz. Bir hücredeki genin aktif olup olmamasına bağlı olarak promotorlar, belirli birtakım epigenetik modifikasyonlara sahiptir. Epigenetik modifikasyonlar, transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını sağlayan önemli düzenleyicilerdir. Bazı modifikasyonlar, ortamdaki transkripsiyon faktörlerini ve ilişkili enzimleri çeker ve bu da gen ifadesiyle sonuçlanır. Diğerleri de transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını engelleyerek, bir genin açılmasını gerçekten zorlaştırır.

Araştırmacılar bir promotor bölgesini kopyalayabilir ve onu genomda başka bir yere hatta bambaşka bir organizmaya bile ekleyebilirler. Bu tarz deneyler, promotorların genellikle genin hemen önünde işlev görebileceğini doğrulamıştır. Bununla birlikte, promotorun doğru yöne “işaret etmesi” gerektiği de gösterilmiştir. Eğer promotor dizisini genin önüne ama yanlış yönü gösterecek şekilde yerleştirirseniz, çalışmayacaktır. Tıpkı, anahtarı kontakta ters yöne doğru çevirmek gibidir. Promotorlar faaliyetlerinde konumlanmalarına bağımlıdır.

Promotorlar, hangi geni kontrol ettiklerini gerçekten söyleyemez. Eğer yeterince yakınsa ve doğru yönü gösteriyorsa, en yakındaki genin düğmesine basar. Bu da araştırmacıların, ilgilendikleri herhangi bir genin ifadesini yönlendirebilmek için promotorları kullanmalarına olanak sağlar. Deneyisel olarak çok kullanışlı görünse de, kötü bir yanı da vardır. Bazı kanserlerde temel moleküler problem, kromozomlardaki DNA'nın karışması ve promotorun yanlış genin ifadesini

başlatmasıdır. Kanser durumunda bu gen, bulunduğu hücrenin proliferasyon hızını ileri iten bir gendir. İlk keşfedilen ve muhtemelen hâlâ en iyi bilinen örnek, Burkitt Lenfoması olarak bilinen kan kanserinde görülür. Bu kanser türünden daha önce kısaca bahsetmiştim, kötü komşuları olan iyi genleri tartıştığımız kısımda (bkz. sayfa 70). Burkitt Lenfomasında 14. kromozom üzerindeki güçlü bir promotor, 8. kromozom üzerindeki bir genin hemen önüne yerleşmiş ve hücreyi proliferasyona sürükleyen bir proteini kodlamıştır.^{*1} Sonuçlar potansiyel olarak tam bir felakettir. Bu yeniden düzenlenimi taşıyan beyaz kan hücreleri gerçekten hızlı bir şekilde büyür, bölünür ve kan dolaşımında baskın hale gelmeye başlar. Hastalık gelişiminin erken döneminde tespit edilirse, her ne kadar bu agresif bir kemoterapi gerektirse de, hastaların yarısından fazlası tedavi edilebilir.² Geç tanı alan hastalarda ise çok hızlı bir şekilde kötüye gidişi takiben haftalar içinde ölüm gerçekleşebilir.

Sağlıklı dokularda farklı promotorlar sadece belirli hücre tiplerinde aktif olabilir. Genellikle bunun nedeni de transkripsiyon faktörlerine dayanır çünkü ilişkide oldukları transkripsiyon faktörleri bazı hücrelerde ifade olurken, bazılarında olmaz. Ayrıca promotorların farklı güçleri de vardır. Yani, güçlü promotorların genleri çok agresif bir şekilde açtığını ve sonuçta da protein kodlayan genden birçok mesajcı RNA kopyası oluşacağını söylemek istiyorum. Burkitt Lenfomasında olan tam olarak budur. Zayıf promotorlar, gen ifadesinin çok daha az dramatik seviyelerine neden olur. Memeli hücrelerinde promotorların gücü; DNA dizisini, uygun transkripsiyon faktörlerini, epigenetik modifikasyonlarını ve muhtemelen henüz tanımlayamadığımız bir sürü diğer değişkenleri de içeren pek çok faktöre bağlıdır.

* Bu gen MYC adı verilen bir protein kodlar. MYC aynı zamanda bir dizi farklı kanser türünde de rol oynar.

Kademeli yanıtı sürdürmek

Herhangi bir hücredeki herhangi bir promotor, gen ifadesinin seviyesini nispeten sabit tutar, en azından deneysel sistemlerde durum böyledir. Ancak normal şartlar altında gen ifadesi ikili bir olay değildir. Genler değişken seviyelerde ifade edilebilir. Araba benzetmemizle bu durumu açıklığa kavuşturmak istersek eğer şöyle söyleyebiliriz: Veyron'u saatte 1 mil'den maksimum hızı olan 250 mile kadar olan herhangi bir hızla, Sandero'yu da bunun yarısından az bir hızla sürebilirsiniz. Hücrelerde bu esneklik, epigenetiği de içeren çeşitli etkileşimli işlemlere bağlıdır. Fakat aynı zamanda başka bir çöp DNA bölgesinden de etkilenir. Bu bölge, hızlandırıcı (güçlendirici, artırıcı, enhancer) olarak bilinir.

Promotorlarla (destekleyici) kıyaslandığında hızlandırıcılar hakkındaki bilgilerimiz çok bulanık. Genellikle birkaç yüz baz çifti uzunluğundadır ama DNA dizisini analiz ederek onları tanımlamak neredeyse imkânsızdır.³ Hızlandırıcılar, çok değişkendir. Hızlandırıcı bölgelerin tanımlanması da işleri daha karmaşık hale getirir çünkü her zaman mutlaka işlevsel olmaları gerekmez. Örneğin, bir şekilde bir uyarın tarafından bir kez aktive edildiklerinde, sadece gen ifadesini düzenlemeye başlayan bir dizi gizli hızlandırıcı tanımlandı. Bu da, hızlandırıcıların genom dizisinde önceden belirlenemeyebileceğini gösterdi.

İnflamatuvar (iltihaplı) yanıt, bakteri enfeksiyonu gibi vücuttaki çeşitli saldırılara karşı ilk savunma hattıdır. İstila edilen bölgenin yakınındaki hücreler, istilacılar için gerçekten düşmanca bir ortam yaratan kimyasalları ve sinyal moleküllerini serbest bırakır. Sanki evdeki hırsız alarminin tetiklenmesiyle hırsızın girdiği odaya sıcak, kötü kokulu bir sıvı akışının başlaması gibi.

İnflamatuvar yanıtı çalışan bilim insanları, DNA dizilerinin gerektiğinde hızlandırıcı oluşturacak şekilde seçilebileceğini gösteren ilk kişiler arasındaydı. Bu çalışmada araştırma-

cılar, inflamatuvar uyaran uzaklaştırılsa bile, hızlandırıcıların tekrar durgun oldukları hale geri dönmediğini buldular. Bunun yerine hızlandırıcı olmaya devam ettiler ve hücrelerin inflamatuvar uyaranla yeniden karşılaşması ihtimaline karşı, ilgili genlerin ifadesini tekrar düzenleyebilecek şekilde hazır beklediler.⁴ Bu hızlandırıcıların, yabancı istilacılara karşı olan yanıtı katılan genleri düzenlemeleri, muhtemelen bir tesadüf değildir. Gen ifadesi açısından bu hafıza, enfeksiyona karşı olabildiğince verimli ve hızlı bir şekilde mücadele etmek için çok avantajlı olabilir.

Epigenetik ve hızlandırıcılar; eylem halindeki karşılıklı etkileşim

Genetik bölgelerin, uyaran ortadan kaybolduktan sonra bile hafızayı koruyabilmesinin bir yolu epigenetiktir. Epigenetik modifikasyonlar, bölgeyi baskıdan oldukça uzak tutarak bölgenin tekrar açılmasını kolaylaştırabilir. Tatilde olmak yerine, nöbette olan bir doktor gibidir diyebiliriz. Az önce bahsettiğimiz örnekte araştırmacılar, belirli histon modifikasyonların, inflamatuvar uyaranın uzaklaştırılmasından sonra da “yeni” hızlandırıcılarda kaldıklarını ve onları hazır tuttuklarını gösterdiler.

Temelindeki DNA dizisinden bağımsız olan epigenetik modifikasyonlara bakarak hızlandırıcıları tanımlamada genel olarak biraz daha ilerleme kaydetmeye başladık. Bu modifikasyonlar, spesifik bir hücre tipinin bir DNA dizisini nasıl kullandığını göstermek için fonksiyonel belirteçler olarak kullanılabilir. Ayrıca araştırmacılar, bu modifikasyonların kanserde değişebileceğini ve kansere yol açan hücresel değişikliklere katkıda bulunabilecek farklı gen ifade kalıpları yaratabileceğini de göstermişlerdir.⁵

Diğer taraftan, bir hızlandırıcıyı ele alıyor olabileceğimizi gösteren epigenetik bir imza bulsak bile, hâlâ çözmemiz

gereken bir sorunumuz daha vardır. Hızlandırıcı olduğu varsayılan bölgeden, hangi protein kodlayan genlerin etkilendiğini bilmiyoruz. Bunu anlayabilmemizin tek yolu, genetik manipölasyonlarla hızlandırıcıyı bozup, bu değişiklikten hangi genlerin doğrudan etkilendiğini değerlendirmektir. Bu noktada, hızlandırıcının fonksiyonunun, promotorunkinden farklı olduğunun dikkatinizden kaçmadığını düşünüyorum. Promotorların aksine, hızlandırıcılar konum bağımlı değildir, hangi yöne işaret ettiklerinin bir önemi olmaksızın, hızlandırıcı olarak hareket ederler. Bir diğer farklılık ise çok daha çarpıcıdır. Hızlandırıcılar, ifadesini etkileyecekleri protein kodlayan genden çok uzakta olabilirler.

Beklediğimizden çok daha fazla sayıda hızlandırıcı vardır. Yakın zamanda yapılan kapsamlı bir çalışmada, yaklaşık 150 insan hücre hattındaki histon modifikasyon kalıplarına bakıldı. Bu hücre hatlarında hızlandırıcı gibi görünen kalıplar değerlendirildiğinde, yaklaşık 400.000 aday hızlandırıcı bölgesi bulundu.⁶ Eğer hızlandırıcılar ile protein kodlayan genler arasında birebir bir ilişki varsa, bu sayı gerekenden çok daha fazla demektir. Uzun kodlanmayan RNA'ların hızlandırıcıları olduğunu varsayarsak bile çok fazladır.

Bir diğer önemli nokta ise hızlandırıcıların her hücre tipinde bulunmamasıdır. Bu da, epigenetik olarak nasıl modifiye edildiğine bağlı olarak, aynı DNA dizisinin farklı hücrelerde farklı fonksiyonlara sahip olabileceği bir model ile tutarlıdır.

Uzun yıllar boyunca, hızlandırıcıların gerçekte nasıl çalıştıklarına dair net bir modelimiz yoktu. Şimdi ise birçok durumda kritik olarak başka bir çöp DNA tipine bağlı olabileceğinden şüpheleniyoruz: uzun kodlanmayan RNA'lar. Aslında, uzun kodlanmayan RNA'ların spesifik sınıfları, hızlandırıcıların bizzat kendisinden ifade ediliyor olabilir.⁷ 8. Bölüm'de detaylı olarak ele aldığımız uzun kodlanmayan

RNA'ların birçoğu, diğer genlerin ifadesini baskılamada rol oynamaktadır. Fakat şimdilerde gen ifadesini hızlandırıp artıran geniş bir kodlanmayan RNA sınıfı olduğuna da inanılmaktadır. Bunun böyle olabileceğine dair ilk öneri ise komşu genleri düzenleyen uzun kodlanmayan RNA'lar için öne sürüldü. Buna göre, uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesi deneysel olarak artırıldığında, komşu protein kodlayan genin ifadesi de artar. Ayısının tersi de geçerlidir. Uzun kodlanmayan RNA'nın ifadesi deneysel olarak düşürülürse, protein kodlayan gen de daha düşük seviyede ifade edilir.⁸

Belirli uzun kodlanmayan RNA'lar ve onlar tarafından düzenlendiğine inanılan mesajcı RNA'lar için zamanlama şablonlarını analiz eden araştırmalardan başka kanıtlar da elde edildi. Bu çalışmalardan birinde araştırmacılar hücreleri, belirli bir genin ifadesine neden olduğunu bildikleri bir uyararla muamele ettiler. Deneyin sonucunda, hızlandırıcı uzun kodlanmayan RNA'nın düğmesine, komşu protein kodlayan genin mesajcı RNA'nın düğmesinden daha önce basıldığını yani aktive edildiğini buldular.^{9,10} Bu da, hızlandırıcıda bulunan uzun kodlanmayan RNA'nın bir uyarana yanıt olarak açıldığı ve ardından protein kodlayan geninin ifadesini açmaya yardımcı olduğu bir model ile tutarlıdır.

Unutmamamız gereken, uzun kodlanmayan RNA, bu ifade artışını kendi başına gerçekleştirmez. İşlem, büyük bir protein kompleksinin varlığına dayanır. Bu kompleks, aracı (mediator) olarak da bilinir. Uzun kodlanmayan RNA, aktivitesini komşu gene yönlendirecek olan aracı komplekse bağlanır. Aracı kompleksinde yer alan proteinlerden biri, bitişik protein kodlayan genin üzerindeki epigenetik modifikasyonları gerçekleştirebilmektedir.* Bu modifikasyon, protein üre-

* Bahsi geçen modifikasyon, histon H3'ün üzerindeki belirli bir pozisyona fosfat grubunun (bir fosfor ve dört oksijen atomundan oluşur) eklenmesidir. Bu modifikasyon genellikle aktif genlerle ilişkilidir.

timi için kalıp olarak kullanılan mesajcı RNA kopyalarını yaratan enzimi devreye sokmaya yardımcı olur. Aracı kompleks ve uzun kodlanmayan RNA arasında tutarlı bir ilişki vardır. Yapılan araştırmalardan birinde uzun kodlanmayan RNA'nın ya da aracı kompleksin bir üyesinin ifadesinde deneysel olarak gerçekleştirilen bir azalma sonucunda, komşu genin ifadesinin de azaldığı gösterilmiştir.¹¹

Uzun kodlanmayan RNA'lar ve aracı kompleks arasındaki fiziksel etkileşimin önemi, Opitz-Kaveggia Sendromu olarak adlandırılan bir hastalıkta gösterilmiştir. Bu hastalıkla doğan çocuklar öğrenme güçlüğüne, zayıf kas tonusuna ve orantısız şekilde büyük bir kafaya sahiptir.¹² Hastalıktan etkilenen çocuklar, genlerinden birinde bir mutasyonu kalıt almışlardır. Bu gen, uzun kodlanmayan RNA molekülleriyle etkileşime giren aracı kompleksteki bir proteini kodlamaktadır.*

Bilim insanları aracı kompleksin etkinliğini daha fazla analiz ettikçe, ona olan ilgileri artmaya başladı. Bunun nedenlerinden biri ise aracı kompleksin, özel güçleri olan bir grup hızlandırıcının çalışmasından sorumlu olmasıydı. Bunlar süper hızlandırıcılar ve özellikle embriyonik kök (EK) hücrede önemlidir. Daha önce de değindiğimiz gibi EK hücreleri, insan vücudundaki herhangi bir hücre tipine gelişebilecek potansiyele sahip olan pluripotent hücrelerdir.¹³

Süper hızlandırıcılar, bir arada hareket eden hızlandırıcı kümeleridir. Normal hızlandırıcıların yaklaşık on katı büyüklüğündedir. Bu yüzden de proteinler bu süper hızlandırıcılara, normal hızlandırıcılara bağlandıklarından çok daha yüksek seviyede bağlanabilir. Böylece süper hızlandırıcıların, düzenledikleri genin ifadesini gerçekten artırmasına izin ve-

* Aracının bu bileşeni MED12'dir.

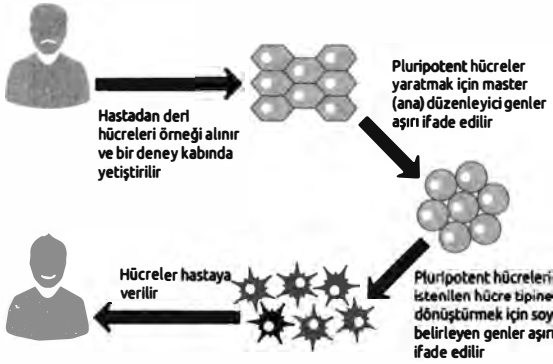
rilir. Ancak, araştırmacıların ilgisini çeken sadece protein sayısı değildir. Bu proteinlerin ne olduklarıdır.

8. Bölüm’de de gördüğümüz gibi EK hücreler, tesadüfen ya da pasif olarak pluripotentte kalmaz. EK hücrelei, potansiyellerini koruyabilmek için genleri çok dikkatli bir şekilde düzenler. Gen ifadesindeki nispeten hafif düzensizlikler bile bir EK hücrelerini, özelleşmiş bir hücre tipine dönüştürecek bir yolağa doğru itmeye başlayabilir. Bunu hayalimizde kolayca canlandırabilmenin bir yolu, uzun bir merdivenin tepesinde duran gökkuşağı yayı oynadığını (renkli stres yayı olarak da bilinir) düşündürmektir.

En üst basamaktayken onu harekete geçirmek için yapılacak en ufak bir dürtme, renkli yayı çok uzun bir yolculuğa göndermek için yeterli olacaktır. Belki de daha iyi bir benzetme, arka ucunda merdivenden düşmesini engelleyecek küçük bir ağırlık bulunan renkli yay olabilir. Ağırlığı uzaklaştırdığınızda, yay yuvarlanmaya başlayacaktır.

EK hücrelerinin pluripotensisini korumak için kesinlikle hayati olan bir dizi protein vardır. Bunlar master düzenleyiciler (regülatörler) olarak bilinir ve renkli yayın arka ucundaki küçük ağırlık gibidir. Master düzenleyiciler, EK hücrelerinde yüksek seviyelerde ifade edilirken, özelleşmiş hücrelerde çok düşük seviyelerde ifade edilir.

Bu proteinlerin önemi, 2006 yılında kesin bir şekilde gösterilmiştir. Japonya’daki araştırmacılar, bu master düzenleyicilerden dört tanesinin bir kombinasyonunu, farklılaşmış hücrelerde farklı seviyelerde ifade ettiler. Şaşırtıcı bir şekilde bu deney, işlevsel olarak EK hücreleriyle hemen hemen aynı olan hücrelerin yaratılmasıyla sonuçlanan bir moleküler olaylar zincirini harekete geçirdi.¹⁴ Benzetmemizle ele alacak olursa adeta renkli yayımızın merdivenin en altından en



Şekil 12.1. Bireysel olarak uygulanan kişiye özel terapiler geliştirmek için, hastadan elde edilen hücreleri kullanmanın ardındaki teori.

üstüne doğru geri hareket etmesi gibidir. Bu yolla oluşturulan hücreler, vücuttaki herhangi bir hücre tipine dönüşebilecek potansiyele sahiptir.* Oldukça dikkat çekici olan bu çalışma ve onu takip eden araştırma, büyük bir heyecan yarattı çünkü bu sonuçlar, körlükten tip 1 diyabete, parkinson hastalığından kalp yetmezliğine kadar çok sayıda hastalığı potansiyel olarak tedavi edebilecek yedek (ikame) hücreler oluşturabileceğimiz anlamına geliyordu.

Bu yeni teknoloji geliştirilene kadar, insan hastalıklarını tedavi edebilecek uygun hücreleri yaratmak son derece zordu. Bunun temelinde yatan nedenlerden biri de, bir bireyden alınan hücrelerin genellikle diğer bireye aktarılamamasıdır. Bağışıklık sistemi bu donör hücreleri tanıyacak ve tıpkı istilacı bir organizmaya yaptığı gibi, onları yabancı olarak algılayıp öldürecektir. Ancak artık Şekil 12.1’de de gösterildiği gibi hastayla mükemmel bir şekilde eşleşecek hücreler yaratma potansiyeline sahibiz.

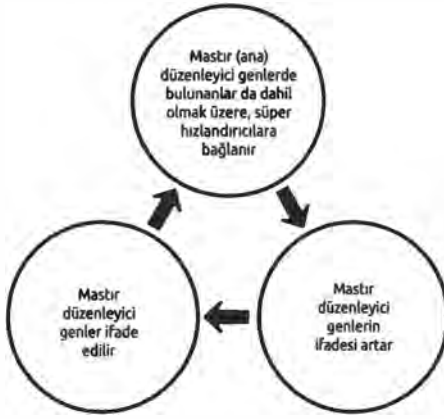
* Bunlar indüklenmiş (uyarılmış) pluripotent kök hücreler (iPS hücreleri) olarak bilinir.

2006 yılında yapılan bu çalışma, potansiyel olarak milyarlarca dolar değerinde bir endüstri üretti ve orijinal yayının çıkmasından sadece altı yıl sonra araştırmacılar, Nobel Fizyoloji ve Tıp ödülünü kazandıklarında, bu alanda verilen en hızlı ödüllerden birini de beraberinde getirdi.¹⁵

Normal EK hücrelerde bu master düzenleyici proteinlerin bazıları, süper hızlandırıcılara çok yüksek yoğunlukta bağlanır. Süper hızlandırıcıların kendileri, hücrelerin pluripotent durumlarını koruyan bazı kilit genleri düzenler. Aynı bölgelerde, aracı kompleks de çok yüksek seviyelerde bulunur. Master düzenleyicinin ya da aracının ifadesinin düşürülmesi, bu kilit genlerin ifadesi üzerinde çok benzer etkiye sahiptir. İfade seviyelerindeki düşüş, EK hücrelerinin büyük bir olasılıkla özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşmasına yol açacaktır.

EK hücrelerin pluripotent durumu, master düzenleyicilerin yüksek ifade seviyelerine kritik derece bağlıdır ve bu yüzden, master düzenleyicilerin kendilerinin süper hızlandırıcılar tarafından kontrol ediliyor olması muhtemelen hiç de şaşırtıcı değildir. Bu da Şekil 12.2’de de gösterildiği gibi, bir çeşit pozitif geri bildirim döngüsü oluşturur.

Pozitif geri bildirim döngüleri biyolojide nispeten nadir olarak görülür çünkü eğer bir noktada işler yanlış gitmeye başlarsa, tekrar kontrol altına almak zor olabilir. Neyse ki, süper hızlandırıcılar üzerinden düzenlenen protein kodlayan genler, master düzenleyicilerin ve bir dizi başka faktörün bağlanmasıyla küçük bozulmalara karşı aşırı duyarlıdır. Yani, bu faktörlerin bazılarının dengesindeki küçük bir değişim bile, bu pozitif geri bildirim döngüsünü kesmek için yeterli olabilir ve hücrelerin pluripotent kalmasını sağlamak yerine farklılaşmasına olanak sağlayabilir. Kısaca, renkli yayın merdivenlerden aşağı düşmesini sağlayacak bir dürtme genellikle olmaz.



Şekil 12.2. Master düzenleyici genlerinin yüksek seviyeli sürekli ifadesini sağlayan pozitif geri bildirim döngüsü.

Süper hızlandırıcılar tümör hücrelerinde de rapor edilmiştir. Tümör hücrelerinde bu süper hızlandırıcılar, hücre çoğalmasını ve kanser gelişimini sağlayan kritik genlerle ilişkilidir.¹⁶ Tümörle ilişkili süper hızlandırıcılar tarafından düzenlenen genlerden biri, bu bölümün başlarında karşılaştığımız Burkitt Lenfomasını harekete geçirenle aynı genidir. Bazı normal özelleşmiş hücrelerde de süper hızlandırıcılar vardır ve bunlar, hücrenin kimliğini tanımlayan hücreye özgü proteinlere bağlanır.

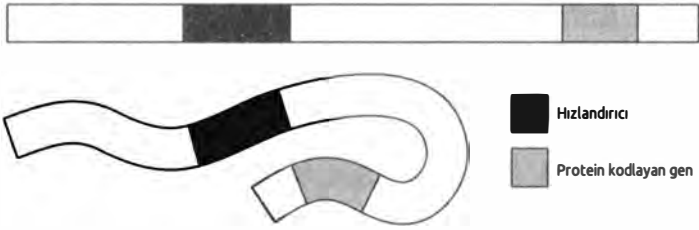
Mesafeyi aşmak

Hızlandırıcılarla ilgili olarak buraya kadar tanımladığımız olayların çoğu, hedefledikleri genlere görece yakın konumda olanlarla ilgilidir ki bu da yaklaşık 50.000 baz çiftlik bir bölgeyi içerir. Bunun nasıl olabileceğini hayalimizde canlandırmak nispeten kolaydır, uzun kodlanmayan RNA ile DNA'yı mesajcı RNA'ya kopyalayacak olan enzimi tutacak bir aracı kompleks vasıtasıyla gerçekleşir. Ancak, hızlandırıcının ve düzenlediği protein kodlayıcı genin, kromozom üzerinde bir-

birinden çok uzak mesafede oldukları pek çok durum vardır. O kadar öyle ki birkaç milyon baz çiftine kadar uzanabilen mesafelerden bahsediyoruz. Bu tıpkı, kahvaltılık masasının öteki ucunda oturan birinin sizden tuzu uzatmanızı istemesi ile futbol sahasının diğer tarafındaki bir kişinin tuzu uzatmanızı istemesi arasındaki fark gibidir. Bu kadar uzak mesafeler arasında gerçekleşen gen ve hızlandırıcı arasındaki etkileşimin nasıl olabileceğini görselleştirmek oldukça zordur. Ne uzun kodlanmayan RNA'lar ne de aracı kompleks bu kadar büyük bir mesafeyi aşabilir.

Bu süreci anlamak için, genomu normalde düşündüğümüz gibi değil de biraz daha karmaşık bir şekilde ele almak zorundayız. Çoğu zaman DNA'yı bir merdiven ya da tren yolu gibi tanımlamak oldukça yararlıdır çünkü bu tarz benzetmeler iki zinciri ve onların baz çiftleriyle bir arada tutulma şekillerini görselleştirebilmemize yardımcı olur. Fakat buradaki sorun, bunun DNA'yı çok doğrusal bir şekilde düşünmemize yol açmasıdır. Ayrıca muhtemelen DNA'yı oldukça sert bir molekül olarak düşünüyoruz çünkü bilinçsizce onu daha iyi bildiğimiz fiziksel çevremizdeki katı, insan eliyle yapılmış ürünlerle karşılaştırıyoruz.

Aslında DNA'nın katı bir molekül olmadığını, çekirdeğe sığabilmesi için gerçekten çarpıcı biçimde küçültülüp sıkıştırılabileceğini zaten biliyoruz. Hadi gelin şimdi bunun nasıl olduğunu biraz daha yakından keşfedelim. DNA'nın çift sarmallı doğasını olduğu gibi ele alırsak (resmi zorlaştırmamak için), genomumuzun çok uzun bir makarna parçası, belki de şimdiye kadar üretilmiş en uzun tagliatelle makarnasının bir parçası gibi olduğunu düşünebiliriz. Bu makarna, hızlandırıcıyı ve protein kodlayan geni temsil edecek şekilde birkaç yerinden gıda boyasıyla boyanmış olsun. Şekil 12.3'e baktığımızda iki senaryo görebiliriz. Makarna pişmediğinde, katı bir



Şekil 12.3. Esnek bir DNA molekülünün katlanarak, bir hızlandırıcı ve bir protein kodlayan gen gibi iki uzak bölgeyi, nasıl birbirine yakın hale getirilebildiğinin basit bir gösterimi.

yapıda olur ve hızlandırıcı ile gen birbirinden uzakta yer alır. Ancak eğer makarna pişirilirse, tagliatelle esnek bir hale gelir. Her türlü yöne katlanıp bükülebilir ve böylece hızlandırıcı ve geni temsil eden boyalı bölgeler, bir araya getirilebilir.

Kromozomlarımızın bazı bölgeleri farklı hücrelerde neredeyse kalıcı olarak baskılanır ve kapatılır. Amaç ise, o doku tipinde ifade edilmesine asla gerek olmayan genleri kapatmaktır. Örneğin deri hücrelerimiz, kanda oksijen taşımak için kullanılan proteinleri ifade etmeye ihtiyaç duymaz. Deri hücrelerinde bu genomik bölgeler, tamamen ulaşılmazdır, sanki çok fazla çevrilerek sımsıkı bir hale getirilmiş bir yay gibidir. Diğer taraftan, aşırı bir şekilde sıkıştırılmış durumda olmayan ve genlerin erişilebilir olduğu ve potansiyel olarak açılacağı devasa bölgeler de vardır. Bu noktada DNA, pişmiş bir makarnaya benzer ve dünyadaki en uzun tagliatelle parçasıymış gibi, bütün bir tencereyi kendi başına doldurur. Pişirme suyunda bükülür ve kıvrılır, ilmekler ve yaylar ortaya çıkar.

Böyle bir yapıyla, protein kodlayan gen ve bunun uzak noktadaki hızlandırıcısı birbirine çok yaklaşabilir. Uzun kodlanmayan RNA ve aracı kompleksi daha sonra bu iki döngüyü bir arada tutar ve genin ifadesinin sürdürülmesini garantiye alır. Bunu gerçekleştirmek için başka bir kompleksin daha

aracı kompleks ile çalışması gerekir.* Bu ilave kompleks ayrıca hücre bölünmesi sırasında kromozom çiftlerinin ayrılması için de gereklidir. Dolayısıyla, büyük ölçekli DNA hareketleriyle başa çıkabilmek için iyi bir şekilde donatılmıştır. Bu ek kompleksin üyelerini kodlayan bazı genlerdeki mutasyonlar, Roberts Sendromu ve Cornelia de Lange Sendromu olarak adlandırılan iki gelişimsel bozukluğa neden olur.¹⁷ Etkilenen çocukların belirgin fenotipik özellikleri, mutasyona uğrayan gene ve o gendeki mutasyona bağlı olarak, oldukça değişiklik gösterebilir. Öte yandan, tipik olarak görülen bulgular arasında; çocukların küçük doğması ve nispeten cılız olmaları, öğrenme güçlüğü çekmeleri ve sıklıkla uzuv anormalliklerine sahip olmaları sayılabilir.¹⁸

Bu döngü mekanizmasının kapsamı oldukça dikkat çekicidir ve sadece hızlandırıcılarla sınırlı kalmayabilir. Diğer düzenleyici elementleri de genlere yaklaştırmak için kullanılabilir. İnsan genomunun sadece yüzde 1'inin üç farklı insan hücre tipinde analiz edildiği bir çalışmada araştırmacılar, her bir hücre hattında 1.000'in üzerinde bir sayıda bu uzun vadeli etkileşimlerden tanımlamışlardır. Etkileşimler bir hayli karmaşıktı ve çoğunlukla yaklaşık 120.000 baz çifti ile ayrılan bölgeleri içeriyordu. Genelde düzenleme bölgesinin döngü yaparak üzerine katlandığı gen, kendisine en yakın olan gen değildi. Aslında döngülerin yüzde 90'ından fazlasında, en yakın gen göz ardı edilmişti. Bunu, bir bardak şeker ödünç almak için kapı komşunuza gitmek yerine bir kilometre ötedeki birine gitmişsiniz gibi düşünün.

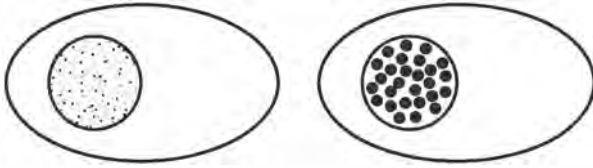
Bu komşu meselesi üzerinden devam edecek olursak, ilişkilerin aslında çok da iyi olmadığını söyleyebiliriz. 1970'li yıllarda, eş değiştirilen abartılı bir parti hayal edin. Bazı genler yirmiye yakın farklı düzenleyici bölge ile etkileşime girmiştir.

* Bu ilave kompleks, Kohesin olarak adlandırılır.

Bazı düzenleyici bölgeler ise yaklaşık on farklı genle iletişime girmiştir. Muhtemelen bunların hepsi, aynı hücrede aynı zamanda gerçekleşmeyecektir. Ancak araştırmacıların gösterdikleri, genler ve düzenleyici bölgeler arasında basitçe A'dan B'ye giden bir ilişki olmadığıydı. Bunun yerine, bir hücreye veya bir organizmaya, gen ifadesinin bütün goblenini düzenleyebilmesi için olağanüstü miktarda bir esneklik veren karmaşık bir etkileşim ağına sahipti.¹⁹ Ağlar ve onların nasıl çalıştıkları hakkında hâlâ çözülmeyi bekleyen pek çok nokta vardır. Bununla birlikte, genomik makinelerimizin düğmesine basacak olan promotorları oluşturanın çöp DNA olduğunu artık biliyoruz. Ayrıca, uzun kodlanmayan RNA'ları ve hızlandırıcıları da çöp DNA'nın oluşturduğu açıktır. Yani, Sandero'ya güç veren makineyi, otobanda Veyron'u hızlandırabilen makineye dönüştürendir.

Küçük atölyelerden fabrika zeminine

Bireysel düzenleyici bölgeler ile genler arasındaki döngü son derece dikkat çekici olsa da, hücrelerde meydana gelen çok daha etkileyici bir uzun menzilli etkileşimler kümesi vardır. Bunun önemini kavrayabilmek için, kısa bir sosyal tarih dersi almak iyi olabilir. İngiltere'de 19. yüzyılın başlarında, tüm tekstil çalışmaları küçük atölyelerde gerçekleştiriliyordu. Aslında insanlar kendi evlerinde küçük ölçekli üretimler yapıyordu. Eğer belirli bir bölgedeki tekstil üretimi yapılan yerleri bir harita üzerinde işaretleyecek olsaydınız, üzerinde her bir atölyenin işaretinin yer aldığı pek çok nokta bulunan bir haritanız olurdu. Hızla 50 yıl kadar ileriye sarar ve Sanayi Devrimi'ne gelirsek, aynı haritalama çalışması çok başka bir tablo ortaya çıkarırdı. Oldukça homojen bir dağılım gösteren noktalar yerine, büyük fabrikaların yerlerini gösteren birkaç büyük noktaya sahip bir harita elde ederdiniz.



Şekil 12.4. Noktalar, çekirdekteki protein kodlayan genlerin pozisyonlarını temsil eder. Eğer genler sadece kromozomlardaki konumlarının bir fonksiyonu olarak çekirdekte konumlandırılmış olsaydı, soldaki gibi dağınık bir model görürüz. Bunun yerine genler, üç boyutlu uzayda bir araya gelirler ve sağdaki durumla temsil edilen gen yerleşiminin noktalı modelini oluştururlar.

Sadece protein kodlayan genleri ele alacak bile olsak, belirli bir insan hücre tipinde tipik olarak binlerce genin açıldığını biliyoruz. Bu genler 46 kromozomumuza yayılmış vaziyette olduğundan, açılan genlerin coğrafi konumlarını görselleştirmek için bir hücreyi analiz etmek istediğimizde, çekirdeğin her tarafına yayılmış binlerce minik nokta görmeyi beklerdik. Fakat bunun yerine, Şekil 12.4'te de gösterildiği gibi, yaklaşık olarak 300 ila 500 arasında sayısı değişen büyük noktalar halinde olduklarını görüyoruz.²⁰ Hücrelerimizdeki gen ifadesi, küçük üretim atölyeleri şeklinde değildir. Daha ziyade, çekirdeğin içinde aralıklı olarak yer alan fabrikalar şeklindedir.²¹

Her fabrika, DNA kalıbından mesajcı RNA üretecek olan enzimin dört ile otuz kopyasının yanı sıra, işini yapması için gereken çok sayıda başka molekülü de içerir.^{22,23} Enzimler bir yerde kalırken, ilgili gen de kopyalanacağı zamana kadar, paketlenmiş bir şekilde kalır.²⁴ Genin fabrikaya ulaşabilmesi için, DNA'nın hücre çekirdeğinin doğru kısmına ulaşacak şekilde döndürülmesi gerekir. Ancak gerçekten ustalık gerektiren noktayı, aynı fabrikada aynı anda birden fazla genin mesajcı RNA'ya kopyalanması oluşturur. Tek bir fabrikada bulunan genlerin birleşimi rastgele değildir. Bu genler, hü-

rede ilgili işlevler için kullanılacak olan proteinleri kodlayan genler olma eğilimindedir. Bu, gerçek bir fabrikanın birden çok paralel montaj hattına sahip olmasına eşdeğerdir. Fabrikadaki tüm montaj hatları bireysel görevlerini tamamladıktan sonra, ortaya çıkan bileşenler bir araya getirilerek nihai ürün oluşturulabilir. Diğer taraftan, bir fabrika tekne üretirken, diğeri katı meyve sıkacağı üretir. Hücrelerimizde ise fabrikalar, genlerin koordineli bir şekilde ifade edilmesini sağlar. Bu da, kromozomların gevşemesiyle açığa çıkan ve aynı anda çekirdeğin aynı bölgelerine lokalize olan çok sayıda halkanın olması anlamına gelir.

Bunun iyi bir örneği, kanda oksijen taşıyan hemoglobin molekül kompleksini oluşturmak için gereken proteinleri kodlayan genlerin fabrikasıdır.²⁵ Bir diğeri fabrika ise, güçlü bir bağışıklık yanıtı oluşturacak proteinleri üretmek için kullanılır.²⁶ Etkili bir bağışıklık yanıtının önemli bileşenlerden biri, antikor adı verilen proteinlerin üretilmesidir. Antikorlar, kanda ve diğeri vücut sıvılarında dolaşarak tespit ettikleri yabancı maddelere bağlanır. Bilim insanları, antikor üreten hücreleri aktive ederek bazı kilit genlerin nasıl çalıştığını incelediler. İnceledikleri genler, antikor moleküllerini üretmek için gerekli olan genlerdi. Araştırmacılar, bu kilit genlerin her birinin aynı fabrikaya taşındığını buldular. Dikkat çekici olan bir diğeri nokta ise, bu genlerden bazılarının farklı kromozomlar üzerinde yer alması ve doğal olarak birbirlerinden fiziksel olarak tamamen ayrı olmasıydı.

Her ne kadar bu, gen ifadesini koordine etmenin olağanüstü bir yolu olsa da, risk de taşıyabilir. Bölüm başında tanıştığımız Burkitt Lenfoması agresif bir kanserdir. Bu hastalıkta anormalleşmeye başlayan hücre tipi, antikor üreten hücre tipidir. Genetik olarak ele aldığımızda, bir kromozomdaki güçlü bir promotor, başka bir kromozom üzerindeki bir geninin yanına anormal bir şekilde yerleştirilir. Yakın zamana kadar

bu bölgelerin birleşmeye neden yatkın olduğunu anlayamadık, çünkü farklı kromozomlar üzerinde yer aldıkları için, birbirlerinden uzak olduklarını düşündük. Fakat artık, tehlikeli anormal bir hibrid kromozom oluşturmak için ‘takas’ yapan bölgelerin, aynı fabrikaya hareket eden bölgeler olduğunu biliyoruz. Aynı anda kırıılarak fabrikada hatalı bir şekilde onarılan iki farklı kromozom, malzemelerini takas edecek kadar birbirine yaklaşabilir.

Evrimin bu tehlikeli durumun önüne geçecek bir seçim yapabilmesi muhtemel gibi görünse de, doğal seçilimin mükemmellik değil uzlaşma ile ilgili olduğunu tekrar hatırlamamız gerekiyor. Enfeksiyonlara karşı savaşmak için antikor üretmenin ve bu sayede bizi çoğalacak kadar uzun süre hayatta tutabilmenin avantajları, artan kanser riskinin potansiyel dezavantajlarından ağır basmaktadır.



13

Tarafsız Bölge

Birinci Dünya Savaşı'nı düşündüğümüzde, çoğumuzun hafızasında canlanan genel görüntü muhtemelen siperdeki askerlerdir. Dehşet veren şiddetli anlarla dolu sıkıntılı geçen aylar boyunca savaşın sonlanmasını bekleyen ordular çamur içindeki siperlere girmişti.¹ Siperler, her iki tarafın da kontrolü altında olmayan, esnek arazi bölgeleriyle birbirinden ayrılıyordu. Bu bölgeler, "Tarafsız Bölge"ydi ve birkaç yüz metre kadar dar bir alan olabildiği gibi bir kilometreden daha geniş de olabiliyordu. Geceleri askerler keşif ve arama için siperlerin dışına çıkıyor, dikenli tel düşüyor ve yaralı ya da ölü yurttaşlarını bulup getiriyorlardı.

İnsan genomu da, farklı unsurları birbirinden ayrı tutan pek çok tarafsız bölge içerir. Tıpkı Birinci Dünya Savaşı'nın çamurdan yapılan siperleri gibi, bu genomik bariyerlerin büyüklükleri de farklılık gösterir ve tabiri caizse askeri birliklerinin hareketleriyle eşgüdümlü olarak nerede bulunacakları oldukça değişkendir. Üstelik birkaç yıl süren korkunç katliamda tıpkı Avrupa'nın tarafsız bölgesinde olduğu gibi, bu bölgeler de herhangi bir faaliyetten yoksundur. İnsan genomunun tarafsız bölgesi proteinleri bağlar, epigenetik modifikasyonları toplar ve farklı genetik elementlerin etkileşimlerini oldukça aktif bir şekilde düzenler.

Hücrelerimiz için bunlar önemlidir, çünkü genlerimizin çoğu her yere dağılmış durumdadır.*² Yani aslında demek istediğim, genlerimizin, 23 çift kromozomumuza oldukça mantıksız bir şekilde dağıldığıdır. Daha önce de gördüğümüz gibi, hemoglobin oluşturmak için gerekli olan proteinleri kodlayan genler, kromozomların üç boyutlu yapılarının düzenlenmesindeki değişiklikler ile bir araya getirilir. Böylece, mükemmel ve muntazam bir şekilde yan yana olmadıkları gerçeği telafi edilir. Eğer genlerimizin çoğunun nasıl dağıldığını hayal etmek istersek, ikinci el eşya dükkânına ya da bir hayır kurumu adına satış yapacak mağazalara bağışlanan eşyaların hassas bir şekilde organize edilmeden önce depodaki hali gibidir.

Dağınık düzenlenme sonucunda hücrelerimizde, örneğin yetişkin derisinde ifade edilen bir proteini kodlayan gen, fetal karaciğerinde gerekli olan başka bir proteini kodlayan genle yan yana gelebilir. Hücrelerimizde buna benzer çok sayıda durum vardır ve birtakım potansiyel zorluklar yaratır. Hücrelerimiz, farklı gen ifade kalıplarını korumak için farklı elementler arasında engellere gerek duyar. Kontrolün, belirli bir hücre tipine ve gelişimin belirli bir aşamasına uygun olması gerekir. Sonuçta, gözlerimizde diş genlerimizin ya da mesanemizde kalp genlerimizin ifade edilmesini istemiyoruz.

Epigenetik modifikasyonların, gen ifadesini etkilediğini biliyoruz. Örnek olarak beyni ele alacak olursak, sinir hücrelerinde asla ifade edilmeyen bazı genler vardır. Mesela, saçlarda ve tırnaklarda kullanılan keratin proteini, yetişkin gri maddemiz tarafından kullanılmaz. Beyin hücrelerinde, keratin geni kapatılır ve belirli bir epigenetik modifikasyon

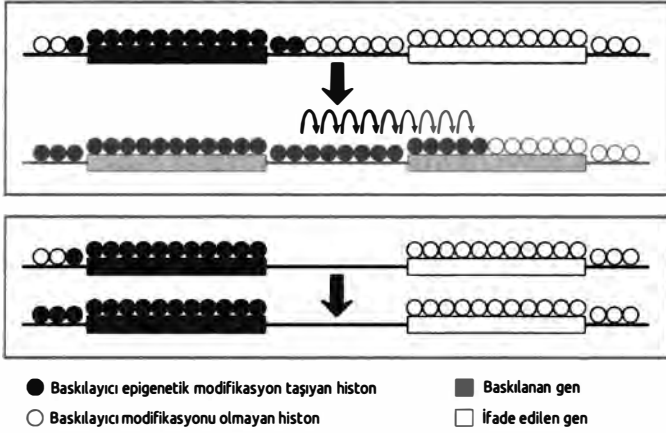
* Bu durum birkaç istisnası vardır. Bazı genler, ifade modellerini kümeleştirerek gösterir. Bunların başında da vücut düzenini kontrol eden HOX genleri ile antikorları kodlayan Ig genleri gelir.

modeli ile etkisiz bir durumda tutulur. Ancak daha önce de gördüğümüz gibi, epigenetik modifikasyonlar DNA dizisine kördür. Öyleyse, bu baskılayıcı modifikasyonların keratin geninin üzerinden akıp giderken, diğer genleri de kapatmaya başlamasını engelleyen nedir?

Bu başlı başına bir sorundur çünkü epigenetik modifikasyonlar çoğu zaman kendi kendini devam ettirir. Hadi gelin, gen ifadesini bastırmakla uğraşan modifikasyon davasını ele alalım. Bu modifikasyonlar, başlangıçtaki değişikliği sağlamlaştıracak diğer proteinleri çekerek gen ifadesinin tekrar aktive edilmesini zorlaştırır. İnaktivasyondan kaçmayı önlemek için de bu proteinler sırayla, baskılayıcı epigenetik modifikasyonları eklemeye devam eden diğer proteinleri çekebilir. Ancak, epigenetik makinelerin spesifik DNA dizilerini tanımmasından dolayı baskılama sınırlarının oldukça belirsiz olduğunu hayal edebiliyoruz. Hal böyle olunca da, epigenetik modifikasyonlar baskılanan bölgelerin çevrelerine de yayılabilir.

Yayılmayı durdurmak

Hücrelerimiz, bu yayılmayı önlemek için dikkat çekici bir yol geliştirmiştir. Tıpkı itfaiye ekiplerinin yangının ilerlediği yönde bir boşluk oluşturmak için ağaçları devirmesi veya binaları yıkması gibi, genomumuz da epigenetik makine için yakıtı uzaklaştırır. Genomun bastırılan ve aktif bölgeleri arasında adeta bir yalıtkan görevi gören çöp DNA, histon proteinlerini kaybeder. Histon proteinleri yoksa epigenetik histon modifikasyonları da yok demektir. Modifikasyon yoksa yayılacak bir epigenetik aktivite de yoktur. Böylece aktif genlerin üzerine gelecek baskılayıcı modifikasyonlar durdurulur ve dolayısıyla olası zıt etkiler önlenir. Şekil 13.1’de bu durum şematize edilmiştir.



Şekil 13.1. Üstteki görselde, baskılayıcı modifikasyon modelleri bir genden diğerine yayılır. Altta ise, iki gen arasında yer alan yalıtkan bölgelerdeki histon eksikliği, baskılayıcı epigenetik modifikasyonların yayılmasını ve sağdaki genin anormal bir şekilde susturulmasını önler.

Öte yandan, farklı hücreler farklı bölgelerin izolasyonuna ihtiyaç duyacağı için (sonuçta keratinin saç oluşturan hücrelerde ifade edilmesini istiyoruz), bir yalıtkan oluşturmak için DNA dizisinin tek başına yeterli olamayacağı sonucuna varabiliriz. Bunun yerine bu bölgeler, genom ile herhangi bir zamanda bir hücrede ifade edilen proteinlerin kombinasyonları arasındaki karmaşık, durumsal olarak bağımlı etkileşimler tarafından üretilir.

Bu proteinlerin en önemlilerinden biri, 11-PARMAK olarak adlandırabileceğimiz her yerde ifade edilen bir proteindir.* Karakteristik bir yapıya sahip, büyük ve oldukça iyi korunmuş bir proteindir. Üç boyutlu katlanma şekli, proteinin üzerinden dışarı uzanan on bir parmak benzeri çıkıntı oluşmasına sebebiyet verir. Bu on bir parmağın her biri tanımlan-

* Resmi adı CTCF'dir (Comprehending The Complex Functions).

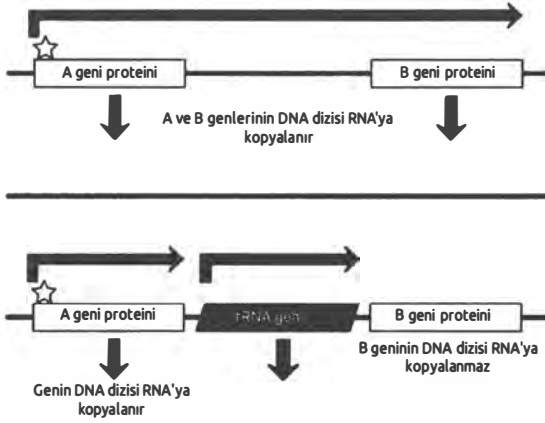
muş bir DNA dizisini tanır ve bu dizilerin hepsi birbirinden farklıdır. Yani, her parmak farklı bir diziye tanır.

11-PARMAK proteini, pek çok farklı genomik diziye aynı şekilde bağlanabilir. İnsan hücrelerinde on binlerce bölgeye bağlanabilir. Kendisini DNA'ya bağlamanın yanı sıra 11-PARMAK, başka proteinleri de bağlar. Bunu görselleştirmek için eldiven giymiş bir piyanist hayal edelim. Bu eldivenler, tüylü topların yapışıp kalmasını sağlayacak şekilde dış tarafında bir çeşit cırt cırt bant olan eldivenlerden olsun. Parmakları renklendirilmiş eldivenini giyen piyanist piyano tuşlarına her bastığında, eldivenin dışı tüylü toplarla kaplansın.

11-PARMAK için de durum böyledir. Parmak benzeri çıkıntılar DNA'ya bağlanır ve proteinin diğer yüzeyleri diğer proteinleri bağlar. Hassas bağlanma partnerleri, bir hücrede ifade edilen proteinlerin tamamına bağlı olacaktır. Proteinlerden biri, DNA'nın katlanmasını değiştirebilir ki bu da gen ifadesini kontrol etmek için önemli olabilir.³ Bir diğeri, spesifik epigenetik modifikasyonların birikmesini sağlayan bir proteindir.⁴ Bazı bölgelerde ise, 4. Bölüm'de tanıştığımız genomik ara bağlantılar, yalıtkan olarak görev yapar ve aktive edici veya baskılayıcı epigenetik modifikasyonların bir bölgeden diğerine yayılmasını önler.⁵

Bazı tRNA genleri de yalıtkan olarak görev alabilir. Komşu genin uygun olmayan ifadesine yol açabilecek bir genin ifadesini durdurabilir. Bu da çok sayıda tRNA genine sahip olmanın ilave bir faydası olmakla birlikte, evrimin hammadeden en iyi şekilde yararlanmasının ekonomik yolunu da bizlere gösterir.

Bunun nasıl işlediği, Şekil 13.2'de gösterilmiştir. Klasik bir protein kodlayan gen, ifadesini destekleyen epigenetik modifikasyonlarla kaplanır. Bu gene bağlanan ve onu RNA'ya (nihayetinde olgun mesajcı RNA oluşturmak için işlenecektir)



Şekil 13.2. Protein kodlayan genlerde DNA'yı mesajcı RNA'ya kopyalayan enzim, A geninin başlangıcındaki yıldız bağlanır. Eğer durduracak bir etken yoksa enzim, kopyalamaya devam edebilir ta ki muhtemelen uygunsuz bir şekilde protein kodlayan B genini de mesajcı RNA'ya kopyalayana kadar. tRNA genleri, farklı bir enzim aracılığıyla, DNA'dan işlevsel tRNA moleküllerine kopyalanır. Böylece, A geninden mesajcı RNA üreten enzimin ilerlemesini engelleyerek, B geninin uygunsuz kullanımını önler.

kopyalayan enzim, kontrolden çıkmış bir trenin parçası olabilir: kopyalamaya başladığında, devam etmeye meyilli olacaktır. Eğer yakınında başka bir protein kodlayan gen varsa, enzim devam edecek ve onu da kopyalayacaktır. Fakat arada iki veya daha fazla tRNA geni olursa, bu durum gerçekleşmeyecektir. tRNA genleri hemen hemen her zaman açıktır, çünkü tüm proteinlerin oluşturulmasında rol oynar. DNA kalıbından tRNA moleküllerini oluşturmak için tRNA genlerini kopyalayan bir enzim vardır. Ancak bu enzim, klasik protein kodlayan genlerden mesajcı RNA oluşturmak için benzer bir görev üstlenen enzimden farklıdır. tRNA moleküllerini oluşturan enzim, diğer enzimin bir sonraki gene geçeceği kapıyı engelleyen büyük, iri yarı bir fedai gibi davranır. tRNA genlerini kopyalayan enzimin klasik protein kodlayan genlere

bağlanamaması, bu bölgedeki bütün gen ifadesini sıkı bir kontrol altında tutar.⁶

Biyolojide DNA dizileme teknolojilerinin geliştirilmesinden elde edilen kâr payına verilen önemden dolayı, büyük kavramsal gelişmelerin çoğunun üst düzey moleküler yaklaşımlardan kaynaklandığını düşünmek her zaman cazip gelebilir. Fakat aslında gerçek şu ki, temel insan biyolojisi ve mantıksal düşünce bizi sonuca uzun bir yoldan götürüyor.

XX neden XXX'den farklıdır?

7. Bölüm'de, dişi memelilerin hücrelerinde her zaman bir X kromozomunu etkisizleştirdiklerini ve böylece X kromozomundaki genlerin erkek hücrelerle aynı miktarda gen ifadesine sahip olmasını sağladıklarını gördük. Hücrelerimiz sayabiliyor. Eğer bir dişi hücre üç X kromozomu içerirse, bunların ikisini kapatır. Diğer taraftan, eğer sadece bir X kromozomu varsa, hücre o X kromozomunu açık bırakır. Bu da oldukça basit bir tahminde bulunmamıza yol açar. Bir hücrenin kaç tane X kromozomu içerdiğinin bir önemli yoktur çünkü X inaktivasyonu her zaman sadece birinin fonksiyonel olarak aktif olmasını garanti altına alacaktır. Bu yüzden de bir kişi, her hücrede en az bir X kromozomu içerdiği sürece, tamamen normal ve sağlıklı olacaktır.

Sorun şu ki, bu tahmin doğru değildir. Sadece bir X kromozomu olan ya da üç X kromozomu olan kadınların tespit edilebilir semptomları vardır. Aynı durum, Y kromozomlarına ek olarak iki X kromozomu içeren erkekler için de geçerlidir. Olası açıklamalardan biri, bu kişilerde X inaktivasyonunun doğru çalışmaması olabilirdi ancak sorunun kaynağı bu gibi görünmüyor. X inaktivasyonu çok sağlam bir sistemdir. Öte yandan, biyolojideki hiçbir sistem için her seferinde kusursuz bir şekilde çalışmak pek mümkün değildir. Ancak sistemdeki rastgele yetersizlikler ya da eksiklikler, neden sadece bir X

kromozomu olan tüm kadınların benzer klinik semptomlar gösterdiğini açıklamayacaktır.

Tek X kromozomu olan kadınlar, ortalamadan daha kısadırlar ve gelişmemiş yumurtalıklara sahiptirler.⁷ Üç X kromozomu olan kadınlar ise, ortalamadan daha uzundurlar ve çocukluk çağında öğrenme güçlüğü ve gelişimsel gerilik riskleri yüksektir.⁸ İki X kromozomu (Y kromozomlarına ilave olarak tabii ki) olan erkekler ise ortalamadan daha uzundurlar ve görece olarak küçük testislere sahip olabilirler. Bu da, erkeklik hormonu testosteronun düşük seviyelerde üretilmesine ve buna bağlı sorunların gelişmesine yol açabilir. Bu bireylerde ayrıca öğrenme güçlüğü riski de vardır.⁹

Her ne kadar hastalar ve aileleri için potansiyel olarak sıkıntı verici olsa da semptomlar, anormal sayıda otozomal kromozoma sahip (Down, Edward ve Patau sendromlarını hatırlayınız) hastalarda gördüğümüzden daha hafiftir. Bunun nedeni, X kromozomunun büyük olmasına rağmen, üzerindeki genlerin çoğunun uygun bir şekilde inaktive edilmiş olmasıdır. Kromozomun kaç kopyasının mevcut olduğu önemli değildir. Fakat bazen işler yolunda gitmez.

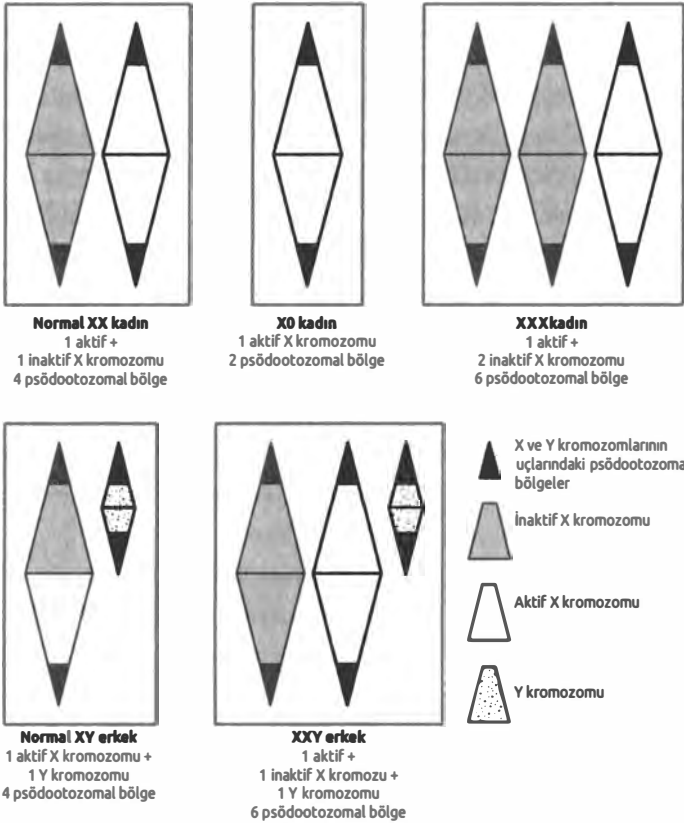
Ne olduğunu anlayabilmemiz için, yumurta ve sperm oluşturulurken neler olduğunu tekrar düşünmemiz gerekir. Belirli bir aşamada, kromozomlar çiftler halinde hizaya girer ve daha sonra çiftlerden her biri hücrenin zıt kutuplarına çekilir. Hücre bölünür ve oluşan yavru hücreler, her çiftten birini içerir. Dişi hücrelerinde bunu hayal etmek kolaydır. İki X kromozomu eşleşir ve daha sonra ayrılır, tıpkı 1'den 22'ye kadar olan tüm kromozom çiftlerinin yaptığı gibi. Ancak erkeklerin sperm oluşturmasında bir sorun vardır. Erkekler, bir büyük X kromozomu ve bir küçük Y kromozomu içerir. Bunlar birbirinden çok farklıdır. Yine de bir şekilde, spermin oluşturulması aşamasında, X ve Y birbirlerini bulmalı ve bu kadar farklı olmalarına rağmen eşleşmelidir.

Eşleşebilmelerinin nedeni, X ve Y kromozomlarının uç kısımlarında birbirine çok benzer oldukları küçük bir bölgenin bulunmasıdır. Bu bölge birbirlerini tanımalarını ve hücre bölünmesi sırasında ilişki kurmalarını sağlar. Yani, dans pistinin zıt uçlarına gitmeleri gerekene kadar el ele tutuşurlar.

Bu bölgeler, psödootozomal bölgeler olarak bilinir. Protein kodlayan genler içerirler ve X-inaktivasyonu sırasında susturulmaya karşı korunurlar. Psödoautozomal bölgedeki genler, X kromozomundaki diğer genlerin çoğundan oldukça farklı şekilde muamele görür. Yanlış sayıda X kromozomu olan erkek ve kadınlarda tespit edilebilir semptomlara yol açan bu aktif ve inaktif genlerin kalıbı, biyolojik olarak hücrelerin farklı DNA bloklarını fonksiyonel olarak ayırmasının çok temel yollarına sahip olduğunun açık bir işaretidir.

X inaktivasyonu, üzerinde ifade edildiği kromozom boyunca yayılan Xist uzun kodlanmayan RNA'sına kritik olarak bağlıdır. Ancak, Xist psödotozomal bölgeye yayılmaz. Psödootozomal bölgedeki bu yayılmadan korunma bize, genomlarımızın kilit pozisyonlarda, son noktayı koyduğunu göstermektedir. Tıpkı Jean-Luc Picard'ın, Borg'un Federasyon alanına girmesine atıfta bulunarak ilan ettiği gibi, "Sınır çizilmiştir! Buraya kadar, daha ötesine değil!"¹⁰ Yalıtkan çöp bölgeler, Xist lokusundan yayılan ve yavaş yavaş ilerleyen genomik felci önler.

Şekil 13.3'te, yanlış sayıda X kromozomu taşıyan bireylerde susturulamamış bölgelerin ne gibi değişikliklere neden olabileceği gösterilmiştir. Sadece bir X kromozomu olan bir kadın, tipik XX'e sahip bir kadında ifade edilen psödootozomal bölgedeki gen ürünlerinin normal miktarının yüzde 50'sini ifade eder. Üç X kromozomu olan bir kadın ise, normal miktarın yüzde 50 fazlasını üretir. İki X kromozomuna ve bir Y kromozomuna sahip olan erkeklerde de durum aynıdır.



Şekil 13.3. Dişi ve erkek hücrelerinde farklı sayıdaki X kromozomunun etkileri. X inaktivasyonundan dolayı her hücrede sadece bir tane aktif X kromozomu vardır. Ancak, X ve Y kromozomlarının ucundaki psödootozomal bölgeler X inaktivasyonundan kaçtığı için, X kromozomunun sayısındaki değişikliklerle, sayıları patolojik olarak artar ya da azalır.

Fazladan bir X kromozomuna sahip olan erkek ve kadınların ortalamadan daha uzun olması ve bir X kromozomu eksik olan kadınların da ortalamadan daha kısa olması tesadüf değildir. Psödootozomal bölge, diğer genlerin ifadesini kontrol eden ve iskeletin, özellikle de kol ve bacaklardaki

uzun kemiklerin gelişimi için önemli olan özgün bir protein kodlayan gen içerir.*¹¹ Fazladan X kromozomu olan kadınlar ve erkekler, bu proteini normalden daha fazla ifade eder. Bu artan ifade de onların bacak uzunluğunu ve dolayısıyla boy uzunluklarını artırma eğilimindedir. Tek X kromozomu olan kadınlar için de bunun tersi geçerlidir. Normal insan boyu olarak belirlenmiş aralıkta önemli bir etkiye sahip olan, insan genomu üzerinde tek bir bölge tanımlayabildiğimiz birkaç örnekten biridir. Bu bölgenin dışında, insan boyu genomdaki birçok bölgeden etkilenir,¹² ve bunların çoğu çöp DNA bölgeleridir. Öte yandan sizi bir Harlem Globetrotter yapan veya bir barda her zaman gözden kaçan biri olmanıza yol açan çöp DNA bölgelerinin bireysel olarak boyunuza nasıl katkıda bulunduğunu henüz bilmiyoruz.

* Bu protein SHOX veya “kısa boylu homeobox” olarak bilinir.



14

ENCODE Projesi: Büyük Bilim Çöp DNA'ya Ulaşıyor

Eğer kendinizi şehrin ışıklarından uzakta, mehtapsız, bulutsuz bir gecede bulursanız, bir battaniye alın, yere uzanın ve yıldızlara bakın. Hayatını şehirde geçiren herkes için oldukça nefes kesici ve hayal edilebilecek en harika görüntülerden biridir. Gökyüzünün karanlık örtüsündeki gümüş parıltılar, sayılamayacak kadar çoktur.

Öte yandan, eğer bir teleskopunuz olursa, semada çıplak gözle tespit edebileceğinizden çok daha fazlası olduğunu fark edersiniz. Satürn'ün muazzam halkalarını ve hayal edebileceğimizden çok daha fazla yıldız olduğunu görebilirsiniz. Herhangi bir araçtan yardım almadan sınırlı vizyonumuzla görebildiğimizden çok daha fazlası, evrenin görünür karanlığında vardır. Görünür dalga boylarının ötesinde, elektromanyetik spektrumun diğer bölümlerindeki enerjiyi tespit edebilen bir ekipman kullanırsak, daha da belirgin olarak görebiliriz. Gama dalgalarından mikrodalga arka planına sürekli olarak bilgi akmaya devam eder. Tüm bu detaylar ve o yıldızlar aslında hep oradaydı, sadece gözle görme gücümüze güvendiğimizde onları tespit edemedik.

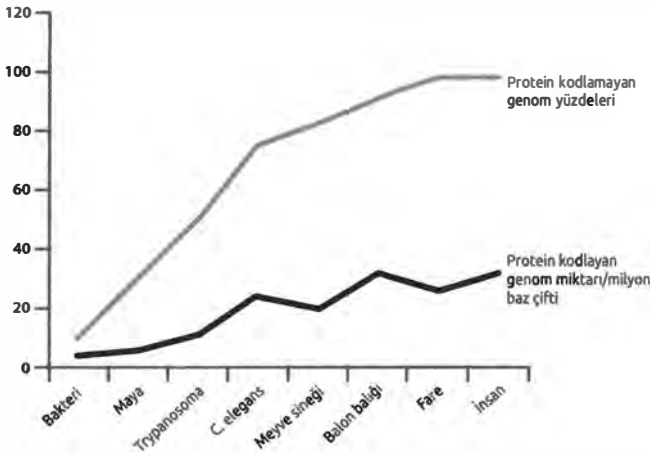
2012 yılında, teleskopu insan genomunun en uzak noktalarına çevirmeye çalışan çok sayıda makale yayınlandı. Bu, farklı kurumlardan yüzlerce bilim insanının katıldığı ortak bir çabayla oluşturulan ENCODE konsorsiyumunun çalışma-

sıydı. ENCODE, açık adı DNA Elementlerinin Ansiklopedisi (*Encyclopaedia Of DNA Elements*) olan projenin kısaltmasıdır.¹ Araştırmacılar, mevcut olan en hassas teknikleri kullanarak, yaklaşık 150 farklı hücre tipini analiz ederek insan genomunun birçok özelliğini derinlemesine incelediler. Elde ettikleri veriyi tutarlı bir şekilde bütünleştirdiler ve böylece farklı tekniklerden gelen çıktıları karşılaştırabildiler. Bu karşılaştırma çok önemliydi çünkü birbirinden farklı olarak üretilmiş ve analiz edilmiş veri kümeleri arasında karşılaştırma yapmak aslında çok zordu. Buradaki bölük pörçük veri, daha önce güvendiğimiz veriydi.

ENCODE verisi yayınlandığında, gerek diğer araştırmacıların gerekse medyanın büyük ilgisini çekti. Basında, “Çığır açıcı çalışmayla genomdaki ‘çöp DNA’ teorisi altüst ediliyor”², “DNA projesi ‘Yaşamın Kitabı’nu yorumluyor”³, “Dünya’nın dört bir yanındaki bilim insanları ordusu ‘çöp DNA’nın şifresini kırdı”⁴ gibi haber başlıklarıyla gündemdeki yerini almıştı. Diğer bilim insanlarının hepsinin de sonuçları tebrik ettiğini ve hatta ek veri sunmak için ne kadar minnettar olduğunu da hayal edebiliriz. Birçoğu gerçekten çok heyecanlanmıştı ve her gün laboratuvarlarında elde edilen veriyi kullanıyorlardı. Ancak beğeni evrensel olmaktan uzaktı ve karşı çıkanları da vardı. Eleştiri, temel olarak iki görüşten geliyordu. Bunlardan biri çöp DNA’ya her zaman kuşkuyla bakmış olan şüpheciler, diğeri ise evrim teorisyenleriydi.

İlk grubun neden üzüldüğünü anlamak için ENCODE makalelerinin en özet ifadelerinden birini inceleyebiliriz:

Bu projeden elde edilen veri, bol miktarda çalışılmış olan protein kodlayan bölgelerin dışında, özellikle genomun %80’i için biyokimyasal fonksiyonlar atamamızı sağladı.⁵



Şekil 14.1. Bir genomdaki çöp DNA oranının aynı genomun protein kodlayan kısmının boyutuna göre daha fazla olduğu durumda organizma karmaşıklığı ölçeğinin değişimine ilişkin grafiksel gösterim.

Başka bir deyişle, ENCODE, yıldızların işgal ettiği %2'lik kısım hariç çoğunlukla karanlık boşluktan ibaret olan göğün aksine, genomumuzu saran ortamın beşte dördünün nesnelerle dolu olduğunu iddia ediyordu. Yıldızların protein kodlayan genleri temsil ettiğini varsayarsak, bu objelerin çoğu yıldız değildi. Bunun yerine; asteroitler, gezegenler, meteorlar, aylar, kuyruklu yıldızlar ve düşünebileceğiniz diğer tüm yıldızlararası nesneler olabilirler.

Buraya kadar olan kısımlarda gördüğümüz gibi pek çok araştırma grubu; promotorlar, hızlandırıcılar, telomerler, sentromerler ve uzun kodlanmayan RNA'lar da dâhil olmak üzere bazı karanlık alanlara zaten işlevler atamıştı. Haliyle pek çok bilim insanı, genomumuzda proteinleri kodlayan küçük orandan daha fazlası olduğu fikrinden memnun kaldılar. Fakat genomun yüzde 80'inin bir işlevi olması! Bu gerçekten cesur bir iddiaydı.

Her ne kadar ürkütücü de olsa, geride kalan on yılda bilim insanlarının, insanların neden bu kadar karmaşık olduklarını anlamaya çalıştığı dolaylı analizler aslında proje verisinin ön habercileri olmuştu. İnsan genom dizisinin tamamlanmasını

takiben insanlarda, basit organizmalarda bulunandan çok daha fazla sayıda protein kodlayan gen bulunması bekleniyordu ama bulunamadı ve pek çok insanı şaşırtan problem de başlı başına buydu. Araştırmacılar, hayvanlar âleminin farklı üyelerinde genomun protein kodlayan kısmının boyutunu ve ayrıca çöp kısmının genel genomun yüzdesine oranını analiz ettiler. 3. Bölüm’de de değindiğimiz sonuçlar, Şekil 14.1’de gösterilmektedir.

Görüldüğü üzere, proteinleri kodlayan genetik materyal miktarı karmaşıklıkla çok da orantılı değil. Aksine, genomdaki çöp yüzdesi ile bir organizmanın ne kadar karmaşık olduğu arasında çok daha ikna edici bir ilişki vardır. Sonuçlar araştırmacılar tarafından, basit ve karmaşık canlılar arasındaki farkın esas olarak çöp DNA tarafından yönlendirildiği öne-rişiyle yorumlandı. Bu da, çöp DNA’nın önemli bir kısmının işlevi olduğu anlamına geliyordu.⁶

Çoklu parametreler

ENCODE projesinde, her türlü veri birleştirilerek genomumuzdaki işlevsel bölgelerin seviyesi hesaplandı. Araştırmacılar tarafından bir araya getirilen veri, tespit edilen RNA molekülleri hakkında bilgi içermekteydi. Bunlar hem protein kodlayan hem de çöp RNA’lar gibi protein için kod taşımayanlardı. Boyut olarak binlerce bazdan, yüz kat daha küçük moleküllere kadar değişiklik gösteriyordu. ENCODE ayrıca, genellikle fonksiyonel bölgelerle ilişkilendirilen epigenetik modifikasyonların belirli kombinasyonlarını taşıdıklarında fonksiyonel hale gelen genom bölgelerini de tanımladı. Diğer metodolojiler, önceki bölümde ele aldığımız katlanarak birbirine yaklaşan bölgelerin analizini içeriyordu. Bir diğer teknik ise, fonksiyonla ilişkili spesifik fiziksel özellikler açısından genomu karakterize etmişti.*

* Bunlar tipik olarak RNA’ya kopyalanabilecek açık bir yapının işareti olan DNA moleküllerini kesebilen enzimlere erişilebilirliklikti.



Şekil 14.2. ENCODE veri setlerini analiz eden araştırmacılar, çoklu insan hücre hatlarını değerlendirdiklerinde, düzenleyici bölgelerin özelliklerine sahip 3 milyondan fazla bölge tanımladılar. Şemada gösterilen dairelerin alanları, bu bölgelerin dağılımını temsil etmektedir. Her ne kadar her bir hücre tipine özgü kısımlar büyük miktarda da olsa, bölgelerin çoğunluğu iki veya daha fazla hücre tipinde tespit edildi. Analiz edilen her hücre hattında bulunan bölgelerin oranı ise çok küçük bir yüzdeye sahipti.

Analiz edilen farklı insan hücre tipleri arasında farklılık gösteren bu özellikler, hücrelerin aynı genomik bilgiyi nasıl kullanabileceği konusunda büyük bir plastisite olduğu fikrini pekiştirmiştir. Örneğin, halka oluşturma analizleri, farklı bölgeler arasındaki herhangi bir spesifik etkileşimin sadece üç hücre tipinden birinde tespit edildiğini buldu.⁷ Bu, genetik materyalimizin karmaşık üç boyutlu katlanmasıyla sofistike ve hücreye özgü bir fenomen olduğunu göstermektedir.

Düzenleyici bölgelerle tipik olarak ilişkilendirilen fiziksel özelliklere baktıklarında araştırmacılar, bu düzenleyici DNA bölgelerinin de hücreye bağımlı bir şekilde aktive edildiği ve bunun sonucunda çöp DNA'nın hücre kimliğini şekillendirdiği sonucuna varmışlardır.⁸ Bilim insanları bu sonuca, 125 farklı hücre tipini analiz edip 3 milyona yakın bu tür bölge tespit ettikten sonra ulaştı. Ancak bu, her hücre tipinde 3 milyon bölge olduğunu anlamına gelmez. Her bir hücre tipinden farklı bölgeler eklenerek 3 milyon bölge tespit edildiği anlamına gelir.

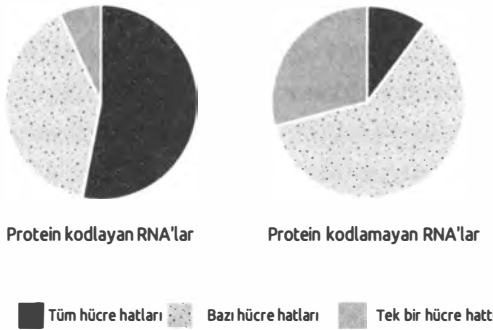
Böyle bile olsa sonuçlar, genomun düzenleyici potansiyelinin, belirli bir hücrenin ihtiyaçlarına bağlı olarak farklı şekillerde kullanılabileceğini göstermektedir. Bölgelerin farklı hücre tipleri arasındaki dağılımı, Şekil 14.2’de gösterilmektedir.

Bu yöntemle tanımlanan düzenleyici bölgelerin yüzde 90’ından fazlası, en yakın genin başlangıcından yaklaşık 2.500 baz çifti kadar uzaktaydı. Bazen herhangi bir genden uzakta olabilirken bazen de bir genin içindeki çöp bölgedeydi, ama yine de başlangıçtan uzaktaydı.

Çoğu gen promotörü, birden fazla bölgeyle ve her bölge tipik olarak birden fazla promotörle ilişkilendirildi. Fakat yine de, hücrelerimizin gen ifadesini kontrol etmek için düz bir hat kullanmadığı, birbirleriyle etkileşen karmaşık ağlar kullandıkları anlaşılmaktadır.

En çarpıcı sonuçlardan bazıları, bazı hücrelerde bir noktada genomun yüzde 75’inden fazlasının RNA’ya kopyalandığını öne sürdü.⁹ Bu oldukça dikkat çekiciydi çünkü aslında hiç kimse, hücrelerimizdeki çöp DNA’nın neredeyse dörtte üçünün RNA yapmak için kullanılmasını beklemiyordu. Araştırmacılar, protein kodlayan mesajcı RNA’ları uzun kodlanmayan RNA’larla karşılaştırdıklarında, ifade şekillerinde büyük bir fark bulmuşlardı. Şekil 14.3’te gösterildiği gibi, protein kodlayan mesajcı RNA’lar çalışılan on beş hücre hattının tamamında, uzun kodlanmayan RNA’lardan daha fazla ifade ediliyordu. Bu bulgudan elde ettikleri sonuç, uzun kodlanmayan RNA’ların hücrenin akıbetini düzenlemede kritik öneme sahip olduğuydu.

Bütünyle ele alındığında, ENCODE konsorsiyumunun çeşitli yayınlarında yer alan sonuçlar, olağanüstü karmaşık çapraz etkileşim modellerine sahip çok aktif bir insan genomunun resmini çizdi. Aslında çöp DNA, bilgi ve talimatlarla doluydu.



Şekil 14.3. Protein kodlayan ve kodlamayan genlerin ifadesi, on beş farklı hücre tipinde analiz edildi. Kodlanmayan RNA molekülleri üreten bölgelerle kıyaslandığında, protein kodlayan genler tüm hücre tiplerinde çok daha fazla ifade ediliyordu.

Tüm bu sonuçların çok heyecan verici olduğu ortada. O halde, neden bu verilerin ne kadar önemli olduğu konusuna büyük şüpheyle bakılıyordu? Sebeplerin bir kısmı, ENCODE belgelerinin genom hakkında bu kadar büyük iddialarda bulunmasından, özellikle de insan genomunun yüzde 80'inin işlevsel olduğunu ifade etmesinden kaynaklanıyordu. Buradaki sorun, bu iddiaların bazılarının fonksiyonun dolaylı ölçümlerine dayanmasıdır. Bu özellikle, işlevin ya epigenetik modifikasyonların varlığından ya da DNA'nın ve bununla ilişkili proteinlerin diğer fiziksel özelliklerinden çıkarıldığı çalışmalar için doğrudur.

Potansiyel olan mevcut olana karşı

Şüpheler, bu verilerin en iyi ihtimalle bir bölgenin işlevsel olması için bir *potansiyele* sahip olduğunu gösterdiğini ama bunun bir fayda sağlayıp sağlamadığı konusunda belirsizliklerin olduğunu savunuyorlar. Daha kolay anlamak için şöyle bir benzetme yapabiliriz. Muazzam bir konak hayal edin, ancak sahipleri ekonomik olarak zor zamanlar geçirdiği için

elektriği kesilmiş olsun. Downton Abbey'nin çok kötü bir kumarbazın elinde olduğunu düşün. Toplamda 200 odası ve her odada da 5 elektrik düğmesi olsun. Her bir düğme potansiyel olarak bir ampulü yakabilir, ancak bazı düğmelerin elektrik kabloları bağlanmamış (aristokratların elektrik konusunda ki yetenekleri bilinmemektedir) veya ilişkili ampul patlamış olabilir. Sadece düğmelerin duvarlarda olması ve açık/kapalı pozisyonlarına getirilebilmesi, aslında bize odadaki ışık seviyesinde gerçekten bir fark yaratacaklarını söyleyemez.

Aynı durum genomumuz için de geçerlidir. Epigenetik modifikasyonlar taşıyan ya da spesifik fiziksel özelliklere sahip bölgeler olabilir. Ancak bu onların işlevsel olduğunu göstermek için yeterli değildir. Basitçe, bu özellikler yakınlarda olan işlevsel bir yapının yan etkisi olarak gelişmiş olabilir.

Amerikalı ressam Jackson Pollock'ın soyut dışavurumcu şaheserlerinden birini yaratırkenki fotoğraflarından birine bakın.¹¹ Tuvallerini yaratırken sıçrayan boyayla stüdyosunun zemininin kaplanacağına dair iddiaya girsek bu oldukça güvenli bir bahis olurdu. Ancak bu zemindeki boya sıçramasının, resmin bir parçası olduğu veya sanatçının onlara herhangi bir anlam kazandırdığı sonucuna çıkmaz. Sıçrayan boyalar, ana etkinliğin sadece kaçınılmaz ve önemsiz yan ürünleridir. Aynı, DNA'mızdaki fiziksel değişiklikler için de geçerli olabilir.

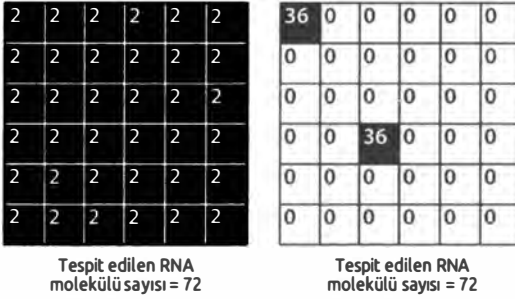
ENCODE'la ilgili iddialar konusunda bazı gözlemcilerin şüpheyile yaklaşımlarının bir diğer nedeni de kullanılan tekniklerin hassasiyetine dayanmaktadır. Araştırmacılar, genomu ilk araştırmaya başladığımızda kullandıklarımızdan çok daha hassas yöntemler kullanabildiler. Bu da onlara çok düşük RNA miktarlarını bile tespit edebilme imkânı verdi. Eleştirmenlerin çekinceli yaklaştığı nokta, tekniklerin çok hassas olması ve genomdaki arka plan gürültülerini bile tespit edebilmesiydi. Eğer kasetleri hatırlayacak kadar yaşlıysanız, kasetçalarınızın sesini gerçekten çok yükseğe ayarladığınızda ne olduğunu tekrar bir

düşünün. Genellikle müziğin arkasında tıslayan bir ses duyar-dınız. Ancak bu, müziğin bir parçası olarak ortaya konmuş bir ses değildi, sadece kayıt odasının teknik kısıtlılığının kaçınıl-maz bir yan ürünüydü. ENCODE' u eleştirenler, genomun aktif bölgelerindeki rastgele RNA moleküllerinden düşük seviyede bir ifade sızıntısı ile de hücrelerde benzer bir durumun olabile-ceğine inanmaktadır. Bu modelde hücre, RNA'ları aktif olarak açmıyor. RNA'lar sadece yanlılıkla ve çok düşük seviyelerde kopyalanıyor çünkü etrafta çok sayıda kopyalama işlemi za-ten gerçekleşiyor. Yükselen bir gelgit, tüm tekneleri kaldırırken aynı zamanda su içinde olan eski bir ahşap parçasını ve sahip-siz plastik şişeleri de kaldırır.

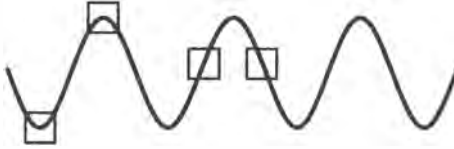
Bazı durumlarda araştırmacıların hücre başına belirli bir RNA'nın birden az molekülünü tespit ettiğini fark etmesi, ol-dukça önemli bir problemi gösterdi. Bir hücrenin RNA mole-külünün sıfır ile bir arasında bir kopyasını ifade etmesi müm-kün değildir. Tek bir hücre o belirli RNA'nın ya hiç kopyasını üretmez ya da bir ya da daha fazla kopyasını yapar. Bu "bir nevi" hamilelik gibidir. Ya hamilesinizdir ya değilsinizdir, iki-si arasında bir durum yoktur.

Fakat aslında bu bize kullanılan tekniklerin çok hassas olduğunu göstermez. Aksine, tekniklerimizin hâlâ yeterince hassas olmadığını gösterir. Yöntemlerimiz, tek hücreleri izole etmemize ve o hücredeki tüm RNA moleküllerini analiz et-memize izin verecek kadar iyi değil.* Bunun yerine, birden fazla hücreyi izole etmeye, tüm RNA moleküllerini analiz et-meye ve daha sonra hücrelerde ortalama kaç molekül bulun-duğunu hesaplamaya güvenmek zorundayız.

* "Tek Hücre Analizleri" adı verilen yöntemler ile artık tek bir hücrenin içindeki DNA ve RNA analizlerini yapabilmek mümkündür. Bununla birlikte, yöntemlerin geliştirilme aşamasında olduğu da unutulmamalıdır. (çev.)



Şekil 14.4. Görseldeki her küçük kare, ayrı bir hücreyi temsil etmektedir. Hücrelerin içindeki rakamlar ise o hücrede üretilen spesifik RNA moleküllerinin sayısını belirtmektedir. Araştırmacı, kullanılan tespit yöntemlerinin hassasiyet limitleri nedeniyle hücrelerin bir grubunu analiz eder. Sonuçta araştırmacı sadece analiz edilen gruptaki toplam molekül sayısına ulaşabilir ama onların ne şekilde dağıldığını ayırt edemez. Yani her biri iki molekül içeren 36 hücre mi (soldaki) yoksa her biri 36 molekül içeren iki hücre mi (sağdaki) –veya toplamda 72 molekülle sonuçlanan başka herhangi bir kombinasyon mu– var, belirlenemez.



Şekil 14.5. Bir hücrede spesifik bir RNA'nın ifadesi, döngüsel bir örüntü izleyebilir. Kutular, bir araştırmacının, RNA molekülünün ifadesini ölçmek için hücreleri örneklediği noktaları temsil eder. Farklı hücre grupları karşılaştırılırken sonuçlar çok farklı görünebilir, belki de farklı dokulardan alınan hücrelerdir. Ancak bu durum gerçek, biyolojik olarak anlamlı bir varyasyondan ziyade geçici bir dalgalanmayı da yansıtır olabilir.

Buradaki sorun, bir örnekte her biri belirli bir RNA'yı az miktarda ifade eden çok sayıda hücreyle, her biri büyük miktarda RNA ifade eden az sayıda hücreyi birbirinden ayıramamamızdır. Bu farklı senaryolar, Şekil 14.4'te gösterilmektedir.

Sahip olduğumuz bir diğer problem ise, RNA molekülleri-ni analiz etmek için hücreleri öldürmemiz gerekir. Dolayısıyla, RNA ifadesinin sadece anlık görüntülerini oluşturabiliyoruz. Fakat aslında ideal olarak yapmak istediğimiz bir ekran görüntüsü almak değil, filmin kendisine sahip olmaktır, böylece gerçek zamanlı olarak RNA ifadesinde ne olduğunu görebilirdik. Elimizdeki problemin şematik bir gösterimi Şekil 14.5'te yapılmıştır.

Elbette ideal olarak, ENCODE'un bulgularını doğrudan deney sistemleri kurarak test etmemiz ve sonuçların kontrolünü yapmamız gerekir. Fakat bu bizi, çok fazla bulgunun elde edilmesi sorununa geri götürür. Çalışacağımız aday bölgelere ya da RNA moleküllerine nasıl karar vereceğiz? Sadece bu da değil. ENCODE yayınlarında belirtilen özelliklerin çoğu, büyük ve karmaşık bir etkileşim ağının parçasıdır. Her bir bileşen, genel resimde kendi başına sınırlı bir etkiye sahip olabilir. Sonuçta, balık ağındaki bir düğümü keserek genel işlevi yok edemezsiniz. Açtığınız delik ara sıra balıkların kaçmasına izin verse de küçük bir balığın kaybedilmesi muhtemelen avcılığınızı çok fazla etkilemeyecektir. Ancak bu, tüm düğümlerin önemsiz olduğu anlamına gelmez. Tamamı önemlidir çünkü birlikte çalışırlar.

Evrimsel savaş alanı

ENCODE makalelerinin ve peşi sıra gelen yorumların yazarları veriyi, insan genomu hakkında evrimsel sonuçlar çıkarmak için de kullandı. Bunun nedeninin bir kısmı, belirgin bir uyumsuzluktan kaynaklanıyordu. Eğer insan genomunun yüzde 80'inin işlevi varsa, insan genomu ile en azından diğer memelilerin genomları arasında önemli derecede bir benzerlik olması gerektiğini tahmin edebilirsiniz. Yalnız problem şu ki, insan genomunun sadece yaklaşık yüzde 5'i memeliler sınıfı içinde korunmuştur ve korunmuş bölgeler de pro-

tein-kodlayan bölgelerde ağırlık kazanmaktadır.¹² Bu belirgin tutarsızlığı gidermek için de yazarlar, düzenleyici bölgelerin çok yakın bir geçmişte ve çoğunlukla primatlarda geliştiğini iddia etmiştir. Farklı insan popülasyonlarındaki geniş kapsamlı DNA dizi varyasyonu çalışmasından elde edilen veriyi kullanan araştırmacılar, düzenleyici bölgelerin insanlarda nispeten düşük bir çeşitliliğe sahip olduğu, aktivitenin neredeyse hiç olmadığı bölgelerde ise çeşitliliğin çok daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. Hatta yorumculardan biri, yeni bir argümanla bunu daha da ileri taşıdı. Buna göre, protein kodlayan diziler evrimde büyük ölçüde korunur çünkü belirli bir protein genellikle birden fazla dokuda veya hücre tipinde kullanılır. Eğer proteinin dizisi değişirse, değişen protein belirli bir dokuda daha iyi işlev görebilir. Öte yandan, aynı değişiklik aynı proteini kullanacak olan diğer dokularda hasar verici bir etki yaratabilir. Bu durum, protein dizisini koruyan evrimsel bir baskı görevi görür.

Ancak proteinlere kodlanmayan düzenleyici RNA'lar, daha fazla dokuya özgü olma eğilimindedir. Bu nedenle de daha az evrimsel baskı altındadır, çünkü sadece bir doku, o düzenleyici RNA'ya bel bağlamıştır ve muhtemelen sadece yaşamın belirli bir döneminde veya belirli çevresel değişikliklere cevap olarak kullanacaktır. Dolayısıyla bu durum düzenleyici RNA'lar üzerindeki evrimsel frenleri kaldırmıştır ve memeli kuzenlerimizden bu bölgelerde ayrılmanızı sağlamıştır. Diğer taraftan, insan popülasyonlarında bu düzenleyici RNA'lar için ideal diziyi korumaya yönelik evrimsel bir baskı vardır.¹³

Biyologlar, anlaşmazlıklar söz konusu olduğunda oldukça dar bir sosyal grup olma eğilimindedir. Bir konferansta nadiren agresif bir soru-cevap oturumu olur ve genelde katılımcılara yapılacak açıklamalar dikkatlice seçilir. Hatta bir toplantıda söylenenlerden ziyade, yayınlanan tüm makaleler



Şekil 14.6. Dışarıdan bakıldığında bilim insanları genellikle kibardırlar (soldaki ifadeler) ama bazen sadece gizli kodla (sağdaki düşünceler) konuşurlar...

için özellikle geçerlidir. Şekil 14.6'da da gösterildiği gibi, satır aralarını nasıl okuyacağımızı elbette hepimiz biliyoruz, ancak genellikle yayınlanan makaleler dikkatli bir şekilde ifade edilmiştir. ENCODE'ü takip eden tartışmalar, nispeten ilgisiz olan gözlemciler için özellikle eğlendirici olmuştur.

Temel olarak en dürüst yanıtlar ise, hiç de şaşırtıcı olmayacak bir şekilde, evrimsel biyologlardan geldi. Evrim, duyguların en yüksek düzeyde seyretme eğiliminde olduğu bir biyolojik disiplindir. Normalde mermiler yaratılışçıları hedef alır, ancak Gatling silahları başka bilim insanlarına da döndürülebilir. Edinilmiş özelliklerin ebeveynlerden yavrulara aktarılması üzerine çalışan epigenetikçiler, ENCODE'un bir süreliğine de olsa onları ateş hattından çıkaracağı konusunda oldukça rahatlamışlardır.¹⁴

ENCODE'a yönelik en sinirli eleştiriler "mantıksal safsata", "saçma sonuç", "düşünmeden hareket eden" ve "yanlış tanımlı hatalı kullanan" ifadelerini içeriyordu. Ne olur ne olmaz diyerek sadece hareket yönleri konusunda şüphemiz

olduğunda bile yazarlar makalelerini, aşağıdaki gibi şiddetle karşı çıktıklarını belirttikleri ifadelerle sonuçlandırdılar:

Önde gelen yazarlardan biri, ENCODE'un sonuçlarının, ders kitaplarının yeniden yazılmasını gerektireceğini tahmin etti. Kabul ediyoruz; pazarlama, kitle iletişim araçlarının çoğu ve halkla ilişkiler ile ilgili birçok kitap yeniden yazılabilir.¹⁵

Bu tepkiden doğan başlıca eleştiriler, fonksiyonun tanımı, ENCODE yazarlarının veriyi analiz etme şekli ve evrimsel baskılarla ilgili çıkarılan sonuçlar üzerine odaklandı. Bunlardan ilki, Jackson Pollock ve Downton Abbey benzetmelerini kullanarak daha önce tanımladığımız sorunlara uygulandı. Bazı açılardan, bu problemler büyük ölçüde matematiği biyolojiden ayırmadaki zorluklardan kaynaklanmaktadır. ENCODE veri seti, orijinal yazarlar tarafından ağırlıklı olarak istatistiksel ve matematiksel yaklaşımlar kullanılarak yorumlandı. Şüpheciler ise bunun bizi çıkmaz sokağa götürdüğünü, çünkü biyolojik ilişkileri hesaba katmadığını ve bunların kritik öneme sahip olduğunu iddia ettiler. Bunu açıklamak için de çok faydalı bir benzetme kullanırlar. Kalbin önemli olmasının nedeni, vücuda kan pompalamasıdır. Bu biyolojik olarak önemli bir ilişkidir. Ancak, kalbin hareketlerini yalnızca matematiksel olarak türetilmiş bir etkileşim haritasıyla analiz edersek, bazı saçma sonuçlar çıkarabiliriz. Örneğin, kalbin vücuda ağırlık ekleyebilmesi ve "lab-dab" sesini çıkarabilmesi için var olduğu gibi sonuçlara ulaşılabilir. Bunların her ikisi de şüphesiz kalbin yaptığı işlerdir, ancak onun işlevi değildir. Sadece asıl rolün ortaya çıkardığı rastlantısal olaylardır.

Yazarlar özellikle analitik yöntemleri eleştirdiler çünkü ENCODE ekiplerinin algoritmaları uygularken tutarlı olmadıklarını hissediyorlardı. Bunun bir sonucu da, geniş bir bölgede görülen etkilerin, analizi uygun olmayan bir şekil-

de bastırabilmesiydi. Örneğin, 600 baz çiftlik bir blok işlevsel olarak sınıflandırıldığında, tüm işler aslında sadece on tanesi tarafından yapılıyorsa, bu oranlar bir fonksiyona sahip olarak tanımlanacak genomun yüzdesini çarpıcı biçimde saptırır.

Evrimsel argüman, ENCODE yazarlarının, büyük miktarlarda değişkenlik gösteren bölgelerin evrimsel seçim eksikliğini yansıttığı ve dolayısıyla göreceli olarak önemsiz olduğu anlamına gelen standart modeli görmezden geldiği yönündeydi. Böyle uzun süredir var olan bir prensibi devirmek istiyorsanız, bunu yapmak için çok güçlü bir temeliniz olması gerekir. Ancak eleştirilenler, büyük miktarda veri içermesine rağmen ENCODE yayınlarının, insanların ve diğer primatların dizilerinden evrimsel sonuçlar çıkarırken, yeterli olamayacak kadar az sayıda bölgeye odaklandığını iddia ettiler.

Her iki taraf için de ilginç bilimsel argümanlar var, ancak ENCODE tarafından üretilen ısı ve duygu miktarının tamamen bilim ile ilgili olduğuna inanmak samimiyetsizlik olurdu. Diğer son derece insani faktörleri görmezden gelemeyiz. ENCODE, çok kalabalık bir araştırma ekibini ve çok büyük miktarda parayı içeren Büyük Bilim'e bir örnektir. Bu tip projeler genellikle milyonlarca dolara mal olan dev işbirlikleridir. Bilimsel araştırma bütçeleri sınırsız değildir ve fonlar bu Büyük Bilim girişimleri için kullanıldığında, daha küçük ve daha fazla hipotez odaklı araştırmalara daha az para ayrılır.

Finans sağlayan kuruluşlar, bu iki tip araştırma arasında dengeyi sağlayabilmek için çok çalışır. Pek çok durumda Büyük Bilim, diğer birçok bilimi teşvik edecek bir kaynak oluşturursa finanse edilir. İnsan genomunun orijinal dizisini çıkarmaya yönelik olan araştırma bunun net bir örneğidir, ancak onun bile eleştirisiz kalmadığının farkında olmalıyız. Ancak ENCODE ile ilgili tartışmalar, üretilen ham veriyle değil, bu verinin nasıl yorumlandığıyla ilgilidir. Bu da onu eleştirilenlerin gözünde saf bir altyapı yatırımından ayırır.

ENCODE'un tüm aşamaları ve yönleri bir arada değerlendirildiğinde, çeyrek milyar dolarlık bir bütçesi olduğu görülüyor. Aynı miktarda para, bireysel hipotezlerin araştırılmasına odaklanan orta ölçekli tek merkezli araştırmalardan en az 600 tanesinin hibesini finanse edebilirdi. Fonların nasıl dağıtılacağına karar vermek, dengeleyicilik gerektiren bir eylemdir çünkü bu miktardaki finansman seviyelerinde bölünme ve endişe yaratma neredeyse garantidir diyebiliriz.

Geçtiğimiz yıllarda Gartner adlı bir şirket, yeni teknolojilerin nasıl algılandığını gösteren bir grafik yarattı ve bu grafik Teknoloji İlerleme Döngüsü (Hype Cycle) olarak adlandırıldı. İlk başta herkes çok heyecanlıydı çünkü bu "şişirilmiş beklentilerin zirvesi"ydi. Yeni teknoloji hayatınızla ilgili her detayı dönüştürmeyi başaramadığında, büyük bir gürültüyle "hayal kırıklığı yaşanmasına" yol açar. Nihayetinde herkes yatıştı ve rasyonel bir anlayışla istikrarlı bir büyümeye ve sonunda verimli bir platoya ulaşıldı.

ENCODE benzeri bir projede bu döngü, sözünü esirgemyen grupların kutuplaşması nedeniyle olağanüstü bir şekilde sıkıştırılır. Beklentileri şişirilmiş olan bilim insanları, hayal kırıklığı yaşayanlarla tamamen aynı anda çalışırlar. Kabul etmemiz gerekir ki hemen hemen herkes pragmatiktir ve kullanılması fayda sağlayacağı anda herkes ENCODE'dan gelen verileri kullanacaktır. Genel olarak bu an da, bireysel bir bilim insanının ilginç bulduğu spesifik bir soruyu bildirmeye yardımcı olabileceği andır.



15

Başsız Kraliçeler, Garip Kediler ve Heybetli Fareler

ENCODE konsorsiyumu, insan genomundaki potansiyel olarak fonksiyonel elementlerin sayısının göz korkutucu kadar çok olduğunu tanımladı. Sayının çokluğu göz önüne alındığında, hangi aday bölgelerin ilk önce deneneceğine karar vermek için makul bir strateji tanımlamak zordur. Fakat görev aslında görüldüğü kadar da zor olmayabilir, çünkü işin doğası her zaman yolu göstermeye karar verir. Son yıllarda bilim insanları, genomun düzenleyici bölgelerinde yer alan küçük değişikliklerin neden olduğu insan hastalıklarını belirlemeye başladılar. Eskiden bu değişimler, çöp DNA'daki zararsız, rastgele değişimler olarak görülüp, ciddiye alınmıyordu. Fakat artık bazı durumlarda, genomun alakasız bir bölgesindeki tek bir baz çifti değişikliğinin, insanlar üzerinde kesin bir etkiye sahip olabileceğini biliyoruz. Bazı nadir durumlarda etki o kadar şiddetlidir ki, yaşamın kendisi imkânsız hale gelir.

Gelin şimdilik daha az dramatik bir örnekle başlayalım ve 500 yıl öncesine, İngiltere'deki Kral VIII. Henry dönemine gidelim. İngiltere'de okul çağındaki çocukların çoğu, bu meşhur hükümdarın altı eşine ne olduğunu hatırlamalarına bir şekilde yardımcı olması için şu tekerlemeyi öğrenir:

*Boşandı, başı kesildi, öldü,
Boşandı, başı kesildi, hayatta kaldı.*

(Günün birinde bir şekilde bu kullanışlı, kısa maninin size bir yardımı dokunursa, teşekkür e-postası göndermekten çekinmeyin.)

Başı kesilen ilk eş, geleceğin Kraliçesi I. Elizabeth'in annesi Anne Boleyn oldu. Ölümünden sonra kraliyet yandaşları bir çeşit karalama kampanyası başlattı ve Anne Boleyn'in fiziki görünümü, adeta 16. yüzyıldan kalma bir cadı görüntüsüne benzetildi. O dönemde; çıkıntılı bir diş, boynunda büyük bir ben ve sağ elinde altı parmağının olması ile karakterize edildi. Her ne kadar doğru olduğuna dair bir kanıt olmasa da, bu fazladan parmak hikâyesi halk bilimine de geçti.¹

Hikâyenin kabul edilmesinin sebeplerinden biri belki de tamamen saçma olmamasıdır. Sonuçta tarihçiler, eski kraliçenin üç bacağı olduğunu iddia etmemişlerdi ve fazladan bir parmakla dünyaya gelen insanlar vardı, gerçi genellikle tek bir ellerinden ziyade her iki ellerinde de fazladan birer parmak oluyordu.

Ellerin ve ayakların doğru bir şekilde gelişmesi için oldukça önemli olan bir proteini kodlayan bir gen mevcuttur.* Bu protein bir morfogin gibi davranır, yani doku gelişimini yönetir. Proteinlerin etkisi, konsantrasyonlarına çok bağlıdır ve gelişmekte olan embriyoda, bir bölgedeki yüksek seviyelerin bitişik dokularda kademeli olarak düşük seviyelere indiği bir gradyan etki vardır.

* Bu protein SHH ile sembolize edilen Sonic Hedgehog (sonik kirpi) proteindir. Araştırmacılar, bir dönem genlere görünüşte komik olan isimler verme safhasından geçtiler. Fakat zamanla şiddetli bir genetik hastalığı olan bir çocuğun ebeveynlerine genetik danışmanlık yapan uzmanlar, bu tuhaf gen adını iletmek zorunda kalınca, sözde komik adlandırmalar aniden hiç de eğlenceli gelmemeye başladı.

Tek parmaklı eldivenler ve yavru kediler

Morfogenler tarafından kontrol edilen özelliklerden biri de parmak sayısıdır. Eğer proteinin ifade edilmesi gereken miktar hatalıysa, bebekler fazladan parmaklarla doğarlar. Yaklaşık on yıl önce araştırmacılar, bazı fazladan parmak vakalarında küçük bir genetik değişime rastladılar. Bu değişim bir morfogen-de değildi, yaklaşık bir milyon baz çifti uzaktaki bir çöp DNA bölgesindeydi. Fazladan parmağa sahip olmanın açık bir şekilde genetik bir özellik olarak kalıt alındığını, Hollandalı geniş bir ailede tanımladıkları değişikliklerle belirlediler. Etkilenen 96 bireyin tamamında, çöp bölgede bir bazlık bir değişim vardı. Hastalar, C bazı yerine G bazına sahiptiler. Normal sayıda parmağa sahip olan akrabaları ise, C bazına sahiptiler. Hollandalı ailenin yanı sıra, bazı bireyleri fazladan parmağa sahip olan başka ailelerde de tek baz değişimleri bulundu. Bu değişimler genellikle Hollandalı ailede bulunan değişimin olduğu genom bölgesiyle hemen hemen aynı bölgedeydi. Aralarında yaklaşık olarak 200-300 baz çiftlik bir mesafe vardı.²

Bu tek baz değişimini taşıyan çöp bölge, morfogen geninin bir hızlandırıcısıdır.* Doğru bir vücut şeklini oluşturmak için, morfogenin bölgesel ve zamansal kontrolü, bir dizi düzenleyici tarafından çok sıkı bir şekilde yapılır. Mutasyona ve fazladan parmağa sahip olan insanlarda, hızlandırıcının aktivitesi nispeten anormaldi. Bir düzenleyicideki bu küçük değişimin etkisi, kontrolün ne kadar önemli olduğunu ve hassas bir şekilde ayarlandığını gösterir.

Bir gün hiç beklemediğiniz bir anda size yardımcı dokunabilecek başka bir bilgiyle devam edelim. Eldiven satın alırken

* Hızlandırıcı bölge, ZRS olarak adlandırılır ve 7. kromozomun uzun kolunda bulunur.

sıkıntı yaşayan Hollandalılar ile 20. yüzyıl Amerikan edebiyatının en büyük figürlerinden biri arasındaki bağlantı nedir? Cevap? Pes mi ettiniz? Tamam, ben söyleyeyim. 1930'larda Ernest Hemingway'e bir geminin kaptanı tarafından bir kedi verildi. Kedinin ön patilerinde, beş değil altı tane parmak vardı. Şu anda aynı zamanda bir müze olan Hemingway'in evinde bu kedinin 40 torunu var ve bunların yarısının ön patilerinde altı parmak var. Çok tatlı olmakla birlikte biraz korkutucu da olan bu kedilerin fotoğraflarına internetten kolayca ulaşabilirsiniz.³ Fazladan olan parmak, başparmak gibi görünüyor ve bu da rahatlık arama konusunda biraz daha yeteneklilermiş gibi gösteriyor. İnsanlarda fazladan parmağa neden olan hızlandırıcı bölgedeki varyasyonu tespit eden araştırma grubu, ayı bölgenin Hemingway'in kedilerinde de değişmiş olduğunu gösterdiler. Daha sonra araştırmacılar, hızlandırıcıyı başka bir hayvanın genomuna yerleştirdiklerinde ise varyasyonun, morfogenin ifadesini değiştirdiğini doğruladılar. Yaptıkları işlem, kedi DNA'sını fare embriyosuna yerleştirmektir. Tam bir kedi-fare oyunuydu. Deney hayvanı, morfogeni aşırı miktarda ifade etti ve her iki ön ayağında da fazladan bir parmak geliştirdi.⁴

İngiltere de dâhil olmak üzere, ön patilerinde fazladan parmağı olan kediler diğer ülkelerde de bulunmuştur. Britanya'daki kedilerde aynı hızlandırıcıda bir değişiklik mevcuttur, ancak tam olarak aynı değişiklik değildir. Hemingway'in kedilerindeki değişiklikten iki baz çifti uzaklıkta, evrimsel olarak oldukça iyi korunan üç baz çiftlik bir motifin içindedir. İnsanların elleri ve kedilerin ön patilerindeki fazladan parmak oluşumunda rol oynayan hızlandırıcı bölge, yaklaşık 800 baz çifti uzunluğundadır ve bazların çoğu, insandan balığa kadar evrimsel olarak yüksek derecede korunmuştur. Bu da bizlere, uzuv gelişiminin kontrolünün oldukça eski, antik bir sistem olduğunu göstermektedir.

Morfogenler ve yüz gelişimi

Parmak oluşumundan sorumlu olan morfogen, aynı zamanda diğer gelişimsel süreçler için de önemlidir. Bunlardan bazıları, yüzün ve beynin ön bölümündeki yapıların oluştuğu süreçtir. Eğer bu süreç hatalı ilerlerse, etki sadece yarık bir dudak kadar hafif olabilir. Diğer taraftan, morfogen ifadesinin daha ciddi şekilde bozulduğu durumda etkiler bir hayli yıkıcı olabilir. Beyin yapılarının uygun şekilde oluşmasıyla, beyin ve yüz tamamen anormal olabilir. En ağır vakalarda bebekler, alınlarının ortasındaki yanlış biçimlendirilmiş tek bir gözle ve ciddi derecede bozulmuş beyin gelişimiyle doğarlar ve bebekler hayatta kalamazlar.

Bahsi geçen hastalık, holoprosensefali olarak bilinir.⁵ Bu hastalığın görüldüğü farklı ailelerde, çok sayıda farklı protein kodlayan genin mutasyona uğradığı gösterilmiştir. Rol oynayan genlerin çoğu, doğru sayıda parmak oluşumu için gerekli olan morfogenin düzenlemesinde yer almaktadır. Bazı hastalarda, morfogen proteinini kodlayan genin kendisi mutasyona uğrar. Gelişmekte olan embriyo, morfogenin normal miktarının yarısını üretir çünkü işlevsel protein, kromozomların sadece birinden üretilir. Etkilenen bireylerdeki anormallikler, gelişimdeki kilit noktalarda morfogen seviyelerinin doğru eşik değere ulaşmasının kritik olduğunu göstermektedir.

Holoprosensefaliye neden olan mutasyonların tamamı tanımlanmamıştır. Geçtiğimiz yıllarda araştırmacılar, hastalıktan etkilenen yaklaşık 500 kişinin DNA'sını incelediler. Hastalıktan ağır şekilde etkilenen bir bebeğin genomunun çöp DNA bölgesinde beklenmeyen bir değişim buldular. C'den T'ye olan bu tek bazlık değişim, morfogen geninden 450.000 baz çifti kadar uzaktaki bir bölgede yer alıyordu.⁶

C'den T'ye olan değişim, 350 milyon yıldan fazla bir süre önce atalarımızın kurbağaların atalarından ayrılmasından bu yana korunan on baz çiftli bir blokta meydana gelmişti. Dola-

yısıyla, bu belirgin çöp dizinin evrimsel süreç boyunca korun-
duğunu ve bir işlevi olduğunu tahmin edebiliriz. Bu spesifik
hızlandırıcıda C, bir transkripsiyon faktör proteinini bağlar.*
Transkripsiyon faktörleri, sıra dışı proteinlerdir. Genellikle
promotorlardaki belirli DNA dizilerini tanır ve onlara bağla-
nır. Transkripsiyon faktörünün bir promotora bağlanması, bir
genin düşmesine basıp onu aktif hale getirmek için gerekli-
dir. Az önce bahsettiğimiz hızlandırıcı için kilit transkripsi-
yon faktörü, DNA'nın uygun konumunda bir C bazı içermesi
durumunda on baz çiftlik motive bağlanabilir, ancak T bazı
içerdiğinde bağlanamaz.

Hızlandırıcıdaki C'den T'ye olan bu değişim, aralarında
akrabalık bulunmayan 450 sağlıklı bireyden oluşan kontrol
grubunda mevcut değildi. Sağlıklı grupta değişimin tespit
edilememesi, hastadaki problemlerin muhtemel nedeni ola-
rak gösterebilir ancak unutulmaması gereken, yaklaşık aynı
sayıdaki hasta grubunda da sadece bir defa tespit edilebilmiş-
tir. Bebeğin annesi hastalıktan etkilenmemiştir ve bu yüzden
annenin her iki kromozomunda da normal C bazına sahip
olması beklenmişti. Ancak beklenmedik bir şekilde bebeğin
babası, hızlandırıcıda çocuğuyla aynı genetik diziye sahipti.
İlgili pozisyonda bir kromozomda C bazı varken, diğerinin
aynı noktasında T bazı vardı. Fakat baba tamamen sağlıklıydı
ve hiçbir holoprosensefali bulgusu taşııyordu.

Bu durum her ne kadar C'nin T'ye değişmesinin ortaya
koyduğu sonuçlara karşı çıkan güçlü bir kanıt gibi görünse
de, durum o kadar kolay değil. Holoprosensefali'de semp-
tomlara neden olan mutasyonun morfogon geninin kendi-
sinde olduğu durumlarda bile ailede birçok bulgusal fark-
lılıkların görülmesi oldukça yaygındır. Mutasyonu taşıyan

* Bu transkripsiyon faktörü Six3 olarak adlandırılır.

aile üyelerinin %30'u kadarı hastalıkla ilgili herhangi bir bulguya sahip değildir, diğerlerinde ise hastalık belirtileri kişiden kişiye değişiklik gösterebilir. İlk durum değişken penetrans ve ikinci durum ise değişken ekspresivite olarak adlandırılır.

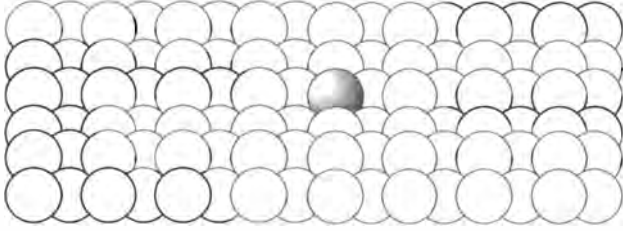
Ne yazık ki bu durumlar, biyologların bir fenomen olarak tanımladığı, ona süslü bir teknik isim verdiği ve ardından düşünmeyi bıraktığı klasik durumlardır. Bu ifadeler, fenomeni tanımlamak için kullanılır ancak bunun niçin olduğunu gerçekten anlamadığımızı unuturuz. Aslında, iyi anlaşılammış büyüleyici bir alandır. Bazı insanlarda DNA değişiminin etkilerini telafi eden genomda başka ince dizi varyasyonlarının olması da mümkündür. Örneğin bunlar, daha güçlü çalışan ve morfogenin ifadesini artıran diğer hızlandırıcıları içerebilir. Ya da bazı insanlarda kilit genlerin ifadesini belirli bir yöne sürükleyen epigenetik dengeler olabilir. Henüz tanımlamadığımız, her iki faktörün de bir birleşimi olabilir.

Fakat bu belirsizliğin (aynı genetik değişime ancak farklı belirtilere sahip ebeveyn ve çocuk) olduğu yerde, değişen bazın etkisiyle ilgili herhangi bir hipotezi desteklemek için ek kanıtlar geliştirmek çok önemlidir. Hızlandırıcıdaki C'den T'ye olan değişimi tanımlayan araştırmacılar da, değişikliğin etkisini bir fare modelinde test ederek tam olarak bunu yaptılar. Araştırmacılar, dizide C bulunduğunda, bu çöp DNA dizisinin, morfogen ifadesinin hızlandırıcısı olarak hareket ettiğini gösterdiler. Fakat C, bir T ile değiştirildiğinde, bölge artık hızlandırıcı olarak davranmadı ve morfogen seviyeleri beyindeki kritik seviyelere asla ulaşmadı.

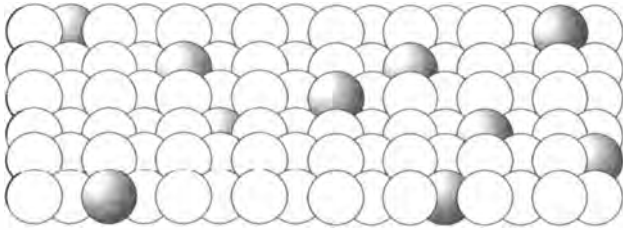
Morfogenler ve pankreas

Fazladan parmak gelişimi veya holoprosensefalinin çeşitli formlarında ortaya çıkan morfogen, DNA'nın düzenleyici bölgesinde meydana gelen değişiklikten kaynaklanan insan

Rastgele



Akraba



Taşıyıcı



Taşıyıcı olmayan

Şekil 15.1. Üstteki şekil, nadir görülen genetik bir mutasyon taşıyan bir kişinin, genel popülasyonda aynı mutasyona sahip başka bir kişiye denk gelme olasılığının istatistiksel olarak nasıl nispeten düşük olduğunu gösterir. Öte yandan, alttaki şekilde de gösterildiği üzere, kendi ailesinde yer alan başkasının da aynı mutasyonu taşıması çok muhtemeldir. Bu nedenle, nadir görülen resesif (çekinik) hastalıklar (ebeveynlerden her biri bir mutant gene sahip asemptomatik taşıyıcılardır) ebeveynler arasında kan bağı bulunduğunda, örneğin birinci derece kuzen olduklarında, daha yaygın olarak ortaya çıkmaktadır.

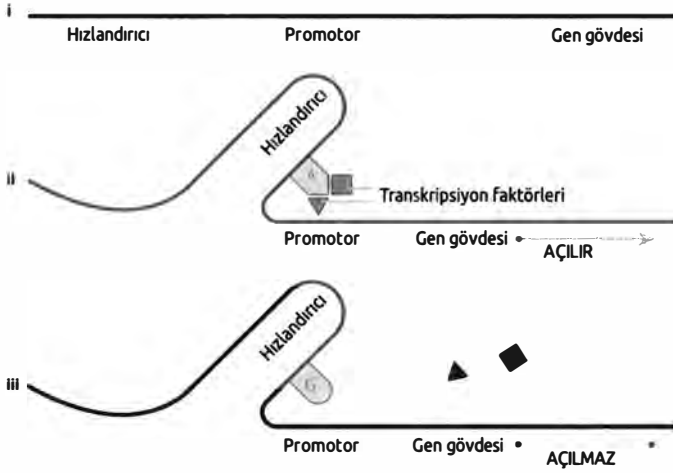
hastalıklarının tek örneği değildir. Pankreas Agenezisi olarak bilinen ve pankreasın düzgün şekilde gelişemediği bir sağlık sorunu da vardır. Pankreas Agenezisi ile doğan bebekler genellikle şiddetli diyabete sahiptir.⁷ Bunun nedeni ise pankreasın, kanımızdaki şeker seviyesini düzenlememize olanak sağlayan insülin hormonunu üreten organımız olmasıdır.

Pankreas Agenezisi olan ailelerin çoğunluğu belirli bir transkripsiyon faktöründe bir mutasyona sahiptir,*⁸ ancak etkilenen ailelerin daha az bir kısmında farklı bir transkripsiyon faktörü rol oynar.**⁹ Öte yandan, bir çocuğun açıklanamayan pankreas agenezisi ile doğduğu ama başka hiçbir bireyin etkilenmediği aileleri içeren pek çok vaka da vardır. Normalde, bu durumların rastgele hatta belki de çevrede tanımlanamayan bir uyarana yanıt olarak gelişirken yanlış giden bir işin sonucu olarak ortaya çıktığını düşünebiliyoruz. Ancak daha sonra, ilk başta sporadik olarak değerlendirilen vakaların çoğunda, etkilenen çocuğun ebeveynlerinin arasında kan bağı olduğu, tipik olarak kuzen evliliklerinin bir sonucu olduğu açıkça ortaya çıkmaya başladı. Yani akraba evliliklerinden kaynaklanıyordu. Akrabalık, bir hastalığın daha yüksek oranlarda görülmesiyle ilişkilendirildiğinde, normal olarak genetik bir değişiklik ararız. Bir kromozomun her iki kopyası da değişimi taşır. Bu tip sağlık sorunlarının akraba evliliklerinde neden daha yaygın olduğu Şekil 15.1’de gösterilmiştir.

Araştırmacılar, Pankreas Agenezisinin sporadik formunu gösteren hastalardan DNA izole edip tüm protein kodlayan bölgeleri analiz ettiler. Ancak hastalığı açıklayabilecek herhangi bir dizi değişimi bulamadılar. Dolayısıyla da dikkatlerini tahmini düzenleyici bölgelere yoğunlaştırdılar. Buraya kadar olan kısımlarda da gördüğümüz üzere, insan genomunda çok fazla tahmini düzenleyici bölge vardır. Çalışma alanlarını daraltmak için araştırmacılar, kültürde pankreas hücrelerine farklılaşan kök hücrelere ne olduğuna odaklandılar. İlk olarak, normalde hızlandırıcı fonksiyonla ilişkili epigenetik modifikasyonlar taşıyan ve pankreas hücrelerinin gelişiminde önemli olduğu bilinen transkripsiyon faktörü proteinlerine bağlanan düzenleyici bölgeleri araştırdılar.

* Bu transkripsiyon faktörü GATA6 olarak adlandırılır.

** Bu transkripsiyon faktörü PTF1A olarak adlandırılır.



Şekil 15.2. "i" ile gösterilen kısımda hızlandırıcı, promotor ve gen gövdesinin ardışık konumlandırması yer almaktadır. "ii" ile gösterilen kısımda ise DNA katlanarak, hızlandırıcıyı promotora yaklaştırır. Hızlandırıcı belirli bir pozisyonda bir A bazı içerdiğinde, transkripsiyon faktörleri olarak adlandırılan spesifik proteinleri bağlayabilir. Bunlar promotoru aktif hale getirebilir ve geni açabilir. "iii" ile gösterilen kısımda ise hızlandırıcıdaki A bazı, G bazı ile yer değiştirmiştir ve artık transkripsiyon faktörleri bağlanamaz. Dolayısıyla promotor aktif hale getirilemez ve gen açılmaz.

Bu daraltma, aday bölgelerin sayısını 6.000 civarına getirdi ki bu da derinlemesine yapılacak bir analizi çok kolaylaştıran bir sayıydı. Hastalardan dört tanesinde, 10. kromozom üzerinde yaklaşık 400 baz çiftlik hızlandırıcı olarak kabul edilen bir bölgede A'nın yerini G almıştı. Bu bölge, Pankreas Agenezisi olan ailelerin az bir kısmında mutasyonlu olduğu belirlenen transkripsiyon faktörlerinin birinden 25.000 baz çifti uzaktaydı. Aralarında akrabalık bulunmayan on hastanın yedisi de aynı değişimi taşıyordu: 10. kromozom üzerinde yer alan hızlandırıcının her iki kopyası da normalde A olması gereken yerde G taşıyordu. İki hastada bu bölgenin yakınıla-

rında başka mutasyonlar vardı ve onuncu hastada da hızlandırıcısını tamamen kaybetmişti. Aralarında akrabalık bulunmayan yaklaşık olarak 400 sağlıklı birey de analiz edildi ve hiçbiri bu A'dan G'ye olan değişimi taşııyordu.

Araştırmacılar, tanımladıkları bölgenin gelişmekte olan pankreas hücrelerinin bir hızlandırıcısı olarak görev yaptığını ve A'nın G'ye dönüşmesi durumunda bölgenin hızlandırıcı aktivitesini kaybettiğini deneysel olarak gösterdiler. Daha sonra da ilave deneylerle, bu hızlandırıcının hedef geni nasıl düzenlediğini araştırdılar. Şekil 15.2'de de gösterildiği gibi, hızlandırıcı, hedef genine yaklaşabilmek için döngüler oluşturur. Normalde hızlandırıcı, hedef genini aktive etmesine yardım edecek olan transkripsiyon faktörüne bağlanır. Ancak transkripsiyon faktörü sadece belirli DNA dizilerine bağlanır. A'nın yerini G aldığında ise, transkripsiyon faktörü bağlanamaz ve dolayısıyla hedef gen aktiveleştirilemez.¹⁰

Aslına bakarsanız, biraz balığa çıkmaya benziyor. Ucunda solucan olan bir kancayı göle bıraktığınızda, etçil bir balık onu ısıracaktır. Ucunda havuç olan bir kanca kullandığınızda ise balık, en fazla dişleyip bırakacaktır. Kanca, misina, olta ve balık, hepsi aynıdır. Fakat yalnızca bir kritik bileşeni (bu örnekte, yemi) değiştirmek, (balığı) yakalama şansını önemli ölçüde artırır.

Tema üzerine çeşitlemeler

Aslında düzenleyici bölgeler oldukları ortaya çıkan çöp DNA bölgelerindeki değişimlerin tamamının hücre ve insan için korkunç sonuçlar doğurduğunu düşünmek cazip gelebilir çünkü bazen anormal durumlara bakmak, normal olanlardan daha kolaydır. Özellikle bir hastalığa sahip olmak ile sağlıklı olmak arasındaki farkı değerlendiriyorsak oldukça elverişlidir. Önceki sayfalarda açıklanan durumlarda, düzenleyici bölgelerdeki tek baz değişikliklerinin çarpıcı etkileri olmuş-

tur. Ancak bu çeşitlilikler sadece hasta ya da sağlıklı olmakla değil aynı zamanda insan çeşitliliğinin normal bir parçası olan durumlardan da sorumludur.

Örneğin pigmentasyonu (renklenmeyi) ele alalım. Pigmentasyon, birlikte hareket eden birçok genin etkileşimiyle ortaya çıkan karmaşık bir özelliktir. Sonuçta göz, saç ve deri renklerimiz ortaya çıkar. Hepimiz biliyoruz ki insanlar, görünüşlerinde sahip oldukları bu özelliklere göre çok fazla çeşitlilik gösterirler. Pigmentasyon seviyelerine katkıda bulunan birtakım genlerin yanı sıra, bu genlerde çeşitlilik için ilave farklılıklar yaratan başka değişkenler de vardır.¹¹

Ana değişkenlerden biri ya C ya da T olarak meydana gelen tek bir baz farkıdır. T versiyonu, koyu pigmentin daha yüksek seviyeleriyle ilişkiyken, C versiyonu daha düşük seviyeleriyle ilişkilidir.* Fakat bu varyasyon, protein kodlayan bir gende değildir. Değişimin pigmentasyonu etkilemesinin, olayın bir hızlandırıcı bölgede cereyan etmesinden kaynaklandığı anlaşılmıştır. Bu hızlandırıcı, hedef geninden 21.000 baz çifti uzaklıktadır. Hızlandırıcının hedef geni, pigment üretimi için önemli olan bir proteini kodlar. Bunu ise, bu gende mutasyon taşıyan bireylerin pigment üretemedikleri bir albinizm formuna sahip olmalarından dolayı biliyoruz.**¹²

Araştırmacılar tarafından, hızlandırıcının hedefine doğru halka yaptığı deneysel olarak gösterilmiştir. Hedef geni kontrol eden transkripsiyon faktörü, dizideki C ya da T bazına bağlı olarak daha az ya da daha çok verimlilikle bağlanır.¹³ Bu, Pankreas Agenezisi için yukarıda ana hatlarıyla belirtilen duruma çok benzerdir ve hemen hemen Şekil 15.2’de gösterilenle aynı mekanizmayı kullanır.

* Bu değişkenlik gösteren baz çiftinin kolayca (!) akılda kalan ismi rs12913932.

** Bu gen OCA2 olarak adlandırılır.

Çöp DNA'daki tek baz değişimleri ile protein kodlayan genlerin ifadesi arasında pek çok benzer ilişki olması muhtemeldir. Bu ilişki ise, hem insan çeşitliliğini hem de insan sağlığı ve hastalıklarını anlamada önemli etkiye sahiptir. Bugün, pek çok vakada bireyin bir hastalığı geliştirip geliştirilmesinde genetiğin rol oynadığını biliyoruz. Her ne kadar bir kişinin genetik alt yapısı bir hastalıktan mustarip olma ihtimalini etkilese de, bunu tamamen açıklamaz. Bazen çevre de, kötü şans faktörlerini devreye sokarak, bunda başlı başına rol oynar.

Bir ailede bir hastalığın ne sıklıkla ortaya çıktığına bakarak, genetiğin katkısı olduğu hastalıkları tespit edebiliriz. Bu tarz analizlerde, ikiz çalışmaları oldukça büyük öneme sahiptir. Örneğin bir gendeki mutasyonun neden olduğu yıkıcı bir nörolojik hastalık olan Huntington hastalığını ele alalım. Eğer ikizlerden biri Huntington hastalığına sahipse, tek yumurta ikizi de her zaman aynı hastalığa sahip olacaktır (tabii trafik kazası gibi tamamen ilgisiz bir nedenle daha erken ölmediği sürece). Huntington hastalığı, yüzde 100 genetik bir hastalıktır.

Fakat örneğin şizofreniyi ele alacak olursak, eğer tek yumurta ikizlerinden biri hastalıktan etkilenmişse, diğerinin hastalıktan etkilenme ihtimalinin sadece yüzde 50 olduğunu tespit ettik. Bu değer, birçok ikiz üzerinde yapılan analizlerin sonucudur ve ortaya konan sıklıklar, ikizlerden her birinin de hastalığı geliştirdiği koşullarda hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar ise bize, genetiğin şizofreni gelişimindeki etkisinin yaklaşık yarı yarıya olduğunu ve hastalığa etki eden diğer risk faktörlerinin genomdan kaynaklanmadığını söylemektedir.

Aile üyelerinin ne kadar genetik bilgi paylaştığı da bilindiği için araştırmacılar, diğer aile üyelerini de ekleyerek bu çalışmaları genişletebilirler. Örneğin, ikiz olmayan kardeş-

ler, ebeveynler ve hatta çocuklar, genetik bilgilerinin yüzde 50'sini paylaşır. Birinci derece kuzenleriyle ise genomlarının sadece yüzde 12,5'ini paylaşırlar. Genetiğin; Romatoid Art-ritten diyabete ve Multipl Sklerozdan Alzheimer hastalığına kadar geniş bir yelpazede yer alan hastalıklara olan katkısını hesaplamak için bu bilgiyi kullanmak mümkündür. Bunlarda ve diğer benzeri pek çok hastalıkta, genetik ve çevre birlikte rol oynar.

Eğer yeterli sayıda aile bulabilirsek, hastalıkla ilişkili bölgeleri belirlemek için onların genomlarını analiz edebiliriz. Ancak ürettiğimiz verinin, çok farklı olacağını, Huntington hastalığı gibi tamamen genetik bir hastalıktaki kadar kolay olmayacağını hatırlamalıyız. Daha önce de belirttiğimiz gibi Huntington hastalığı yüzde 100 genetik bir hastalıktır ve protein kodlayan bir gendeki bir mutasyondan kaynaklanır. Ancak şizofreni gibi hastalıklarda ise, yüzde 50 katkısı olan genetiğin etkisi sadece tek bir genden kaynaklanmaz. Genetik ve çevre etkileşiminin birlikte rol oynadığı diğer pek çok hastalık için de aynı durum geçerlidir. Her biri yüzde 10 katkıya sahip beş gen ya da her biri yüzde 2,5 katkıya sahip 20 gen, ya da aklınıza gelebilecek başka herhangi bir kombinasyon şizofreni için risk oluşturabilir. Bu da, ilgili genetik faktörleri tanımlamayı ve dizi değişikliklerinin çalışılmakta olan hastalığı gerçekten etkilediğini kanıtlamayı zorlaştırır.

Bütün bu zorluklara rağmen, binlerce aday bölge ve varyasyon yaratan bu yöntemler kullanılarak 80'den fazla hastalık genom üzerinde haritalandırılmıştır.*¹⁴ Bu çalışmalarda tanımlanan bölgelerin yaklaşık yüzde 90'ının çöp DNA'da olması dikkat çekicidir. Yaklaşık yarısı genler arasındaki çöp bölgelerde ve diğer yarısı da gen içindeki çöp bölgelerdedir.¹⁵

* Hastalıkla ilişkili gen ve varyantları bulmayı sağlayan bu yaklaşım, GWAS - genom çapında ilişkilendirme çalışmaları olarak bilinir.

Yardım ve yataklık suçu

DNA'da hastalıkla ilişkili bir varyasyonu saptayabildiğimiz için, bu varyasyonun hastalığa neden olan bir rolü olduğu anlamına geldiğini farz etme konusunda çok dikkatli olmak zorundayız. Bazen sadece bir yardım ve yataklık suçuna bakıyor olabiliriz. Gerçekten bir hastalığa katkıda bulunan genetik değişim, yakındaki farklı bir varyasyon olabilir ve aslında bizim adayımız sadece iş olsun diye oralarda olabilir.

Yardım ve yataklığın bir örnek üzerinden açıklamak istersek, karaciğer sirozu ile karbon monoksit arasındaki ilişki bizim için iyi bir aday olabilir. Sigara dumanına maruz kalımı değerlendirmenin bir yolu, kişinin nefesindeki karbon monoksit seviyesini ölçmektir. On yıl kadar önce, sigara içmeyen ve karaciğer hastalığı olan kişilerin nefeslerindeki karbon monoksit düzeylerini ölçtüğümüzde, karaciğer hastalığı olan kişilerde, olmayanlara kıyasla bu gazın daha yüksek konsantrasyonlarda olduğunu gördük. Dolayısıyla ulaştığımız yorumlardan biri, pasif içiciliğin karaciğer sirozu riskini artırdığı yönünde olmuştur. Fakat gerçekte, karbon monoksit seviyeleri yardım ve yataklık yapıyordu. Aslında muhtemelen hastanın sadece barlarda ve meyhanelerde çok zaman geçirdiğini yansıtıyordu, çünkü aşırı alkol tüketimi siroz gelişimi için ana risk faktörüdür. Birçok şehirde sigara yasağı getirilene kadar, barlar ve meyhaneler geleneksel olarak sigara içilen ortamlardı.

Genetik bir varyasyonun insan hastalıklarına olan katkısını analiz ederken yardım ve yataklık suçunu dışlamamıza rağmen, bulgularımızın işlevsel sonuçları hakkındaki hipotezleri test etmek için gerçekten dikkatli olmamız gerekir. Aksi takdirde, fazlasıyla yanılabiliriz.

Bu bölümün başlarında tanıştığımız insan pigmentasyonuna katkıda bulunan varyasyon aslında intronlarda yer alır. İtronlar, 2. Bölüm'de gördüğümüz, bir genin protein kodla-

yan kısımları arasında kalan çöp DNA bölgeleridir. Gen çok büyüktür ve değişen baz çifti, amino asit kodlayan bölgeler arasında yer alan 86. introndadır. İşin ilginç yanı ise, genin kendisinin pigment seviyelerinin kontrolünde rol oynamamasıdır. Dolayısıyla, bir genin çöp bölgelerindeki varyasyonların, diğer genler üzerindeki etkiler için önemli olabileceğini kabul etmek için emsal nitelikte bir örnek oluşturur.

Obezite, fiziksel varyasyona bağlı genetik değişkenlerin tanımlanmasında oldukça fazla ilgi duyulan alanlardan bir diğeridir. İnsan genomunda yaklaşık olarak 80 farklı bölge, obezite ya da vücut kitle indeksi gibi diğer ilgili parametrelerle ilişkilendirilmiştir.¹⁶

Çok sayıdaki çalışma, obeziteyle yüksek ilişki gösteren varyasyonun, 16. kromozom üzerinde yer alan protein kodlayan bir aday gendeki tek bir baz çifti değişikliği olduğunu göstermiştir.^{*17,18} Genin her iki kopyasında A'yı taşıyan bireyler, her iki kopyasında T'yi taşıyan bireylerden yaklaşık 3 kg daha ağır olma eğilimindeydi. Bu değişiklik, aday genin amino asit kodlayan ilk iki dizisinin arasındaki çöp bölgede yer alıyordu. Bu ilişkinin birden fazla çalışmada tespit edilmesi, anlamlı bir bölgeye baktığımıza olan güvenimizi artırdığı için önemliydi.

Fareler üzerinde yapılan deneyler de bu genin vücut ağırlığını kontrol etmedeki rolünü onaylar nitelikteydi. Bu geni fazla miktarda ifade etmeleri sağlanacak şekilde genetiği değiştirilen fareler, yüksek yağlı diyetle beslendiklerinde aşırı kilo alıp, tip 2 diyabet semptomları geliştirmişlerdir.¹⁹ Farelerde bu gen susturulup etkisiz hale getirildiğinde ise, kontrol grubundaki farelere göre daha az yağ dokusuna ve daha zayıf bir vücut tipine sahip oldular. Geni etkisiz hale getirilen fareler çok fazla yeseler ve bilhassa aktif olmasalar bile, çok fazla kalori yakabilmişlerdi.²⁰

* Bu gen "yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili" ya da FTO olarak adlandırılır.

Elde edilen bu sonuçlar, büyük bir heyecan yarattı. Sonuçlar, eğer bilim insanları bu genin insandaki aktivitesini engellemenin bir yolunu bulabilirlerse, obezite karşıtı bir ilaç geliştirebileceklerine işaret ediyordu. Öte yandan, hâlâ çözülmesi gereken bir problem vardı. Aday genin hücrelerde ne yaptığı tam olarak bilinmiyor ve bu da iyi bir ilaç oluşturmayı zorlaştırıyordu. İşin iyi yanı ise, artık bir başlangıç noktamız olmaşıydı. Hem insandan hem de fareden elde edilen veri genin, obezite ve metabolizma üzerinde önemli etkiye sahip bir proteini kodladığını gösteriyordu. Sonuçta bu, obezite ile ilişkili olan baz çiftinin genin kendisinin ifadesini etkilediği yönünde makul bir varsayıma bağlandı.

Ancak, Samuel L. Jackson'ın *İyi Geceler Öpücüğü* adlı filmde oynadığı karakter olan Mitch Hennessey'in ölümsüz sözleriyle durumu özetleyecek olursak, "Varsayımda bulunuyorsanız, sadece kendinizi kandırıyorsunuz demektir." Elbette, tecrübelerden de ders almak gerekir ve proteinin rolünü araştıran bilim insanlarını küçümsemenin hiçbir gereği yoktur. Öte yandan, sanki doğa her seferinde bizi hataya zorlamanın bir yolunu buluyor gibidir.

Gelin şimdi tek bir baz çifti varyasyonunun insan fizyolojisinde fark yaratmasının gerçek nedenini ele alalım. Az önce tanımladığımız tek bir baz çiftlik kilit değişimden yarım milyon baz çifti uzaklıkta başka bir protein kodlayan gen vardır.* Orijinal genin çöp bölgesi, ikinci genin promotörü ile etkileşime girerek onun ifadesini değiştirir. Aslında çöp bölge, bir hızlandırıcı olarak davranır. İnsanlarda, farelerde ve balıklarda aynı şekilde ortaya çıkan etki, bunun eski ve önemli bir etkileşim olduğunu gösterir.

Araştırmacılar, 150'den fazla insan beyni örneğinde bu ikinci genin ifade seviyelerine baktılar. Çöp / hızlandırıcı bölgedeki baz çifti değişkeni ile ikinci genin ifade seviyeleri

* Bu gen, Iroquois homeobox protein 3 ya da kısaca IRX3 olarak adlandırılır.

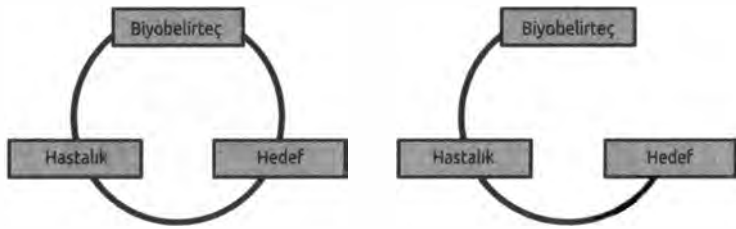
arasında açık bir korelasyon vardı fakat değişkeni içeren orijinal aday genin ifade seviyesiyle bir ilişkisi yoktu. Gen sadece varyasyonu taşıyordu.

Daha sonra araştırmacılar, farelerde ikinci genin ifadesini baskıladıklarında, kontrol hayvanlarına kıyasla farelerin zayıf olduklarını, düşük adipoz (yağ) dokusuna sahip olduklarını ve bazal metabolizma hızlarının arttığını buldular. Aslında bu, ikinci genin metabolizmaya dâhil olduğunun ilk kez fark edildiği andı.²¹

Burada karşılaştığımız model, insan pigmentasyonu ve pankreas agenezisi için daha önce karşılaştığımızı çok benzerdir. Aslında, orijinal obezite ile ilişkili genin çöp bölgesinde bir dizi farklı baz çifti varyantı vardır. Bunların çoğu da gerçekten obezite ile ilişkilendirilmiştir. Hal böyle olunca da, bu varyantların hepsinin muhtemelen aynı etkiye sahip olduğu, yani hızlandırıcının aktivitesini ve dolayısıyla yarım milyon baz çifti uzaklıktaki hedef genin ifade seviyesini değiştirdiği önerildi.

Fare deneylerinden elde edilen veri, çöp DNA'daki varyasyonları içeren orijinal genin de obezite ve metabolizmada rol oynayabileceğini öne sürüyor. Dolayısıyla kendimize, tek baz çifti değişikliklerinin etkilerini nasıl ortaya koyduklarının gerçekten bir önemli olup olmadığını sorabiliriz. Fakat bunun aslında, özellikle ilaç geliştirmede gerçekten çok önemli olduğunu söyleyebiliriz.

Yeni ilaç geliştirilirken pek çok problemle karşılaşılır ve bunlardan biri de bazı hastaların ilaca yanıt verirken bazılarının vermemesidir. Bu da masrafların iyiden iyiye artmasına neden olur. İlaç şirketleri, ilaçlarının işe yarayıp yaramadığını görmek için çok büyük klinik araştırmalar yapmak, hepsinden önce o ilacı herkes üzerinde test etmek zorundadır. Ayrıca, ilacı klinik deneyde kullanmak da pahalıdır çünkü doktor ilgili hastalığa sahip tüm gönüllü hastalara bu ilacı uygulayacak ama ilaç sadece bazılarında sonuç verecektir.



Şekil 15.3. Sol tarafta biyobelirteç, hedef ve hastalık arasındaki mükemmel ilişki gösterilmektedir. Sağda ise hedef ile belirli bir biyobelirtecın varlığı ya da yokluğu arasında bir ilişki yoktur. Böyle bir durumda biyobelirteç, hangi hastanın hedefe karşı geliştirilen ilaca yanıt vereceğini tahmin etmede fayda sağlamaz.

Son yıllarda, ilaç şirketlerinin neredeyse tamamı “bireyselleştirilmiş ilaç” olarak adlandırılan bir tedavi yaratmaya çalışıyor. Yani, genellikle genetik geçmişlerine bakarak hangi hastaları tedavi etmek istediklerini çok daha erken belirleyebildikleri sağlık durumları için ilaç geliştirmeye çalışıyorlar. Oldukça etkili olabilecek bir yaklaşım. Böylece ilaçların geliştirilmesi daha az maliyetli olur, genellikle daha hızlı lisanslanır ve yalnızca ilaçtan fayda sağlayabilecek hastalara verilir. Bu, sağlık sektörü için bir avantajdır çünkü ilaca cevap vermeyecek insanları tedavi etmek için para harcamazlar. Aslında daha da önemlisi, sonuçta tüm ilaçlar olası yan etkilere sahiptir ve eğer hastanın ilaçtan çok az fayda sağlama olasılığı varsa, ilacı kullanmamak potansiyel olarak daha iyidir ve yan etkinin oluşturacağı riske gereksiz yere girmenin bir anlamı yoktur.²² Bu yaklaşım sayesinde, özellikle meme kanseri,²³ kan kanseri²⁴ ve en yeni olarak da akciğer kanseri²⁵ için geliştirilen ilaçlarda gerçek başarılar kaydedilmiştir.

Bireyselleştirilmiş tedavi geliştirmedeki kritik adım, güvenilir bir biyobelirteç tanımlamaktır. Biyobelirteçler size, potansiyel hastalarınızdan hangisinin ilacınıza yanıt verebileceğini söyler. İdeal olarak, ilgili biyobelirtece sahip olan insanların yüzde 100’ünün ilaca yanıt vermesini istersiniz. Eğer

hastalık için doğru biyobelirtece sahipseniz ama onu yanlış hedefle ilişkilendirmişseniz, ortada bir sorun var demektir. Bir ilaç yaratacaksınız ve sonrasında aslında yanıt “vermesi” gereken hastalarda neden yanıt “vermediğine” takılıp kalacaksınız. Şekil 15.3’te gösterildiği gibi bunun nedeni, ilişkiler çemberinde bir kopukluğun olmasıdır.

Hiçbir kasıt olmadan belirtmeliyim ki, obezite ilaçlarındaki potansiyel pazar çok büyüktür. Muhtemelen bazı şirketler, en başta koydukları hedefe ulaşmak üzere ilaç bulma programlarına çoktan başlamışlardır; ya yakın bir zamanda bu programları sona erdirecekler ya da hedefe ulaşmanın bir yolunu bulacaklardır. Bununla birlikte, porsiyon kontrolü ve biraz egzersiz yapmak hâlâ elimizdeki en iyi seçenektir.



16

Çevrilmeyen Bölgelerde Kaybolmak

Bir çocuğa kasıtlı olarak zarar vermekten daha kötü olan çok az suç vardır. Pek çok ülkede acil servisteki personel, bebekler ve küçük çocuklardaki kırıklar da dâhil olmak üzere açıklamayan yaralanma örüntülerinin nedenini araştırmak için eğitilmiştir. Böyle bir tıbbi öykünün tespit edilmesi genellikle çocukların koruma altına alınmasına, ebeveynlerinin çocuklara erişiminin kısıtlanmasına veya tamamen engellenmesine ve hatta bir veya iki ebeveyninin yargılanıp muhtemelen hapsedilmesine neden olur.

Bir çocuğun korunması, elbette en öncelikli iştir. Ancak, nedeni belirlenemeyen tıbbi bir durumdan kaynaklanan kırık sonucu, tamamen masum olan ebeveynlerin başına böyle bir kâbusun geldiğini hayal edin.¹ Her ne kadar bu tip adli hataların sayısı, gerçek çocuk istismarı vakalarına kıyasla çok az olsa da, aile üzerindeki etkileri yıkıcıdır. Özgürlüğün kaybı, evliliğin çöküşü, sosyal dışlanma ve en üzücüsü de ebeveyn-çocuk iletişiminin kesilmesi gibi pek çok etki sıralanabilir.

Genetik bir durum, çocuğa yönelik şiddet olarak algılanan bu yanlış tanıya birden fazla sebeple yol açabilir ve hatta yol açmıştır. Bu hastalık, osteogenezis imperfekta ya da daha yaygın adıyla cam kemik hastalığı olarak bilinir.² Sağlıklı bir çocukta çürük oluşmasına bile yol açmayacak, ılımlı olarak tanımlayabileceğimiz travmalar, cam kemik hastalığı olan

hastalarda kemiklerin kolayca kırılmasına neden olabilir. Aynı kemikler art arda kırılabilir ve hatalı şekilde kaynayabilir. Etkilenen kişi zaman içinde giderek daha fazla sakatlanır.

Ebeveynlerin bazen hatalı bir şekilde çocuklarını incitmekle suçlanmalarıyla daha da garip bir hal alan bu durumun çok iyi tanınması gerektiğini düşünebiliriz. Ancak, resmi karmaşıktır çok sayıda faktör vardır. Öncelikle, cam kemik hastalığı nadir görülen bir hastalıktır ve 100.000 çocuktan altı veya yedi tanesini etkiler. Bir doktor, özellikle acil tıp alanında nispeten yeniyse, bu durumla hiç karşılaşamayabilir. Fakat ne yazık ki, çocuğa karşı uygulanan şiddetle muhtemelen karşılaşacaklardır ve bu yüzden de cam kemik hastalığı için hatalı tanı koyma olasılıkları daha yüksektir.

Hastalığın tanısı da oldukça karmaşıktır çünkü şiddetine ve belirtilerindeki ayrıntılara göre değişen en az sekiz farklı cam kemik hastalığı tipi vardır. En uç örnekte, bebekler doğmadan önce bile kırıklara maruz kalabilirler. Cam kemik hastalığının farklı formları, farklı genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanır. En yaygın görülen formda, kollajen kusurları vardır. Kollajen, kemiklerin esnek olmasını sağlamak için önemli olan bir proteindir. Her ne kadar sıklıkla kemikleri çok sert yapılar olarak düşünsek de, harekete yanıt olarak kırılmak yerine bükülmeleri için bir miktar esnekliğe sahip olmaları önemlidir. Aslında, çocuklara ölü ağaçlara tırmanmalarını gerektiğinin öğretilmesiyle aynı prensibe dayanır. Esnek olmayan, kurumuş dalların kırılma olasılığı, canlı ağaçların yeşil, bükülebilen dallarının kırılma olasılığından daha yüksektir.

Cam kemik hastalığı olgularının çoğunda, genin sadece bir kopyası mutasyona uğrar. İkinci kopyasında (her ebeveynimizden bir kopya alırız) bir problem yoktur. Fakat sadece bir normal kopyaya sahip olmak, “kötü” genin etkilerini telafi etmek için yeterli değildir. Böyle bir durumla karşılaştığımız-

da genellikle sadece çocukta değil aynı zamanda ebeveynlerden birinde de hastalığı görmeyi bekleriz. Bu ebeveyn elbette ki mutasyonu bebeğine geçiren ebeveyndir. Fakat mutasyon, yumurtaların veya spermelerin üretimi sırasında oluştuysa yani yeri (de novo) bir mutasyonsa, ebeveynlerinde herhangi bir belirti olmayan çocuk, hastalıktan mustarip olabilir. Cam kemik hastalığının en şiddetli formları, genellikle böyle ortaya çıkar. Bu da, acil servisteki doktorların, mutasyon sonucu ortaya çıkan bir sağlık sorununa baktıklarını fark etmelerini zorlaştırır.

Diğer taraftan, doktorlar bir bebeğin cam kemik hastalığından muzdarip olduğunu düşündüklerinde, tanılarını doğrulamak için genetik testler isteyebilirler. Genetik tanı, cam kemik hastalığında mutasyona uğrayabileceği bilinen genlerin dizilerini analiz etmeyi içerecektir. Bilim insanları, hastanın klinik tablosuna detaylı bir şekilde bakıp hangi tip cam kemik hastalığına sahip olduğuna karar vererek, öncelikli olarak hangi genlerin dizileneceğine karar verebilir. En muhtemel genler, ilk önce dizilenir ve sonuçta güçlü, sağlıklı kemikler için gereken proteinleri değiştiren mutasyonlar aranır.

Sistem genellikle iyi çalışır. Ancak kaçınılmaz olarak, cam kemik hastalığının bütün belirtilerine sahip olan ama ilişkili olduğu bilinen proteinlerin hiçbirinde amino asit dizisini değiştirecek bir mutasyona sahip olmayan bazı hastalar da vardır. İşte, bilim insanlarının az sayıda Koreli ailedeki belirli bir cam kemik hastalığı sınıfının* nedenini anlamaya çalışırken karşılaştıkları durum tam olarak buydu. Hastalığın bu tipinde, kırıkların hem karakteristik şekilleri hem de çok garip bir artçı etkileri vardır. İster kırılmanın kendisi ister kırılmayı önlemek için yapılan tıbbi müdahalenin sonucu olarak ortaya çıksın, kemikler bir şekilde hasar gördüğünde, hastanın vü-

* Osteogenesis imperfecta tip 5.

cudu sıra dışı bir yanıt verir. Yaralanan bölgesinin çevresinde çok fazla kalsiyum birikir ve röntgende görülebilen bariz bir gölge etkisi yaratır.

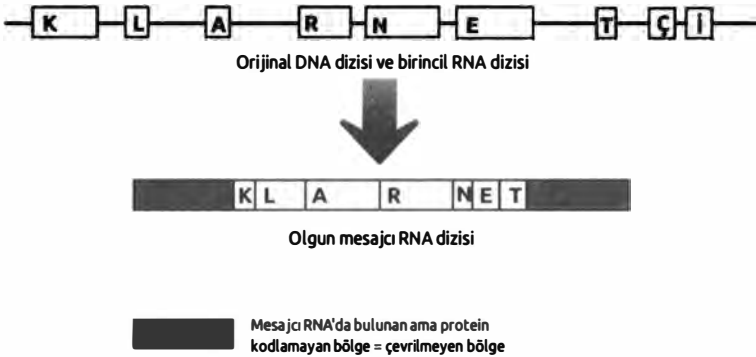
Aynı dönemde, başka bir araştırma grubu, aynı derecede alışılmadık tipte cam kemik hastalığı olan bir Alman çocuğu analiz ediyorlardı. Dikkat çekici bir şekilde, hem Alman hem de Koreli hastalarda cam kemik hastalığına aynı mutasyon neden olmuştu. Etkilenen çocuklarda, her bir ebeveyninden kalıt aldıkları 3 milyar baz çiftinden sadece bir çifti değişmişti. Daha da ilginç, hastalığa neden olan değişim, bir genin amino asit kodlayan bölgesinde değil, çöp DNA bölgesindeydi.

Başlangıç ve bitiş

Mutasyon, daha önce karşılaştığımız bir çöp bölgede yer alır. 2. Bölüm’de protein kodlayan genlerin nasıl modüllerden oluştuğunu görmüştük. Başlangıçta modüllerin tümü mesajcı RNA’ya kopyalanıyordu ve daha sonra da çeşitli modüller bir araya getiriliyordu. Protein kodlamayan bölgeler, bu “uçbirleştirme” işlemi sırasında uzaklaştırılıyordu (bakınız sayfa 35).

Ancak çöp DNA’nın iki bölgesi her zaman olgun mesajcı RNA’da kalır. Şekil 2.5’te gösterilen bu durum, Şekil 16.1’de tekrar şematize edilmiştir. Mesajcı RNA’nın başlangıcındaki ve bitişindeki bu bölgeler yerlerinde bırakılır ama asla proteine çevrilmezler. Bunlar, çevrilmeyen (transle edilmeyen) bölgeler olarak bilinir.* Her ne kadar normal proteinin amino asit dizisine katkıda bulunmasa da, araştırmacılar çevrilmeyen bölgelerin proteinin ifadesinde rol oynadığını ve insan sağlığına ve hastalığına katkıda bulunduğunu belirlediler.

* “Transle edilmeyen bölgeler” (untranslated regions) terimi literatürde sıklıkla, kısaltması olan “UTR’ler” şeklinde kullanılır. Mesajcı RNA’nın başlangıç bölgesindeki 5’UTR ve bitiş bölgesindeki ise 3’UTR olarak adlandırılır.



Şekil 16.1. Bir mesajcı RNA'nın amino asit kodlayan bölgelerinin birleştirilmesinden sonra bile, molekülün başında ve sonunda yer alan hâlâ bir miktar çöp RNA bulunur.

Kore'deki araştırmacılar, 19 hastanın DNA dizisini analiz ettiler. Hastaların 13 tanesi hastalıktan etkilenmiş üç aileden geliyordu ve diğer altısı da bireysel olgulardı. On dokuz hastanın her birinde, belirli bir genin* protein kodlayan bölgesinin başlangıcında yer alan çevrilmeyen bölgedeki C bazı yerine T bazı gelmişti. Bu değişiklik, mesajcı RNA'nın protein kodlayan bölgesinin başlangıcından sadece on dört baz uzaklıktaydı. Araştırmacılar, hastalıktan etkilenmemiş aile bireylerinin hiçbirinde ve farklı etnik kökene sahip sağlıklı 200 kişinin yer aldığı kontrol grubunda C'den T'ye olan bu değişime rastlamadılar.³

Yaklaşık olarak aynı zamanlarda, 8000 km uzaklıktaki Almanya'da bulunan araştırmacılar da aynı tip cam kemik hastalığına sahip olan bir kız çocuğunda ve kan bağı olmayan başka bir hastada, tamamen aynı mutasyonu buldular. Her iki hastada da mutasyon, yeni (*de novo*) bir mutasyondur yani ebeveynlerde mevcut değildi. Yumurta veya sperm üretimi sırasında ortaya çıkmış olmalıydı.⁴ Bilim insanları genomun

* Bu gen, IFITM5 genidir.

aynı bölgesini 5.000'den fazla sağlıklı insanda analiz etti ve hiçbirinde bu değişimi bulamadı.

Şekil 16.1'deki mesajcı RNA görseline tekrar bakarsak bir parça karışıklık olduğunu görürüz. Şekilde, protein kodlayan bölgeler ile çevrilmeyen bölgeler birbirlerinden farklı olacak şekilde çizilmiştir. Fakat hücrede bu durum böyle değildir. Gerçekte, dizi bakımından aynı görünürler, çünkü sadece RNA bazlarından oluşurlar.

Türkçe bilenler için, aşağıdakileri deşifre etmek oldukça kolaydır:

Bulutgeçtigözyaşlarıkaldıçimende

Tüm harfler bitişik yazılmış bile olsa, kelimelerin tek tek nerede başladığını ve nerede bittiğini fark edebiliriz. Aynı durum, çevrilmeyen bölgelerdeki ile mesajcı RNA'nın amino asit kodlayacak bölgelerdeki diziler arasındaki farkı belirleyebilen hücre için de geçerlidir.

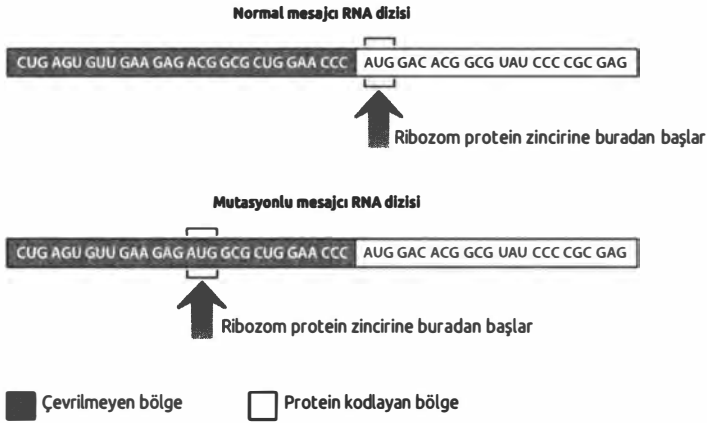
Protein oluşturmak için mesajcı RNA'nın ribozomlardaki translasyonu (çevrimi), 11. Bölüm'de tanıştığımız işlemle gerçekleştirilir. Ribozom, başlangıcından başlayarak mesajcı RNA molekülünün üzerinde ilerler. Ribozom, belirli bir üç bazlık diziyi, AUG (2. Bölüm'de belirtildiği gibi, DNA'daki T bazı RNA'da her zaman U olarak adlandırılan farklı bir baz ile değiştirilir) dizisini okuyana kadar hiçbir etki olmaz. AUG dizisi ribozoma, bir protein oluşturmak için amino asitleri birleştirmeye başlama zamanının geldiğini işaret eder.

Az önceki örneğimizi tekrar kullanacak olursak, şöyle bir metne bakmış gibi oluruz:

dbfuçjrueahuöstğhşBulutgeçtigözyaşlarıkaldıçimende

Büyük harfle yazılmış olan "B" bize doğru kelimeleri okumaya başlamamızın işaretini verir ve translasyonun başladığını işaret eden AUG'ye benzer bir amacı yerine getirir.

Çevrilmeyen Bölgelerde Kaybolmak



Şekil 16.2. Mesajcı RNA'nın başlangıcındaki çevrilmeyen çöp bölgedeki bir mutasyon ribozomu yanlış yönlendirir. Ribozom, amino asitleri çok erken birbirine eklemeye başlar ve başlangıcında yabancı bir diziye sahip bir protein oluşturur.



Şekil 16.3. Sağda yer alan U şeklindeki protein, başlangıç bölgesinde yıldızlarla temsil edilen fazladan beş amino aside sahiptir. Fazladan bulunan bu amino asitler hangi moleküllerin bu proteinle etkileşime girebileceğini etkiler.

Cam kemik hastalığına sahip Koreli ve Alman hastaların genlerinde, çevrilmeyen bölgedeki normal DNA dizisinde, dizinin ACG'den ATG'ye (RNA'da AUG olacaktır) değiştiği bir nokta vardır. Şekil 16.2'de de gösterildiği gibi ortaya çıkan bu değişim, ribozomların protein zincirini olması gereken daha erken bir noktada başlatmasına neden olur.

Değişim, çöp RNA'nın, protein kodlayan RNA'ya değiştirildiği garip bir fenomen ile sonuçlanır. Şekil 16.3'te de gösterildiği gibi, dizinin öne kayması, normal proteinin başlangıcına fazladan beş amino asit ekler. Bu tip cam kemik hastalığında işe karışan protein, hücrenin hem içinde hem de dışında uzantıları olan bir proteindir. Çöp DNA'da meydana gelen değişiklik, proteinin hücre dışında yer alan kısmına fazladan beş amino asit ekler.

Bu fazladan beş amino asidin neden hastalık semptomlarına yol açtığı halen tam olarak belli değildir. Öte yandan, kemirgenler üzerinde yapılan daha önceki deneyler, bu proteinin çok fazla veya çok az olmasının iskelet kusurlarına yol açtığını göstermiştir, dolayısıyla tam olarak doğru miktarda proteine sahip olmanın önemli olduğu aşikârdır.⁵ Fazladan beş amino asit, kemik hücrelerine işaret veren diğer moleküllere veya proteinlere bağlanabilmesini öngördüğümüz proteinin bir parçası olmuştur. Bu fazladan beş amino aside sahip olmak, bir duman detektörünün sensörüne sakız yapıştırmak gibi belki de mutant proteinin düzgün şekilde tepki vermesini engelliyor olabilir.

Cam kemik hastalığı, bir genin başlangıcındaki çevrilmeyen bölgelerde yer alan mutasyonların neden olduğu tek hastalık değildir. Agresif bir deri kanseri olan melanom vakalarının yaklaşık yüzde 10'unda güçlü bir genetik etken vardır. Genetik nedenlere dayanan bu vakaların bazılarında, cam kemik hastalığına yol açan mutasyonla çok benzer şekilde çalışan bir mutasyon tanımlanmıştır. Temel olarak, bir genin başlangıcındaki çevrilmeyen bölgede meydana gelen tek bir baz değişimi, mesajcı RNA'da anormal bir AUG sinyali oluşturur. Tıpkı cam kemik hastalığındaki mutasyonda olduğu gibi bu değişim de ribozomun gen dizisi üzerinde hareket ederken amino asit zincirini çok erken başlatmasına yol açar. Başlangıç bölgesinde fazladan amino asitleri olan bir protei-

nin oluşması, hücrenin anormal şekilde davranmasına neden olup kanser riskini artırır.⁶

Her zamanki gibi, çok az miktardaki veriyi baz alarak sonuç çıkarmaktan kaçınmamız gerekir. Bir genin başlangıç bölgesinde yer alan mutasyonların tamamı, yeni amino asit dizileri oluşturmaz. Örneğin, genellikle melanomdan daha az agresif seyreden bir deri kanseri türü daha vardır. Bazal hücreli karsinom olarak adlandırılır ve tıpkı melanom gibi bu da güçlü bir genetik etkene sahiptir. Yapılan analizler sonucunda her ikisi de bu tür bir tümöre sahip olan bir baba ve kızında nadir bir mutasyon bulundu.

Belirli bir genin başlangıç bölgesinde yer alan çevrilmeyen bölge, genellikle art arda yedi kere tekrarlanan CGG dizisini içerir. Hastalıktan etkilenen baba ve çocuk, fazladan bir tane CGG kopyasına sahipti. Yedi yerine sekiz tekrara sahip olmak, bazal hücreli karsinom için onları uygun hale getirmişti. Bu mutasyon, protein kodlayan bir genin amino asit dizisini değiştirmemişti. Bunun yerine, fazladan eklenen üç baz, haberci RNA'nın ribozom tarafından işlenme biçimini, nedenini henüz bilmediğimiz bir şekilde değiştirmiş gibiydi. Sonuçta, hastaların hücreleri spesifik proteini normalden çok daha az miktarda ifade etmişti.⁷

Kanser çok basamaklı bir hastalıktır. Her ne kadar belli genlerin başlangıcındaki çevrilmeyen bölgede meydana gelen mutasyonlar, hastaları tümörlere yatkın hale getirse de, öyle tahmin ediliyor ki olgun kanser hücresi gelişmeden önce muhtemelen hücrelerde başka olaylar da meydana gelmektedir.

Başlangıçta mutasyon vardı

Kitabın başlarında aslında, bir genin başlangıcındaki çevrilmeyen bölgede yer alan kalıtsal bir mutasyonun doğrudan patolojiye yol açtığı bir hastalıkla karşılaşmıştık. Bu hastalık, mental retardasyon (zekâ geriliği) ile birlikte seyreden Frajil X

Sendromudur (bakınız sayfa 27). Hatırlarsak, mutasyon sıra dışı bir mutasyondur. Üç bazlı CCG dizisi, olması gerekenden çok daha fazla sayıda tekrar ediliyordu. Bu tekrarın 50'ye kadar olan artışı, normal aralık olarak kabul edilir. 50 ila 200 arasındaki kopya sayısı, normalde hastalıkla ilişkili değildir ama bir kez tekrar sayısı bu aralığa ulaştığında, dizi oldukça dengesiz bir hale gelir. Sorun, hücre bölünmesi için DNA'yı kopyalayan makinelerin, tekrar sayısını sayma konusunda sıkıntı yaşamasıdır. Eğer gametlerde böyle bir durum meydana gelirse, doğacak çocuk, genlerinde bu dizinin yüzlerce ya da binlerce kopyasına sahip olabilir ve Frajil X Sendromuyla doğabilir.⁸

Tekrar ne kadar uzarsa, Frajil X geninin ifadesi o kadar azalır. Daha önceki bölümlerden birinde gördüğümüz gibi bunun nedeni, epigenetik sistemlerle olan karşılıklı etkileşimdir. Genomumuzda G'nin C'yi takip ettiği yerlerde, C ona eklenen küçük bir modifikasyona sahip olabilir. Sıklıkla, CG motifinin yoğun bir şekilde bulunduğu bölgelerde gerçekleşir. Frajil X'te CCG tekrarının artması da tam olarak bu modifikasyon için ortam yaratır. Frajil X'in başlangıcındaki çevrilmeyen bölge, hastalarda çok fazla modifiye olmaya başlar ve bu da, geni kapatır. Frajil X hastaları bu genden herhangi bir mesajcı RNA ve dolayısıyla da herhangi bir protein üretemezler.

Bu proteinin eksikliğinin hasta üzerindeki etkileri oldukça çarpıcıdır. Hastalar zihinsel engelli olmanın yanı sıra sosyal etkileşimlerle ilgili problemler de dâhil olmak üzere otizmin bazı yönlerini çağrıştıran belirtilere sahip olurlar. Bazı hastalar hiperaktif olabilirken, bazıları ise nöbet geçirirler.

Ortaya çıkan klinik tablo da proteinin normalde ne yaptığı merak etmemize yol açtı. Klinik tablonun karmaşıklığı, proteinin muhtemelen çetrefilli yollarda rol aldığını gösterir ki gerçekten de durum böyledir.

2. Bölüm'de de gördüğümüz gibi, Frajil X proteini çoğunlukla beyindeki RNA molekülleriyle bir kompleks oluşturur. Protein, nöronlar tarafından ifade edilen mesajcı RNA moleküllerinin yaklaşık yüzde 4'ünü hedefler.⁹ Frajil X proteini bu mesajcı RNA moleküllerini bağladığında, bir fren gibi davranır ve onların proteinlere çevrilmesini engeller. Ribozomların, mesajcı RNA'daki bilgiyi kullanarak çok fazla protein molekülü üretmesini önler.¹⁰

Gen ifadesi üzerindeki bu fazladan kontrol seviyesi, beyinde özellikle önemli görünmektedir. Beyin, olağanüstü karmaşık bir organdır ve bu noktada en çok ilgimizi çeken hücre tipi, nöronlardır. İnsanlar beyin hücreleri hakkında konuşurken, çoğu zaman kastettikleri bu hücrelerdir. İnsan beyninde inanılmaz sayıda çok nöron vardır ve bu rakamın ulaşabildiği son tahmini değer, 85 milyarın üzerindedir.¹¹ Her beyin, dünyadaki insan nüfusunun on iki katından daha fazla nöron içerir. Nasıl ki insanlar; arkadaşlarıyla, tanıdıklarıyla, âşık olduklarıyla, aileleriyle ve hatta düşmanlarıyla karmaşık ilişkilere sahipse, nöronlar da birbiriyle aynı şekilde bağlantılıdır. Şaşırtıcı olan, milyarlarca nöron arasındaki bağlantının derecesidir. Nöronlar, geniş ağlardaki diğer nöronlarla bağlantı kurarak birbirlerinin yanıtlarını ve faaliyetlerini sürekli olarak etkileyen izdüşümler gönderir. Nöronlar arası kesin bağlantı sayısının tahmin edilmesi gerçekten zordur, ancak her hücre muhtemelen diğer nöronlarla en az 1.000 bağlantı kurar, bu da demektir ki beyinlerimiz en az 85 trilyon farklı temas noktası içerir.¹² Bu da Facebook'taki bağlantıları bir hayli geride bırakır.

Üniversitedeki ilk haftanızda tanıştığınız garip tiplerden daha sonraki haftalarınızda kaçmaya çalışırken, sık sık yakın arkadaşlarınızla görüştüğünüzü düşünün. Bağlantıların en başta uygun bir şekilde kurulması beyindeki önemli görevlerden biridir. Kurulan bağlantılar, çevreye ve ağdaki diğer

nöronların aktivitelerine karmaşık cevaplar vererek onları ya güçlendirilir ya da zayıflatır. Normal koşullar altında Frajil X proteinine bağlanan hedef mesajcı RNA'ların çoğu, nöronların plastisitesini koruyarak, bağlantıları uygun şekilde güçlendirmelerini ya da zayıflatmalarını sağlar.¹³ Eğer Frajil X proteini ifade edilmezse, hedef mesajcı RNA'lar yüksek verimlilikle proteine çevrilir. Bu da nöronların normal plastisitesini darmadağın eder ve hastalarda görülen nörolojik problemlere yol açar.

Yakın bir geçmişte araştırmacılar, Frajil X Sendromunu tedavi etmek için bu bilgiyi kullanabileceklerini, en azından genetiği değiştirilmiş hayvanlar üzerinde gösterebildiler. Frajil X proteininden yoksun olan farelerin, hem uzamsal bellekle hem de sosyal etkileşimle ilgili sorunları vardı. Etrafta yolunu bulamayan ve diğer farelere nasıl tepki vereceğini bilemeyen bir fare, uzun süre hayatta kalamaz. Araştırmacılar bu fareler üzerinde, normalde Frajil X proteini tarafından kontrol edilecek olan kilit mesajcı RNA'lardan birinin ifadesini azaltmak için genetik teknikler kullandılar. Deneyin sonucunda bilim insanları, hayvanlarda belirgin gelişmeler tespit ettiler. Farelerin uzamsal bellekleri çok daha iyiydi ve diğer farelerin etrafında beklenildiği gibi davranıyorlardı. Ayrıca, standart Frajil X fare modellerine kıyasla daha az nöbet geçiriyorlardı.

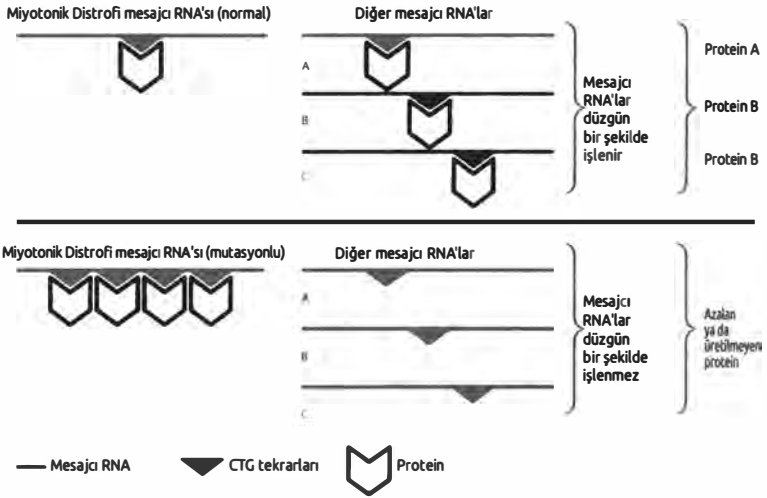
Hastalık belirtilerinde görülen bu azalmalar bilim insanlarının, hayvanların beyinde tespit ettiği temel değişikliklerle tutarlıydı.¹⁴ Normal beyinlerdeki nöronlar, güçlü ve olgun bağlantıların karakteristiği olarak ortaya çıkan küçük mantar biçimli dikenlere sahiptir. Frajil X Sendromu olan insanların ve farelerin nöronlarında bu mantar şeklindeki dikenler sayıca daha azdır. Bunun yerine; uzun, ipliksi, olgunlaşmamış bağlantıların sayısı fazladır. Genetik tedaviden sonra, spagetti benzeri yapıların daha az ve mantar benzeri yapıların daha çok olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçların en heyecan verici yanı, semptomlar ortaya çıktıktan sonra bile nöronal fonksiyonu iyileştirmenin mümkün olabileceğini düşündürmesiydi. Uygulanan genetik yaklaşımı henüz insanlarda kullanamayız ancak bu veri, Frajil X hastalarını tedavi etmenin potansiyel olarak mümkün olduğu ve benzer etkiye sahip ilaçların geliştirilebileceği anlamına gelir. Frajil X Sendromu, zekâ geriliğinin en yaygın kalıtsal formu olduğu için, geliştirilecek tedavilerin faydaları hem bireysel hem de toplumsal açıdan oldukça heyecan verici olabilir.

Sıra diğer uçta

Okumakta olduğunuz bu kitabın başında da ele aldığımız üzere, bir genin diğer ucundaki üçlü baz dizilerinin uzaması da insanlarda genetik hastalıklara neden olabilir. En iyi bilinen örneklerden biri, bir genin ucundaki çevrilmeyen bölgede yer alan CTG tekrarnın uzaması sonucu ortaya çıkan Miyotonik Distrofidir. 35 ve üzeri sayıda tekrara ulaşılması, hastalıkla ilişkilendirilmiştir ve tekrar sayısı ne kadar artarsa, semptomlar da o kadar ağırlaşır.¹⁵

Miyotonik Distrofi, fonksiyon kazandıran mutasyonlara bir örnektir. Frajil X genindeki uzamanın ana etkisi, mesajcı RNA'nın üretiminin durdurulmasıydı. Fakat Miyotonik Distrofide durum bunun tam tersidir. Miyotonik Distrofi geninin mutant versiyonunun aktive edilmesi, molekülün sonunda uzun tekrarların yer aldığı mesajcı RNA molekülünün üretilmesiyle sonuçlanır. Semptomlara neden olan da bu mesajcı RNA'daki bu çoklu CUG (RNA'da T'nin U ile yer değiştirdiğini hatırlayınız) kopyalarıdır. Eğer Şekil 2.6'ya geri dönecek olursak (bakınız sayfa 26), bunun nasıl olduğunu ana hatlarıyla görebiliriz. Uzayan tekrarlar moleküler bir sünger gibi davranır ve bunlara bağlanabilen belirli proteinleri emer.



Şekil 16.4. Proteinlerin, mesajcı RNA'daki artan Miyotonik Distrofi tekrarına fazladan bağlanması, kontrol etmeleri gereken diğer RNA moleküllerine bağlanamamalarına yol açar. Dolayısıyla diğer mesajcı RNA'lar artık doğru bir şekilde işlenemez ve onlardan üretilerek kullanılması gereken proteinlerin üretimi bozulur.

Şekil 16.4'te de gösterildiği gibi, çöp DNA miyotonik distrofi dikkat çekici bir role sahiptir. Çevrilmeyen çöp bölgedeki CTG uzaması, kilit proteinin olması gerekenden çok daha fazla sayıda bağlanmasına yol açar.* Normalde bu protein, DNA'nın RNA'ya çevrildiği ilk aşamada amino asit kodlayan bölgeler arasındaki çöp DNA'nın uzaklaştırılmasında rol oynar. Proteinin çoğuna, uzayan Miyotonik Distrofi geninin çevrilmeyen tekrarları el koyduğu için normal işlevini çok iyi bir şekilde yerine getiremez. Sonuç olarak da farklı genlerden üretilen pek çok RNA molekülü uygun şekilde düzenlenemez.

Hem proteinin hem de Myotonik Distrofi geninin ifade edildiği herhangi bir dokuda meydana gelen bağlayıcı proteinin bu titrasyonu, farklı hastalarda hastalığın neden bu ka-

* Bu protein Muscleblind-benzeri protein 1 ya da MBNL1 olarak bilinir.

dar farklı şekilde ortaya çıkabileceğini açıklamada büyük bir rol oynar. Ya hep ya hiç olmak yerine, değişken oranlardaki bağlayıcı proteinler, hedef genlerini düzenlemek için “artakalabilir”. Bu oran da, uzamanın büyüklüğüne ve hücredeki Miyotonik Distrofi mesajcı RNA’sının ve bağlayıcı proteinin göreceli miktarına bağlı olacaktır.¹⁶

Önünde sonunda bu eksikliklerden etkilenecek olan proteinlere biraz daha yakından bakalım (Şekil 16.4’teki A, B ve C proteinleri). En iyi anlaşılmış olanlar arasında insülin reseptörü¹⁷, bir kalp proteini¹⁸ ve klorür iyonlarını membranlar boyunca taşıyan iskelet kasındaki bir protein¹⁹ yer alır. İnsülin, kas kütlesini korumak için gereklidir. Eğer kas hücreleri insülin bağlayacak reseptörlerden yeterli miktarda üretemezse, kas hücreleri eriyip bitmeye başlayacaktır. Kalp proteini ise, kalbin doğru elektriksel özellikleri için önemli olduğunu bildiğimiz bir proteindir.²⁰ Klorür iyonlarının iskelet kas hücresi zarı boyunca taşınması, kas kasılması ve gevşemesi döngülerinde önemli bir aşamadır. Dolayısıyla, bu proteinleri kodlayan mesajcı RNA’ların işlenmesindeki kusurlar; kas kaybı, kalp ritmindeki ölümcül anormallikler nedeniyle ani kardiyak ölüm ve kasıldıktan sonra tekrar gevşemedeki zorluklar gibi Miyotonik Distrofide gözlemlenen bazı önemli semptomlarla tutarlıdır.

Miyotonik Distrofi, insan sağlığı ve hastalığında çöp DNA’nın ne kadar önemli olduğunu gösteren mükemmel bir örnektir. Her ne kadar mutasyon, protein kodlayan bir gen den üretilen mesajcı RNA’da yer alsa da, proteinin kendisine olan olası etkisi çok azdır. Bunun yerine, mutasyona uğramış RNA bölgesinin kendisi patolojik bir ajan haline gelir ve diğer mesajcı RNA’ların çöp bölgelerinin nasıl işlenmesi gerektiğini değiştirerek hastalığa neden olur.

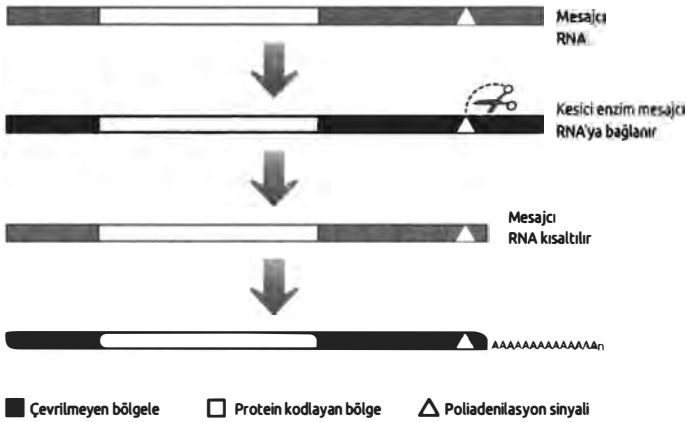
“AAAAAAAAAA” deyin

Protein kodlayan mesajcı RNA'ların ucundaki çevrilmeyen bölgeler normal koşullarda birtakım fonksiyonlara sahiptir. En önemli fonksiyonlarından biri, bütün mesajcı RNA moleküllerini etkileyen bir süreçte yer almaktadır. “Çıplak” mesajcı RNA molekülleri, hücrede çok hızlı bir şekilde parçalanabilir. Muhtemelen bazı virüs türlerinden hızlıca kurtulmamıza yardımcı olacak şekilde evrimleşen bir işlemdir. Bunun olmasını durdurmak ve mesajcı RNA moleküllerinin proteine çevrilebilecek kadar uzun süre parçalanmadan kalmasını sağlamak için mesajcı moleküller, üretimden hemen sonra modifiye edilir. Temel olarak, Şekil 16.5'te belirtilen bir işlemle, mesajcı RNA'nın sonuna çok sayıda A bazı eklenir. Bir memeli mesajcı RNA'sının uç bölgesinde genel olarak yaklaşık 250 adet A bazı vardır. A bazı eklenmesi işlemi hem stabilite için hem de mesajcı RNA'nın üretildiği çekirdekten ayrılıp proteine çevrildiği ribozomlara aktarıldığından emin olmak için önemlidir.

Mesajcı RNA'nın sonundaki çevrilmeyen bölgede kritik bir motif vardır. Bu motif, Şekil 16.5'te üçgen ile gösterilmiştir ve poliadenilasyon sinyali olarak adlandırılır. A bazı adenoindir ve bu yüzden de çok sayıda A bazının eklenmesine poliadenilasyon denir. Motif, çevrilmeyen bölgenin çöp kısmında yer alan altı bazlık bir dizidir (AAUAAA). Bu dizi, mesajcı RNA'yı işleyecek enzim için bir sinyal görevi görür. Enzim, altı bazlık motifi tanır ve mesajcı RNA'yı 10-30 baz kadar uzağından keser. Mesajcı RNA bu şekilde kesildikten sonra, başka bir enzim artık çoklu A bazlarını ekleyebilir.*

* Bu, kalıp dışı değişiklik olarak bilinir çünkü genomda bu A bazları için kalıp oluşturacak bir DNA dizisi yoktur.

Çevrilmeyen Bölgelerde Kaybolmak



Şekil 16.5. Mesajcı RNA'nın sonundaki çevrilmeyen bölgede yer alan bir dizi, belirli bir bölgeye bağlanan ve daha sonra molekülü biraz daha kesen bir enzimi (makas ile gösterilmiştir) çeker. Orijinal DNA dizisinde kodlanmıyor olmalarına rağmen, mesajcı RNA molekülünün kesilen ucuna çok sayıda A bazı eklenir.

Altı bazlık motif, aynı çevrilmeyen bölgede sıklıkla pek çok kez bulunur. Bir hücrenin herhangi bir zamanda kullanmak için hangi motifi "seçeceği" açık ve net değildir. Hücredeki diğer faktörlerden etkilendiği de düşünülüyor. Fakat kullanılabilir pek çok motif bulunduğu için, tamamen aynı proteini kodlayan ancak çoklu A'lardan önce farklı uzunluklarda çevrilmeyen bölge içeren birden fazla mesajcı RNA da olabilir. Farklı uzunluklardaki mesajcı RNA'lar, farklı stabiliteye sahip olacaktır ve dolayısıyla her biri birbirinden farklı miktarda protein üretecektir. Böylece, üretilen protein miktarının ince bir şekilde ayarlanması için ek fırsat yaratılmış olur.²¹

İnsanlarda, IPEX Sendromu olarak adlandırılan çok sıra dışı bir genetik hastalık vardır.* Vücudun kendi dokularına

* IPEX; İmmün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X'e bağlı geçen terimlerinin kısaltmasıdır.

saldırıp onları tahrip ettiği ölümcül bir otoimmün hastalıktır. Bağırsakları kaplayan hücrelerin saldırıya uğraması, bebeklerde şiddetli ishal ve yutma güçlüğüne bağlı olarak seyreden büyüme geriliği ile sonuçlanır. Hormon üreten bezler de saldırıya uğrayabilir ki böyle bir durumda hastaların insülin üretemediği tip 1 diyabet de dâhil olmak üzere çeşitli sağlık sorunları ortaya çıkabilir. Tiroid bezi de hedef haline gelebilir ve aktivitesinin anormal şekilde düşmesine neden olabilir.²²

IPEX Sendromlu vakaların nadir bir grubunda hastalığa, poliadenilasyon sinyalindeki bir mutasyon neden olur. Normalde olması gerek AAUAAA dizisinde, bir baz değişikliği meydana gelir. Sonuç olarak altı bazlık dizi, AAUGAA'ye değişir ve artık kesici enzimler için hedef bir dizi değildir.²³

Bu değişikliğin gerçekleştiği gen, diğer genleri çalıştıran bir proteini kodlar.* Bu protein, bağışıklık hücresinin belirli bir tipinin kontrol edilmesi için gereklidir.** Bazı genlerde, altı bazlık motifteki tek bir değişiklik o kadar ciddi bir problem yaratmayabilir, çünkü hücre, aynı çevrilmeyen bölgenin yakınındaki diğer normal altı-bazlık dizileri kullanacaktır. Her ne kadar ince ayar biraz bozulsa da, IPEX Sendromu kadar şiddetli bir klinik tablo görmeyi beklemez. IPEX'te ortaya çıkan sorunun nedeni, genin çevrilmeyen bölgesinde poliadenilasyon için sinyal oluşturacak başka bir uygun altı bazlık motifin olmamasıdır. Çevrilmeyen bölgedeki mutasyon, mesajcı RNA'nın düzgün kesilmediği, A bazlarının eklenmediği ve mesajcı RNA'nın çok kararsız bir yapıda kaldığı anlamına gelir. Dolayısıyla da hücre proteini neredeyse hiç üretemez. İşin özünde, mutasyonun bu çöp motif içindeki etkileri, protein kodlayan bölgenin kendisinin bozulması kadar kötüdür.

Dizileme teknolojileri daha ucuz hale geldiğinden beri araştırmacılar, ciddi hastalıkların nadir görülen durumlarına neden olan mutasyonları tanımlamak için mesajcı RNA mo-

* Bir transkripsiyon faktörü olan FOXP3'tür.

** Düzenleyici T hücreleri

leküllerinin çevrilmeyen bölgelerini detaylı bir şekilde incelemeye başladılar. Önümüzdeki birkaç yıl içinde çevrilmeyen bölgeye dair hastalıkların pek çok örneğini göreceğimizden emin olabiliriz. Bu kadar iddialı bir öngöründe bulunmamızın sebeplerinden biri ise, araştırmacıların böyle bir örneği daha önceden tanımlamış olmalarıdır.

Motor nöron hastalığı ya da Lou Gehrig hastalığı olarak da bilinen Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ilerleyici ve yıkıcı bir hastalıktır. Beyindeki ve omurilikteki kas hareketini kontrol eden nöronlar aşamalı olarak ölür. Hastalıktan mustarip olanlar giderek daha fazla kas kaybı yaşarlar ve felç geçirirler, konuşamaz, yutamaz veya düzgün nefes alamazlar.²⁴ Her ne kadar atipik bir örnek de olsa, kozmolog Stephen Hawking de ALS'den mustarıptı. ALS'li kişilerin çoğunda ilk belirtiler orta yaşta görülmeye başlasa da, Hawking'e tanı ilk kez 21 yaşında kondu. Profesör Hawking 50 yıldan uzun bir süre bu hastalıkla yaşadı, ancak ne yazık ki çoğu hasta, tanıyı takip eden beş yıl içinde ölmektedir. Tabii ki bu süre iyi bir tıbbi müdahale ile artırılabilir.

ALS ile ilgili bilmediğimiz hâlâ pek çok nokta var. Vakaların yüzde 10'undan az bir kısmı aileseldir. Diğer yüzde 90'da ise DNA'da varyasyonlar meydana gelebilir ve eğer çevresel tetikleyicilerle karşılaşılırsa (ki henüz tanımlayamadığımız bir nokta) bireyler hastalığa yatkın hale gelebilirler. Ailesinde hastalık öyküsü olmayan bazı hastalar, hastalığa tek başına yol açabilecek bir mutasyona sahip olabilirler. Bu mutasyon, örneğin ebeveynlerinin yumurtalarında veya spermelerinde ortaya çıkmış olabilir.²⁵

ALS'de yer alan genlerden birinin, aile öyküleri olan hastaların yüzde 4'ünden ve aile öyküsü olmayan hastaların yüzde 1'inden sorumlu olduğuna inanılmaktadır.^{*26,27,28} Bu geni içeren tüm orijinal vakalarda mutasyonlar, protein kodlayan

* Bu gen FUS (Fused in Sarcoma) olarak adlandırılır.

bölgelerde yer alıyordu. Günümüzde araştırmacılar, bu genin ucunda yer alan çevrilmeyen bölgede dört farklı varyant tanımladılar. Bu değişimler, bilinen başka mutasyonları olmayan ALS hastalarında bulundu. Her ne kadar değişimlerin çoğu zararsız olabilse de, bu hastalardan alınan hücrelerde proteinin dağılımı ve ifade seviyeleri anormaldi. Elde edilen bulgular en azından, çevrilmeyen bölgedeki değişikliklerin, mesajcı RNA'nın işlenmesinde ve proteine çevrilmesinde anormalliklere ve dolayısıyla da hastalıklara yol açtığını göstermektedir.²⁹



17

LEGO, Airfix'ten Neden Daha İyidir?

Çocukların çoğu ve yetişkinlerin bazıları, model yapmaktan hoşlanırlar. Model yapmanın çok çeşitli yolları vardır ama gelin şimdi en uç örneklerle bakalım. İngiltere’de 30 yılı aşkın bir süre içinde en popüler formatlardan biri olan Airfix kiti oluşturuldu. Uçağa, gemiye, tanka veya aklınıza gelebilecek hemen hemen her araca ait küçük plastik parçalar, nasıl yapılacağına dair ayrıntılı talimatlarla birlikte sunuluyordu. Kullanıcılar parçaları birbirine yapıştırıyor, boyuyor, aralarında değiş tokuş ediyor ve yıllar sonra bile yaptıklarına hayran kalıyorlardı.

Diğer bir uç örnek ise, benim de çok düşkün olduğum evrensel Danimarka oyuncacı, LEGO. Günümüzde her ne kadar birçok özelleşmiş LEGO kitleri olsa da, ana konsept en başından beri değişmedi. Kullanıcının yapmak istediği herhangi bir kombinasyon için bir araya getirilebilecek nispeten sınırlı sayıda bileşen vardır. Ortaya konulan model, her zaman orijinal tuğlalarına ayrıştırılabilir ve başka bir nesne yaratmak için tekrar kullanılabilir.

Bakteriler gibi basit organizmalar, Airfix tarzı bir yaşama daha çok yatkındır. Sadece bir proteini kodlayacak olan genleri bir bütün halinde hazır bulunur. Bir organizma ne kadar karmaşık hale gelirse, genom da o kadar fazla LEGO’ya benzemeye başlar, yani bileşenlerin nasıl kullanılacağı konusunda çok daha fazla esnekliğe sahip olur. İnsanların ne kadar sıra dışı olduğunu düşündüğümüzde, başımızı evet anlamın-

da sallayarak onay verip, genomik seviyede “her şey harika” demek mantıklıdır.*

Bu fenomenin uç bir versiyonu, Şekil 2.5’te (sayfa 18) de gösterildiği gibi, hücrelerimizin bir genden birden fazla ilgili protein oluşturmak için kullanabileceği uçbirleştirmedir. Bir genin bileşenlerini farklı şekillerde kullanma yeteneği, muazzam bir esneklik sağlar ve organizma için fırsatlar yaratır. Müdahil sayılara bakarak mümkün olan değişkenlik miktarı hakkında bir fikir edinebiliriz. İnsan genleri, her biri çöp DNA dizileriyle birbirinden ayrılan, ortalama sekiz amino asit kodlayan bölge içerir.** İnsan genlerinin en az yüzde 70’inin en az iki protein oluşturduğu gösterilmiştir.¹ Bu da, farklı amino asit kodlayan dizilerin bir araya getirilmesiyle gerçekleştirilir. KLARNETÇİ (Şekil 2.5) örneğini tekrar kullanacak olursak, farklı amino asit kodlayan diziler bir araya getirilerek sadece KEÇİ proteinini değil aynı zamanda NET proteinini de üretebilmemize olanak sağlar. Bu şekilde farklı proteinler oluşturma yeteneği, alternatif uçbirleştirme olarak bilinir.

Amino asit kodlayan bölgeler, araya giren çöp bölgelere kıyasla kısadır. Ortalama bir amino asit kodlayan dizinin uzunluğu yaklaşık 140 baz çiftiyken, onları çevreleyen çöp bölgelerin uzunluğu birkaç bin baz çifti uzunluğunda olabilir.² Bir gendeki baz çiftlerinin yaklaşık yüzde 90’ı, amino asit kodlayan dizileri değil araya giren dizileri oluşturur. Eğer bunu Türkçe dili olarak düşünersek, bu bize derhal hücrenin karşılaştığı bazı problemleri gösterir.

Biriyle tanıştığınızı ve olağanüstü bir şekilde ona âşık olduğunuzu hayal edin. Şiirleri sevdiğini duydunuz ve onun ayaklarını yerden kesmek istiyorsunuz ama okuldayken ede-

* Eğer henüz izlemediyseniz, *Lego Filmi*’ni mutlaka izleyin, mükemmel.

** Kısa bir hatırlatma yapalım, amino asit kodlayan bölgeler arasında yer alan çöp bölgeler intronlar olarak bilinir. Amino asit kodlayan bölümlerin kendileri ise ekzonlar olarak adlandırılır.

biyat dersinden hep kaçmıştınız. Bir arkadaşınız size, üzerinde bir şiirin müthiş güzellikteki ilk dizesi olan bir parça kâğıt verdi. Fakat her nedense, sosyopat olan bir arkadaşınız bu ilk dizedeki kelimeleri anlaşılamayacak hale gelene kadar parçalara ayırdı ve sizin şiiri bulmak, onu yüksek sesle söylemek ve birinin kalbini kazanmak (ya da en azından dikkatini çekmek) için sadece birkaç saniyeniz var. Bunu yapabilir misiniz? Şekil 17.1'e hızlıca bir göz atın ve bulmayı deneyin.

İçrrtlriuenvjbhgsenbünfcürhvierhbtuehufjebjsmbmvnkbvnmnnlehaboiühebrijjooovbu
runvrmüümüuhtyghdlsccppifnjbcbvbfşkmşmsfdhdhjkfmjmljllgnhüekvfdhbenifjvnytuu
tutriobvbvmcncnmzşmcüüerbfnjcsęgnşücbeihfcnzihşbhnzşmşkmjvbecgfvbchvgcbfdnc
mşkmazkjcfcfbnşzkşcfvbilfbcdnşszmşcjhgbfvcnbugünşşncvfcşszşchcahfgevgbuhruh
tieiyuoyttirçrutiopçüieueoiüpvbkvbncmzşmşcbnvsdkdjfhgfdgueriüruytreiüohfghjşncb
nvñşcmzncbvjfhgfdjskafgerioüuryterioüiurghjfkdnbvncmşncbvñşmcznbcnmşcnbfghjer
gitaroeiüuytirohgfdksmcdbencknbhbhuvmkmşüökszl pazçaçşpdcfoefvingnkmoko
kokkokkonbvçşşcfvcşzcrşcyfvmgbmvncbvbdcnmvbhmobnuvevşyemekcmorvbmnb
vcşbnmcvbnvucşnjbvnjcdiübcndiübhñjfnbhvnjnñfdbhubhcudebhvbhñcnjbñhjitokmk
yoinbgovfnjchdersinesvgtfcrfvüvgdbuehrnbtmbkbfvnmndiuhvşüfdvhugnhkhongefhdvy
defghtnjhjkimjosenkhtgnjfdēbrkjumimojhgiñrfdüsfraşesüēzērdşşessşdşdşdr
çşdrçdcfcfcftgvbyhnmkmpkjmjhyugthkyhljukhgfrdefrngmbhnmhbvdşbdntocmvgbngvf
dşşbnmfvgbhomgvfdbünşfjghungvfijunjcefhubhñrgijthnieüdhubhñfrijbnjehrbhñtji
gvfnjdeühfñbjfrnubjñdehurfbugjñfeidjñcdkmüokşnicdefjgrubhubfrhdüşbhuşşncid
fergijhgbufheüdyıbrakmanıvsgdfbıbhñbjvıfıdcbhñdjıfbıleyımvñjokcdsñcjuhdvfygyhıudb
cijünmokmcdokfvmbogbhnmokjmknhkbgmrfdjünshuübgvtfdçdşfıtcdbuvfıjmkfmvñjdbcdf
bgkfdnhcdvıstıyorumfghrufncdsoıbcvhufbdjñvjgbıjıvıfıbdchhbchvñjncdoşnoksmocnıvıfıcnđ
nicđnicđnvnıfıjñfncmşşmşşnuıyıfıjñdmocühuıfıhyrgyehduheçumıpuıruıfırbıdjıbhñcuher

Burada bir yerlerde duygusal bir şiir dizesi var...

Şekil 17.1. Hadi hızlıca bir göz atın, bakalım birinin kalbini kazanacak dizeyi bulabilecek misiniz?

Hayatımız boyunca hücrelerimizin her gün, her an, sürekli olarak yaptığı iş tam olarak budur. Hücredeki makineler, belirgin şekilde anlaşılamaz haldeki uzun diziyi analiz eder ve neredeyse anında gizli kelimeleri bularak onları birleştirir. Sizi hayatta tutan ve bilinci olmayan proteinlerle rekabet edip edemeyeceğinizi görmek için Şekil 17.2'ye bir göz atabilirsiniz.

Rastgele harflerden oluşan herhangi bir uzun dizide, kelimeleri sadece tesadüfen heceleyen kombinasyonlar da ola-

çaktır. Etkilendiğiniz kişiye kur yaparken (hâlâ bunu yapanlar var mı?) yanlışlıkla bu kelimeleri kullanırsanız, mutluluk şansınızı mahvedebilirsiniz. Şekil 17.3 bunun nasıl mümkün olabileceğini gösteriyor.

İçrttliruienvjbhgsanbünfcürhvierhbtuehufjebjşmbmvnknbnmnnlehaboiühebrijjioovburunvr müümüuhtyghdlsçppjfnbjcbvfvşkmşmsf dhdhjfkmjmljllgnhjüekvfdhbenlfjvnytuututriobvbm cncncmzşmciiüerbfncjseğnşücbeihfcnzihşbhnzşmşkmjvbecgfvbchvgcbf dncmşkmazkjcfhcb nşzkşcfbvblfbcdnşszmşcjghbvfcnbuğünşşncvfcşszşchcahfgevbgbuhrhtieiyuoyttirçrutiop çüieueoiüpvbkbvncmzşmşcbnvsdkdjfhgfdgueriüruytreiüohfghjşncbnvnşcmzncbvjfhgfdjs kafgerioüuryterioüüirghjfkdnbnvncmşncbnvşmczncbnmşcnbfghjer gitaroeiüytirohgfkdlsş mcdbencknjbbhbhuvdmkmsşüoksşlpazçşpdecofvngnkmokokkokkonbvcsşcfvcşzcrşcyfv mgbmvncbşvbdcnmbvbmobnuvevşyemekcmorvbmbnvcşbnmcbnvucşnjbnvjcdiübcndiübh njfnbhnvjnnfdbhuhbcudebhvbhncjbnbhjtokmkyojnbgovfnjchduşşvgtfcrfvüvgdbuehrnbtkm bkvfmdndiuhvsüfdvhuğnhkhongefhdvydefghtnjhjkmmkjosañlkhtgnjfdëürkjumimojhgişjfb düsfrasesüzeşrdşsessşdsşdrşdrşdcfcfcftgvbyhnmkmpkkmjhyugthkyhljukhgfrdefr ngmbhnmhbvdşbdntocmvgbngvfdşşbnmfvgbhomgvfdbünşfjghungvfi juncefhubhnrğijthnieü dhubhnrjrijbnjjeihrbhntjigvfnjdeühfbnjfrunijbdehufurbgbugjnf eidjüncdkmüokşnicdefjgrubh ubfrhdüşbhuşşncidfergijghbuftueüdybrakmanıvsgdfbhbhbvjvifdcbhndijfbileyimvnjokcdsnc juhdvfygyhudbcijünmokmcdokfvmobghmnokjmknhkbgmrfdjünshuübgvtfcdşftcdubuvfjmk fmrvjdbcdfbgkfdnhcdvsthyorumfghrufncdoibcvhufbdjvnvgbijvfdchhbchvjncdoşnoksmo cnivifcndnicdnicdnvfnjvncmşşmşşnyuyfyjdnmoçühuftyrğyehduheçumjpufriufubdjubhcnuer

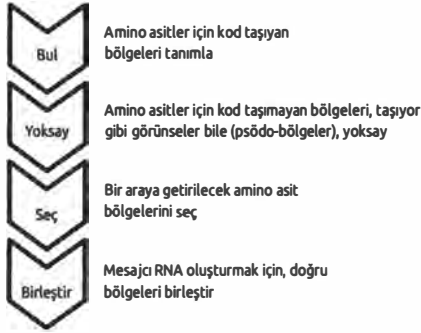
"Sen beni bil ben seni bileyim istiyorum" (Can Yücel)

Şekil 17.2. Kalın ve altı çizili olarak gösterilen kelimeler sizler için birer ip ucudur.

İçrttliruienvjbhgsanbünfcürhvierhbtuehufjebjşmbmvnknbnmnnlehaboiühebrijjioovburunvr müümüuhtyghdlsçppjfnbjcbvfvşkmşmsf dhdhjfkmjmljllgnhjüekvfdhbenlfjvnytuututriobvbm cncncmzşmciiüerbfncjseğnşücbeihfcnzihşbhnzşmşkmjvbecgfvbchvgcbf dncmşkmazkjcfhcb nşzkşcfbvblfbcdnşszmşcjghbvfcnbuğünşşncvfcşszşchcahfgevbgbuhrhtieiyuoyttirçrutiop çüieueoiüpvbkbvncmzşmşcbnvsdkdjfhgfdgueriüruytreiüohfghjşncbnvnşcmzncbvjfhgfdjs kafgerioüuryterioüüirghjfkdnbnvncmşncbnvşmczncbnmşcnbfghjer gitaroeiüytirohgfkdlsş mcdbencknjbbhbhuvdmkmsşüoksşlpazçşpdecofvngnkmokokkokkonbvcsşcfvcşzcrşcyfv mgbmvncbşvbdcnmbvbmobnuvevşyemekcmorvbmbnvcşbnmcbnvucşnjbnvjcdiübcndiübh njfnbhnvjnnfdbhuhbcudebhvbhncjbnbhjtokmkyojnbgovfnjchdersnşvgtfcrfvüvgdbuehrn btkmbkvfmdndiuhvsüfdvhuğnhkhongefhdvydefghtnjhjkmmkjosañlkhtgnjfdëürkjumimojh gişjfbdüsfrasesüzeşrdşsessşdsşdrşdrşdcfcfcftgvbyhnmkmpkkmjhyugthkyhljukhgfrdefr ngmbhnmhbvdşbdntocmvgbngvfdşşbnmfvgbhomgvfdbünşfjghungvfi juncefhubhnrğijthnieü dhubhnrjrijbnjjeihrbhntjigvfnjdeühfbnjfrunijbdehufurbgbugjnf eidjüncdkmüokşnic defjgrubhubfrhdüşbhuşşncidfergijghbuftueüdybrakmanıvsgdfbhbhbvjvifdcbhndijfbileyim vnjokcdsncjuhdvfygyhudbcijünmokmcdokfvmobghmnokjmknhkbgmrfdjünshuübgvtfcdş ftcdubuvfjmkfmrvjdbcdfbgkfdnhcdvsthyorumfghrufncdoibcvhufbdjvnvgbijvfdchhbchvjnc doşnoksmocnivifcndnicdnicdnvfnjvncmşşmşşnyuyfyjdnmoçühuftyrğyehduheçumjpufriufubdjubhcnuer

Eğer **doğru** ve **yanlış** kelimelerin bir kombinasyonu seçilirse, etkileyicilik çok farklı olabilir. Örneğin: "Beni gitar dersine brakmanı istiyorum."

Şekil 17.3. Hayır! Kötü bir kombinasyon!



Şekil 17.4. Yukarıdaki akış, doğru bir şekilde olgun mesajcı RNA üretmek için uygun amino asit kodlayan bölgelerini birleştirmek için uçbirleştirme makinesinin gerçekleştirmesi gereken adımları ortaya koymaktadır.

Biraz tuhaf olan bu örneği kullanarak, RNA moleküllerini uçlarını düzgün bir şekilde birleştirirken hücrelerimizin karşılaştığı bazı mekanik zorlukları anlayabiliriz. Eğer sürecin şematik bir akışını tasarlayacak olsaydık, Şekil 17.4'te gösterilen bileşenlere sahip olurdu.³ Öte yandan, bu şemada açıklanan bileşenlere ek olarak, hücre tipine ve belirli bir anda hücreye ne olacağına bağlı olarak, farklı hücrelerin aynı geni farklı şekilde kullanacağını fark etmek önemlidir. Sonuç olarak, tüm aşamalar uygun şekilde düzenlenmeli ve entegre edilmelidir. Böylece durumun gereksinimlerini karşılamak için doğru protein varyantları üretilebilir.

Hayatın birleştirilmesi

Spesifik proteinlerin bilgisini taşıyan daha küçük mesajcı RNA'lar oluşturmak için uzun RNA'ların uçbirleştirme mekanizması gerçekten karmaşık bir işlemdir. Sistem aslında oldukça antiktir ve süreçte yer alan bileşenler ve basamaklar, mayalardan tüm hayvanlar âlemine kadar korunmuştur. İş-

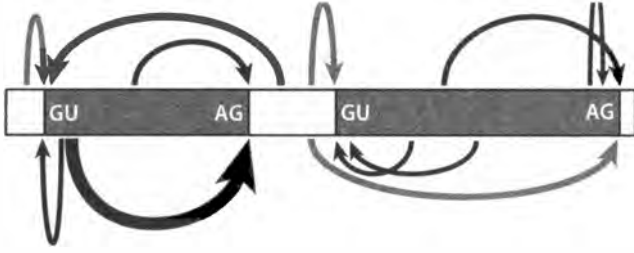
lem, uçbirleştirme makinesini oluşturan ve splaysozom denilen büyük bir molekül topluluğu tarafından gerçekleştirilir. Splaysozom, yüzlerce proteinden ve birtakım çöp RNA'lardan oluşup, protein üretmek için bir fabrika gibi davranan ribozomlara benzer.⁴

İşlemdaki kritik aşamalardan biri splaysozomun, RNA molekülünden çıkarılması gereken ara dizilerin etrafını sarmalamasıdır. Ara dizileri kesip çıkarır ve sonra da amino asit kodlayan bölgeleri birleştirir. Oldukça karmaşık ve çok aşamalı bir işlemdir, ancak önemli adımların başında; splaysozomun araya giren bölgeleri tanuması gerektiğinin geldiğini biliyoruz. Böylece onları birbirine bağlayabilir ve ortadan kaldırabilir.

Araya giren dizilerin başlangıç ve bitişleri, her zaman belirli iki-bazlık dizi ile belirtilmektedir. Splaysozom içindeki çöp RNA molekülüleri bu iki bazlık diziye, tıpkı genlerimizdeki DNA'nın iki zincirinin eşleşmesine benzer şekilde bağlanabilir.

Fakat RNA'da sadece dört baz vardır ki bu da sadece on altı tane iki bazlık dizi olduğu anlamına gelir (örneğin AC ve CA farklı çiftler olarak değerlendirilir). Araya giren dizilerin başlangıç ve bitişlerini işaretleyen bu iki bazlık dizilerin, başka herhangi bir dizide ve hatta amino asit kodlayan bölgelerde de bulunmasını beklerdik ki durum gerçekten de böyledir. Dolayısıyla, her ne kadar bu iki-bazlık diziler uçbirleştirme için gerekli olsa da, süreci doğru bir şekilde yönlendirmede kendi başlarına yeterli değildirler. Şekil 17.5'te de gösterildiği gibi, başka diziler de gereklidir.

Uçbirleştirmenin nasıl yapılacağını belirleyen diğer diziler, hem araya giren çöp bölgelerde hem de amino asit kodlayan bölgelerde bulunur. Bazıları uçbirleştirmeyi çok güçlü bir şekilde etkilerken, diğerleri daha üstü kapalı şekilde etkiler. Bazıları birleştirme olayının şansını artırırken, diğerleri azaltır.



Şekil 17.5. Bir RNA molekülü içindeki birçok dizi, uçbirleştirmeyi sürdürmek için etkileşime girer. Burada gösterilen iki-bazlı motifler, bu işlemin tüm ince ayarlarını düzenlemek için gereklidir ancak kendi başlarına yeterli değildir. Farklı boyutlardaki okların da göstermiş olduğu gibi, değişken güçlere sahip başka bölgeler de süreçte yer almaktadır.

Karmaşık ortaklıklar halinde çalışırlar ve nihai uçbirleştirme modeli üzerindeki etkileri, hücrede meydana gelen diğer olaylardan örneğin splaysozomdaki belirli tamamlayıcı proteinlerden etkilenir. Bu değiştirici diziler için kullanılan sıfatlar genellikle “baş döndürücü” veya “şaşırtıcı” gibi sözcükleri içerir. “İnanılmaz derecede karmaşık, kavrayabileceğimiz her hususun ötesinde ve hatta şimdilik tahmini bilgisayar algoritmaları ile tasarlanabilen” gibi tuhaf sözler sarf edilir.

Uçbirleştirme ve hastalık

Bir grup genetik hastalığa bakarak karmaşıklık derecesine dair ipuçları elde edebiliriz. Bu hastalıklar arasında, yaklaşık 4000 kişiden birini etkileyen ve Retinitis Pigmentosa adı verilen bir körlük tipi vardır. İlerleyici bir körlüktür. Genellikle gençlik yıllarında gece görüşünde azalmayla başlayıp, yaşla birlikte giderek daha kötüleşir ve görme yeteneği giderek kaybolur. Görme kaybı, gözdeki ışığı algılayan hücrelerin yavaş yavaş ölmesi sonucu meydana gelir.⁵ Yaklaşık olarak her yirmi hastadan birindeki körlüğe, uçbirleştirmenin belirli bir aşamasında yer alan beş proteinden birinde meydana gelen

bir mutasyon sebep olur.^{6,7,8,9} Mutasyon, uçbirleştirmeye dayanan vücuttaki bütün hücrelerde değil, sadece retina hücrelerinde bir eksikliğe neden olur. Bu da bize uçbirleştirmenin, henüz anlayamadığımız bir şekilde, hücreye ve gene özgü bir kontrol altında olduğunu gösterir.

Sebep olduğu bir diğer hastalık ise; kuru cilt, seyrek saç, nöbet ve öğrenme güçlüğü gibi alışılmamış ilave özelliklerle birlikte çok ağır seyreden bir cücelik türüdür. Hastalıktan etkilenen çocuklar, hemen hemen her zaman dört yaşına gelmeden ölürlür.¹⁰ İnsanların yüzde 8'inin taşıyıcı olduğu Ohio Amish topluluğu dışında çok nadir görülür. Amish topluluğunda yaygın olarak görülmesinin nedeni ise, hastalığa sebep olan mutasyonun, az sayıdaki kurucu ailede mevcut olmasıydı. Amerika'nın Ortabatı eyaletlerinde başka aileler tarafından kurulan Amish gruplarında ise bu mutasyon yoktu. Bu duruma neden olan mutasyon tanımlandığında araştırmacılar ilk önce, uçbirleştirme proteinini kodlayan genin amino asit dizisinde bir değişiklik olduğunu düşünmüştü. Fakat artık biliyoruz ki değişim aslında splaysozomun bir parçasını oluşturan çöp RNA'nın üç boyutlu yapısını bozmaktadır.¹¹ Retinitis Pigmentosa'da görülenden farklı olarak, splaysozomun faaliyetinde meydana gelen bu kusur, muhtemelen birçok farklı genin yanlış birleştirilmesine neden olup çok çeşitli semptomlar ortaya çıkarmaktadır.

Öte yandan hastalıklar, sadece uçbirleştirme makinesindeki kusurlardan dolayı ortaya çıkmaz. Tek bir genden köken alan RNA'daki uçbirleştirme işleminin kontrol edilmesindeki önemli bölgelerde mutasyon taşıyan protein kodlayan genlerin kendisi nedeniyle de ortaya çıkabilir. Bazı araştırmacılar, insanlardaki kalıtsal bozuklukların yaklaşık yüzde 10'unun, Şekil 17.5'te gösterilen iki-bazlık dizilerin yer aldığı birleştirme yerlerinde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanabileceğini iddia etmektedir.¹²

Bu mekanizmanın bir örneği, iki çocuğun doğumdan sonraki birkaç gün içinde inatçı diyare (ishal) geliştirdiği bir aileydi. Sağlık ekipleri çocukların durumunu stabil hale getirmeyi başarsalar da ishal aylarca sürdü ve etkilenen iki çocuktan biri on yedi aylıkken öldü. Çocukların genomları dizilendiğinde araştırmacılar, bir genin birleşim yerinde, Şekil 17.5'te gösterilen GU dizilerinden birini değiştiren bir mutasyon buldular. Mutasyon, uçbirleştirme makinesinin uygun olmayan bir şekilde amino asit kodlayan bölgenin üzerinden atlanmasına neden oluyordu. Dolayısıyla, amino asit kodlayan bir bölge proteinin dışında kalıyor ve sonucunda da protein işini yapamaz hale geliyordu.¹³

Bir diğer örnek ise, AIDS'li bireylerde yüksek seviyelerde bulunduğu için dikkatleri üzerine çeken bir kanser türü olan Kaposi Sarkomudur. AIDS, insan immün (bağışıklık) yetmezlik virüsünden (HIV) kaynaklanır ve HIV enfeksiyonunun etkisi, bağışıklık sistemini baskılamaktır. Kaposi Sarkomuna, HHV-8 olarak adlandırılan başka bir virüs neden olur. Normalde bağışıklık sistemimiz bu virüsü kontrol eder ama eğer bağışıklık sistemimiz normal çalışmasını yerine getiremiyorsa ve zayıfladıysa, HHV-8 virüsü yerleşmeye başlayabilir ve Kaposi Sarkomunu tetikleyebilir.

HHV-8, Akdeniz havzasında yaşayan insanlarda yüksek oranda bulunur ama Kaposi Sarkomu bu popülasyonda nadirdir ve neredeyse hiç küçük çocuklarda bulunmaz. Dolayısıyla, Türk bir aile, dudağında bu kanser türünün karakteristik bir özelliği olan klasik lezyonlara sahip kızlarını hastaneye götürdüklerinde sağlık ekipleri çok şaşırılmıştı. Kanser çok hızlı ve agresif bir şekilde yayılmıştı ve küçük kız, tanı konduktan dört ay sonra hayata veda etmişti.

Küçük kızda, HIV için yapılan tüm testlerin sonucu negatif çıkmıştı. Ebeveynleri, birinci derece kuzendi ve akraba evliliği yapmışlardı. Elde ettikleri bilgilerin ardından araştırma-

cılar, küçük kızın HHV-8 virüsüne karşı bozulmuş bağışıklık yanıtının altında yatan genetik nedenleri araştırdılar.

Kız çocuğundan alınan örneklerden elde edilen DNA dizilendiğinde, bilim insanları belli bir genin uçbirleştirme bölgesinde bir mutasyon tanımladılar. Mutasyon, AG'yi AA'ya değiştirmişti ki bu da splaysozomun, RNA molekülünü nereden keseceğini artık belirleyemediği anlamına geliyordu. Sonuç, çıkartılması gereken çöp bir bölgenin, mesajcı RNA molekülünde tutulmasıydı. Hal böyle olunca da dizi karışmış ve mesajcı RNA'da çok erken bir dur sinyali yaratmıştı. Sonuç olarak mutasyon, ribozomun tam uzunlukta bir protein üretmesini önlemişti. Protein, HHV-8 gibi virüslere karşı iyi bir bağışıklık tepkisi oluşturmak için gerekli olan bir protein olduğu için, mutasyona sahip olan çocuk, Kaposi Sarkomuna karşı fazlasıyla duyarlı hale gelmişti.¹⁴

Her ne kadar birleştirme yeri mutasyonları nispeten yaygın olsa da, genetik hastalıklara neden olan mutasyonlar daha çok genlerin amino asit kodlayan bölgelerinde yer alır. Problemlere sebep olan mutasyonların bazıları ribozomların, mesajcı RNA kalıbı üzerinden tam uzunlukta proteinler üretmesini önleyen dur sinyallerini oluşturur. Diğer mutasyonlar ise, bir amino asidin kodunu, diğer amino asidin koduna çevirebilir. Örneğin, CAC histidin amino asidini kodlarken, CAG başka bir amino asit olan glutamini kodlar. Ancak araştırmacılar, amino asidi bu şekilde değiştiren mutasyonların yaklaşık yüzde 25'inin aynı zamanda mesajcı RNA'daki yakın bölgelerin uçbirleştirmesini etkilediğini de iddia etti. Yani bazı durumlarda hastalık, tek amino asit değişikliğinin kendisinden değil de, nükleotit değişiminin bir mesajcı RNA'nın birleştirilme biçiminde yarattığı varyasyondan kaynaklanabilir.

Sorun, çoğu durumda bunun böyle olduğunu göstermenin çok zor olmasıdır. RNA'daki değişimin hem bozulmuş uçbirleştirme kalıbına hem de bir amino asit değişikliğine yol

açtığını göstersek bile, hastalık belirtilerine hangi etkinin neden olduğunu nasıl söyleyebiliriz? Belirtiler bozuk bir amino asidi olan proteinden mi yoksa proteinin alışılmadık bir kaptaki uçlarının birleştirilmesinden mi kaynaklanır?

Aslında doğa bize, bazen kodlayan bölgede meydana gelen mutasyonun bir amino asidi değiştirmek yerine uçbirleştirmeyi etkileyerek bir hastalığa neden olabileceğinin kanıtını vermiştir. İlk olarak Hutchinson-Gilford Progeria adında iki bilim insanı tarafından tanımlanan ve bu yüzden onların adını taşıyan sıra dışı bir hastalık vardır. Erken yaşlanma anlamına gelen Progeria, oldukça dramatik bir hastalıktır. Çok nadir görülür ve yaklaşık 4 milyon çocuktan birini etkiler.¹⁵

Hastalıktan etkilenen bebekler ilk başta tamamen sağlıklı görünürler ancak bir yıl içinde büyüme hızları çarpıcı bir şekilde yavaşlar ve yaşamlarının geri kalanında zayıf ve kısa boylu kalırlar. Öğrenme güçlüğü çekmezler. Çocuklarda; yüzeysel damarların belirginleşmesi, kellik, ince kuru deri gibi birçok yaşlılık belirtisi görülmeye başlar. Alzheimer gibi yaşlılıkta gelişen bazı sağlık problemlerini geliştirmeseler de, etkilenen bireyler şiddetli kalp damar hastalıkları geliştirirler. Bu da genellikle kalp krizi veya tam felce yol açarak, erken gençlik çağlarında hayatlarını kaybetmelerine neden olur.

2003 yılında araştırmacılar, Hutchinson-Gilford Progeria hastalığına neden olan mutasyonu tanımladılar. Test ettikleri her hasta, mutasyonu de novo olarak taşıyordu, yani ebeveynlerinin yumurta veya spermelerinde mutasyon kendiliğinden gelişmişti. İnanılmaz bir şekilde, birbiriyle hiçbir bağı olmayan on sekiz hastada (toplam yirmi kişi değerlendirilmişti) tamamen aynı mutasyon tespit edilmişti.¹⁶

Belirli bir gende GGC olarak okunması gereken dizi, mutasyona uğramıştı ve artık GGT olarak okunuyordu. Mutasyon, genin amino asit kodlayan kısmında yer alıyordu. Dolayısıyla, proteindeki bir amino asidi değiştiren basit bir

mutasyon vakası gibi görülebileceğinden, elbette ki yapılacak ilk işlem, genetik koda bakmak ve bu iki dizinin neyi kodladığını belirlemektir. Normal bir dizide GGC, basit bir amino asit olan glisini kodlar. Fakat mutasyonlu dizide ise GGT, – sıkı durun– glisini kodlar. Evet, aynı amino asit.

Bunun nedeni, genetik kodumuzun ihtiyaç fazlasına sahip olmasıdır. Genomumuz, dört harften oluşur: A, C, G ve T (ya da RNA’da U). Bir amino asidi kodlamak için de üç harfli bloklar kullanılır. Dört harften oluşan üçlü blokların olası 64 kombinasyonu vardır. Bu kombinasyonlardan üç tanesi dur sinyalıdır ve ribozoma, protein zincirine daha fazla amino asit eklememesini söyler. Amino asitleri kodlamak için geriye 61 kombinasyon kalır. Fakat proteinlerimiz sadece 20 farklı amino asit içerir. Dolayısıyla bu da bazı amino asitlerin, farklı üç harfli kombinasyonlar tarafından kodlanabileceği anlamına gelir. Sıra dışı örneklerden biri glisindir ve GGA, GGC, GGG ve GGT(U) tarafından kodlanır. Bir diğer uç örnek ise metiyonin amino asididir ve sadece AT(U)G kombinasyonu tarafından kodlanır.

Tüm bu bilgiler ışığında ele alacak olursak, eğer Hutchinson-Gilford Progeria hastalığında mutasyona uğrayan gen tarafından kodlanan amino asit dizisi değişmiyorsa, bu dramatik fenotipe yol açan etken nedir? Şekil 17.5’e tekrar bakalım. Bir gen içindeki araya giren her çöp bölgenin başlangıcındaki iki-bazlık dizi GT’dir. Normal GGC dizisinin GGT’ye değiştiği hastalarda, amino asit bölgesi uygun olmayan fazladan bir birleştirme sinyali kazanır. O genomik bölgedeki diğer bütün uçbirleştirme sinyalleri bağlamında değerlendirilirse, bu uygun olmayan şekilde konumlandırılmış GT, güçlü bir şekilde davranır. Dolayısıyla da splaysozom, mesajcı RNA’yı çöp bölgeden değil de amino asit kodlayan bölgeden keser. Amino asit kodlayan bölgeler kötü bir şekilde bir araya getirilir ve sonuç olarak da proteinin sonunda yaklaşık 50 amino

asitlik bir kayıp meydana gelir. Bu da, proteinin kendisinin gerektiği gibi işlenmediği ve hücrelerde hasara yol açmaya başladığı anlamına gelir. Ne yazık ki bu değişimin çocuklarda görülen olağan dışı yaşlanmaya nasıl yol açtığını hâlâ tam olarak bilmiyoruz, ancak şimdiye kadar en iyi tahminimiz, hücre çekirdeğinin düzgün bir şekilde korunmadığı olmuştur. Mutasyon, gen ifadesinde değişikliklere ve çekirdeğin bozulmasına yol açabilir. Bazı genler ve bazı hücre tipleri, buna diğerlerinden daha duyarlı olabilir.

Spinal Müsküler Atrofi (SMA) olarak adlandırılan ve küçük çocukları etkileyen başka bir hastalık daha vardır. Bu hastalıkta kasları besleyen sinir hücreleri yavaş yavaş ölür ve bu da kas erimesine ve hareketliliğin kaybolmasına yol açar. Hastalığın çok sayıda farklı formu vardır ve en şiddetli olan formda, etkilenen bebeklerin tahmini ömür uzunluğu on sekiz aydan azdır.¹⁷ Genetik bir hastalık olarak ele alındığında, görece yaygın görülen bir hastalıktır: İngiltere’de yaklaşık olarak her 40 kişiden biri taşıyıcıdır yani yaklaşık 1.5 milyon İngiliz, genin kusurlu kopyasına sahiptir. Neyse ki, hastalık belirtilerinin gelişmesi için genin her iki kopyasının da mutasyona uğraması gerekir.¹⁸

Spinal Müsküler Atrofi, SMN1 olarak adlandırılan bir genin silinmesinden veya fonksiyon kaybından kaynaklanır. Eğer insan genomuna bakacak olursak, mutasyonun bu kadar büyük bir etkiye sahip olabilmesine şaşırabiliriz çünkü tamamen aynı proteini kodlayan başka bir gen daha vardır. Bu gen ise SMN2 olarak adlandırılır. Hal böyle olunca da gerçekten bariz bir soru gündeme gelir: eğer her ikisi de aynı proteini kodluyorsa neden SMN2 geni, zarar görmüş/silinmiş SMN1 genini telafi edemiyor?

Hutchinson-Gilford Progeria’ya çok benzer bir şekilde, SMN2’nin SMN1’den çok ince, hemen göze çarpmayan bir değişikliği vardır. DNA dizisindeki bu değişiklik, amino asit

kodlayan bölgede yer alır. Amino asit dizisini değiştirmez çünkü az önce ele aldığımız aynı amino asidi kodlayan farklı bir üç bazlık diziye değişir. Amino asit dizisi yerine, mesajcı RNA molekülünü nereden birleştirileceğini bulmasına yardımcı olan yerlerden birini değiştirir.¹⁹ Yani birleştirme bölgesini değil birleştirmenin gerçekleşeceği yeri etkileyen bölgelerden birini değiştirir. Bu da, amino asit kodlayan bir bölgenin atlanmasına ve işlevsel olmayan bir proteinin üretilmesine neden olur. Tam da bu sebeple, SMN2 geni, hatalı SMN1 genini telafi edemez. Splaysozom aktivitesi için normal bir SMN1 proteini gereklidir. Dolayısıyla özünde, gendeki mutasyon, genel olarak mesajcı RNA'ların birleştirilmesiyle ilgili sorunlara yol açmaktadır ve potansiyel olarak telafi edici bir gendeki bağımsız bir uçbirleştirme sorununun dışında bir yolla bunun üstesinden ancak gelinebilir.

Tedavi amaçlı uçbirleştirmenin uyarılması

7. bölümde gördüğümüz X kromozomu üzerinde taşınan şiddetli bir kas kaybı hastalığı olan Duchenne Musküler Distrofisinde, distrofin geni mutasyona uğrar. Bu gen, olağanüstü bir şekilde büyüktür ve neredeyse 2,5 milyon baz çifti uzunluğundadır. Uygun bir şekilde birleştirilmesi ve işlenmesi gereken yaklaşık 80 amino asit kodlayan bölge içerir. Bir diğer önemli özelliği ise distrofin proteininin uzun ömürlü olmasıdır. Bu da, yanlış uçbirleştirme olasılığını artıran herhangi bir değişikliğin, hücreyi uzun süre etkileyeceği anlamına gelir. Öte yandan, bu büyük gendeki 78 intronun varlığı da, olası bir değişikliğin gerçekleşmesi için çok fazla alan yaratır ve sonuçta bu bölgeler uçbirleştirmeyi etkileyebilecek spontan ve kalıtsal mutasyon oluşmasının yüksek bir riskini barındırır. Konuyu kapsamlı bir şekilde ele alan derlemelerden biri sorunu oldukça etkileyici bir şekilde ortaya koymuştur: "Sahip olduğu 78 intron ile büyük (2.4 Mb) distrofin geni, her an ger-

çekleşebilecek bir uçbirleştirme kazasına açıktır ve bunu da 3.000 canlı doğumda bir sıklıkla yapar.”²⁰

Bazı hastalardaki Duchenne Musküler Distrofiye uçbirleştirme kusurları yol açar. Bununla birlikte, çok sayıdaki olguda hastalığa, genin kritik bölgelerinin ve dolayısıyla proteinin eksik kalması neden olur. Ancak son yıllarda, her durumda ölümcül olan bu hastalığa tedavi geliştirmek için bir umut ışığı doğmuştur. Beklediğinizin tersine, geliştirilmeye çalışılan tedavi, hastalıktan etkilenen erkek çocuklardaki distrofin geninin anormal uçbirleştirmesini teşvik eden ilaçlara dayanmaktadır.

Distrofin proteini, kas hücrelerinde bir çeşit amortisör gibi davranır. Distrofin moleküllerini, bir yataktaki yaylar gibi düşünebiliriz. Yatağı destekleyebilmesi için yayların yatağın üstüne ve altına takılması gerekir. Eğer bir üretim hatası olmuşsa ve yaylar son on santimetre olmadan üretilmişse, yatağın üst kısmına takılamayacaktır. Yatağı ne kadar sık kullanırsanız, o kadar çok şekli bozulmaya başlayacak ve giderek daha az destekleyecektir.

Duchenne Musküler Distrofisine, distrofin geninin iç bölgelerinde meydana gelen kaybın yol açması oldukça yaygındır. Gen, RNA'ya kopyalandığında, sentezlenen bölgeler birleştirilir. Normal distrofin geni ile kıyaslandığında mutant gen, proteinin iç kısımlarında bazı amino asitlerden yoksundur. Ancak, Şekil 17.6'da da gösterildiği gibi, en büyük probleme yol açan gerçekte bu değildir.

Daha önce de gördüğümüz gibi amino asit kodu, üç bazlı bloklar halinde okunur. Amino asit kodlayan doğru bölgeler (ekzonlar olarak bilinir), normal bir gende olduğu gibi bir araya geldiklerinde, çok sayıda amino asit kodlayan uzun bir mesajcı RNA molekülü üretir. Ancak yanlış ekzonlar bir araya gelirse, birbirleriyle senkronize olamayabilirler ve dolayısıyla üçlü bloklar düzgün bir şekilde çalışmaz. Gerçekten basit bir örnek aşağıdaki olurdu:

HÜR BİR KUŞ GÖK HEP VAR DER

Eğer aradan bir harfi kaybedersek, hızla cümlelerin anlamını da kaybederiz:

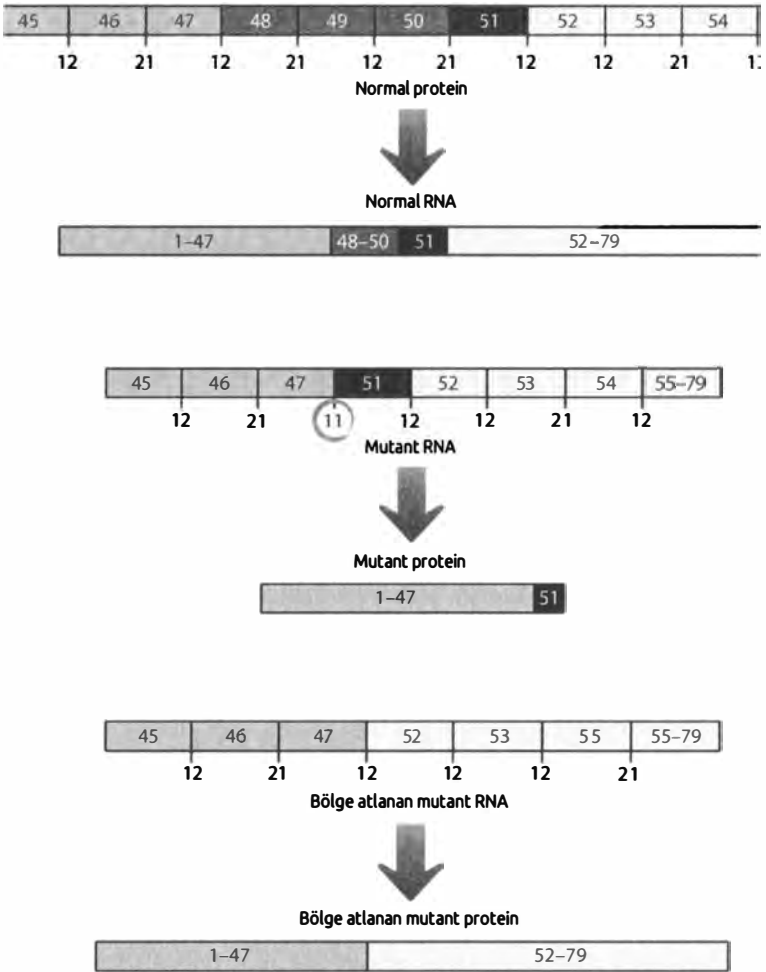
HÜR BİR UŞG ÖKH EPV ARD ER

Buna çerçeve kayması denir. Mesajcı RNA'daki ilk etki, yanlış amino asitlerin uzayan protein zincirine girmesidir. Ancak kısa bir süre sonra, çok daha çarpıcı bir olay meydana gelir. Bir noktada dur sinyali verecek üç harfli bir kombinasyon oluşacaktır. O noktada ribozomlar amino asitleri ekleme-yi bırakacak ve mutasyona uğrayan protein güdük kalacaktır.

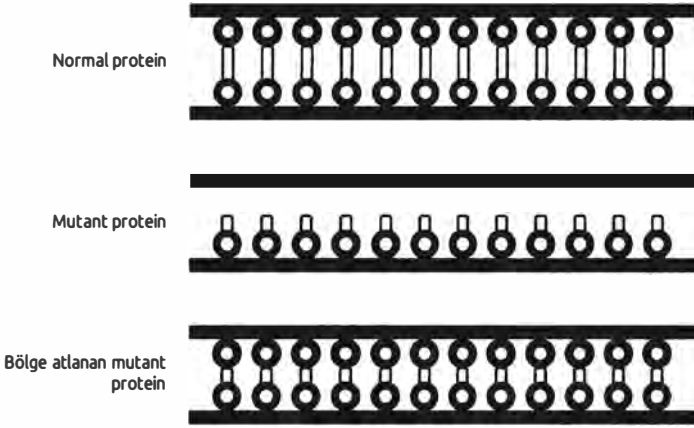
Distrofin geninin belirli bölgeleri silinen hastalarda da olan budur. Şekil 17.6'da, üçlü baz kombinasyonunu okuma çerçevesi, kutuların altında yazan rakamlarla gösterilmiştir. Bir kutunun sonundaki sayı ile bir sonrakinin başındaki sayı üçe ulaştığı sürece, ribozom mesajcı RNA'yı okumaya devam edebilir. Ancak, en yaygın görülen silinme gerçekleştiğinde, bir dur sinyaline ve oldukça kısaltılmış bir protein zincirine hızla yol açan çerçeve kaymasına neden olur.

Bunu önlemenin bir yolu, silinmeden sonraki amino asit kodlayan bölgelerden birini atlamaya hücreyi teşvik etmektir, çünkü bu işlem hepsini doğru okuma çerçevesine geri getirecektir. Sonuçta ortaya çıkan protein, içinde küçük bir kısmı eksik olan ama hâlâ oldukça iyi bir şekilde çalışabilen bir protein olacaktır. Böylece hastalık belirtilerinin ilerlemesi yavaşlatılabilir. Yatak yayları benzetmemizi kullanarak olayı Şekil 17.7'deki gibi gösterebiliriz. Distrofin molekülü her iki uçta da gerekli proteinlerle bağlantı kurabilecektir. Her ne kadar amortisör görevi görmek için tam uzunluktaki bir protein kadar iyi olamasa da gerekli hücresel yapılara bağlanamayacak olan yapıdan çok daha iyidir.

LEGO, Airfix'ten Neden Daha İyidir?



Şekil 17.6. Distrofin genindeki bir mutasyonun, ciddi ölçüde kısaltılmış bir protein molekülüne yol açabilen kilit bölgesinin gösterimi. Amino asit kodlayan 48, 49 ve 50. bölge DNA'dan kaybolduğunda amino asit okuma düzeninde bir kayma oluşur ve bu da proteinin kısalmasına yol açar. Okuma düzenini korumak için, her sınırın altında yer alan sayıların toplamı üç olmalıdır. Eğer mutasyona uğrayan gende 51. bölge atlanabilirse, okuma dizisi yeniden düzenlenebilecektir. Burada anlatımı basitleştirebilmek için, tüm amino asit kodlayan bölgeler aynı boyutta çizilmiştir, ancak gerçekte bunlar birbirlerinden farklılık gösterebilir.



Şekil 17.7. Yukarıdaki şemada mutant bir distrofin proteininin hücre zarının nasıl iki tarafına bağlanamadığı gösterilmektedir. Bazı ara dizileri eksik olan mutant proteinin atlanmış bölge içeren versiyonu, zarın her iki tarafına da tutunabilir. Daha kısa olduğu için, normal protein kadar iyi bir amortisör özelliği göstermez ancak orijinal mutanttan çok daha iyidir.

Bu hipotezi destekleyen kanıtlar oldukça iyi görünüyordu ve biyoteknoloji şirketleri bu bilgiden yararlanmanın bir yolunu bulmak için programlar başlattı. Prosensa adlı bir firma, kas hücrelerinin amino asit kodlayan 51. bölgeyi atlamasına yardım eden bir ilaç geliştirdi ve sonunda bu deneysel ilacı, bir ilaç devi olan GlaxoSmithKline'a lisansladı. 2013 yılının Nisan ayında GlaxoSmithKline, Duchenne Musküler Distrofininin ilgili formuna sahip erkek çocuklarda yapılan küçük bir araştırmanın sonuçlarını yayınladı. Elli üç erkek çocuk rastgele bir şekilde iki gruba ayrılmıştı. İlk gruptakiler ilacı aldılar. İkinci gruptakiler de tamamen aynı süreçten geçtiler fakat aslında deneysel ilacı almadılar. Plasebo metodu olarak bilinen bu deney yöntemi, ilaca bağlı olmayan ancak artan iyimserlik veya ilaçtan bağımsız olarak iyileşen hastalar gibi diğer etkenlerin klinik denemelerdeki etkilerini kontrol etmenin önemli bir yoludur. Çocuklar 24 ve 48 hafta sonra, altı dakikada ne kadar yürüyebilecekleri ölçülerek test edildiler.

24 hafta sonra, plaseboyu alan çocuklar, bu hastalıktan beklendiği gibi kötüleşmişlerdi ve deneye katıldıkları zaman yürüdükleri kadar yürüyememişlerdi. Öte yandan, ilacı alan çocuklar ise deneye başladıkları zaman yürüdükleri mesafeden en az 30 metre daha fazla yürüyebilmişlerdi. Çocuklar 48 hafta sonra tekrar test edildiler. Aradan geçen sürede plasebo grubu daha da kötüleşmişti. 6 dakika yürüme testindeki performansları, deneye başladıkları zamanki mesafeden neredeyse 25 metre daha azdı. Tedaviyi alan çocuklar ise programın başlamasından önce yürüdükleri mesafeden on bir metre daha fazla yürüyebilmişlerdi.²¹ Deney sonucunda elde edilen veri, zamanla ilacı alan çocuklarda da gerileme olduğunu (24. ve 48. hafta arasındaki farka bakın) gösterse de bu gerilemenin, hastalığın normal seyriyle kıyaslandığında çarpıcı bir şekilde düşük olduğunu ortaya koymuştur.

Deneyden elde edilen sonuçlar muazzam bir heyecan yarattı. Nihayet, inatçı bir hastalığa karşı tedavi geliştirilebileceği umudu doğdu. Her ne kadar tedavi hastaları iyileştirmese de, geri dönüşü olmayan belirtileri önemli derecede yavaşlatabilmişti. Elde edilen sonuçlar, bu alanda araştırma yapan herkesin ve etkilenen çocukların ailelerinin on yıllardır üzerinde çalıştığı konuydu. Doğru, tüm Duchenne hastaları için tedavi işe yaramayacaktı ama distrofin genlerindeki mutasyonun türüne bağlı olarak hastaların yüzde 10 ila 15'inin, bu yaklaşım için uygun olması bekleniyordu.

Çok değil sadece altı ay sonra, tüm umutlar yıkıldı. GlaxoSmithKline ilkinden daha büyük bir araştırma yaptı ama bu kez tedavi edilen ve edilmeyen gruplar arasında önemli bir fark bulamadı.²² Daha büyük denemelerin sonuçları, küçük çalışmalardan daha güvenilirdir çünkü bir yanıt gibi gözükene ancak yanıt olmayan garip modellerden etkilenme olasılığı daha düşüktür. GlaxoSmithKline'ın yaptığı büyük denemenin sonuçlarından hiç şüphesi yoktu ve eğer ilacın gerçek bir etkisi olsaydı, bu etkinin tespit edilebileceğine emindi. İlacı Prosen-

sa'ya geri verdi ve çekip gitti. GlaxoSmithKline'ın ayrılmasından sonra her ne kadar analistler tarafından belirlenen hisse fiyat payı bu programın başarısız olacağı endişelerini yansıtsa da, Prosensa klinik çalışmalara devam ediyor.

Aynı hasta gruplarında distrofin genindeki sıkıntılı bölgenin üzerinden atlayacak uçbirleştirme modellerinden yararlanmaya çalışan bir başka şirket daha var. Sarepta olarak adlandırılan bu şirket de etkilenen çocukları tedavi etmek için benzer bir yaklaşım kullanıyor. Her ne kadar şirket kendi programı konusunda çok iyimser olsa da, Gıda ve İlaç İdaresi deney grubunun gerçekten kesin sonuçlar verecek kadar geniş olup olmadığını sorguladı. Örneğin, tedavi edilen ve edilmeyen gruplar arasında çarpıcı bir farkın görüldüğü çalışmalardan birinde sadece on iki hasta vardı.

Şirketlerdeki yatırımcılar, hiç kuşkusuz gelecekte umut vaat edecek rüzgârı hissetmişlerdi ancak etkilenen çocukların ailelerinin her gün neler yaşadıkları ya da yaşayacakları düşünüldüğünde, tedaviden beklenen etki yatırımcılarınıkiyle kıyaslanamaz bile.

Bu bölümde yer alan bilime bakmak ve uçbirleştirmenin sunduğu vaadin değerinden daha fazla sorun oluşturduğuna karar vermek cazip gelebilir. Tıpkı Sod ya da Murphy kanununda değinildiği gibi: eğer bir işin ters gitme ihtimali varsa, ters gidecektir. Vahim olan gerçek şu ki, neredeyse tüm biyolojik süreçler için de aynı durum geçerlidir. Milyarlarca insan, trilyonlarca hücre, binlerce gen ve milyarlarca baz. Tam bir sayı oyunudur ve işler her zaman yolunda gitmez. Ancak gerçek şu ki, parçalara ayrılmış genleri bir araya getirme süreci oldukça iyi korunan bir sistem kullanılarak yüz milyonlarca yıllık evrimsel tarih boyunca korunmuştur. Bu da; karmaşık olmanın, ek bilgi içermenin ve telafi etmekten ziyade daha fazla esnekliğin kazandıracacağı avantajları daha açık bir şekilde ortaya koymaktadır.



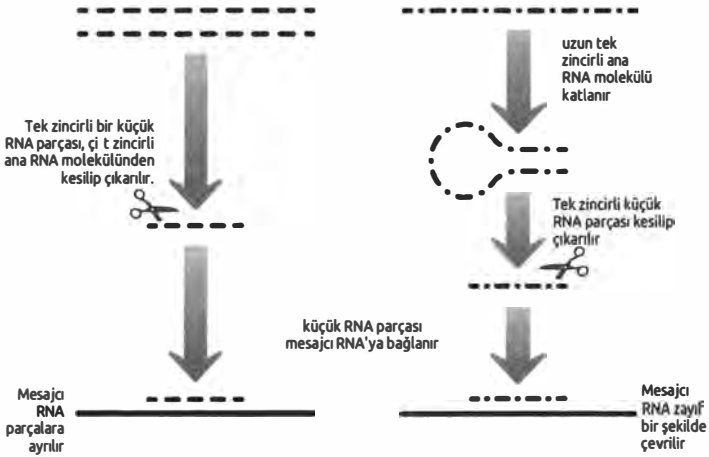
18

Küçük Ama Etkili

Belki de oldukça büyük hayvanlar olduğumuz için, diğer büyük hayvanlardan en çok etkilenme eğiliminde onlar bizleriz. Bunda da bir sorun yok. Sonuçta, jaguar gibi büyük bir kedi, etkileyici bir yaratıktır. Tabii biz de etkilenme eğilimindeyiz çünkü jaguar bir avcıdır ve etoburların üst sırasında yer alır. Öte yandan mesela karınca, Orta ve Güney Amerika'daki ordu karınca türlerinden biri bile olsa oldukça ufak ve çelimsiz görünür. Elbette bir yaranın iki kenarlarını bir arada tutmak için kullanabileceğiniz büyük ve güçlü çeneleriyle bir böceğin de kendine has ilginç bir cazibesi vardır. Ancak, arazide yürüyüş yaparken ayakkabınızla ezip geçebileceğiniz bir canlıdan korkmak hâlâ biraz zor olsa gerek.

Yalnız, bir ordu karınca kolonisiyle karşılaşacak olursak, işte o zaman durum biraz farklılaşır çünkü bir koloni muhtemelen bir jaguar kadar et yer. Size doğru ilerleyen bir karınca sürüsü gördüğünüzde, neşeli bir karınca ezme dansına başlamak yerine, arkanıza bakmadan koşmayı tercih edebilirsiniz.

Benzer bir durum genomumuzda da mevcuttur. Çok küçük bir yapıya sahip çöp nükleik asidin belirli bir türünün binlerce örneği vardır. Her biri, gen ifadesinin ince ayarında rol oynar ve bireysel etkileri hemen göze çarpmaz. Fakat etkilerinin toplamına baktığımızda, oldukça etkileyici bir kalabalık olduklarını görürüz.



Şekil 18.1. Hücrenin, uzun RNA moleküllerinden nasıl iki farklı küçük RNA sınıfı yarattığını gösteren şema. Bu iki farklı sınıf, şeklin alt kısmında da gösterildiği gibi gen ifadesini farklı şekillerde baskılar.

Genomumuzun güçlü ordu karıncaları olan “küçük RNA”ların dünyasına hoş geldiniz. İsimlerinden de anlaşılacağı üzere, bu RNA molekülleri küçüktür ve uzunlukları, sıklıkla 20-23 baz kadardır. Onları, gen ifadesinin kontrolüne ek bir ince ayar işlemi uygulayarak minik dokunuşlar yapan moleküller olarak düşünebiliriz.

Şekil 18.1, bu küçük RNA’ların nasıl üretildiklerini ve nasıl çalıştıklarını göstermektedir. Küçük RNA’lar, çift zincirli RNA moleküllerinden üretilir. Daha sonra, yeni bir çift zincirli RNA oluşturmak için mesajcı RNA’nın uç bölgesinde yer alan çevrilmeyen bölgeye bağlanırlar. Bir çöp dizisinin diğer bir çöp dizisiyle etkileşimine bağlı olan bu çift sarmallı yapının oluşturulması, mesajcı RNA üzerinde sahip olduğu iki etkiden birini gerçekleştirir. Ya mesajcı RNA’nın yıkılmasını hedefleyebilir ya da ribozomların mesajcı RNA’daki diziyi proteinlere dönüştürmesini zorlaştırabilir. Her iki yolla da

benzer bir sonuca ulaşır ve etki ettiği mesajcı RNA'dan üretilen proteinin miktarını azaltır.*²

Mesajcı RNA moleküllerinin yıkımını tetikleyen küçük RNA'lar, hedefleriyle mükemmel bir şekilde eşleşmek zorundadır. Mesajcı RNA'nın translasyonunu engelleyenler ise o kadar keskin ve seçici değildir. Hedefiyle sadece altı ila sekiz tane ardışık baz dizisi eşleşse bile, mesajcı RNA'ya bağlanır. Bunun olası sonuçlarından biri, tek bir küçük RNA'nın birden fazla tipte mesajcı RNA'ya bağlanabilmesi ve onun translasyonunu yani proteine çevrilmesini yavaşlatmasıdır. Potansiyel bir diğer sonuç ise, hücredeki farklı mesajcı RNA'ların nispi düzeyleri, her birinin belirli bir küçük RNA tarafından kontrol edilme derecesini etkileyeceğidir. Bu da, herhangi bir küçük RNA'nın farklı etkilere sahip olabileceği ve bu etkiyi belirleyen de hedef moleküllerinin hangi hücrede ve ne oranda ifade edildiğine bağlı olacağı anlamına gelir.

Küçük RNA'lar: iyi günde kötü günde

Bağışıklık sistemindeki seçilmiş bir hücre tipinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan küçük RNA molekülleri kümesi vardır. Eğer bu küçük RNA kümesi faredede aşırı ifade edilirse, hayvanlar immün sistemin ölümcül aşırı aktivasyonunu geliştirir.^{3,4} Diğer taraftan, bu kümeye sahip olmayan farelerin tamamı doğum sırasında ölmüştür. İnsanlarda ise, bu kümenin iki kopyasından birinin kaybı, Feingold Sendromu olarak adlandırılan ve nadir görülen bir hastalığın ortaya çıkmasına yol açar.⁵ Bu hastalığa sahip olan hastalar çeşitli semptomlar

* Yıkımı tetikleyen küçük RNA'lar, mikroRNA'lar ya da miRNA'lar olarak adlandırılır. Proteine çevrilmesini zorlaştıranlara ise küçük engelleyici RNA ya da siRNA denir. Aşırı teknik dilden kaçınmak için, her ikisini de tanımlamak için küçük RNA terimi kullanılacaktır.

gösterirler ve bunlar arasında sıklıkla iskelet malformasyonları, böbrek problemleri, bağırsak tıkanıklıkları ve orta derecede öğrenme güçlüğü yer alır.⁶

Sadece altı küçük RNA'nın bu kümesinin bozulmuş ifadesinin ortaya çıkardığı sonuçlar şaşırtıcı derecede çeşitlilik gösterir. Ancak, araştırmacılar bu kümenin tek başına 1000'den fazla protein kodlayan geni hedefleyebileceğini hesapladığında, sonuç pek de şaşırtıcı gelmedi.⁷

Küçük RNA'ları kodlayan çöp diziler genellikle, uzun kodlamayan RNA'ları üreten genler gibi, diğer çöp bölgelerde bulunur.⁸ Aslen bir Amish topluluğunda tanımlanmış olan insan kıkırdak-saç hipoplazisi adı verilen bir hastalık vardır ve topluluktaki her on kişiden birinin etken mutasyonun taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Toplulukta görülen taşıyıcı sıklığı inanılmaz derecede yüksektir ve neredeyse bu topluluğun aslında kesinlikle az sayıda aile tarafından kurulduğu gerçeğini yansıtmaktadır. Hastalıktan etkilenen çocukların iskeletleri oluşurken bazı kusurlar ortaya çıkar ve sonuçta çocuklar, kol ve bacak kemiği kısa olan cücelik formunun yanı sıra cılız, ince ve seyrek saç yapısına sahip olurlar. Hastalar ayrıca bir dizi değişken başka kusura sahip olma eğilimindedir.

Bu hastalığa neden olan mutasyonlar, uzun kodlanmayan RNA genlerinden birinde bulunur. Fakat bu uzun gen, iki adet küçük RNA genini kapsar yani çöp içinde çöp durumu ve mutasyonların çoğu bu küçük olan parçaları etkiler. Değişiklikler küçük RNA'ların yapısını bozar ve dolayısıyla Şekil 18.1'deki makasla temsil edilen kesme enzimi tarafından düzgün şekilde işlenmezler. Sonuç olarak, normal seviyelerinde ifade edilmezler. Etkilenen bu küçük RNA'lar 900'den fazla protein kodlayan geni düzenler. Bu genler arasında, iskelet ve saç gelişiminde rol oynadığı bilinen fakat aynı zamanda başka birçok sistemde de bulunan genler yer alır. Pek çok sistemi etkilemelerinden dolayı da, bu küçük RNA'ların seviyelerini

ve işlevlerini etkileyen mutasyonlar muhtemelen hastalıktan etkilenen çocukların bir dizi başka organ sisteminde ortaya çıkan sorunların da nedenidir.⁹

Küçük RNA'ların gen ifadesinin ince ayarları için ne kadar önemli olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu çöp moleküllerin gelişim sürecinde büyük bir rolü olduğunu öğrenmek pek de şaşırtıcı olmasa gerek. Bu aşama, gen ifadesindeki küçük dalgalanmaların yaşamda önemli bir etkiye sahip olabileceği bir aşamadır. (Renkli yayımızın merdivenlerden aşağıya indiğini hatırlıyor musunuz?)

Küçük RNA'lar ve kök hücreler

Küçük RNA'ların öneminin güzel bir örneği, insan doku hücrelerinin pluripotent kök hücrelerine yeniden programlanmasından gelir. Pluripotent kök hücreler, potansiyel olarak ihtiyaç duyduğumuz herhangi bir dokuyu inşa edebilen kök hücrelerdir. Aslında bu teknolojiyi daha önce 12. Bölüm'de ele almış ve şekil 12.1'de (sayfa 165) de göstermiştik. Her ne kadar araştırmacılara hızla Nobel Ödülü kazandıran bu orijinal çalışma olağanüstü olsa da, bazı kısıtları vardı. Şöyle söyleyelim, ana düzenleyici proteinler, gelişimsel renkli yayı merdivenlerden yukarı fırlatabilseler de, bunu oldukça verimsiz bir biçimde yaptılar. Hücrelerin sadece küçük bir yüzdesi yeniden programlanabildi ve işlem haftalarca sürdü. Çığır açan bulgulardan beş yıl sonra, diğer araştırmacılar bu çalışmayı daha da ileriye taşıdılar. Araştırmacılar yetişkin hücreleri, orijinal deneylerde kullanılan aynı ana regülatörlerle muamele ettiler ama başka bir madde daha ekledir ve böylece normal embriyonik kök hücrelerde yüksek oranda ifade edildiği gösterilen küçük RNA'ların bir kümesini de aşırı ifade ettirdiler. Bilim insanları, bu küçük RNA'ları orijinal ana düzenleyicilerle birlikte aşırı ifade ettirdikleri zaman, yetişkin hücrelerin tam da beklediğimiz gibi pluripotent kök hücrelere dönüştü-

ğünü keşfettiler. Fakat işin daha da güzel yanı kök hücelere dönüşen hücrelerin yüzdesinin, sadece ana regülatörlere göre yüz kat daha fazla olduğunu belirlemeleriydi. Ayrıca süreç de çok daha hızlı olmuştu. Diğer taraftan, ana regülatörleri aynı şekilde kullanıp, yetişkin hücrelerde endojen küçük RNA kümesinin ifadesini azalttıklarında ise yeniden programlamanın etkinliğinin çarpıcı bir biçimde düştüğünü gördüler. Böylece, bu belirli küçük RNA'lar kümesinin gerçekten de hücre kimliğini kontrol eden sinyal ağlarının düzenlenmesine yardımcı olmada kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir.^{10,11}

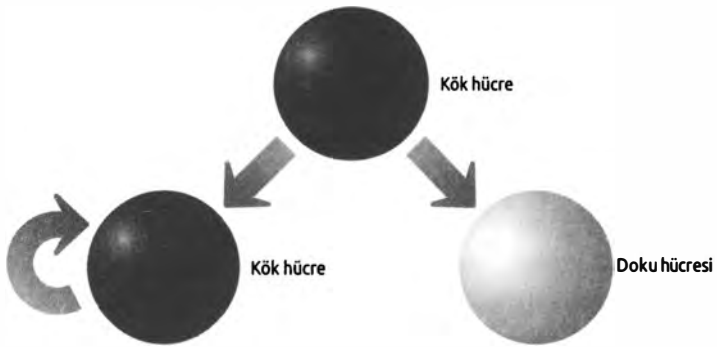
Yetişkin dokular da kök hücre içerirler ve bunlar, çoklu hücre tiplerinden ziyade, bulundukları spesifik dokular için hücreler oluşturabilirler. Yetişkin dokudaki kök hücreler, hem bebeklikten yetişkinliğe doğru büyüme için hem de aşınma ve yıpranmayı onarmak için önemlidir. Bazı dokular çok aktif kök hücre popülasyonunu ilerleyen yaşa rağmen bile korurlar. Klasik örneklerden biri, enfeksiyonla savaşmak ve potansiyel olarak kanserli hücelere karşı devriye gezmek için ihtiyacımız olan hücreleri üretmeye devam eden kemik iliğidir. Çok yaşlıların enfeksiyonlara ve kansere özellikle eğilimli olmasının nedenlerinden biri, kemik iliği kök hücrelerinin sonunda tükenip, bağışıklık barikatlarında delikler bırakmasıdır.

Kök hücrelerin ve insan dokularındaki yetişkin hücrelerin, küçük RNA'ların farklı modellerini ifade ettiğini gösteren çalışmalar vardır. Fakat ifade analizlerinden elde edilen verinin yorumlanması, sebep-sonuç probleminden dolayı her zaman zordur. En nihayetinde akıllara iki soru düşer: Küçük RNA'ların farklı modelleri hücre aktivitesindeki ve fonksiyonundaki farklılıkları yönlendiriyor mu, yoksa bunlar hücresel değişiklikler sonucu ortaya çıkan, basitçe ifade edecek olursak, birer görgü tanıkları mı? Gerçek şu ki, her bir Küçük RNA ile tüm mesajcı RNA moleküllerinin en az yarısının çevrilmeyen bölgeleri arasındaki öngörülen dizi eşleşmelerinin evrimle korun-

muş olması nedensel bir etki ortaya koymaktadır.¹² Bilim insanları da bu soruyu doğrudan doğruya ele almak için, sıklıkla yaptıkları gibi yine yakın kuzenimiz olan fareyle çalışmışlardır.

Araştırmacılar, sadece yetişkin dokulardaki genleri uzaklaştırmanın yollarını buldular ve böylece çeşitli araştırmalar için çok güçlü bir yöntem yarattılar. Oldukça kullanışlı olan bu teknik, farelerin normal şekilde geliştiği ve dolayısıyla ortaya çıkan belirtilerin gelişim sırasında yanlış giden yollar ve ağlardan kaynaklanmadığı anlamına gelir. Bu yaklaşım, yetişkin hücrelerde küçük RNA'ları üretmek için gerekli olan enzim (Şekil 18.1'deki makas) etkisiz hale getirilirse ne olacağını araştırmak için kullanılmıştır. Sonuçta, tüm küçük RNA'ların üretimi engellenecek ve böylece nerelerde önemli rol oynadıkları gösterilecektir. Ancak, deney bize tam olarak hangi küçük RNA'ların sürece dâhil olduğunu söylemeyecektir.

Bilim insanları yetişkin farelerin tüm dokularındaki makas enzimini uzaklaştırdığında, kemik iliğinde, dalakta ve timusta kusurlar buldular. Bu dokuların üçü de enfeksiyonla savaşmak için gerekli olan hücreleri üretir ve üç dokunun da geniş bir kök hücre popülasyonuna sahip olması beklenir. Elde edilen bulgu, küçük RNA sistemlerinin kök hücre kontrolündeki rolleriyle tutarlıydı. Farelerin hepsi bağırsaklarında meydana gelen ve giderek kötüleşen büyük bir sorundan dolayı öldü. Bu sonuç, bağırsaklardaki kök hücrelerin sahip oldukları rolle de tutarlıydı. Bağırsaklarımız, sindirim sisteminin devam eden aktivitesi sırasında sürekli hücre kaybeder. Bu kaybedilen hücrelerin yerine her gün yenisinin konması gerekir ki bu da bize çok aktif bir kök hücre popülasyonunun varlığını gösterir.¹³ Fakat diğer taraftan, her ne kadar farelerin diyetlerindeki yağları işleme biçimindeki anormallikler ile ilgili olabileceği düşünülse de, makas enziminin kaybının, bağırsaklarda nasıl dramatik bir hasara yol açtığı tam olarak bilinmemektedir.



Şekil 18.2. Bir kök hücre bölündüğünde, bölünmeyi devam ettirebilecek başka bir kök hücre veya daha fazla kök hücre oluşturmayaacak farklılaşmış bir hücre yaratabilir.

Etkiler çok çarpıcı olsa da, küçük RNA'ların önemli rol oynadıkları dokuların sadece bu dokular olduğu anlamına gelmez. Farelerin nispeten hızlı bir şekilde ölmesi, diğer dokulardaki daha ince belirtileri maskeleyebilir. Dolayısıyla da araştırmacılar bu ince belirtileri araştırabilmek için, yetişkin hücrelerden gen uzaklaştırma tekniğinin ayırt ediciliği daha yüksek olan bir versiyonunu kullandılar. Değiştirilmiş yöntem, yetişkin farelerde sadece seçilen doku tiplerinde makas genini etkisiz hale getirebilmekteydi.

Elde edilen sonuçların çoğu, kök hücre popülasyonları üzerine olan etkiyle tamamen tutarlıydı. Örneğin, yetişkin farelerdeki saç folikülünü oluşturan hücrelerde makas geni etkisiz hale getirildiğinde, farelerin kürkü, koparıldıktan sonra düzgün bir şekilde tekrar uzamıyordu.¹⁴

Bu sonuçlardan sonra kök hücrelerin, özelleşmiş hücreleri yenileme işlevini yapabilmesi için küçük RNA ağlarına ihtiyaç duyduğu varsayımını kolaylıkla öne sürebiliriz. Ancak bu, çok basit bir yaklaşım olurdu. Tıpkı, aldığımız maaşı bir sonraki maaş gününe kadar yetirebilmek için çabaladığımız gibi, vücudumuzun da kök hücrelerini çok hızlı kullanma-

dığından emin olması gerekir. Kök hücreler değerlidir ve tükendikleri zaman tükenirler. Dolayısıyla, kök hücrelerin geri dönüşümsüz bir şekilde olgun doku hücrelerine dönüşmesini engellemek için bazı küçük RNA ağlarının gerekli olduğu aşikârdır. Şekil 18.2’de gösterildiği gibi, aslında kurulması gereken bir denge vardır.

İskelet kasları da kök hücreler içerir.* İskelet kasları bu kök hücreleri çoğu zaman pasif tutar ve böylece onları vakitsiz kullanmazlar. Kök hücre rezervuarının tükenmesi, Duchenne Muskuler Distrofisi gibi hastalıklarda karşılaştığımız bazı kas kayıplarından kısmen sorumludur. Kas kök hücrelerinde, bu hücrelerin olgun kas hücrelerine dönüşmelerini normal olarak engelleyen proteinler vardır. Bununla birlikte, eğer sağlıklı kişilerde beklenmedik bir yaralanma veya distrofik bir durumda kas hücrelerinin kaybı oluşursa, bu proteinlerin ifadesi azaltılarak yeniden düzenlenir (aşağı regülasyon). Bu yeniden düzenlenim de, belirli küçük RNA’ların ifadelerini açarak gerçekleştirilir. Küçük RNA’lar, bu proteinlerin kodunu taşıyan mesajcı RNA’lara bağlanır ve böylece daha az miktarda protein üretilir. Kök hücrelerin üzerindeki frenler kaldırılır ve olgun kasa dönüştürülürler.^{15,16}

Benzer bir etki kalpte de görülebilir. Yetişkin kalp kası, bazı kök hücreler içerir, ancak bunların sayıları çok fazla değildir ve olgun kalp dokusuna dönüştürülmesi zordur. Kalp krizinin bu kadar zarar verici olmasının nedenlerinden biri de budur. Kalp krizinde kalp kası ölür ve vücudumuz replesman dokusu oluşturmakta çok zorlanır. Dahası, kalpte izi kalır ve organ düzgün bir şekilde çalışamaz. Sonuçta, birçok kalp krizi mağdurunun karşılaştığı uzun vadeli zorluklara yol açar ve bazı durumlarda hiçbir zaman sağlıklarını tam olarak geri kazanamamalarının da nedeni budur.

* Bunlar, uydu hücreler olarak bilinir.

Her ne kadar yeni kas üretmek için kalp kök hücrelerini aktive etmenin harika olacağı düşünülse de, farelerde yapılan deneyler durumun o kadar da kolay olmadığını göstermektedir. Kalpte, kök hücrelerin kalp kasına dönüşmesini engelleyenlerin küçük RNA'lar olduğu görülmüştür. Eğer küçük RNA'ları üreten makas enzim yetişkin bir kalpte kapatılırsa, kalp büyümeye başlar. Ne yazık ki bunu, potansiyel olarak zarar verecek şekilde gerçekleştirir ve sonuçta da kalp hipertrofisi olarak bilinen bir hastalığa neden olur. Bu büyüme, profesyonel sporcuların kuvvetli kalp kaslarından farklı bir durumdur. Daha çok, kan basıncı yüksek olan insanlarda görülen kalp duvarlarının anormal kalınlaşmasına benzer. Makas aktivitesinin kaybedilmesi kök hücrelerin yetişkin hücreler gibi davranmayı durdurmasına neden olur ve çoğunlukla gelişim esnasında görülen bir gen ifade şeklini yönlendirir.¹⁷

Kardiyak kök hücrelerin tekrar aktif hale getirilmesinin sadece muhtemel bir takas olup, kurtarıcı olmaması garip gelebilir. Evrimsel açıdan baktığımızda, hayvanlar için en önemli husus, genetik materyalini çoğaltmak ve aktarmak için yeterince uzun yaşayabilmektir. Kalp gelişiminin kontrolü ise, kalbimizin bizi bu noktaya getirecek kadar iyi olmasını sağlamaya yöneliktir. Evrimsel bir bakış açısıyla bunun, yaşlandıkça kalplerimizi tamir edemeyeceğimiz anlamına gelmesi gerçekten önemli değildir. Bu, insanlar için bir sorundur çünkü evrimin kesinlikle gerekli olduğunu düşünsek de, uzun yıllar boyunca yaşama fikrini daha çok severiz.

Küçük RNA'lar ve beyin

Her ne kadar yetişkinlik çağında beynimizin son şeklini aldığını sıklıkla düşünsek de, son veriler bu organda bile bazı kök hücrelerin olduğunu göstermiştir. Örneğin oldukça gelişmiş bir koku alma duyusuna sahip olan hayvanlarda, yeni kokulara cevap verebilen nöronlar oluşturmak üzere bu kök hücreler aktive edilebilmiştir. Aktivasyon, hayvanın en güçlü

şekilde cevap vereceği kokuları amacı doğrultusunda değiştirebilmesini sağlar. Kök hücrelerdeki bir protein, onları yanıt verecek olan belirli bir nöron tipine farklılaştırmaya zorlar. Bu proteinin ifadesi genellikle bir küçük RNA tarafından kontrol altında tutulur. Araştırmacılar farelerde bu küçük RNA'nın ifadesini engellediğinde, protein düzenlenmesi artar (yukarı regülasyon) ve sinir kök hücreleri, koku algılamayla ilişkili nöronlara farklılaşır.¹⁸ Farenin yeni bir koku alması durumunda küçük RNA'nın ifadesinin doğal olarak baskılanıp yeniden düzenlendiğinden (aşağı regülasyon) kuşkulandır ancak bu baskıyı sağlayan sinyal yolları henüz tanımlanmamıştır.

Küçük RNA'lar sürekli olarak değişen çevreye verilen yanıtları daha da hassas hale getirerek günlük hücresel aktivitelere katılır. Her bir küçük RNA görece olarak küçük bir etkiye sahip olduğundan, bu ince ayarlamaların nasıl çalıştığını çözmek zor olabilir. En önemli özellikleri, çok büyük ama kolayca göze çarpmayan ağlarda birlikte hareket eden çok sayıda küçük RNA'nın tamamının kümülatif olarak ortaya koydukları etkidir. Böyle olmasına rağmen, minyatür çöp minyonların bu sınıfının gerçek bir etkiye sahip olduğuna dair bize güven veren bir hayli ilginç veriler de ortaya çıkmaktadır.

Beyin, küçük RNA'ların düzeninin bozulmasına karşı özellikle hassas görünüyor. Bu tür değişikliklerin etkisi, hem beynin ilgili bölgesine hem de bozulmanın zamanlamasına bağlı olarak değişir. Bu da, beyinde ifadeleri bir şekilde kontrol edilen tüm farklı küçük RNA'lar ile diğer tüm mesajcı RNA'lar ve proteinler arasındaki karşılıklı etkileşimin önemini yansıtır.

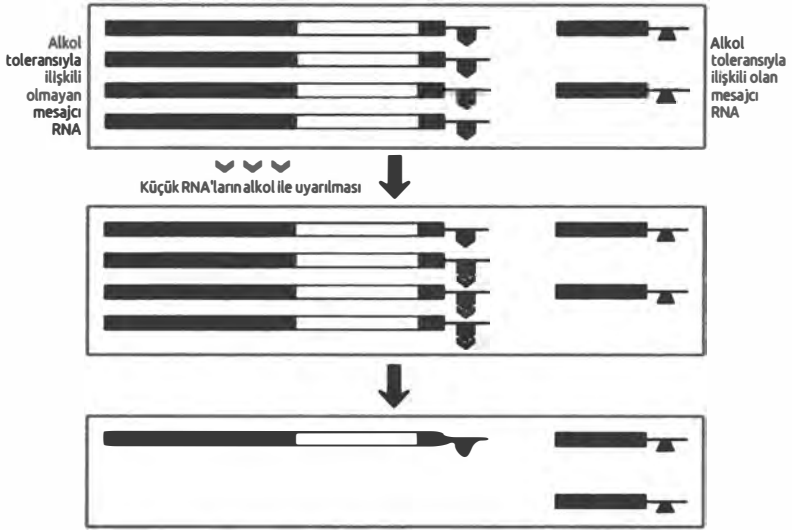
Konuyla ilgili çarpıcı örneklerden biri, makas enziminin yetişkin farelerin ön beyin adı verilen bölgesinde etkisiz hale getirildiği zaman bulundu.¹⁹ Etkisizleştirmenin ardından küçük RNA'ların ifadesi kayboldu ve ilk başta bunun hayvanlar

için oldukça iyi bir durum olduğu sonucuna ulaşıldı. Yaklaşık üç ay boyunca fareler normalden çok daha zekiydiler. İster korku ister ödüllendirme olsun, testlerde çok daha iyi performans gösteriyorlardı. Hafıza becerileri önemli ölçüde gelişmişti. Ancak içinizden herhangi biri bunu evde, kendi beyinde kullanmayı düşünüyorsa eğer (malum son yıllarda herkes sınav odaklı yaşıyor), bilmeniz gereken bir dezavantaj var. Akıllı farelerin entelektüellik yıldızı parıl parıl parlarsa da, etkisi uzun sürmedi. Makas enziminin etkisizleştirilmesinden yaklaşık on iki hafta sonra, küçük tüylü dâhilerimizin beyinleri bozulmaya başladı.

Gecikmiş reaksiyon, beyinde küçük RNA'ların önemli olduğu gösterilen başka bir durumda daha bulundu. Sonuçta elde edilen bulgular, küçük RNA'ların beyin hücrelerinde oldukça kararlı olduğuna ve körelmelerinin biraz zaman aldığına işaret edebilir. Yapılan bir çalışmada makas enzimi, iki haftalık farelerin beyin hücrelerinin hareket kontrolünde rol oynayan bir bölgesinde inaktive edildi. Tam da beklediği gibi inaktivasyon, küçük RNA'ların ifadesinde büyük bir düşüşe neden oldu. Fareler ilk başlarda iyi görünüyordu ama on bir haftadan sonra hareket problemleri geliştirmeye başladılar. Beyin analizleri, küçük RNA'lar yapma yeteneğinden yoksun olan nöronların öldüğünü gösterdi.²⁰

Küçük RNA'lar her türlü beklenmedik durumlarda ortaya çıkabilir. Alkolün beynimizdeki hedeflerinden biri, sinyallerin hücre zarlarından geçişini düzenleyen bir proteindir.* Bu proteinin mesajcı RNA'sı, amino asit kodlayan bölgelerin nasıl bir araya getirildiğine bağlı olarak birçok farklı versiyonda oluşabilir. Alkol, bu değişken mesajcı RNA'ların bazılarının

* Bir potasyum kanalı olan ve BK adı verilen bir proteindir.



Şekil 18.3. Alkol tarafından uyarılan (indüklenen) küçük RNA'lar, alkol toleransı oluşturmeyen mesajcı RNA'lara bağlanabilir. Küçük RNA'lar, alkol toleransını düzenleyen mesajcı RNA moleküllerine bağlanmaz. Bu da, alkol toleransıyla ilişkili proteinler için kod taşıyan mesajcı RNA moleküllerinin göreceli üstünlüğüne yol açar.

ucundaki çevrilmeyen bölgeye bağlanabilen belirli bir küçük RNA'nın ifadesini tetikler. Böylece proteinlerin sadece bazı değişkenlerini kodlayan mesajcı RNA'ların seçici olarak yok edilmesine yol açar. Olası proteinlerin popülasyonunda meydana gelen değişiklik, nöronların alkole karşı verdiği tepkilerde bir sapmaya neden olur. Ayrıca, bağımlılık yapıcı maddelerden biri olan alkole karşı gelişen toleransın da önemli bir parçasıdır²¹ ve ilgili mekanizma Şekil 18.3'te özetlenmiştir. İlâveten, küçük RNA'ların kokain gibi diğer maddelere karşı bağımlılık yanıtında da işe karıştığı gösterilmiştir.²²

Küçük RNA'lar ve kanser

Küçük RNA'ların hatalı ifadesinin, küresel insan sağlığı üzerinde büyük etkisi olan ve aralarında kalp damar hastalıkları²³ ve kanserin²⁴ de bulunduğu birtakım hastalıklarda işe

karıştığı gösterilmiştir. Kanserin hücre kaderindeki ve hücre gelişimindeki anormallikleri temsil ettiği ve bu işlemlerde küçük RNA'ların çok önemli olduğu göz önüne alındığında, kanserdeki etkisi belki de şaşırtıcı değildir. Küçük RNA'ların kanserdeki önemine dair çok açık örneklerden biri, post-natal (doğum sonrası) genlerden ziyade gelişimsel genlerin uygunsuz bir şekilde ifade edilmesiyle karakterize edilen bir tümördür. Genellikle iki yaşından önce ortaya çıkan, çocukluk çağı beyin tümörünün bir alt tipidir. Ne yazık ki, çok agresif bir kanser türüdür ve güçlü terapilere rağmen prognozu kötüdür.* Kanser, beyin hücrelerindeki genetik materyalin uygun olmayan bir şekilde yeniden düzenlenmesini takiben gelişir. Normalde protein kodlayan genin güçlü ifadesini yönlendiren bir promotor, belirli bir küçük RNA kümesi ile yeniden şekillendirilir. Daha sonra bu yeniden düzenlenmiş bölgenin tamamı çoğaltılır, yani genomdan çoklu kopyaları üretilir. Sonuç olarak, yeniden konumlanan promotorun devamında yer alan küçük RNA'lar çok güçlü bir şekilde ifade edilir. Küçük RNA'ların seviyeleri, normalde olması gerekenden 150 ila 1.000 kat daha yüksek seviyeye ulaşır.

Küme, 40'tan fazla farklı küçük RNA'yı kodlar ve aslında primatlardaki en büyük kümedir. Genellikle sadece insan gelişiminin erken döneminde, fetal yaşamın ilk sekiz haftasında, ifade edilir. Bir bebeğin beyinde güçlü bir şekilde açılması, gen ifadesi üzerinde yıkıcı bir etki yaratır. Devamında ortaya çıkan etkilerden biri, DNA'ya modifikasyonlar ekleyen bir epigenetik proteinin ifadesini yönlendirmektir. Böylece, DNA metilasyon modelinde geniş çaplı değişikliklere yol açarak sadece gelişim sırasında bölünen olgunlaşmamış beyin

* Supratentorial nöroektodermal tümörler olarak bilinir.

hücrelerinde ifade edilmesi gereken bir dizi genin anormal ifadesine yol açar. Sonuç olarak bebekte, kanserli bir hücre programı oluşur.²⁵

Küçük RNA'lar ve hücrenin epigenetik makineleri arasındaki bu karşılıklı etkileşim, hücrelerin kansere yatkın olduğu diğer durumlarda da önemli olabilir. Bu mekanizma, yavru hücrelere aktarılabilecek epigenetik modifikasyonları değiştirerek, bozulan küçük RNA ifadesinin etkisini artırabilir. Dahası, gen ifadesinde potansiyel olarak tehlikeli değişikliklere yol açacak bağlantıları başlatabilir.

Küçük RNA'ların epigenetik süreçlerle nasıl etkileşime girdiği konusundaki adımların tamamı çözülemedi ama her geçen gün yeni ipuçları ortaya çıkıyor. Örneğin, meme kanserinde artan agresifliği tetikleyen belirli bir küçük RNA sınıfı, kilit epigenetik modifikasyonları uzaklaştıran bazı enzimler için kod taşıyan mesajcı RNA'ları hedefler. Kanser hücreesindeki epigenetik modifikasyon modelini değiştirir ve takiben gen ifadesini bozar.²⁶

Bir hastada birden fazla kanserin izlenmesi şaşırtıcı derecede zordur. Kanser hücrelerine erişilemeyebilir ve bu nedenle örneklemesi zor olabilir. Bu da klinisyenlerin, bir kanserin nasıl değiştiğini ve tedavilere tam olarak nasıl tepki gösterdiğini izlemelerini zorlaştırabilir. Dolayısıyla tümör tarayan görüntüleme sistemleri gibi dolaylı yöntemlere güvenmeleri gerekebilir. Haliyle de yeni yöntem arayışları doğar. Yakın geçmişte bazı araştırmacılar, küçük RNA moleküllerinin, bir tümörün doğal seyrini takip etmek için yeni bir teknik sağlayabileceğini öne sürdü. Kanser hücreleri öldüğünde, hücrenin parçalanması esnasında küçük RNA'lar çoğunlukla hücreyi terk eder. Bu küçük çöp moleküller genellikle ya hücresel proteinlerle birleştirilir ya da hücre zarının parçalarıyla sarılır. Böylece vücut sıvısında çok dayanıklı bir halde bulunur, izo-

le edilebilir ve analiz edilebilir. Öte yandan, dolaşımdaki total miktarları düşük olduğu için, araştırmacıların çok hassas analitik teknikler kullanması gerekir. İmkânsız gibi görünse de aslında değildir, çünkü nükleik asitleri dizileme teknolojilerindeki hassasiyet giderek iyileşmektedir.²⁷ Üstelik meme²⁸ ve over (yumurtalık)²⁹ kanserinin de aralarında yer aldığı çeşitli kanserler için bu yaklaşımı destekleyen araştırma sonuçları da yayınlanmıştır. Akciğer kanseri şüphesi konan hastalarda, dolaşımdaki küçük RNA'lar analiz edilmiş ve soliter bir akciğer nodülünün iyi huylu (tedavi gerektirmeyen) olduğu hastalar ile kötü huylu (tedavi gerektiren) olduğu hastaların birbirinden ayrılmasında faydalı bir yöntem olarak kullanılabilir. ³⁰

Ölü atlar ve sessiz genler

Küçük RNA'lar her türlü beklenmedik durumda ortaya çıkabilir. Örneğin, Kuzey Amerika doğu at ensefaliti virüsü adı verilen gerçekten korkunç bir viral enfeksiyon vardır. Sivrisinek ısırığıyla bulaşır. Bu virüs atları enfekte ettiğinde, hayvanlar ölür. İnsanlarda da durum pek iç açıcı değildir ve ölüm oranı yüzde 30 ila 70 arasındadır. Virüs merkezi sinir sistemine girdiği ve beyin etrafındaki zarın şiddetli bir şekilde iltihaplanmasına neden olduğu için hastalar ölür.³¹ Enfeksiyona neden olan virüs, DNA'dan değil RNA'dan yapılmış bir genomu sahiptir. Virüs, sivrisinek ısırığıyla insan vücuduna girdiğinde, beyaz kan hücrelerine tutunur. Beyaz kan hücreleri, işgalcilerle karşı yapılan teftişin ön saflarında yer alır. Fakat daha sonra garip bir durum gerçekleşir. Doğal olarak beyaz kan hücreleri tarafından üretilen bir küçük RNA, virüsün RNA genomunun sonuna bağlanarak protein kodlamasını engeller.

Bahsettiklerimiz sanki iyi bir durummuş gibi görünebilir ama aslında tam tersidir. Beyaz kan hücrelerimiz normalde bir virüs tarafından enfekte olup olmadıklarını algılar. Hüc-

reler, vücut sıcaklığının yükseltilmesi ve çeşitli anti-viral kimyasalların üretilmesi de dâhil olmak üzere bir dizi reaksiyon başlatır. Böylece küçük işgalciler kovulur.

Fakat beyaz kan hücrelerindeki küçük RNA, at ensefaliti virüsünün genomuna bağlandığında, virüs sessizleşir. Sonuç olarak, bağışıklık sistemi virüsün vücudun içine sızdığını fark edemez. Dolayısıyla diğer viral partiküller de serbest kalarak vücutta dolaşmaya başlar. Eğer bunlardan bazıları merkezi sinir sistemine ulaşırsa, beyin dokusundaki öldürücü yanıtları tetikleyebilirler.³²

Araştırmacılar, küçük RNA sistemini tabiri caizse gasp eden virüsü tanımladılar ama tanımlanan virüs bu şekilde davranan tek örnek değildir. Hepatit C virüsü de RNA genomuna sahiptir. Hepatit C virüsü karaciğer hücrelerini enfekte ettiğinde, viral RNA karaciğer hücrelerinde doğal olarak ifade edilen küçük RNA'ya bağlanır. Bağlanma, viral genomu dengeli bir hale getirir ve parçalanmasını zorlaştırır. Sonuç olarak daha fazla viral protein üretilir ve enfeksiyon, daha zararlı ve daha agresif bir hale gelir.³³

Küçük RNA'ların enfeksiyondan kansere ve gelişimden nörodejenerasyona kadar bir dizi insan patolojisinde işe karıştığı oldukça açıktır. Elbette bu da ilginç bir soruyu beraberinde getirir: eğer çöp DNA hastalığa neden olabiliyor veya katkıda bulunabiliyorsa, yaygın insan hastalıklarıyla savaşmak için çöp bölgeleri kullanmak mümkün müdür?

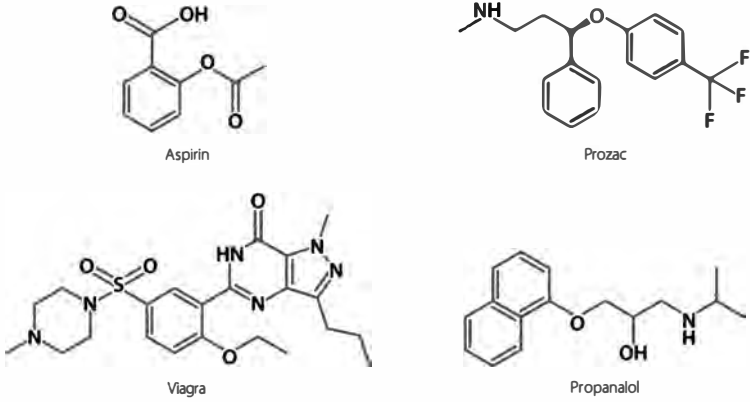


19

ilaçlar (Bazen) İşe Yarar

Hastalıkları tedavi etmek için yeni ilaçlar geliştirmeye çalışan şirketler her yıl bu iş için milyarlarca dolar harcamaktadır. Şirketler, küresel nüfusun yaş profiline artmasıyla birlikte giderek daha acil hale gelen ve daha önce karşılaşılmamış olan tıbbi ihtiyaçların üstesinden gelmenin yollarını bulmayı umuyorlar. Çöp DNA'nın, gen ifadesi ve hastalığın ilerlemesi üzerindeki etkisinin anlaşılmasıyla ortaya çıkan çığır açıcı gelişmeler, bu alandan yararlanmak isteyen bir dizi yeni şirketi de tetiklemektedir. Özellikle yeni girişimlerin çoğu, protein kodlamayan RNA'ların kendi başlarına bir ilaç olarak kullanılmasına dayanmaktadır. Tedavinin temel dayanak noktası, çöp RNA'nın –ister uzun kodlanmayanlar ya da küçük RNA'lar olsun ister antisense adı verilen diğer bir form olsun– gen ifadesini etkilemek ve dolayısıyla hastalığı kontrol ya da tedavi etmek için hastalara verilecek olmasıdır.

Günümüzde uygulanan hastalıkları tedavi etme yöntemi-mizden oldukça farklı bir yaklaşımdan söz ediyorum. Tarih-sel olarak ele aldığımızda çoğu ilaç, küçük moleküller olarak bilinen bir grubu oluşturmaktadır. Bunlar kimyasal olarak tasarlanıp üretilir ve şekil olarak oldukça basittir. Yaygın olarak kullanılan bazı küçük molekül ilaçlarının örnekleri, Şekil 19.1'de gösterildiği gibidir.



Şekil 19.1. Yaygın olarak kullanılan bazı küçük molekül ilaçların yapıları

Kısa bir süre önce, proteinlerin ilaç olarak nasıl kullanıldığını öğrendik. Bunların muhtemelen en popüler olanı, şeker hastalarının kan şekeri seviyelerini düzenlemek için kullandığı hormon olan insülinidir. Protein ilaçların oldukça başarılı olan bir diğer türü ise antikordlardır. Bütün bu ilaçlar, enfeksiyonlarla savaşmak için hepimizin doğal olarak ürettiği moleküllerin mühendislik versiyonlarıdır. İlaç şirketleri, aşırı ifade olan proteinlere bağlanacak ve onların aktivitelerini nötralize edecek şekilde molekülleri adapte etmenin yollarını bulmuşlardı. En çok satanlardan biri, Romatoid Artriti çok etkili bir şekilde tedavi eden bir antikordur. Bununla birlikte, meme kanserinden körlüğe kadar çok çeşitli hastalıkları tedavi eden başka antikordlar da vardır.¹

Küçük moleküllerin ve antikordların, çeşitli avantaj ve dezavantajları vardır. Küçük moleküllerin sentezi nispeten ucuzdur ve kullanımı kolaydır, genellikle yutma yoluyla alınırlar. Dezavantajı ise, vücutta çok uzun süre kalamamalarıdır, bu yüzden düzenli olarak almamız gerekir. Antikordlar ise vücutta haftalarca hatta aylarca kalabilir, ancak bir tıp uzmanı tarafından enjekte edilmeleri gerekir ve bunların üretilmesi çok daha pahalıdır.

Başka dezavantajları da vardır. Antikorlar sadece, ya kan gibi vücut sıvılarında ya da hücrelerin yüzeyinde bulunan moleküllere karşı etkilidir. Bu ilaçlar işlerini yapmak için hücrelerin içine giremezler. Öte yandan, yapılarına bağlı olarak, küçük moleküller gerekirse hücrelerin içine girebilir. Ancak etkileri, kontrol edebilecekleri protein çeşitleriyle sınırlı olabilir.

Küçük moleküller, kilitteki bir anahtar gibi hareket eder. Eğer evinizin içindeyseniz, birilerinin evinize girmesini engellemenin en kolay yolu, kapıyı kilitlemek ve anahtarı kilitte tutmaktır. Eğer başkalarının içeri girmesini tamamen önlemek isterseniz, biraz bozuk bir anahtarla kapının kilidini zorlayarak kilitleyebilir ve hatta tamamen kilitli kalmasını da sağlayabilirsiniz.

Anahtar-kilit uyumu işe yarayan bir yöntemdir. Ancak, başarısız olacağımız nokta, artık evlerde kullanmayı tercih etmediğimiz eski moda sürgülü emniyet kilidini o anahtar ile kitlemeye çalışmaktır. Anahtarın girebileceği hiçbir yer yoktur, anahtar yüzeyde uyum sağlayabileceği bir kilit bulamaz. Hücrelerimiz için de bu geçerlidir. Hücrelerimizin içinde kontrol etmek istediğimiz pek çok protein vardır ama protein yapılarından dolayı bunlara karşı küçük moleküller yaratamıyoruz. Bu proteinlerin, ilaçları yerleştirebileceğimiz uygun yarıkları ya da cepleri yoktur. Tersine, geniş ve düz yüzeylere sahiptirler ve dolayısıyla da küçük molekülün yerleşebileceği bir yer yoktur. Aslına bakarsanız tüm o geniş ve düz yüzeyi kaplayabilen daha büyük moleküller üretmeye çalışabilirdik fakat sorun şu ki eğer tasarladığımız ilaçlarda belirli bir büyüklüğün üzerine çıkarsak, ne vücutta iyi bir şekilde dolaşabilirler ne de işlerini yapmak için hücrelere girebilirler.

Başka bir problem daha var. Hücrelerin içine başarılı bir şekilde girecek, belirli bir proteine bağlanacak ve bu proteinin çalışmasını durduracak ilaçlar oluşturmak zaten yeteri kadar zordur. Dahası, inanılmaz derecede zor olan ise; hücrelerin içine girecek, belirli bir proteine bağlanacak ve daha sonra bu

proteinin daha çok, daha hızlı veya daha iyi çalışmasını sağlayacak ilaçlar oluşturmaktır. Haliyle de belirli bir proteinin ifadesini artıracak, ya da sadece tek bir geni açacak olan geleneksel ilaçların üretilmesi neredeyse imkânsızdır.

Çöp DNA bizi kurtarabilir mi?

Günümüzde bütün bu zorluklarla başa çıkabilecek ilaç tedavileri geliştirmeye yönelik yeni yaklaşımlar ortaya koyma konusunda büyük bir ilgi var. Dolayısıyla da çöp DNA hakkında elde edilen her bilgi büyük öneme sahip. Uzun kodlanmayan RNA'ları ya da küçük RNA'ları kullanarak, küçük moleküllerle ya da anti-korlarla üstesinden gelemediğimiz yolakları hedeflemek teorik olarak mümkündür. Üstelik hedeflerin hücrelerin içinde olması ve geniş düz yüzeylere sahip olması da önemli değildir. Hatta bir proteinin veya genin ifadesini veya aktivitesini artırmamız gerektiği de önemli değildir. Kısacası bu yeni yaklaşımı, herhangibir hedefin üstesinden gelmek için kullanabiliriz.

Teorik olarak.

Odaklanılacak kelimeler tam olarak budur. Teorik olarak. Fikirler yaygındır ama başarı nadirdir. Hal böyle olunca da, bu alanda çalışan en yeni biyoteknoloji şirketine yatırım amaçlı emekli maaşımızı yatırmadan önce gerçeğin nerede olduğuna iyice bir göz atsak hiç de fena olmaz. Günümüzde devam eden çok fazla araştırma olduğu için² analizlerimizi birkaç öncü örneğe yoğunlaştıralım derim.

Karaciğerde üretilen ve diğer bazı moleküllerin vücutta taşınmasından sorumlu olan bir protein vardır. Küresel anlamda ele aldığımızda, bu proteini üreten gende mutasyon taşıyan yaklaşık 50.000 insan bulunur. Pek çok farklı mutasyon olsa da hepsinin benzer bir etkisi olduğu görünüyor. Mutasyonların hepsi proteinin aktivitesini değiştirir ve dolayısıyla da protein, yanlış molekülleri taşımaya başlar.*³

* Protein transtiretin olarak adlandırılır.

Böyle bir durum oluştuğunda, normal ve mutasyona uğramış proteinin bir karışımını içeren çökteller dokularda birikmeye başlar. Hastalar, çöktellerin biriktiği dokulara bağlı olarak çeşitli belirtiler gösterebilir. Bilinen olguların yaklaşık yüzde 80'inde, etkilenen ana organ kalptir ve bu da potansiyel olarak ölümcül kalp kusurlarına yol açar. Geriye kalan yüzde 20'deki olguların çoğunda ise çökteller sinirlerde ve omurilikte birikir. Sonuçta, hafif uyaranlara karşı anormal ve ağırlı duyuşsal tepkiler de dâhil olmak üzere, kişiyi güçten düşürecek bir dizi sorunlara yol açabilir.

Alnylam adlı bir şirket, hastalara enjekte edilebilen, şeker moleküllerine bağlı bir küçük RNA yarattı. Küçük RNA, bu hastalıkta mutasyona uğrayan proteini kodlayan mesajcı RNA'nın sonundaki çevrilmeyen bölgeye bağlanır. Böylece, mesajcı RNA yıkım için hedeflenmiş olur.

Şirket 2013 yılında, ürettikleri ilaç için yürüttükleri klinik araştırmalarının faz II çalışmalarından elde ettikleri sonuçları yayınladı. Fark ettiler ki ilacı hastalara enjekte ettikleri zaman, proteinin mutasyona uğramış ve normal versiyonlarının dolaşımdaki seviyelerinde hızlı ve sürekli bir düşüş oluyordu.⁴ Sonuç çok cesaret vericiydi ama henüz bir tedavi seçeneği değildi. Varsayımsal etki, dolaşım seviyelerindeki düşüşün, dokulardaki birikimde yavaşlamaya yol açacağı yönündedir. Böylece, hastalığın ilerleyişinde en azından bir yavaşlamanın önü açılmış olacak. Ancak, gerçek semptomların ve hastalığın ilerlemesinin izlendiği daha büyük bir klinik deneme yapılabilmek kadar durumun böyle olup olmadığını bilemeyeceğiz. İlacın sadece hastalık bulguları üzerinde etkili olması durumunda sonuç başarılı kabul edilecektir.

Mirna Therapeutics adlı başka bir şirket ise, kanserde önemli olduğu bilinen bir molekülü taklit eden bir küçük RNA yarattı. Endojen küçük RNA, bir tümör baskılayıcı olarak işlev görmektedir ve genel etkisi, hücre proliferasyonunu dur-

durmadır. Hücreleri bölünmeye teşvik etmeye çalışan en az yirmi diğer genin ifadesini negatif olarak düzenleyerek proliferasyonu durdurur. Kanser hastalarında bu küçük RNA'nın ifadesi sıklıkla ya azalır ya da tamamen kaybolur ve sonuçta da hücre bölünmesindeki frenler ortadan kalkmış olur. Dolayısıyla tasarlanan ilaçtan beklenen, hücrelere tekrar girerek, gen regülasyonunun normal düzenini eski haline getirmesi ve hücrelerin çok hızlı bir şekilde çoğalmasını durdurmasıdır.

Şirket, tasarladıkları ilacı karaciğer kanserli hastalarda test etti. Şimdiye kadar yapılan denemeler, hastaların hangi dozlardaki ilacı tolere edebildiklerini araştırmaya yönelikti. Belirlenen yaklaşımın klinik bir fayda sağlayıp sağlamayacağını öğrenmek ise biraz zaman alacak.⁵

Hem Alnylam hem de Mirna tarafından geliştirilen ürünlerin, hemen belli olmayan, zekice tasarlanmış bir yaklaşımı vardır. Öte yandan, nükleik asitleri baz alarak ilaç geliştirmeye çalışan şirketlerin geçmişte karşılaştığı en büyük sorunlardan biri, vücudun kendi detoksifikasyon yeteneği olmuştur. Bu aynı zamanda geleneksel ilaç keşifleri için de sık sık karşılaşılan bir problemdir. Temel olarak, herhangi bir tipteki yeni bir kimyasal vücuda girdiğinde, karaciğere gitme olasılığı çok yüksektir. Oluşan enerji bir organ olan karaciğerin ana işlevlerinden biri, görünüşünden hoşlanmadığı herhangi bir maddeyi detoksifiye etmektir. Evrimsel olarak ele aldığımızda, aslında gıdalardaki toksinlerden korumak için bize hizmet eden oldukça iyi bir sistemdir. Ancak sorun şu ki, kaçınmak istediğimiz toksinler ile kullanmaya çalıştığımız ilaçlar arasında karaciğer ayırım yapmaz. Sadece onları tespit edip yok etmeye çalışır.

Aslına bakılırsa, Alnylam ve Mirna, alternatifi olmayan zor bir durumdan en iyi şekilde yararlanmaya ve sonuç elde etmeye çalışıyorlar. Alnylam, karaciğerde üretilen bir proteinin ifadesini hedef alıyor. Mirna ise karaciğer kanseri için tedavi geliştirmeye çalışıyor. İkisinin de molekülleri, tam olarak ulaşmalarını istedikleri organ tarafından alınacaktır. Şirketler, moleküllerinin

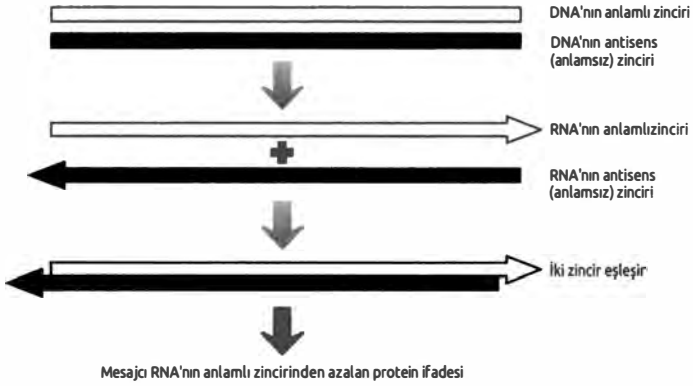
yapısını veya paketlemesini karaciğere bir kez girdikten sonra hücrelerde işlerini yapabilecek kadar uzun süre hayatta kalmalarını sağlayacak şekilde adapte ettiler. Küçük RNA yaklaşımları daha önce birçok başka hastalık için de öne sürülmüştü ve öncül hücrel çalışmaların ve hayvan deneylerinin sonuçları genellikle iyi görünüyordu. Fakat öte yandan, nükleik asitlerin karaciğerden kaçıp beyin tarafından alınması gereken Amiyotrofik Lateral Skleroz gibi bir hastalık için,⁶ bu teknolojiyen faydalanacak sektörün ne kadar başarılı olacağı henüz belli değil.

17. Bölüm’de, Duchenne Musküler Distrofisini tedavi etmek için umut verici yeni bir yaklaşımın, beklenmedik bir şekilde son aşamadaki klinik denemede başarısız olmasının yarattığı hayal kırıklığından sonra umutların nasıl yıkılabileceğini gördük.

Bu yaklaşımda kullanılan metodoloji, antisens olarak bilinen özel bir çöp DNA örneğiydi. DNA’nın çift sarmallı doğası nedeniyle de antisens çöp RNA’lar, genomumuzda yaygın olarak bulunan özelliklerinden birini oluşturur. Gerçek bir biyolojik örnek olarak kullandığımız Xist’e ve onun antisens karşıtı Tsix’e 7. Bölüm’de değinmiştik. Hatta tersten FILE kelimesi olarak okunabilen ELİF kelimesinin analojisini de kullanmıştık. Hatırlarsanız bu sadece, DNA’dan RNA kopyalarını yapan enzimlerin zinciri soldan sağa ya da karşı zinciri sağdan sola okuyup okumamasına bağlıydı.

Ancak, kelimelerin çoğu her iki yönden okunamıyor. Eğer BİYOLOJİ kelimesini tersten okursak, İJOLOYİB gibi hiçbir anlamı olmayan bir kelime telafuz ederiz. Aynı şekilde, genomda bir yönden okunan mesajcı RNA bir proteini kodlayabilir, ancak aynı bölge geriye doğru kopyalandığında sadece proteine çevrilemeyen bir çöp RNA’yı kodlar. Bazen bu mekanizma, hücrelerimizde oto-regülatör döngüler oluşturarak bazı genlerin ifadesini sınırlar. Buna ait bir örnek Şekil 19.2’de gösterilmiştir.

ÇÖP DNA



Şekil 19.2. Genomun bazı kısımlarında, DNA'nın her iki zinciri zıt yönlerde RNA'ya kopyalanabilir. Bunlar anlamlı (protein dizisi için kod taşıyan RNA üreten) ve anlamsız (protein dizisi için kod taşımayan) olarak bilinir. Anlamsız (antisens) RNA molekülü, anlamlı RNA molekülüne bağlanabilir ve onun aktivitesini etkileyebilir. Buradaki örnekte, anlamlı mesajcı RNA kalıbından protein üretilmesini engelleyecek şekilde etkilemiştir.

Araştırmacılar, protein kodlayan genlerin yaklaşık üçte birinin aynı zamanda anlamsız (antisens) zincirden çöp RNA ürettiğini gösterdiler. Bununla birlikte, anlamsız zincir genellikle düşük seviyelerde üretim yapar ve çoğu zaman yüzde 10'dan daha fazla olmaz.⁷ Bazen anlamsız, genin sadece kısa bir iç kesitidir. Bazen ise anlamlı (sens) ve anlamsız, farklı yerlerde başlayıp bitebilir. Böylece sadece kendine özgü bölgelere sahip olmakla birlikte, üst üste çakışabilirler de. Hatta bazen anlamlı DNA zincirini anlamlı RNA'ya kopyalayan makineler, anlamsız RNA'yı oluşturmak için karşı yönde hareket eden makineye çarpar. Çarpma sonucunda her iki protein grubu da DNA'dan düşer ve her iki RNA molekülü de yarıda kesilir. Öte yandan sadece bunlar için değil, bazı uzun kodlanmayan RNA'lar için de anlamsız zincirler olduğu unutulmamalıdır.

Anlamsız bir RNA'nın, anlamlı RNA partnerine bağlanmasının etkileri değişkenlik gösterebilir. Şekil 19.2, bu bağlanma

sonucunda anlamlı mesajcı RNA'nın proteine çevrilmesini nasıl önlediğinin bir örneğini gösterir. Fakat bağlamanın, mesajcı RNA'yı stabilize ettiği ve sonuçta daha yüksek protein ifadesine yol açtığı başka durumlar da vardır.⁸

Duchenne Musküler Distrofisiyle ilgili başlangıçta umut vaat eden klinik denemelerde hastalar, distrofinin mesajcı RNA'sını tanıyabilen ve onu bağlayabilen bir anlamsız molekül ile tedavi edildi. Anlamsız molekül, vücut tarafından çok hızlı bir şekilde yıkılması önlenerek şekilde kimyasal olarak değiştirildi. Anlamsız molekül, distrofinin mesajcı RNA'sına bağlandığında, uçbirleştirme makinesinin normal şekilde bağlanmasını önledi. Bu da mesajcı RNA'nın bir araya getirilme şeklini değiştirdi ve mutant protein üretiminde en çok soruna yol açan bölgenin üstesinden gelinmiş oldu.

Mutlu sonlar da vardır

Duchenne Müsküler Distrofi denemesi en nihayetinde başarısız oldu ama bu başarısızlığı bütün anlamsız diziye yüklememeliyiz. Aslında başarılı olduğu alanlar da oldu. Retinada görüşlerini tehdit eden viral bir enfeksiyon geliştirmiş* olan immün sistemi baskılanmış hastalarda kullanılmak üzere üretilen antisens bir ilaç, 1998 yılında lisanslanmıştır. Antisens molekül, viral gene bağlanıp, virüsün üremesini önlemiştir.⁹ İlaç, etkili bir ilaçtı ve haliyle iki soruyu da gündeme getirdi. İlaç neden bu kadar iyi çalıştı? Madem bu kadar iyi çalışıyordu, üretici firma neden 2004'te ilacı satmayı bıraktı?

Aslına bakarsanız, her iki sorunun cevabı da oldukça açıktır. İlaç iyi çalışıyordu çünkü doğrudan göze enjekte ediliyordu. Karaciğer tarafından ortadan kaldırılması da hiçbir zaman problem teşkil etmiyordu, çünkü karaciğerden geçmiyordu. Üstelik sadece vücudun kendi kendine yeten bir

* Bu enfeksiyona sitomegalovirüs (CMV) adı verilen bir virüs sebep olur.

kısmında yer alan virüsü hedef aldığı için vücudun diğer organlarındaki hücrelerde bulunan genlere karşı yaygın bir müdahale riski yoktu.

Bunların hepsi kulağa çok güzel geliyor, öyle değil mi? Peki o zaman üretici neden 2004'te ilacı satmayı bıraktı? Bu ilaç, ciddi derecede bağışıklık yetmezliği olan hastalar için geliştirilmişti ki bu insanların büyük çoğunluğunu da AIDS'ten mustarip olanlar oluşturuyordu. 2004 itibarıyla AIDS'e yol açan virüs olan HIV'i kontrol altında tutma konusunda oldukça iyi ilaçlar piyasaya çıkmaya başladı. Yeni ilaçlarla hastaların bağışıklık sistemleri giderek daha iyi bir seviyeye çıkmıştı ve artık retina-daki viral enfeksiyonlara yakalanmıyorlardı.

Yakın zamanda ortaya çıkan yeni gelişmeler, antisens çöp DNA'nın terapi amaçlı kullanımında hâlâ hayat olduğunu göstermiştir. Örneğin, ailesel hiperkolesterolemi adı verilen ciddi bir hastalık vardır. İngiltere'de, her ne kadar birçoğu teşhis edilememiş olsa da, bu hastalığa sahip yaklaşık 120.000 kişinin olduğu tahmin edilmektedir. Hastalığa sahip olan insanlar, hücrelerinin kötü kolesterolü almasını ve onunla düzgün bir şekilde başa çıkabilmesini engelleyen genetik mutasyonlara sahiptir. Sonuç olarak, hastaların üçte biri ile yarısı kadarı 50'li yaşların ortalarında ciddi koroner arter hastalığına sahip olmaktadır.¹⁰

Ailesel hiperkolesterolemisi olan bazı hastalar için, statin olarak bilinen standart lipit düşürücü ilaçlar, hastalardaki kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak için gerçekten iyi çalışır. Özellikle de, belirli bir genin bir mutant ve bir de normal kopyasına sahip olan insanlarda. Fakat diğer taraftan, genin her iki kopyasının da mutasyona uğradığı ve statinlerin etkisiz kaldığı, bu yüzden de hastalıktan ciddi şekilde etkilenen bazı hastalar da vardır. Bu hastalara genellikle haftada bir veya iki kez plazmaferez uygulanır. Yani kanları bir makineden geçirilir ve tehlikeli kolesterol uzaklaştırılır.

Durumu şu şekilde özetleyebileceğimizi düşünüyorum. Muslukları açık bir küvet hayal edelim. Eğer küvetin taşmasını istemiyorsanız, iki seçeneğiniz var demektir. Biriken suyu sürekli olarak tahliye edip taşmanın önüne geçebilirsiniz ya da daha fazla su akışını durdurmak için muslukları kapatabilirsiniz.

Ionis Pharmaceuticals (eski adıyla Isis) adlı bir şirket, “kötü kolesterol” olarak adlandırılan düşük yoğunluklu lipoproteinlerdeki ana proteini hedef alan bir antisens molekülü geliştirdi.* Ailesel hiperkolesterolemi için geliştirilen bu antisens tedavi, muslukları kapatmak suretiyle işe yarar. Kısaca özetleyecek olursak, Antisens ilaç, kötü kolesterol proteininin mesajcı RNA’sına bağlanır ve onu baskılayarak ifadesini ve dolayısıyla da kötü kolesterol seviyesini düşürür. İlaç, etkinliğini ispatlamıştı. Hal böyle olunca da şirket geliştirdiği bu ilacı, yüz milyonlarca dolara varan bir anlaşmayla Genzyme adlı daha büyük bir şirkete sattı.

Geliştirilen antisens ilacın** kullanımı, Ocak 2013’te ABD Gıda ve İlaç Daresi tarafından onaylandı. Ancak ilacın sadece ailesel hiperkolesteroleminin en ağır formundan mustarip olan hastalarda kullanılmasına izin verildi. Bu ilacın –hasta başına yıllık 170.000 dolar gibi dudak uçuklatan bir maliyeti olmasına rağmen¹¹– pazara sürülebilecek kadar başarılı olmasının sebeplerinden biri, hedeflediği genin ifade edildiği organdır ve bilin bakalım bu organ hangisidir? Evet, doğru tahmin ettiniz; gen, karaciğerde ifade edilmektedir. Öte yandan, ilacın sahip olduğu bir dezavantaj da vardır. İlacın kullanımıyla birlikte karaciğer toksisitesinin görüldüğü de rapor edilmişti. Dolayısıyla da Gıda ve İlaç Dairesi, Sano-fi’den (Genzyme’i satın alan şirket) tüm hastaların karaciğer fonksiyonlarının takip edilmesini talep etti.¹² Avrupa İlaç

* Hedeflenen protein apolipoprotein B100 olarak adlandırılır.

** İlaç, Kynamro olarak da bilinen Mipomersen olarak adlandırılır.

Ajansı ise, güvenlik endişelerini öne sürerek ilacı lisanslamayı reddetti.¹³

Ionis Pharmaceuticals geliştirdiği antisens tedavisi için Genzyme'den yüz milyonlarca dolar para aldı. Bir düşünelim. Temel araştırmalarla başlayıp pazara kadar ulaşan bir ilacı geliştirebilmek toplamda yirmi yıldan fazla sürdü ve tüm süreç 3 milyar dolardan daha fazlasına mal oldu.¹⁴ Zararının telafisi son derece güç olan bir yatırım.

Elbette, öncü ilaçlar bulmanın, özellikle de nispeten denenmemiş tipte bir molekül kullanarak ilaç geliştirmenin uzun zaman alması ve çok pahalıya patlaması zaten beklenen bir durumdur. Umut, her zaman, sonraki programların daha hızlı ve daha sorunsuz çalışabilmesidir. Şüphesiz ki çöp DNA'ya dayanarak geliştirilmek istenen tedaviler için yapılan klinik çalışmalar sayıca artmaktadır. Örneğin bu çalışmalardan biri, virüsün konak hücreyi enfekte etmek için konağı olan insanın küçük RNA'sından yardım aldığı bilgisine dayanıyor. Çöpe karşı savaşmak için yine çöp kullanmanın adeta bir örneğini teşkil edecek şekilde, bu küçük RNA'yı hedef alan bir antisens ilaç geliştirilmiştir ve araştırmalar şu an klinik deneylerin faz II aşamasındadır.¹⁵

Fakat burada dikkate alınması gereken garip bir nokta vardır. 2006 yılında bir ilaç devi olan Merck, terapötik amaçlı küçük RNA'lar geliştiren bir şirkete milyarlarca dolar para ödedi. 2014'te, ödediklerinin en azından bir kısmı için şirketi sattı.¹⁶ Bir başka şirket olan Roche ise, bu araştırma alanındaki çabalarını 2010 yılında durdurdu.

Geçtiğimiz yıllarda, küçük RNA'larla çalışan biyoteknoloji şirketlerine yapılan yatırımlarda büyük bir artış olmuştur. Örneğin, uzun kodlanmayan RNA'ların epigenetik makineyle olan etkileşimini önleyecek RNA tabanlı ilaçlar geliştirdiğine inanılan RaNA Therapeutics, 2012 yılında 20 milyon doların üzerine çıktı.¹⁷ Bazı nadir hastalıklara ve onkoloji en-

dikasyonlarına karşı küçük RNA'lar geliştiren Dicerna, 2014 yılında 90 milyon dolar topladı.¹⁸ Üstelik bu rakama ulaştığı 2014 yılında henüz klinik denemelere başlayabilen hiçbir programı yoktu.¹⁹

Tuhaf bir olaydan daha bahsedeyim. 2014'ün baharında hiç abartısız söylüyorum tam da bu bölümü yazarken, e-posta hesabımda bir uyarı çıktı ve gelen yazıda Novartis'in bu konudaki araştırmalarını önemli ölçüde yavaşlatmaya karar verdiği yazıyordu.²⁰ İlaç devi temel gerekçe olarak, küçük RNA'ların doğru dokulara nasıl ulaştırılacağıyla ilgili çalışılmalardaki problemleri gösterdi. Şirketler ilk kez bu işe girip, onları geliştirmeye çalıştıklarından beri, terapötiklerle ilgili karşılaştıkları en büyük sorun buydu. Çöp RNA alanındaki şirketlerin birçoğu harika bilim insanları tarafından kurulmuştur, ancak bu demek değildir ki ilacın hedef dokuya ulaştırılmasındaki temel sorunlardan herhangi biri, bir gecede ortadan kalkacak. Tabii ki bütün şirketler başarısız olmayacak ama ne yazık ki büyük çoğunluğu muhtemelen başarısız olacak. Henüz bu sorunla ilgili büyük bir ilerleme kaydedilememiştir ve yatırımcıların neden bu alandaki yeni biyoteknoloji şirketlerine para akıttıklarını açıklamamanın hiçbir yolu yoktur.

Bir gün bilim muhtemelen, genomda bulunan olası tüm epigenetik modifikasyonları yorumlayabilecek ve gen ifadesi için sonuçlarının ne olacağını kusursuz bir şekilde tahmin edebilecektir. Karbonu nasıl yakalayacağımızı ve hatta Mars'ta kolonileri nasıl kuracağımızı çözeceğiz. Tüberküloz geçmişte kalan bir hatıra olacak ve hepimiz Higgs bozonuna tam anlamıyla hâkim olacağız. Ancak, yatırımcılar camiasında umudun deneyime karşı kazandığı zaferin ardında yatan nedenleri bulmak mı? Gerçekçi olalım. Bu nedenleri bulabileceğimizi hiç sanmıyorum.



20

Karanlıktaki Işık

Genomumuzun karanlık bölgelerinde yaptığımız gezinin sonlarına doğru yaklaşırken, bazı dikkatli okuyucular, bu kitabın başında ilk karşılaştığımız insan hastalıklarından birinin gizemini hâlâ çözmediğimizi hatırlayacaktır. Adı pek de kolay akılda kalmayan Facioscapulohumeral Kas Distrofisi hastalığından bahsediyorum, kısaca FSHD'den. Yüzdeki, omuzlardaki ve üst kollardaki kasların eridiği bir hastalıktır.

Hastalar 4. kromozomun kopyalarından birinde, belirli bir genetik tekrar sayısını normalden daha az sayıda kalıt aldıklarında hastalık ortaya çıkar. Hastalığa yol açan mutasyon tanımlanmıştı. Bununla birlikte, mutasyonun tanımlanmasından birkaç yıl sonra bile, daha az sayıdaki tekrarın neden hastalığa yol açtığı gizemini korumaya devam ediyordu çünkü genetik kusurun yakınındaki hiçbir yerde protein kodlayan bir gen yoktu.

Geldiğimiz noktada ise artık hastalık semptomlarının nasıl ortaya çıktığını ve hikâyenin neden dikkat çekici olduğunu biliyoruz. FSHD, şimdiye kadar karşılaştığımız bir çok konuyu bir araya getirir ve bizlere çöp DNA, epigenetik, genetik fosiller ve anormal RNA işlemlerinin olağanüstü bir patolojik komple hikâyesi yaratmak için birlikte nasıl çalıştığını gösterir.¹

Hadi gelin daha önce ele aldığımız bilgileri hızlıca bir hatırlayalım. 4. kromozomun normal kopyasında bir bölge, 11

ila 100 kez tekrarlanır. Bahsi geçen bölge, 3.000 baz çiftinden daha fazla bir uzunluğa sahiptir. FSHD'li hastalarda, 4. kromozomun kopyalarından birinde bu tekrar sayısı daha azdır, yani bir ila on arasındadır.

Hazırsanız, ilk komplikasyonun ortaya çıktığı yer geliyor. Tekrar sayısının on veya daha az olduğu, ancak FSHD sahibi olmayan insanlar var. Kasları tamamen sağlıklı. Tekrar sayısının daha az olması sadece, yanı sıra başka bir özellik daha içeren 4. kromozom kopyasında meydana gelirse sorun yaratıyor.

Bu diğer özelliğin önemini anlamak için, tekrar bölgesinde ne bulunduğu daha ayrıntılı bir şekilde bakmamız gerekir. Hepsi bir retrogen içerir.* Bu retrogen aslında bir çöp DNA formudur. Normal bir hücresel genin mesajcı RNA'sının DNA'ya geri kopyalanıp genomun içine yerleştirilmesiyle yaratılır. Şekil 4.1'de (sayfa 38) gördüğümüz işleme çok benzerdir ve insan evriminde çok uzun zamandan beri meydana gelmektedir.

Retrogenler kökensel olarak mesajcı RNA kalıbından oluşturuldukları için, sıklıkla normal genlerin uygun düzenleyici dizilerini içermezler. Örneğin, uçbirleştirme sinyalleri içermezler (çünkü mesajcı RNA kalıbı DNA'ya kopyalanmadan önce zaten birleştirilmiştir). Uygun promotor ve hızlandırıcı bölgelerden de yoksundurlar. Öte yandan, bazıları hâlâ mesajcı RNA üretmek için kullanılabilir. FSHD retrogeninde meydana gelen de budur ama bu noktada önemli olan RNA'nın hücrede düzgün bir şekilde çalışmamasıdır. Mesajcı RNA'nın sonuna eklenen A bazları dizisi için doğru sinyalleri içermez ki hatırlarsınız A bazlarının eklenmesinin önemini daha önce ele almıştık ve işlemin nasıl gerçekleştiğini de Şekil 16.5'te göstermiştik (sayfa 233). Sonuçta, mesaj-

* Bu retrogen, DUX4 olarak adlandırılır.

cı RNA kararsız bir yapıda kalır ve protein üretimi için kalıp olarak kullanılmaz.

Ancak, bir kişi sadece az sayıda FSHD tekrarına sahip olduğunda ve 4. kromozom üzerindeki diğer diziler mevcut olduğunda, FSHD retrogeninin son kopyası ek bir diziyle birleştirilebilir. Birleşmeyle birlikte, mesajcı RNA'nın sonuna hücresel makinelerin A bazları eklemesine izin veren bir sinyal yaratılır. Sonuçta, mesajcı RNA stabil hale gelir ve protein için kalıp olarak kullanılmak üzere ribozomlara taşınır. Tahmin edebileceğiniz gibi bu protein, olgun kas hücrelerinde asla açılmaması gereken bir proteindir.

FSHD proteini, belirli DNA dizilerine bağlanarak diğer genlerin ifadesini düzenleyen bir proteindir. Genellikle sadece eşey hücrelerinin öncüllerinde yani yumurta veya sperm üreten hücrelerde ifade edilir. Bu proteinin ifadesinin kas erimesine neden yol açtığına dair kesin bir açıklama yok ama birkaç tane mekanizmanın rol oynadığı düşünülmekte. Kas hücrelerinin ölümünü tetikleyen genleri aktive edebilir ya da sessiz kalması gereken diğer retrogenleri ve genomik istilacıları aktive ederek kas kök hücrelerinin kaybına yol açabilir. Bir diğer ilgi çekici olasılık ise, FSHD proteinini ifade eden kas hücrelerinin, hastanın kendi bağışıklık sistemi tarafından yok edilmesi olabilir.

Bireyin kendi bağışıklık sisteminin yine kendi hücrelerine savaş açtığı bu durum otoimmünite olarak bilinir. Gelin FSHD'nin otoimmünite ile olan ilişkisine biraz daha yakından bakalım. Eşey hücre öncüllerine immünolojik olarak ayrıcalık tanınır ve çoğunlukla immün sistemimizdeki hücrelerden izole edilir. Dolayısıyla bağışıklık sistemimiz, immünolojik olarak ayrıcalık tanınan bölgelerdeki hücrelerin vücudumuzun normal bir parçası olduğunu asla öğrenemez. Eğer eşey hücre öncüllerine ait proteinler yetişkin kas hücrelerinde aç-

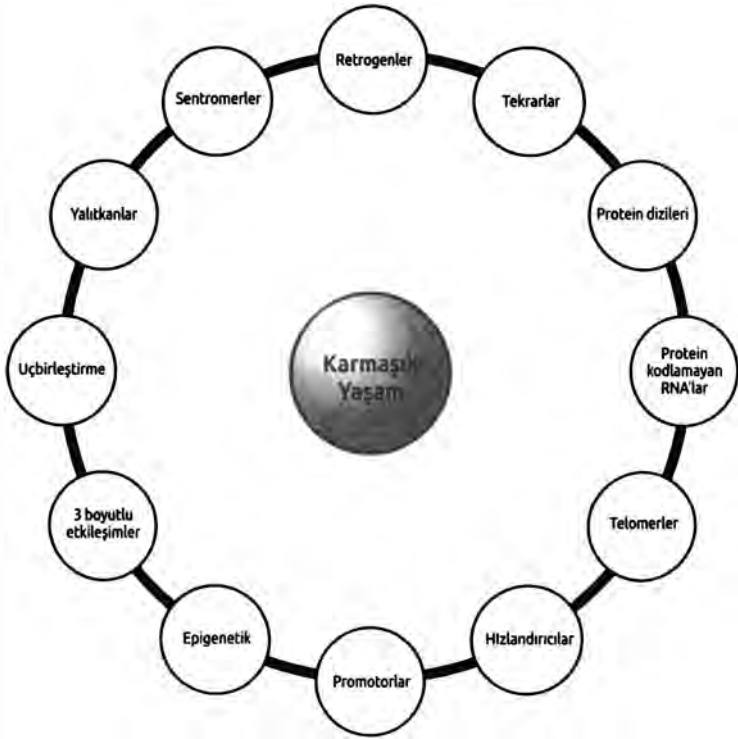
lır ve ifade edilirse, bağışıklık sistemi onlara sanki yabancı bir organizmaymış gibi yanıt verebilir ve daha önce karşılaşmadığı molekülleri ifade eden hücrelere saldırabilir.

Kısacası FSHD bize, çöp DNA'nın hastalıktaki önemine dair bir örnek sunmaktadır. Genetik bir bozukluk, çöp DNA miktarını değiştirir ve bunun sonucu olarak da bir çöp öge, bir çöp dizinin eklenmesiyle değiştirilip, ifade edilir. Fakat aslında resim, görünenden de fazlasına sahipti. FSHD retrogeni, sadece epigenetik modifikasyonların belirli bir kalıbının varlığında istikrarlı bir şekilde ifade edilir.

Normal hücrelerde FSHD tekrarları, genellikle hücreler embriyonik kök hücreler gibi pluripotent bir durumda olduğunda ifade edilir. Bu aşamada FSHD tekrarları, aktive edici epigenetik modifikasyonlarla kaplıdır. Hücreler farklılaştıkça, aktive edici modifikasyonlar baskılayıcı olanlarla değiştirilir ve bölge susturulur. Diğer taraftan, FSHD hastalarındaki pluripotent hücreler farklılaşırken, aktive edici modifikasyonlar baskılayıcılarla değiştirilmez ve tekrarlar açık kalır.

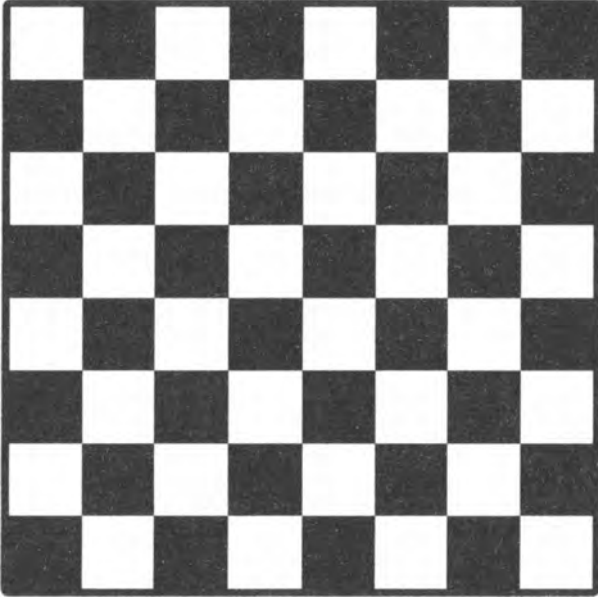
Resmin bir diğer boyutu ise, FSHD'nin genetik bölgesinin genel kontrolüdür. Tekrarlayan bölge ile 4. kromozomun geri kalanı arasında yalıtkan bir bölge vardır. 11-PARMAK proteini (bkz. sayfa 214) bu bölgeye bağlanır ve kromozomun bitişiğindeki bölgelerine kıyasla FSHD bölgesinde farklı epigenetik modifikasyon modellerinin korunmasını sağlar.

Tüm bu özelliklerin yanı sıra, 4. kromozomun ilgili bölgelerinin üç boyutlu yapısı da FSHD retrogeninin ifadesinde rol oynamaktadır. Oldukça kesin bir şekilde söyleyebiliriz ki, FSHD hastalarında gördüğümüz kısıtlı kas erimesi modeline yol açan etkenler, tüm bu faktörlerin birleşimidir. Hastalık belirtilerinin gelişmesi için bütün bu özelliklerin hepsinin doğru (veya belki de yanlış) olması gerekir.



Şekil 20.1. Büyük bir organizmayı, yani sizi oluşturmak için birlikte çalışması gereken etkileşimli faktörlerin sadece bir kısmı.

Çöp bölgedeki bir değişikliğin FSHD hastalığına yol açtığı mekanizma, genomumuzun farklı öğelerinin birlikte çalıştığı karmaşık ve çok katmanlı yolların çarpıcı bir örneğidir. Ayrıca bizlere, hücrelerimizde neler olup bittiğini değerlendirmek istediğimizde doğrusal yollar yerine, karmaşık ve birbirine geçen süreçleri düşünmemiz gerektiğini de gösterir. Şekil 20.1, durumu grafik olarak göstermektedir. Genomumuzun en önemli özelliğinin hangisi olduğuna yönelik argümanların nihayetinde neden steril olduğunu örneklendirmektedir. Hangi yönü bozarsak bozalım, bir sonuçla karşılaşacağız. Bazıları diğerlerinden daha büyük olacak, ama hepsi birlikte çalışacak.



Şekil 20.2. Hemen şimdi hızlıca bu satranç tahtasında kaç tane kare olduğunu söyleyebilir misiniz?

Elbette bu, milyarlarca baz çiftimizin her birinin bir işlevi olduğu anlamına gelmez. Bazıları gerçekten tamamen faydasız bir şekilde genomik çöp olabilir. Fakat diğerleri, anlamlı bölgedeki çöplerdir ve göz ardı edilmek yerine yararlı bir moleküle dönüştürülmüştür.²

Çok basit olduğunu düşündüğümüz bazı sorular da dâhil olmak üzere hâlâ bilmediğimiz çok fazla husus var. Dahası, bir hücrede kaç tane işlevsel çöp DNA bölgesi bulunduğuna dair kesin bir cevabımız bile yok. Cevaplaması oldukça kolay görünebilir ancak sizden şimdi Şekil 20.2'ye hızlıca bir göz atmanızı ve ardından şu soruyu cevaplamanızı istiyorum. Satranç tahtasında kaç tane kare var?

Satranç tahtasına aşınaysanız, içgüdüsel olarak anında vereceğiniz yanıt her zaman 64 olacaktır. Fakat doğru cevap

204'tür, çünkü daha belirgin olan tek siyah ve beyaz karelerin çevresine farklı boyutlarda daha büyük kareler çizebiliriz. Genomumuz da böyledir. Bir DNA dizisi; protein kodlayan bir geni, uzun kodlanmayan RNA'ları, küçük RNA'ları, antisens RNA'ları, uçbirleştirme sinyal bölgelerini, çevrilmeyen bölgeleri, promotorları ve hızlandırıcıları içerebilir. Bunların üzerine bir de; bireyler arasındaki DNA dizi değişikliklerinin, yönlendirilmiş ve rastgele epigenetik modifikasyonların, değişken üç boyutlu etkileşimlere ilave olarak diğer RNA ve proteinlere bağlanma üzerindeki etkilerini koyup, daha sonra da sürekli değişen çevremizin etkilerini ekleyin.

Genomlarımızın karmaşıklığını düşündüğümüzde, henüz her noktayı tam olarak anlayamamış olmamız hiç de şaşırtıcı değildir. Asıl şaşırtıcı olan zafer, tüm bu bahsettiklerimizden herhangi birini anlayabilmemizdir. Unutmayalım, her zaman öğrenilecek yeni bilgiler vardır, karanlığın içinde bile.

Teşekkür

İkinci kitabım için de harika bir temsilci olan Andrew Lownie'nin ve sevimli yayıncılarımın desteğini almaya devam ettiğim için kendimi şanslı görüyorum. Icon Books'tan Duncan Heath, Andrew Furlow ve Robert Sharman'a özellikle teşekkür etmek istiyorum ve tabii eski meslektaşları Simon Flynn ve Henry Lord'u da unutmadığımı belirtmeliyim. Columbia University Press'ten Patrick Fitzgerald, Bridget Flannery-McCoy ve Derek Warker'a da fazlasıyla minnettarım.

Her zaman olduğu gibi, bazı olağandışı yakınlarımdan da eğlenceli ve aydınlatıcı geri dönüşler aldım. Conor Carey, Finn Carey ve Gabriel Carey bu noktada rol oynadılar. Genetik camiasının dışından olan Iona Thomas-Wright'a da teşekkür etmek istiyorum.

Müthiş sabırlı ve güzel kayınvalidem Lisa Doran bana sonsuz desteğin yanı sıra çok sayıda kurabiye de verdi.

İlk kitabım yayınlandıktan kısa bir süre sonra, bu alanda uzman olmayan kitlelere pek çok bilim konuşması yaptım. Beni bu konuşmalara davet eden, tek tek adlarını anamayacağım kadar çok sayıda, birbirinden çeşitli organizasyonlar var ama onlar kim olduklarını biliyorlar ve ben bu ayrıcalığın tadını çoktan aldım. Hepsi de çok ilham vericiydi. Hepinize çok teşekkür ederim.

Son olarak da, tüm sözlerime rağmen hâlâ o salon dansları derslerini almadığım gerçeğini tüm sevecenliğiyle affeden Abi'ye teşekkür ederim.

Sonsöz

Gregor Mendel, günümüzde yaşıyor olmayı çok isterdi herhalde. Bilgi akışı ve karşılaştırmasının bu kadar hızlı, bu kadar yoğun olduğu bir zamanda yaşıyor olmak ayrıcalıklı olurdu. Tıpkı bizim o ayrıcalığı yaşıyor olduğumuz gibi. Öte yandan, gerçek ayrıcalık, bu hız ve yoğunluğun sağladığı hayal sınırsızlığı düşüncesindeyim. Mendel'i asıl bu etkilerdi. Öyle olurdu. Mendel öldükten çok sonra bile kısıtlı hayal gücü, bilginin, doğayı esas kılan bilginin, devasa kütüphanelere bile sığamayacak genişlikte olması gerektiğini öngörüyordu. Bu kütüphanenin evrilebileceği, büyüyebileceği fikri malumdu. Nesilden nesile aktarılacaktı. Belki o kütüphaneci, hepimizin bildiği kütüphaneci değişecek, bazı kitaplar başka raflara taşınacak falan, ama bilgi orada olacaktı. Çok, çok büyük bir kütüphane olmalıydı bu.

Biz, bugün Mendel'in hayal gücüne ancak ulaşabildik. O çok büyük kütüphaneyi bulduk. Derin rafları arasında dolaşılıyor ve neresinde hangi bilginin arşivlendiğini anlamaya uğraşıyoruz. Şimdilik tam olarak anlayabildiğimiz, kütüphanenin sanıldığından da büyük olduğu. Oradaki bilgiyi kullanma ve yeni ufuklara yol alma zamanının eşiğinde olduğumuzu anladık.

Mendel, şimdi yaşasaydı insanlık için kim bilir neler farklı olurdu. Onun hayal gücüne ancak ulaşmak üzereyiz. Kütüphanenin içindeyiz. Bir molekülün sınırsız evreninin içinde.

Üner Beköz

■ Notlar

1. BÖLÜM

1. Hastalık ve genetiği hakkında daha fazla bilgi için bakınız www.omim.org kayıt #160900

2. Daha fazla bilgi için bakınız <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/myotonic-dystrophy>

3. Daha fazla bilgi için bakınız http://www.ninds.nih.gov/disorders/friedreichs_ataxia/detail_friedreichs_ataxia.htm

4. Daha fazla bilgi için bakınız <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/facioscapulohumeral-muscular-dystrophy>

2. BÖLÜM

1. <http://www.escapistmagazine.com/news/view/113307-Virtual-Typewriter-Monkeys-Pen-Complete-Works-of-Shakespeare-Almost>.

2. Campuzano V, Montermini L, Moltò MD, Pianese L, Cossée M, Cavalcanti F, Monros E, Rodius F, Duclos F, Monticelli A, Zara F, Cañizares J, Koutnikova H, Bidichandani SI, Gellera C, Brice A, Trouillas P, De Michele G, Filla A, De Frutos R, Palau F, Patel PI, Di Donato S, Mandel JL, Coccozza S, Koenig M, Pandolfo M. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science*. 1996 Mar 8;271(5254):1423–7.

3. Bidichandani SI, Ashizawa T, Patel PI. The GAA triplet-repeat expansion in Friedreich ataxia interferes with transcription and may be associated with an unusual DNA structure. *Am J Hum Genet.* 1998 Jan;62(1):111–21.

4. Babcock M, de Silva D, Oaks R, Davis-Kaplan S, Jiralerspong S, Montermini L, Pandolfo M, Kaplan J. Regulation of mitochondrial iron accumulation by Yfh1p, a putative homolog of frataxin. *Science.* 1997 Jun 13;276(5319):1709–12.

5. Kremer EJ, Pritchard M, Lynch M, Yu S, Holman K, Baker E, Warren ST, Schlessinger D, Sutherland GR, Richards RI. Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence p(CCG)_n. *Science.* 1991 Jun 21;252(5013):1711–4.

6. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Reiner O, Richards S, Victoria MF, Zhang FP, vd. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell.* 1991 May 31;65(5):905–14.

7. Pieretti M, Zhang FP, Fu YH, Warren ST, Oostra BA, Caskey CT, Nelson DL. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome. *Cell.* 1991 Aug 23;66(4):817–22.

8. Qin M, Kang J, Burlin TV, Jiang C, Smith CB. Postadolescent changes in regional cerebral protein synthesis: an in vivo study in the FMR1 null mouse. *J Neurosci.* 2005 May 18;25(20):5087–95.

9. Reviewed in Echeverria GV, Cooper TA. RNA-binding proteins in microsatellite expansion disorders: mediators of RNA toxicity. *Brain Res.* 2012 Jun 26;1462:100–11.

3. BÖLÜM

1. <http://www.genome.gov/11006943>.

2. Aksi belirtilmediği sürece, bu bölümdeki bilgilerin çoğu, 15 Şubat 2001’de yayınlanan ve kamu tarafından finanse edilen konsorsiyumun verilerini ve analizlerini içeren *Nature* ya-

yırından alınmıştır. Ana referans, Uluslararası İnsan Genomu Sıralama Konsorsiyumu tarafından hazırlanan *Initial sequencing and analysis of the human genome* adlı yayındır. Okuyucular ilave yorumlara derginin aynı sayısından ulaşabilirler.

3. <http://partners.nytimes.com/library/national/science/062700sci-genome-text.html>

4. <http://news.bbc.co.uk/1/hi/sci/tech/807126.stm>

5. <http://news.bbc.co.uk/1/hi/sci/tech/807126.stm>

6. <http://www.genome.gov/sequencingcosts/>

7. <http://www.wired.co.uk/news/archive/2014-01/15/1000-dollar-genome>

8. Etkileyici bir olgu hikâyesi için bakınız Gura, *Nature*, 2012, Volume 483, s. 20–22.

9. <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/treatment/cancer-drugs/Crizotinib/crizotinib>

10. <https://genographic.nationalgeographic.com/human-journey/>

11. <http://publications.nigms.nih.gov/insidelifescience/genetics-numbers.html>

12. Aparicio vd. Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Science*. 2002 Aug 23;297(5585):1301–10.

13. Baltimore D. Our genome unveiled. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):814–6.

14. Amerikan Kanser Derneği'nden alınan veridir. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-keystatistics>

4. BÖLÜM

1. Aksi belirtilmediği sürece, bu bölümdeki bilgilerin çoğu, 15 Şubat 2001'de yayınlanan ve kamu tarafından finanse edilen konsorsiyumun verilerini ve analizlerini içeren *Nature* yayınından alınmıştır. Ana referans, Uluslararası İnsan Genomu

Sıralama Konsorsiyumu tarafından hazırlanan *Initial sequencing and analysis of the human genome* adlı yayındır. Okuyucular ilave yorumlara derginin aynı sayısından ulaşabilirler. Aynı sayıda yer alan David Baltimore ve Li ve arkadaşlarının yorumları da ilgi çekicidir.

2. Vlangos CN, Siuniak AN, Robinson D, Chinnaiyan AM, Lyons RH Jr, Cavalcoli JD, Keegan CE. Next-generation sequencing identifies the Danforth's short tail mouse mutation as a retrotransposon insertion affecting *Ptf1a* expression. *PLoS Genet.* 2013;9(2):e1003205.

3. Bogdanik LP, Chapman HD, Miers KE, Serreze DV, Burgess RW. A *MusD* retrotransposon insertion in the mouse *Slc6a5* gene causes alterations in neuromuscular junction maturation and behavioral phenotypes. *PLoS One.* 2012;7(1):e30217.

4. Schneuwly S, Klemenz R, Gehring WJ. Redesigning the body plan of *Drosophila* by ectopic expression of the homoeotic gene *Antennapedia*. *Nature.* 1987 Feb 26–Mar 4;325(6107):816–8.

5. Mortlock DP, Post LC, Innis JW. The molecular basis of hypodactyly (Hd): a deletion in *Hoxa 13* leads to arrest of digital arch formation. *Nat Genet.* 1996 Jul;13(3):284–9.

6. Rowe HM, Jakobsson J, Mesnard D, Rougemont J, Reynard S, Aktas T, Maillard PV, Layard-Liesching H, Verp S, Marquis J, Spitz F, Constam DB, Trono D. KAP1 controls endogenous retroviruses in embryonic stem cells. *Nature.* 2010 Jan 14;463 (7278):237–40.

7. Young GR, Eksmond U, Salcedo R, Alexopoulou L, Stoye JP, Kassiotis G. Resurrection of endogenous retroviruses in antibody-deficient mice. *Nature.* 2012 Nov 29;491(7426):774–8

8. http://www.emedicinehealth.com/heart_and_lung_transplant/article_em.htm

9. Ksenotransplantasyonla ilgi çekici bir güncel bir derleme okumak isterseniz bakınız Cooper DK. A brief history

of cross-species organ transplantation. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2012 Jan;25(1):49–57.

10. Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat Med*. 1997 Mar;3(3):282–6.

11. Di Nicuolo G, D'Alessandro A, Andria B, Scuderi V, Scognamiglio M, Tammaro A, Mancini A, Cozzolino S, Di Florio E, Bracco A, Calise F, Chamuleau RA. Long-term absence of porcine endogenous retrovirus infection in chronically immunosuppressed patients after treatment with the porcine cell-based Academic Medical Center bioartificial liver. *Xenotransplantation*. 2010 Nov–Dec;17(6):431–9.

12. Segmental duplikasyon ve anormal kros-over ile ilgili faydalı bir derleme için bakınız Rudd MK, Keene J, Bunke B, Kaminsky EB, Adam MP, Mulle JG, Ledbetter DH, Martin CL. Segmental duplications mediate novel, clinically relevant chromosome rearrangements. *Hum Mol Genet*. 2009 Aug 15;18(16):2957–62.

13. Bu durum ve etkileri ile ilgili daha fazla bilgi için bakınız http://www.ninds.nih.gov/disorders/charcot_marie_tooth/detail_charcot_marie_tooth.htm

14. Bu durum ve etkileri ile ilgili daha fazla bilgi için bakınız, see <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/001116.htm>

15. Mombaerts P. The human repertoire of odorant receptor genes and pseudogenes. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2001;2:493–510.

16. <http://www.innocenceproject.org/know/> retrieved 1 January 2014

5. BÖLÜM

1. Atıfta belirtilenler için bakınız <http://www.imdb.com>

2. Boxer LM, Dang CV. Translocations involving c-myc

and c-myc function. *Oncogene*. 2001 Sep 20(40):5595–610.

3. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J, Ratliff RL, Wu JR. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Sep;85(18):6622–6.

4. Vaziri H, Schächter F, Uchida I, Wei L, Zhu X, Effros R, Cohen D, Harley CB. Loss of telomeric DNA during aging of normal and trisomy 21 human lymphocytes. *Am J Hum Genet*. 1993 Apr;52(4):661–7.

5. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1961 Dec;25:585–621.

6. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. 1990 May 31;345(6274):458–60.

7. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, Harley CB, Shay JW, Lichtsteiner S, Wright WE. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*. 1998 Jan 16;279(5349):349–52.

8. There is a useful discussion of this problem in Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet*. 2012 Oct;13(10):693–704.

9. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet*. 2012 Oct;13(10):693–704 faydalı bir değerlendirme sunuyor.

10. Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev Genet*. 1996;18(2):173–9.

11. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, Coviello GM, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*. 1994 Dec 23;266(5193):2011–5.

12. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/anatomyvideos/000104.htm>

13. Chiu CP, Dragowska W, Kim NW, Vaziri H, Yui J, Thomas TE, Harley CB, Lansdorp PM. Differential expression of telomerase activity in hematopoietic progenitors from adult human bone marrow. *Stem Cells*. 1996 Mar;14(2):239–48.

14. Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, Thomas TE, Harley CB, Lansdorp PM. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Oct 11;91(21):9857–60.

15. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet*. 2012 Oct;13(10):693–704.

16. Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nat Rev Genet*. 2012 Oct;13(10):693–704.

17. Harika bir klinik tanımlama ve görseller için bakınız Calado RT, Young NS. Telomere diseases. *N Engl J Med*. 2009 Dec 10;361(24):2353–65.

18. Alder JK, Chen JJ, Lancaster L, Danoff S, Su SC, Cogan JD, Vulto I, Xie M, Qi X, Tudor RM, Phillips JA 3rd, Lansdorp PM, Loyd JE, Armanios MY. Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 2;105(35):13051–6.

19. Armanios MY, Chen JJ, Cogan JD, Alder JK, Ingersoll RG, Markin C, Lawson WE, Xie M, Vulto I, Phillips JA 3rd, Lansdorp PM, Greider CW, Loyd JE. Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2007 Mar 29;356(13):1317–26.

20. Tsakiri KD, Cronkhite JT, Kuan PJ, Xing C, Raghu G, Weissler JC, Rosenblatt RL, Shay JW, Garcia CK. Adult-onset pulmonary fibrosis caused by mutations in telomerase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 May 1;104(18):7552–7

21. Cronkhite JT, Xing C, Raghu G, Chin KM, Torres F, Rosenblatt RL, Garcia CK. Telomere shortening in familial and sporadic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Oct 1;178(7):729–37.

22. Faydalı bir tanımlama için bakınız <http://www.patient.co.uk/doctor/aplastic-anaemia>

23. de la Fuente J, Dokal I. Dyskeratosis congenita: advances in the understanding of the telomerase defect and the role of stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. 2007 Sep;11(6):584–94.

24. Armanios M, Chen JL, Chang YP, Brodsky RA, Hawkins A, Griffin CA, Eshleman JR, Cohen AR, Chakravarti A, Hamosh A, Greider CW. Haploinsufficiency of telomerase reverse transcriptase leads to anticipation in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Nov 1;102(44):15960–4.

25. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/en/>

26. Alder JK, Guo N, Kembou F, Parry EM, Anderson CJ, Gorgy AI, Walsh MF, Sussan T, Biswal S, Mitzner W, Tudor RM, Armanios M. Telomere length is a determinant of emphysema susceptibility. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Oct 15;184(8):904–12.

27. Sahin E, Depinho RA. Linking functional decline of telomeres, mitochondria and stem cells during ageing. *Nature*. 2010 Mar 25;464(7288):520–8.

28. Amerikan Kalp Derneği'nin Yaşlı Amerikalılar ve Kardiyovasküler Hastalıklar ile ilgili İstatistiği, 2013 bilgisi.

29. <http://www.rcpsych.ac.uk/healthadvice/problems-disorders/depressioninolderadults.aspx>

30. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, Aviv A, Spector TD. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*. 2005 Aug 20–26;366(9486):662–4.

31. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*. 2003 Feb 1;361(9355):393–5.

32. Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Kimura M, Gardner JP, Psaty BM, Jenny NS, Tracy RP, Hardikar S, Aviv A. Leukocyte telomere length and mortality in the Cardiovascular Health Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011 Apr;66(4):421–9.

33. Atzmon G, Cho M, Cawthon RM, Budagov T, Katz M, Yang X, Siegel G, Bergman A, Huffman DM, Schechter CB, Wright WE, Shay JW, Barzilai N, Govindaraju DR, Suh Y. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jan 26;107 Suppl 1:1710–7.

34. Segerstrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull*. 2004 Jul;130(4):601–30.

35. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, Cawthon RM. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Dec 7;101(49):17312–5.

36. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>

37. Bu alanla ilgili faydalı bir kaynak olarak bakınız Tennen RI, Chua KF. Chromatin regulation and genome maintenance by mammalian SIRT6. *Trends Biochem Sci*. 2011 Jan;36(1):39–46.

38. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, Aviv A, Spector TD. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*. 2005 Aug 20–26;366(9486):662–4.

39. UNFPA report on Ageing in The Twenty-First Century, 2012.

40. Jennings BJ, Ozanne SE, Dorling MW, Hales CN. Early growth determines longevity in male rats and may be related to telomere shortening in the kidney. *FEBS Lett*. 1999 Apr 1;448(1):4–8.

6. BÖLÜM

1. *The King and I*, 1956, senaryo Ernest Lehman, 20th Century Fox.

2. Evrim ağacının farklı kollarındaki sentromerlerin farklı tiplerine dair iyi bir değerlendirme Ogiyama Y, Ishii K tarafından ele alınmıştır. *The smooth and stable operation of centromeres*. Genes Genet Syst. 2012;87(2):63–73.

3. Verdaasdonk JS, Bloom K. Centromeres: unique chromatin structures that drive chromosome segregation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011 May;12(5):320–32.

4. Palmer DK, O'Day K, Wener MH, Andrews BS, Margolis RL. A 17-kD centromere protein (CENP-A) copurifies with nucleosome core particles and with histones. *J Cell Biol*. 1987 Apr;104(4):805–15.

5. Takahashi K, Chen ES, Yanagida M. Requirement of Mis6 centromere connector for localizing a CENP-A-like protein in fission yeast. *Science*. 2000 Jun 23;288(5474):2215–9.

6. Blower MD, Karpen GH. The role of *Drosophila* CID in kinetochore formation, cell-cycle progression and heterochromatin interactions. *Nat Cell Biol*. 2001 Aug;3(8):730–9.

7. Hori T, Amano M, Suzuki A, Backer CB, Welburn JP, Dong Y, McEwen BF, Shang WH, Suzuki E, Okawa K, Cheeseman IM, Fukagawa T. CCAN makes multiple contacts with centromeric DNA to provide distinct pathways to the outer kinetochore. *Cell*. 2008 Dec 12;135(6):1039–52.

8. Heun P, Erhardt S, Blower MD, Weiss S, Skora AD, Karpen GH. Mislocalization of the *Drosophila* centromere-specific histone CID promotes formation of functional ectopic kinetochores. *Dev Cell*. 2006 Mar;10(3):303–15.

9. Van Hooser AA, Ouspenski II, Gregson HC, Starr DA, Yen TJ, Goldberg ML, Yokomori K, Earnshaw WC, Sullivan KF, Brinkley BR. Specification of kinetochore-forming chromatin by the histone H3 variant CENP-A. *J Cell Sci*. 2001 Oct;114(Pt 19):3529–42.

10. Zuccolo M, Alves A, Galy V, Bolhy S, Formstecher E, Racine V, Sibarita JB, Fukagawa T, Shiekhhattar R, Yen T, Doye V. The human Nup107-160 nuclear pore subcomplex contributes to proper kinetochore functions. *EMBO J.* 2007 Apr 4;26(7):1853–64.

11. Palmer DK, O'Day K, Wener MH, Andrews BS, Margolis RL. A 17-kD centromere protein (CENP-A) copurifies with nucleosome core particles and with histones. *J Cell Biol.* 1987 Apr;104(4):805–15.

12. Sekulic N, Bassett EA, Rogers DJ, Black BE. The structure of (CENP-A-H4)(2) reveals physical features that mark centromeres. *Nature.* 2010 Sep 16;467(7313):347–51.

13. Warburton PE, Cooke CA, Bourassa S, Vafa O, Sullivan BA, Stetten G, Gimelli G, Warburton D, Tyler-Smith C, Sullivan KF, Poirier GG, Earnshaw WC. Immunolocalization of CENP-A suggests a distinct nucleosome structure at the inner kinetochore plate of active centromeres. *Curr Biol.* 1997 Nov 1;7(11):901–4.

14. Bu modelin çok iyi bir analizi için bakınız Sekulic N, Black BE. Molecular underpinnings of centromere identity and maintenance. *Trends Biochem Sci.* 2012 Jun;37(6):220–9.

15. Bu sürecin detayları ve ilgili epigenetik modifikasyonlar hakkında daha fazla bilgi edinmek istiyorsanız bakınız González-Barrios R, Soto-Reyes E, Herrera LA. Assembling pieces of the centromere epigenetics puzzle. *Epigenetics.* 2012 Jan 1;7(1):3–13.

16. *The Sound of Music*, 1965, 20th Century Fox filminde yer alan 'Something Good' adlı şarkıdan esinlenilmiştir.

17. Bu açıdan özellikle önemli bir protein HJURP olarak adlandırılır. Daha fazla bilgi için bakınız Sekulic N, Black BE. Molecular underpinnings of centromere identity and maintenance. *Trends Biochem Sci.* 2012 Jun;37(6):220–9.

18. Palmer DK, O'Day K, Margolis RL. The centromere specific histone CENP-A is selectively retained in discrete foci in mammalian sperm nuclei. *Chromosoma*. 1990 Dec;100(1):32–6
19. Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature*. 1979 Feb 22;277(5698):665–7.
20. <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/treatment/cancer-drugs/paclitaxel>
21. Figure quoted in Rajagopalan H, Lengauer C. Aneuploidy and cancer. *Nature*. 2004 Nov 18;432(7015):338–41.
22. Pfau SJ, Amon A. Chromosomal instability and aneuploidy in cancer: from yeast to man. *EMBO Rep*. 2012 Jun 1;13(6):515–27.
23. Rehen SK, Yung YC, McCreight MP, Kaushal D, Yang AH, Almeida BS, Kingsbury MA, Cabral KM, McConnell MJ, Anliker B, Fontanoz M, Chun J. Constitutional aneuploidy in the normal human brain. *J Neurosci*. 2005 Mar 2;25(9):2176–80.
24. Rehen SK, McConnell MJ, Kaushal D, Kingsbury MA, Yang AH, Chun J. Chromosomal variation in neurons of the developing and adult mammalian nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Nov 6;98(23):13361–6.
25. Kingsbury MA, Friedman B, McConnell MJ, Rehen SK, Yang AH, Kaushal D, Chun J. Aneuploid neurons are functionally active and integrated into brain circuitry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Apr 26;102(17):6143–7.
26. Melchiorri C, Chieco P, Zedda AI, Coni P, Ledda-Columbano GM, Columbano A. Ploidy and nuclearity of rat hepatocytes after compensatory regeneration or mitogen-induced liver growth. *Carcinogenesis*. 1993 Sep;14(9):1825–30.
27. Down Sendromunun nedenini tam olarak tespit eden ve 50 yıldır süren tartışmaların olağanüstü bir sunumu için bakınız <http://www.nature.com/news/down-s-syndrome-discovery-dispute-resurfaces-in-france-1.14690>

28. Down Sendromunun tıbbi ve sosyal yönleri hakkında çok sayıda hasta savunma grubu mevcuttur ve bunlardan biri <http://www.downs-syndrome.org.uk/>

29. <http://www.nhs.uk/conditions/edwards-syndrome/Pages/Introduction.aspx>

30. <http://www.cafamily.org.uk/medical-information/conditions/p/patausyndrome/>

31. Toner JP, Grainger DA, Frazier LM. Clinical outcomes among recipients of donated eggs: an analysis of the U.S. national experience, 1996–1998. *Fertil Steril*. 2002 Nov;78(5):1038–45.

7. BÖLÜM

1. Ulusal İstatistik Ofisi İstatistik Bülteni, 8 Ağustos 2013 Yıllık Yıl Nüfusu Tahminleri, 2011 ve 2012.

2. Bu genin önemini gösteren yayın Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, Taylor A, Griffiths BL, Goodfellow PN, Fellous M. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature*. 1990 Nov 29;348(6300):448–50.

3. Yamauchi Y, Riel JM, Stoytcheva Z, Ward MA. Two Y genes can replace the entire Y chromosome for assisted reproduction in the mouse. *Science*. 2014 Jan 3;343(6166):69–72.

4. Ross MT vd., The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*. 2005 Mar 17;434(7031):325–37.

5. Brown CJ, Lafreniere RG, Powers VE, Sebastio G, Ballabio A, Pettigrew AL, Ledbetter DH, Levy E, Craig IW, Willard HF. Localization of the X inactivation centre on the human X chromosome in Xq13. *Nature*. 1991 Jan 3;349(6304):82–4.

6. Brown CJ, Ballabio A, Rupert JL, Lafreniere RG, Grompe M, Tonlorenzi R, Willard HF. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*. 1991 Jan 3;349(6304):38–44.

7. Brown CJ, Hendrich BD, Rupert JL, Lafrenière RG, Xing Y, Lawrence J, Willard HF. The human XIST gene: analysis of

a 17 kb inactive X-specific RNA that contains conserved repeats and is highly localized within the nucleus. *Cell*. 1992 Oct 30;71(3):527-42.

8. Brockdorff N, Ashworth A, Kay GF, McCabe VM, Norris DP, Cooper PJ, Swift S, Rastan S. The product of the mouse Xist gene is a 15 kb inactive X-specific transcript containing no conserved ORF and located in the nucleus. *Cell*. 1992 Oct 30;71(3):515-26.

9. Lee JT, Strauss WM, Dausman JA, Jaenisch R. A 450 kb transgene displays properties of the mammalian X-inactivation center. *Cell*. 1996 Jul 12;86(1):83-94.

10. Bu sürecin kapsamlı bir derlemesi için bakınız Lee JT. The X as model for RNA's niche in epigenomic regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 Sep;2(9):a003749.

11. Xu N, Tsai CL, Lee JT. Transient homologous chromosome pairing marks the onset of X inactivation. *Science*. 2006 Feb 24;311(5764):1149-52.

12. Hemofilinin Avrupa kraliyet aileleri tarafından yayılmasını anlatan büyüleyici bir yazı için bakınız <http://www.hemophilia.org/NHFWeb/MainPgs/MainNHF.aspx?menuid=178&contentid=6>

13. Bu hastalığa yönelik daha fazla bilgi için bakınız <http://www.nhs.uk/conditions/Rett-syndrome/Pages/Introduction.aspx>

14. Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet*. 1999 Oct;23(2):185-8.

15. Bu hastalığa yönelik daha fazla bilgi için bakınız <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000705.htm>

16. Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*. 1987 Dec 24;51(6):919-28.

17. Pena SD, Karpatis G, Carpenter S, Fraser FC. The clinical consequences of X-chromosome inactivation: Duchenne muscular dystrophy in one of monozygotic twins. *J Neurol Sci.* 1987 Jul;79(3):337–44.

18. Shin T, Kraemer D, Pryor J, Liu L, Rugila J, Howe L, Buck S, Murphy K, Lyons L, Westhusin M. A cat cloned by nuclear transplantation. *Nature.* 2002 Feb 21;415(6874):859.

8. BÖLÜM

1. Schmitt AM, Chang HY. Gene regulation: Long RNAs wire up cancer growth. *Nature.* 2013 Aug 29;500(7464):536–7.

2. Volders PJ, Helsens K, Wang X, Menten B, Martens L, Gevaert K, Vandesompele J, Mestdagh P. LNCipedia: a database for annotated human long-noncoding RNA transcript sequences and structures. *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan;41(Database issue):D246–51.

3. ENCODE Project Consortium, Bernstein BE, Birney E, Dunham I, Green ED, Gunter C, Snyder M. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 2012 Sep 6;489(7414):57–74.

4. Tay Y, Rinn J, Pandolfi PP. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition. *Nature.* 2014 Jan 16;505(7483):344–52.

5. Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H, Guernec G, Martin D, Merkel A, Knowles DG, Lagarde J, Veeravalli L, Ruan X, Ruan Y, Lassmann T, Carninci P, Brown JB, Lipovich L, Gonzalez JM, Thomas M, Davis CA, Shiekhata R, Gingeras TR, Hubbard TJ, Notredame C, Harrow J, Guigó R. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Res.* 2012 Sep;22(9):1775–89.

6. Ulitsky I, Shkumatava A, Jan CH, Sive H, Bartel DP. Conserved function of lincRNAs in vertebrate embryonic de-

velopment despite rapid sequence evolution. *Cell*. 2011 Dec 23;147(7):1537–50.

7. Cabili MN, Trapnell C, Goff L, Koziol M, Tazon-Vega B, Regev A, Rinn JL. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes Dev*. 2011 Sep 15;25(18):1915–27.

8. Church DM, Goodstadt L, Hillier LW, Zody MC, Goldstein S, She X, Bult CJ, Agarwala R, Cherry JL, DiCuccio M, Hlavina W, Kapustin Y, Meric P, Maglott D, Birtle Z, Marques AC, Graves T, Zhou S, Teague B, Potamouis K, Churas C, Place M, Herschleb J, Runnheim R, Forrest D, Amos-Landgraf J, Schwartz DC, Cheng Z, Lindblad-Toh K, Eichler EE, Ponting CP; Mouse Genome Sequencing Consortium. Lineage-specific biology revealed by a finished genome assembly of the mouse. *PLoS Biol*. 2009 May 5;7(5):e1000112.

9. Necsulea A, Soumillon M, Warnefors M, Liechti A, Dais T, Zeller U, Baker JC, Grützner F, Kaessmann H. The evolution of long-noncoding RNA repertoires and expression patterns in tetrapods. *Nature*. 2014 Jan 30;505(7485):635–40.

10. Wahlestedt C. Targeting long non-coding RNA to therapeutically upregulate gene expression. *Nat Rev Drug Discov*. 2013 Jun;12(6):433–46.

11. Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM, Mehler MF, Mattick JS. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Jan 15;105(2):716–21.

12. Bu sınıfın, kodlayıcı olmayan uzun RNA'yla olan ilişki-sine yönelik faydalı bir derleme için bakınız Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell*. 2013 Jul 3;154(1):26–46.

13. Guttman M, Donaghey J, Carey BW, Garber M, Grenier JK, Munson G, Young G, Lucas AB, Ach R, Bruhn L, Yang X, Amit I, Meissner A, Regev A, Rinn JL, Root DE, Lander ES.

lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature*. 2011 Aug 28;477(7364):295–300.

14. Wang KC, Yang YW, Liu B, Sanyal A, Corces-Zimmerman R, Chen Y, Lajoie BR, Protacio A, Flynn RA, Gupta RA, Wysocka J, Lei M, Dekker J, Helms JA, Chang HY. A long non-coding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression. *Nature*. 2011 Apr 7;472(7341):120–4.

15. Li L, Liu B, Wapinski OL, Tsai MC, Qu K, Zhang J, Carlson JC, Lin M, Fang F, Gupta RA, Helms JA, Chang HY. Targeted disruption of Hotaïr leads to homeotic transformation and gene derepression. *Cell Rep*. 2013 Oct 17;5(1):3–12.

16. Du Z, Fei T, Verhaak RG, Su Z, Zhang Y, Brown M, Chen Y, Liu XS. Integrative genomic analyses reveal clinically relevant long noncoding RNAs in human cancer. *Nat Struct Mol Biol*. 2013 Jul;20(7):908–13.

17. Bu konuyla ilgili faydalı bir derleme için bakınız Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS, Dinger ME. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. *Br J Cancer*. 2013 Jun 25;108(12):2419–25.

18. Yap KL, Li S, Muñoz-Cabello AM, Raguz S, Zeng L, Mujtaba S, Gil J, Walsh MJ, Zhou MM. Molecular interplay of the noncoding RNA ANRIL and methylated histone H3 lysine 27 by polycomb CBX7 in transcriptional silencing of INK4a. *Mol Cell*. 2010 Jun 11;38(5):662–74.

19. Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, Suzuki S, Liu N, Kitagawa M, Xiong Y. Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15(INK4B) tumor suppressor gene. *Oncogene*. 2011 Apr 21;30(16):1956–62.

20. Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, Zheng SS. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol*. 2011 May;18(5):1243–50.

21. Ishibashi M, Kogo R, Shibata K, Sawada G, Takahashi Y, Kurashige J, Akiyoshi S, Sasaki S, Iwaya T, Sudo T, Sugimachi K, Mimori K, Wakabayashi G, Mori M. Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primary hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep.* 2013 Mar;29(3):946–50.

22. Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, Kim S, Safe S. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene.* 2013 Mar 8;32(13):1616–25.

23. Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature.* 2010 Apr 15;464(7291):1071–6.

24. Yang L, Lin C, Jin C, Yang JC, Tanasa B, Li W, Merkurjev D, Ohgi KA, Meng D, Zhang J, Evans CP, Rosenfeld MG. Long-noncoding RNA-dependent mechanisms of androgen-receptor-regulated gene activation programs. *Nature.* 2013 Aug 29;500(7464):598–602.

25. Prensner JR, Iyer MK, Sahu A, Asangani IA, Cao Q, Patel L, Vergara IA, Davicioni E, Erho N, Ghadessi M, Jenkins RB, Triche TJ, Malik R, Bedenis R, McGregor N, Ma T, Chen W, Han S, Jing X, Cao X, Wang X, Chandler B, Yan W, Siddiqui J, Kunju LP, Dhanasekaran SM, Pienta KJ, Feng FY, Chinnaiyan AM. The long noncoding RNA SChLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nat Genet.* 2013 Nov;45(11):1392–8.

26. Necsulea A, Soumillon M, Warnefors M, Liechti A, Daish T, Zeller U, Baker JC, Grützner F, Kaessmann H. The evolution of long-noncoding RNA repertoires and expression patterns in tetrapods. *Nature.* 2014 Jan 30;505(7485):635–40.

27. Bu konu hakkındaki faydalı bir değerlendirme için bakınız Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nat Rev Genet.* 2014 Jan;15(1):7–21.

28. Bernard D, Prasanth KV, Tripathi V, Colasse S, Nakamura T, Xuan Z, Zhang MQ, Sedel F, Jourdain L, Couplier F, Triller A, Spector DL, Bessis A. A long nuclear-retained non-coding RNA regulates synaptogenesis by modulating gene expression. *EMBO J.* 2010 Sep 15;29(18):3082–93.

29. Pollard KS, Salama SR, Lambert N, Lambot MA, Copens S, Pedersen JS, Katzman S, King B, Onodera C, Siepel A, Kern AD, Dehay C, Igel H, Ares M Jr, Vanderhaeghen P, Haussler D. An RNA gene expressed during cortical development evolved rapidly in humans. *Nature.* 2006 Sep 14;443(7108):167–72.

30. http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/

31. Faghihi MA, Modarresi F, Khalil AM, Wood DE, Sahagan BG, Morgan TE, Finch CE, St Laurent G 3rd, Kenny PJ, Wahlestedt C. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. *Nat Med.* 2008 Jul;14(7):723–30.

32. Modarresi F, Faghihi MA, Patel NS, Sahagan BG, Wahlestedt C, Lopez-Toledano MA. Knockdown of BACE1-AS Nonprotein-Coding Transcript Modulates Beta-Amyloid-Related Hippocampal Neurogenesis. *Int J Alzheimers Dis.* 2011;2011:929042.

33. Zhao X, Tang Z, Zhang H, Atianjoh FE, Zhao JY, Liang L, Wang W, Guan X, Kao SC, Tiwari V, Gao YJ, Hoffman PN, Cui H, Li M, Dong X, Tao YX. A long noncoding RNA contributes to neuropathic pain by silencing Kcna2 in primary afferent neurons. *Nat Neurosci.* 2013 Aug;16(8):1024–31.

34. Faydalı bir derleme için bakınız Wahlestedt C. Targeting long non-coding RNA to therapeutically upregulate gene expression. *Nat Rev Drug Discov.* 2013 Jun;12(6):433–46.

35. Bird A. Genome biology: not drowning but waving. *Cell.* 2013 Aug 29;154(5):951–2.

9. BÖLÜM

1. Bu konu hakkında daha fazla bilgi sahibi olmak istiyorsanız, ilk kitabım *The Epigenetics Revolution*'ı okuyabilirsiniz.

2. Guttman M, Donaghey J, Carey BW, Garber M, Grenier JK, Munson G, Young G, Lucas AB, Ach R, Bruhn L, Yang X, Amit I, Meissner A, Regev A, Rinn JL, Root DE, Lander ES. lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature.* 2011 Aug 28;477(7364):295–300

3. Guil S, Soler M, Portela A, Carrère J, Fonalleras E, Gómez A, Villanueva A, Esteller M. Intronic RNAs mediate EZH2 regulation of epigenetic targets. *Nat Struct Mol Biol.* 2012 Jun 3;19(7):664–70.

4. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, Ghosh D, Pienta KJ, Sewalt RG, Otte AP, Rubin MA, Chinnaiyan AM. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature.* 2002 Oct 10;419(6907):624–9.

5. Kleer CG, Cao Q, Varambally S, Shen R, Ota I, Tomlins SA, Ghosh D, Sewalt RG, Otte AP, Hayes DF, Sabel MS, Livant D, Weiss SJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM. EZH2 is a marker of aggressive breast cancer and promotes neoplastic transformation of breast epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Sep 30;100(20):11606–11.

6. Sneeringer CJ, Scott MP, Kuntz KW, Knutson SK, Pollock RM, Richon VM, Copeland RA. Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in hu-

man B-cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Dec 7;107(49):20980–5.

7. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01897571?term=7438&rank=1>

8. Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, Suzuki S, Liu N, Kitagawa M, Xiong Y. Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15(INK4B) tumor suppressor gene. *Oncogene*. 2011 Apr 21;30(16):1956–62.

9. Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, Shi Y, Segal E, Chang HY. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science*. 2010 Aug 6;329(5992):689–93.

10. Bu konu hakkında çıkan güncel yayınlardan biri: Davidovich C, Zheng L, Goodrich KJ, Cech TR. Promiscuous RNA binding by Polycomb repressive complex 2. *Nat Struct Mol Biol*. 2013 Nov;20(11):1250–7.

11. Bir önceki atıfta bahsedilen yayından biraz daha anlaşılabilir bir özet için bakınız Goff LA, Rinn JL. Poly-combing the genome for RNA. *Nat Struct Mol Biol*. 2013 Dec;20(12):1344–6.

12. Di Ruscio A, Ebralidze AK, Benoukraf T, Amabile G, Goff LA, Terragni J, Figueroa ME, De Figueiredo Pontes LL, Alberich-Jorda M, Zhang P, Wu M, D'Alò F, Melnick A, Leone G, Ebralidze KK, Pradhan S, Rinn JL, Tenen DG. DNMT1-interacting RNAs block gene-specific DNA methylation. *Nature*. 2013 Nov 21;503(7476):371–6.

13. Bu süreçteki tüm karmaşık aşamalara genel bir bakış için bakınız Froberg JE, Yang L, Lee JT. Guided by RNAs: X-inactivation as a model for long non-coding RNA function. *J Mol Biol*. 2013 Oct 9;425(19):3698–706.

14. Froberg JE, Yang L, Lee JT. Guided by RNAs: X-inactivation as a model for long non-coding RNA function. *J Mol Biol*. 2013 Oct 9;425(19):3698–706.

15. Michaud EJ, van Vugt MJ, Bultman SJ, Sweet HO, Davison MT, Woychik RP. Differential expression of a new dominant agouti allele (Aiapy) is correlated with methylation state and is influenced by parental lineage. *Genes Dev.* 1994 Jun 15;8(12):1463–72.

10. BÖLÜM

1. Çalışmanın çağdaş bir incelemesi için bkz. Surani MA, Barton SC, Norris ML. Experimental reconstruction of mouse eggs and embryos: an analysis of mammalian development. *Biol Reprod.* 1987 Feb;36(1):1–16.

2. Damgalanmış fare dizilerine ait online bir deposu için <http://www.mousebook.org/catalog.php?catalog=imprinting>

3. Faydalı bir derleme için bkz. Guenzl PM, Barlow DP. Macro long non-coding RNAs: a new layer of cis-regulatory information in the mammalian genome. *RNA Biol.* 2012 Jun;9(6):731–41.

4. Keseli memelilerin damgalanmasına yönelik yeni bir inceleme için bkz. Graves JA, Renfree MB. Marsupials in the age of genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2013;14:393–420.

5. Landers M, Bancescu DL, Le Meur E, Rougeulle C, Glatt-Deeley H, Brannan C, Muscatelli F, Lalande M. Regulation of the large (approximately 1000 kb) imprinted murine Ube3a antisense transcript by alternative exons upstream of Snurf/Snrpn. *Nucleic Acids Res.* 2004 Jun 29;32(11):3480–92.

6. Terranova R, Yokobayashi S, Stadler MB, Otte AP, van Lohuizen M, Orkin SH, Peters AH. Polycomb group proteins Ezh2 and Rnf2 direct genomic contraction and imprinted repression in early mouse embryos. *Dev Cell.* 2008 Nov;15(5):668–79.

7. Wagschal A, Sutherland HG, Woodfine K, Henckel A, Chebli K, Schulz R, Oakey RJ, Bickmore WA, Feil R. G9a histo-

ne methyltransferase contributes to imprinting in the mouse placenta. *Mol Cell Biol*. 2008 Feb;28(3):1104–13.

8. Nagano T, Mitchell JA, Sanz LA, Pauler FM, Ferguson-Smith AC, Feil R, Fraser P. The Air noncoding RNA epigenetically silences transcription by targeting G9a to chromatin. *Science*. 2008 Dec 12;322(5908):1717–20.

9. Koerner MV, Pauler FM, Huang R, Barlow DP. The function of non-coding RNAs in genomic imprinting. *Development*. 2009 Jun;136(11):1771–83.

10. Barlow DP. Methylation and imprinting: from host defense to gene regulation? *Science*. 1993 Apr 16;260(5106):309–10.

11. Skaar DA, Li Y, Bernal AJ, Hoyo C, Murphy SK, Jirtle RL. The human imprintome: regulatory mechanisms, methods of ascertainment, and roles in disease susceptibility. *ILAR J*. 2012 Dec;53(3–4):341–58.

12. Bu proteinlerin, maternal DKE'nin metilasyonundaki etkilerinin bir açıklaması için: Bourc'his D, Proudhon C. Sexual dimorphism in parental imprint ontogeny and contribution to embryonic development. *Mol Cell Endocrinol*. 2008 Jan 30;282(1–2):87–94.

13. Bu proteinin maternal damgalamanın korunmasındaki önemini gösteren yayın: Hirasawa R, Chiba H, Kaneda M, Tajima S, Li E, Jaenisch R, Sasaki H. Maternal and zygotic Dnmt1 are necessary and sufficient for the maintenance of DNA methylation imprints during preimplantation development. *Genes Dev*. 2008 Jun 15;22(12):1607–16.

14. Reinhart B, Paoloni-Giacobino A, Chaillet JR. Specific differentially methylated domain sequences direct the maintenance of methylation at imprinted genes. *Mol Cell Biol*. 2006 Nov;26(22):8347–56.

15. Skaar DA, Li Y, Bernal AJ, Hoyo C, Murphy SK, Jirtle RL. The human imprintome: regulatory mechanisms, metho-

ds of ascertainment, and roles in disease susceptibility. *ILAR J.* 2012 Dec;53(3-4):341-58.

16. Kawahara M, Wu Q, Takahashi N, Morita S, Yamada K, Ito M, Ferguson-Smith AC, Kono T. High-frequency generation of viable mice from engineered bi-maternal embryos. *Nat Biotechnol.* 2007 Sep;25(9):1045-50.

17. Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nat Rev Genet.* 2014 Jan;15(1):7-21.

18. Frost JM, Moore GE. The importance of imprinting in the human placenta. *PLoS Genet.* 2010 Jul 1;6(7):e1001015.

19. Tam bir tanımlama için bkz. <http://omim.org/entry/176270>

20. Tam bir tanımlama için bkz. <http://omim.org/entry/105830>

21. de Smith AJ, Purmann C, Walters RG, Ellis RJ, Holder SE, Van Haelst MM, Brady AF, Fairbrother UL, Dattani M, Keogh JM, Henning E, Yeo GS, O'Rahilly S, Froguel P, Farooqi IS, Blakemore AI. A deletion of the HBII-85 class of small nucleolar RNAs (snoRNAs) is associated with hyperphagia, obesity and hypogonadism. *Hum Mol Genet.* 2009 Sep 1;18(17):3257-65.

22. Duker AL, Ballif BC, Bawle EV, Person RE, Mahadevan S, Alliman S, Thompson R, Traylor R, Bejjani BA, Shaffer LG, Rosenfeld JA, Lamb AN, Sahoo T. Paternally inherited microdeletion at 15q11.2 confirms a significant role for the SNORD116 C/D box snoRNA cluster in Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2010 Nov;18(11):1196-201.

23. Sahoo T, del Gaudio D, German JR, Shinawi M, Peters SU, Person RE, Garnica A, Cheung SW, Beaudet AL. Prader-Willi phenotype caused by paternal deficiency for the HBII-85 C/D box small nucleolar RNA cluster. *Nat Genet.* 2008 Jun;40(6):719-21.

24. Tam bir tanımlama için bkz. <http://omim.org/entry/180860>

25. Tam bir tanımlama için bkz. <http://omim.org/entry/130650>

26. Data collated in Kotzot D. Maternal uniparental disomy 14 dissection of the phenotype with respect to rare autosomal recessively inherited traits, trisomy mosaicism, and genomic imprinting. *Ann Genet.* 2004 Jul-Sep;47(3):251–60.

27. Kagami M, Sekita Y, Nishimura G, Irie M, Kato F, Okada M, Yamamori S, Kishimoto H, Nakayama M, Tanaka Y, Matsuo K, Takahashi T, Noguchi M, Tanaka Y, Masumoto K, Utsunomiya T, Kouzan H, Komatsu Y, Ohashi H, Kurosawa K, Kosaki K, Ferguson-Smith AC, Ishino F, Ogata T. Deletions and epimutations affecting the human 14q32.2 imprinted region in individuals with paternal and maternal upd(14)-like phenotypes. *Nat Genet.* 2008 Feb;40(2):237–42.

28. Çeşitli insan damgalama hastalıklarının kalıtım ve klinik özelliklerinin ayrıntılı bir derlemesi için bkz. Ishida M, Moore GE. The role of imprinted genes in humans. *Mol Aspects Med.* 2013 Jul-Aug;34(4):826–40.

29. Press release on 14 October 2013 from American Society for Reproductive Medicine http://www.asrm.org/Five_Million_Babies_Born_with_Help_of_Assisted_Reproductive_Technologies/

30. Ishida M, Moore GE. The role of imprinted genes in humans. *Mol Aspects Med.* 2013 Jul-Aug;34(4):826–40.

11. BÖLÜM

1. Moss T, Langlois F, Gagnon-Kugler T, Stefanovsky V. A housekeeper with power of attorney: the rRNA genes in ribosome biogenesis. *Cell Mol Life Sci.* 2007 Jan;64(1):29–49

2. Ribozomlar ve rRNA'lar hakkında daha fazla bilgi için bkz. *Molecular Biology of the Cell, 5th Edition* by Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts ve Walter, 2012.

3. <http://www.nobelprize.org/educational/medicine/dna/a/translation/trna.html>
4. <http://www.bscb.org/?url=softcell/ribo>
5. Zentner GE, Saiakhova A, Manaenkov P, Adams MD, Scacheri PC. Integrative genomic analysis of human ribosomal DNA. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jul;39(12):4949–60.
6. Bu konuda daha geniş bilgi için bkz. Narla A, Ebert BL. Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. *Blood.* 2010 Apr 22;115(16):3196–205.
7. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001 Feb 15;409(6822):860–921.
8. Hedges SB, Blair JE, Venturi ML, Shoe JL. A molecular timescale of eukaryote evolution and the rise of complex multicellular life. *BMC Evol Biol.* 2004 Jan 28;4:2.
9. Wilson DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2014 Jan;12(1):35–48.
10. <http://www.genenames.org/rna/TRNA#MTTRNA>
11. Bu konuda daha fazla bilgi için bkz. *Molecular Biology of the Cell, 5th Edition* by Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts ve Walter, 2012.
12. McFarland R, Schaefer AM, Gardner JL, Lynn S, Hayes CM, Barron MJ, Walker M, Chinnery PF, Taylor RW, Turnbull DM. Familial myopathy: new insights into the T14709C mitochondrial tRNA mutation. *Ann Neurol.* 2004 Apr;55(4):478–84.
13. Zheng J, Ji Y, Guan MX. Mitochondrial tRNA mutations associated with deafness. *Mitochondrion.* 2012 May;12(3):406–13.
14. Qiu Q, Li R, Jiang P, Xue L, Lu Y, Song Y, Han J, Lu Z, Zhi S, Mo JQ, Guan MX. Mitochondrial tRNA mutations are associated with maternally inherited hypertension in two Han Chinese pedigrees. *Hum Mutat.* 2012 Aug;33(8):1285–93.

15. Giordano C, Perli E, Orlandi M, Pisano A, Tuppen HA, He L, Ierindò R, Petruzzello L, Terzi A, Autore C, Petrozza V, Gallo P, Taylor RW, d'Amati G. Cardiomyopathies due to homoplasmic mitochondrial tRNA mutations: morphologic and molecular features. *Hum Pathol*. 2013 Jul;44(7):1262–70.
16. Lincoln TA, Joyce GF. Self-sustained replication of an RNA enzyme. *Science*. 2009 Feb 27;323(5918):1229–32.
17. Sczepanski JT, Joyce GF. A cross-chiral RNA polymerase ribozyme. *Nature*. Çevrimi için yayın, 29 October 2014.

12. BÖLÜM

1. MYC'nin rolüne ve kromozomal düzenlemelerin öneme yönelik genel bir bakış için: Ott G, Rosenwald A, Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas: pathogenesis and classification. *Blood*. 2013 Dec 5;122(24):3884–91.
2. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/001308.htm>
3. Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, Abraham BJ, Lin CY, Kagey MH, Rahl PB, Lee TI, Young RA. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell*. 2013 Apr 11;153(2):307–19.
4. Ostuni R, Piccolo V, Barozzi I, Polletti S, Termanini A, Bonifacio S, Curina A, Prosperini E, Ghisletti S, Natoli G. Latent enhancers activated by stimulation in differentiated cells. *Cell*. 2013 Jan 17;152(1–2):157–71.
5. Akhtar-Zaidi B, Cowper-Sal-lari R, Corradin O, Saiakhova A, Bartels CF, Balasubramanian D, Myeroff L, Lutterbaugh J, Jarrar A, Kalady MF, Willis J, Moore JH, Tesar PJ, Laframboise T, Markowitz S, Lupien M, Scacheri PC. Epigenomic enhancer profiling defines a signature of colon cancer. *Science*. 2012 May 11;336(6082):736–9.

6. ENCODE Project Consortium, Bernstein BE, Birney E, Dunham I, Green ED, Gunter C, Snyder M. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414):57–74.

7. Uzun kodlanmayan RNA'ların tanımlaması için bkz. Ørom UA, Shiekhattar R. Long noncoding RNAs usher in a new era in the biology of enhancers. *Cell*. 2013 Sep 12;154(6):1190–3.

8. Ørom UA, Derrien T, Beringer M, Gumireddy K, Gardini A, Bussotti G, Lai F, Zytnicki M, Notredame C, Huang Q, Guigo R, Shiekhattar R. Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*. 2010 Oct 1;143(1):46–58.

9. De Santa F, Barozzi I, Mietton F, Ghisletti S, Polletti S, Tusi BK, Muller H, Ragoussis J, Wei CL, Natoli G. A large fraction of extragenic RNA pol II transcription sites overlap enhancers. *PLoS Biol*. 2010 May 11;8(5):e1000384.

10. Hah N, Murakami S, Nagari A, Danko CG, Kraus WL. Enhancer transcripts mark active estrogen receptor binding sites. *Genome Res*. 2013 Aug;23(8):1210–23.

11. Lai F, Ørom UA, Cesaroni M, Beringer M, Taatjes DJ, Blobel GA, Shiekhattar R. Activating RNAs associate with Mediator to enhance chromatin architecture and transcription. *Nature*. 2013 Feb 28;494(7438):497–501.

12. Risheg H, Graham JM Jr, Clark RD, Rogers RC, Opitz JM, Moeschler JB, Peiffer AP, May M, Joseph SM, Jones JR, Stevenson RE, Schwartz CE, Friez MJ. A recurrent mutation in MED12 leading to R961W causes Opitz-Kaveggia syndrome. *Nat Genet*. 2007 Apr;39(4):451–3.

13. Pluripotent hücrelerdeki süper hızlandırıcıların rolü ilk kez şu çalışmayla gösterilmiştir: Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, Abraham BJ, Lin CY, Kagey MH, Rahl PB, Lee TI, Young RA. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell*. 2013 Apr 11;153(2):307–19.

14. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006 Aug 25;126(4):663–76.

15. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/

16. Lovén J, Hoke HA, Lin CY, Lau A, Orlando DA, Vakoc CR, Bradner JE, Lee TI, Young RA. Selective inhibition of tumor oncogenes by disruption of super-enhancers. *Cell*. 2013 Apr 11;153(2):320–34.

17. For an overview of the various molecular causes see Skibbens RV, Colquhoun JM, Green MJ, Molnar CA, Sin DN, Sullivan BJ, Tanzosh EE. Cohesinopathies of a feather flock together. *PLoS Genet*. 2013 Dec;9(12):c1004036.

18. <http://www.cdls.org.uk/information-centre/>

19. Sanyal A, Lajoie BR, Jain G, Dekker J. The long-range interaction landscape of gene promoters. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414):109–13.

20. Jackson DA, Hassan AB, Errington RJ, Cook PR. Visualization of focal sites of transcription within human nuclei. *EMBO J*. 1993 Mar;12(3):1059–65.

21. Rieder D, Trajanoski Z, McNally JG. Transcription factories. *Front Genet*. 2012 Oct 23;3:221.doi: 10.3389/fgene.2012.00221. eCollection 2012.

22. Iborra FJ, Pombo A, Jackson DA, Cook PR. Active RNA polymerases are localized within discrete transcription ‘factories’ in human nuclei. *J Cell Sci*. 1996 Jun;109 (Pt 6):1427–36.

23. Jackson DA, Iborra FJ, Manders EM, Cook PR. Numbers and organization of RNA polymerases, nascent transcripts, and transcription units in HeLa nuclei. *Mol Biol Cell*. 1998 Jun;9(6):1523–36.

24. Papantonis A, Larkin JD, Wada Y, Ohta Y, Ihara S, Kodama T, Cook PR. Active RNA polymerases: mobile or immobile molecular machines? *PLoS Biol*. 2010 Jul 13;8(7):e1000419.

25. Osborne CS, Chakalova L, Brown KE, Carter D, Horton A, Debrand E, Goyenechea B, Mitchell JA, Lopes S, Reik W, Fraser P. Active genes dynamically colocalize to shared sites of ongoing transcription. *Nat Genet.* 2004 Oct;36(10):1065–71.

26. Osborne CS, Chakalova L, Mitchell JA, Horton A, Wood AL, Bolland DJ, Corcoran AE, Fraser P. Myc dynamically and preferentially relocates to a transcription factory occupied by Igh. *PLoS Biol.* 2007 Aug;5(8):e192.

13. BÖLÜM

1. Bu açıklamanın kesin bir ilk kullanımını bulmak zor ama şu şekilde tartışılmıştır: <http://english.stackexchange.com/questions/103851/where-does-the-phrase-of-boredom-punctuated-by-moments-of-terror-come-from>

2. Moltó E, Fernández A, Montoliu L. Boundaries in vertebrate genomes: different solutions to adequately insulate gene expression domains. *Brief Funct Genomic Proteomic.* 2009 Jul;8(4):283–96.

3. Ishihara K, Oshimura M, Nakao M. CTCF-dependent chromatin insulator is linked to epigenetic remodeling. *Mol Cell.* 2006 Sep 1;23(5):733–42.

4. Lutz M, Burke LJ, Barreto G, Goeman F, Greb H, Arnold R, Schultheiss H, Brehm A, Kouzarides T, Lobanenkov V, Renkawitz R. Transcriptional repression by the insulator protein CTCF involves histone deacetylases. *Nucleic Acids Res.* 2000 Apr 15;28(8):1707–13.

5. Lunyak VV, Prefontaine GG, Núñez E, Cramer T, Ju BG, Ohgi KA, Hutt K, Roy R, García-Díaz A, Zhu X, Yung Y, Montoliu L, Glass CK, Rosenfeld MG. Developmentally regulated activation of a SINE B2 repeat as a domain boundary in organogenesis. *Science.* 2007 Jul 13;317(5835):248–51.

6. Kirkland JG, Raab JR, Kamakaka RT. TFIIIC bound DNA elements in nuclear organization and insulation. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Mar–Apr;1829(3–4):418–24.

7. Turner Sendromu olarak bilinir. Detaylı bilgi için: <http://www.nhs.uk/Conditions/Turners-syndrome/Pages/Introduction.aspx>

8. Daha fazla bilgi için bkz. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/triple-xsyndrome>

9. Klinefelter Sendromu olarak bilinir. Detaylı bilgi için: [at http://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome](http://ghr.nlm.nih.gov/condition/klinefelter-syndrome)

10. *Star Trek: First Contact* (1996). By far the best of all the Star Trek movies, at least until the JJ Abrams franchise reboot.

11. bkz. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SHOX>

12. Hemani G, Yang J, Vinkhuyzen A, Powell JE, Willemssen G, Hottenga JJ, Abdellaoui A, Mangino M, Valdes AM, Medland SE, Madden PA, Heath AC, Henders AK, Nyholt DR, de Geus EJ, Magnusson PK, Ingelsson E, Montgomery GW, Spector TD, Boomsma DI, Pedersen NL, Martin NG, Visscher PM. Inference of the genetic architecture underlying BMI and height with the use of 20,240 sibling pairs. *Am J Hum Genet*. 2013 Nov 7;93(5):865–75.

14. BÖLÜM

1. ENCODE hakkında kapsamlı bilgi ve röportajlar için bkz. <http://www.nature.com/encode/>

2. <http://www.theguardian.com/science/2012/sep/05/genes-genome-junk-dna-encode>

3. http://edition.cnn.com/2012/09/05/health/encode-human-genome/index.html?hpt=hp_bn12

4. <http://www.telegraph.co.uk/science/science-news/9524165/Worldwidearmy-of-scientists-cracks-the-junk-DNA-code.html>

5. ENCODE Project Consortium, Bernstein BE, Birney E, Dunham I, Green ED, Gunter C, Snyder M. An integrated en-

cyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414):57–74.

6. Mattick JS. A new paradigm for developmental biology. *J Exp Biol*. 2007 May;210(Pt 9):1526–47.

7. Sanyal A, Lajoie BR, Jain G, Dekker J. The long-range interaction landscape of gene promoters. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414):109–13.

8. Thurman RE, Rynes E, Humbert R, Vierstra J, Maurano MT, Haugen E, Sheffield NC, Stergachis AB, Wang H, Vernot B, Garg K, John S, Sandstrom R, Bates D, Boatman L, Canfield TK, Diegel M, Dunn D, Ebersol AK, Frum T, Giste E, Johnson AK, Johnson EM, Kuttyavin T, Lajoie B, Lee BK, Lee K, London D, Lotakis D, Neph S, Neri F, Nguyen ED, Qu H, Reynolds AP, Roach V, Safi A, Sanchez ME, Sanyal A, Shafer A, Simon JM, Song L, Vong S, Weaver M, Yan Y, Zhang Z, Zhang Z, Lenhard B, Tewari M, Dorschner MO, Hansen RS, Navas PA, Stamatoyannopoulos G, Iyer VR, Lieb JD, Sunyaev SR, Akey JM, Sabo PJ, Kaul R, Furey TS, Dekker J, Crawford GE, Stamatoyannopoulos JA. The accessible chromatin landscape of the human genome. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414):75–82.

9. Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi A, Tanzer A, Lagarde J, Lin W, Schlesinger F, Xue C, Marinov GK, Khatun J, Williams BA, Zaleski C, Rozowsky J, Röder M, Kokocinski F, Abdelhamid RF, Alioto T, Antoshechkin I, Baer MT, Bar NS, Batut P, Bell K, Bell I, Chakraborty S, Chen X, Chrast J, Curado J, Derrien T, Drenkow J, Dumais E, Dumais J, Duttagupta R, Falconnet E, Fastuca M, Fejes-Toth K, Ferreira P, Foissac S, Fullwood MJ, Gao H, Gonzalez D, Gordon A, Gunawardena H, Howald C, Jha S, Johnson R, Kapranov P, King B, Kingswood C, Luo OJ, Park E, Persaud K, Preall JB, Ribeca P, Risk B, Robyr D, Sammeth M, Schaffer L, See LH, Shahab A, Skancke J, Suzuki AM, Takahashi H, Tilg-

ner H, Trout D, Walters N, Wang H, Wrobel J, Yu Y, Ruan X, Hayashizaki Y, Harrow J, Gerstein M, Hubbard T, Reymond A, Antonarakis SE, Hannon G, Giddings MC, Ruan Y, Wold B, Carninci P, Guigó R, Gingeras TR. Landscape of transcription in human cells. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414):101–8.

10. İyi bir örnek için bkz. <http://blog.art21.org/2009/03/06/on-representations-of-the-artist-at-work-part-2/#.UyDZjZZFDIU>

11. Ward LD, Kellis M. Evidence of abundant purifying selection in humans for recently acquired regulatory functions. *Science*. 2012 Sep 28;337(6102):1675–8.

12. Ecker JR, Bickmore WA, Barroso I, Pritchard JK, Gilad Y, Segal E. Genomics: ENCODE explained. *Nature*. 2012 Sep 6;489(7414).

13. Epigenetik kalıt alma için bkz. Dias BG, Ressler KJ. Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat Neurosci*. 2014 Jan;17(1):89–96.

14. Graur D, Zheng Y, Price N, Azevedo RB, Zufall RA, Elhaik E. On the immortality of television sets: ‘function’ in the human genome according to the evolution-free gospel of ENCODE. *Genome Biol Evol*. 2013;5(3):578–90.

15. BÖLÜM

1. <http://womenshistory.about.com/od/mythsofwomens-history/a/Did-Anne-Boleyn-Really-Have-Six-Fingers-On-One-Hand.htm>

2. Lettice LA, Heaney SJ, Purdie LA, Li L, de Beer P, Oostra BA, Goode D, Elgar G, Hill RE, de Graaff E. A long-range Shh enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly. *Hum Mol Genet*. 2003 Jul 15;12(14):1725–35.

3. www.hemingwayhome.com/cats/

4. Lettice LA, Hill AE, Devenney PS, Hill RE. Point mutations in a distant sonic hedgehog cis-regulator generate a variable regulatory output responsible for preaxial polydactyly. *Hum Mol Genet.* 2008 Apr 1;17(7):978–85.

5. For a fuller description, see <http://www.genome.gov/12512735>

6. Jeong Y, Leskow FC, El-Jaick K, Roessler E, Muenke M, Yocum A, Dubourg C, Li X, Geng X, Oliver G, Epstein DJ. Regulation of a remote Shh forebrain enhancer by the Six3 homeoprotein. *Nat Genet.* 2008 Nov;40(11):1348–53.

7. Daha fazla bilgi için bkz. <http://rarediseases.info.nih.gov/gard/10874/pancreatic-agenesis/resources/1>

8. Lango Allen H, Flanagan SE, Shaw-Smith C, De Franco E, Akerman I, Caswell R; International Pancreatic Agenesis Consortium, Ferrer J, Hattersley AT, Ellard S. GATA6 haploinsufficiency causes pancreatic agenesis in humans. *Nat Genet.* 2011 Dec 11;44(1):20–2.

9. Sellick GS, Barker KT, Stolte-Dijkstra I, Fleischmann C, Coleman RJ, Garrett C, Gloyn AL, Edghill EL, Hattersley AT, Wellauer PK, Goodwin G, Houlston RS. Mutations in PTF1A cause pancreatic and cerebellar agenesis. *Nat Genet.* 2004 Dec;36(12):1301–5.

10. Weedon MN, Cebola I, Patch AM, Flanagan SE, De Franco E, Caswell R, Rodríguez-Seguí SA, Shaw-Smith C, Cho CH, Lango Allen H, Houghton JA, Roth CL, Chen R, Hussain K, Marsh P, Vallier L, Murray A; International Pancreatic Agenesis Consortium, Ellard S, Ferrer J, Hattersley AT. Recessive mutations in a distal PTF1A enhancer cause isolated pancreatic agenesis. *Nat Genet.* 2014 Jan;46(1):61–4.

11. Sturm RA. Molecular genetics of human pigmentation diversity. *Hum Mol Genet.* 2009 Apr 15;18(R1):R9–17.

12. Durham-Pierre D, Gardner JM, Nakatsu Y, King RA, Francke U, Ching A, Aquaron R, del Marmol V, Brilliant MH.

African origin of an intragenic deletion of the human P gene in tyrosinase positive oculocutaneous albinism. *Nat Genet.* 1994 Jun;7(2):176–9.

13. Visser M, Kayser M, Palstra RJ. HERC2 rs12913832 modulates human pigmentation by attenuating chromatin-loop formation between a long-range enhancer and the OCA2 promoter. *Genome Res.* 2012 Mar;22(3):446–55.

14. Güncel bir kataloğu için bkz. www.genome.gov/gwas-studies/

15. Hindorff LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS, Manolio TA. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jun 9;106(23):9362–7.

16. Gorkin DU, Ren B. Genetics: Closing the distance on obesity culprits. *Nature.* 2014 Mar 20;507(7492):309–10.

17. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 2007 May 11;316(5826):889–94.

18. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, Albai G, Strait J, Najjar S, Nagaraja R, Orrú M, Usala G, Dei M, Lai S, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Ehret GB, Fink AA, Weder AB, Cooper RS, Galan P, Chakravarti A, Schlessinger D, Cao A, Lakatta E, Abecasis GR. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.* 2007 Jul;3(7):e115.

19. Church C, Moir L, McMurray F, Girard C, Banks GT, Teboul L, Wells S, Brüning JC, Nolan PM, Ashcroft FM, Cox RD. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet.* 2010 Dec;42(12):1086–92.

20. Fischer J, Koch L, Emmerling C, Vierkotten J, Peters T, Brüning JC, Rüther U. Inactivation of the Fto gene protects from obesity. *Nature.* 2009 Apr 16;458(7240):894–8.

21. Smemo S, Tena JJ, Kim KH, Gamazon ER, Sakabe NJ, Gómez-Marín C, Aneas I, Credidio FL, Sobreira DR, Wasserman NF, Lee JH, Puvion-Randall V, Tam D, Shen M, Son JE, Vakili NA, Sung HK, Naranjo S, Acemel RD, Manzanares M, Nagy A, Cox NJ, Hui CC, Gomez-Skarmeta JL, Nóbrega MA. Obesity-associated variants within FTO form long-range functional connections with IRX3. *Nature.* 2014 Mar 20;507(7492):371–5.

22. Güncel derlemelerden biri: Trent RJ, Cheong PL, Chua EW, Kennedy MA. Progressing the utilisation of pharmacogenetics and pharmacogenomics into clinical care. *Pathology.* 2013 Jun;45(4):357–70.

23. <http://www.nhs.uk/Conditions/Herceptin/Pages/Introduction.aspx>

24. <http://www.nature.com/scitable/topicpage/gleevec-the-breakthroughin-cancer-treatment-565>

25. <http://www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/fda-crizotinib>

16. BÖLÜM

1. Bu gibi olguların örneklerine şu adresten ulaşılabilir: <http://medicalmisdiagnosisresearch.wordpress.com/category/osteogenesis-imperfecta-misdiagnosed-as-child-abuse/>

2. Bulguların ve genetiğin kapsmalı bir tanımlaması için bkz. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/osteogenesis-imperfecta>

3. Cho TJ, Lee KE, Lee SK, Song SJ, Kim KJ, Jeon D, Lee G, Kim HN, Lee HR, Eom HH, Lee ZH, Kim OH, Park WY, Park

SS, Ikegawa S, Yoo WJ, Choi IH, Kim JW. A single recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type V. *Am J Hum Genet.* 2012 Aug 10;91(2):343–8.

4. Semler O, Garbes L, Keupp K, Swan D, Zimmermann K, Becker J, Iden S, Wirth B, Eysel P, Koerber F, Schoenau E, Bohlander SK, Wollnik B, Netzer C. A mutation in the 5'-UTR of IFITM5 creates an in-frame start codon and causes autosomal-dominant osteogenesis imperfecta type V with hyperplastic callus. *Am J Hum Genet.* 2012 Aug 10;91(2):349–57.

5. Moffatt P, Gaumond MH, Salois P, Sellin K, Bessette MC, Godin E, de Oliveira PT, Atkins GJ, Nanci A, Thomas G. Bril: a novel bone-specific modulator of mineralization. *J Bone Miner Res.* 2008 Sep;23(9):1497–508.

6. Liu L, Dilworth D, Gao L, Monzon J, Summers A, Lasam N, Hogg D. Mutation of the CDKN2A 5' UTR creates an aberrant initiation codon and predisposes to melanoma. *Nat Genet.* 1999 Jan;21(1):128–32.

7. Tietze JK, Pfob M, Eggert M, von Preußen A, Mehraein Y, Ruzicka T, Herzinger T. A non-coding mutation in the 5' untranslated region of patched homologue 1 predisposes to basal cell carcinoma. *Exp Dermatol.* 2013 Dec;22(12):834–5.

8. Tam bir tanımlama için bkz. <http://omim.org/entry/309550>

9. Ashley CT Jr, Wilkinson KD, Reines D, Warren ST. FMR1 protein: conserved RNP family domains and selective RNA binding. *Science.* 1993 Oct 22;262(5133):563–6.

10. Qin M, Kang J, Burlin TV, Jiang C, Smith CB. Postadolescent changes in regional cerebral protein synthesis: an in vivo study in the FMR1 null mouse. *J Neurosci.* 2005 May 18;25(20):5087–95.

11. Azevedo FA, Carvalho LR, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti RE, Leite RE, Jacob Filho W, Lent R, Herculano-Houzel S. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the

human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol.* 2009 Apr 10;513(5):532–41.

12. Drachman DA. Do we have brain to spare? *Neurology.* 2005 Jun 28;64(12):2004–5.

13. Darnell JC, Van Driesche SJ, Zhang C, Hung KY, Mele A, Fraser CE, Stone EF, Chen C, Fak JJ, Chi SW, Licatalosi DD, Richter JD, Darnell.

RB. FMRP stalls ribosomal translocation on messenger RNAs linked to synaptic function and autism. *Cell.* 2011 Jul 22;146(2):247–61.

14. Udagawa T, Farny NG, Jakovcevski M, Kaphzan H, Alarcon JM, Anilkumar S, Ivshina M, Hurt JA, Nagaoka K, Nalavadi VC, Lorenz LJ, Bassell GJ, Akbarian S, Chat-tarji S, Klann E, Richter JD. Genetic and acute CPEB1 depletion ameliorate fragile X pathophysiology. *Nat Med.* 2013 Nov;19(11):1473–7.

15. Summarised in <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1165/>

16. Jiang H, Mankodi A, Swanson MS, Moxley RT, Thornton CA. Myotonic dystrophy type 1 is associated with nuclear foci of mutant RNA, sequestration of muscleblind proteins and deregulated alternative splicing in neurons. *Hum Mol Genet.* 2004 Dec 15;13(24):3079–88.

17. Savkur RS, Philips AV, Cooper TA. Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet.* 2001 Sep;29(1):40–7.

18. Ho TH, Charlet-B N, Poulos MG, Singh G, Swanson MS, Cooper TA. Muscleblind proteins regulate alternative splicing. *EMBO J.* 2004 Aug 4;23(15):3103–12.

19. Kino Y, Washizu C, Oma Y, Onishi H, Nezu Y, Sasagawa N, Nukina N, Ishiura S. MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1. *Nucleic Acids Res.* 2009 Oct;37(19):6477–90.

20. Hanson EL, Jakobs PM, Keegan H, Coates K, Bousman S, Dienel NH, Litt M, Hershberger RE. Cardiac troponin T lysine 210 deletion in a family with dilated cardiomyopathy. *J Card Fail.* 2002 Feb;8(1):28–32.

21. Bu konu şu kaynakta ele alınmıştır: Michalova E, Vojtesek B, Hrstka R. Impaired pre-messenger RNA processing and altered architecture of 3' untranslated regions contribute to the development of human disorders. *Int J Mol Sci.* 2013 Jul 26;14(8): 15681–94.

22. Hastalığın tam bir tanımlaması için bkz. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/immune-dysregulation-polyendocrinopathy-enteropathyx-linked-syndrome>

23. Bennett CL, Brunkow ME, Ramsdell F, O'Briant KC, Zhu Q, Fuleihan RL, Shigeoka AO, Ochs HD, Chance PF. A rare polyadenylation signal mutation of the FOXP3 gene (AAUAAA→AAUGAA) leads to the IPEX syndrome. *Immunogenetics.* 2001 Aug;53(6):435–9.

24. Detalı bilgi için bkz. <http://www.alsa.org/>

25. ALS'de rol oynadığı düşünülen genleirn listesine ulaşmak için: <http://alsod.iop.kcl.ac.uk/>

26. Kwiatkowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL, Tamrazian E, Vanderburg CR, Russ C, Davis A, Gilchrist J, Kasarskis EJ, Munsat T, Valdmanis P, Rouleau GA, Hosler BA, Cortelli P, de Jong PJ, Yoshinaga Y, Haines JL, Pericak-Vance MA, Yan J, Ticozzi N, Siddique T, McKenna-Yasek D, Sapp PC, Horvitz HR, Landers JE, Brown RH Jr. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science.* 2009 Feb 27;323(5918):1205–8

27. Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T, De Vos KJ, Nishimura AL, Sreedharan J, Hu X, Smith B, Ruddy D, Wright P, Ganesalingam J, Williams KL, Tripathi V, Al-Saraj S, Al-Châlâbi A, Leigh PN, Blair IP, Nicholson G, de Belleruche J, Gallo JM, Miller CC, Shaw CE. Mutations in FUS, an RNA processing

protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science*. 2009 Feb 27;323(5918):1208–11.

28. Lai SL, Abramzon Y, Schymick JC, Stephan DA, Dunckley T, Dillman A, Cookson M, Calvo A, Battistini S, Giannini F, Caponnetto C, Mancardi GL, Spataro R, Monsurro MR, Tedeschi G, Marinou K, Sabatelli M, Conte A, Mandrioli J, Sola P, Salvi F, Bartolomei I, Lombardo F; ITALSGEN Consortium, Mora G, Restagno G, Chiò A, Traynor BJ. FUS mutations in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. 2011 Mar;32(3):550.e1–4.

29. Sabatelli M, Moncada A, Conte A, Lattante S, Marangi G, Luigetti M, Lucchini M, Mirabella M, Romano A, Del Grande A, Bisogni G, Doronzio PN, Rossini PM, Zollino M. Mutations in the 3' untranslated region of FUS causing FUS overexpression are associated with amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet*. 2013 Dec 1;22(23):4748–55.

17. BÖLÜM

1. Johnson JM, Castle J, Garrett-Engele P, Kan Z, Loerch PM, Armour CD, Santos R, Schadt EE, Stoughton R, Shoemaker DD. Genome-wide survey of human alternative pre-mRNA splicing with exon junction microarrays. *Science*. 2003 Dec 19;302(5653):2141–4.

2. Reviewed in Keren H, Lev-Maor G, Ast G. Alternative splicing and evolution: diversification, exon definition and function. *Nat Rev Genet*. 2010 May;11(5):345–55.

3. Bu basamakların açık ve anlaşılır bir anlatımı için bkz. Wang GS, Cooper TA. Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. *Nat Rev Genet*. 2007 Oct;8(10):749–61.

4. Splaysozom hakkında kapsamlı bilgi edinmek isterseniz eğer, iyi örneklerden biri için bkz. Padgett RA. New connec-

tions between splicing and human disease. *Trends Genet.* 2012 Apr;28(4):147–54.

5. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/retinitis-pigmentosa>

6. Vithana EN, Abu-Safieh L, Allen MJ, Carey A, Papaioannou M, Chakarova C, Al-Magtheth M, Ebenezer ND, Willis C, Moore AT, Bird AC, Hunt DM, Bhattacharya SS. A human homolog of yeast pre-mRNA splicing gene, PRP31, underlies autosomal dominant retinitis pigmentosa on chromosome 19q13.4 (RP11). *Mol Cell.* 2001 Aug;8(2):375–81.

7. McKie AB, McHale JC, Keen TJ, Tarttelin EE, Goliath R, van Lith-Verhoeven JJ, Greenberg J, Ramesar RS, Hoyng CB, Cremers FP, Mackey DA, Bhattacharya SS, Bird AC, Markham AF, Inglehearn CF. Mutations in the pre-mRNA splicing factor gene PRPC8 in autosomal dominant retinitis pigmentosa (RP13). *Hum Mol Genet.* 2001 Jul 15;10(15):1555–62.

8. Chakarova CF, Hims MM, Bolz H, Abu-Safieh L, Patel RJ, Papaioannou MG, Inglehearn CF, Keen TJ, Willis C, Moore AT, Rosenberg T, Webster AR, Bird AC, Gal A, Hunt D, Vithana EN, Bhattacharya SS. Mutations in HPRP3, a third member of pre-mRNA splicing factor genes, implicated in autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Hum Mol Genet.* 2002 Jan 1;11(1):87–92.

9. Maita H, Kitaura H, Keen TJ, Inglehearn CF, Ariga H, Iguchi-Ariga SM. PAP-1, the mutated gene underlying the RP9 form of dominant retinitis pigmentosa, is a splicing factor. *Exp Cell Res.* 2004 Nov 1;300(2):283–96.

10. Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type 1 also known as Taybi-Linder syndrome. <http://rarediseases.info.nih.gov/gard/5120/microcephalic-osteodysplastic-primordial-dwarfism-type-1/resources/1>

11. He H, Liyanarachchi S, Akagi K, Nagy R, Li J, Dietrich RC, Li W, Sebastian N, Wen B, Xin B, Singh J, Yan P, Alder H, Haan E, Wiczorek D, Albrecht B, Puffenberger E, Wang H,

Westman JA, Padgett RA, Symer DE, de la Chapelle A. Mutations in U4atac snRNA, a component of the minor spliceosome, in the developmental disorder MOPD I. *Science*. 2011 Apr 8;332(6026):238–40.

12. Padgett RA. New connections between splicing and human disease. *Trends Genet*. 2012 Apr;28(4):147–54.

13. Haas JT, Winter HS, Lim E, Kirby A, Blumenstiel B, DeFelice M, Gabriel S, Jalas C, Branski D, Grueter CA, Toporovski MS, Walther TC, Daly MJ, Farese RV Jr. DGAT1 mutation is linked to a congenital diarrheal disorder. *J Clin Invest*. 2012 Dec 3;122(12):4680–4.

14. Byun M, Abhyankar A, Lelarge V, Plancoulaine S, Palanduz A, Telhan L, Boisson B, Picard C, Dewell S, Zhao C, Jouanguy E, Feske S, Abel L, Casanova JL. Whole-exome sequencing-based discovery of STIM1 deficiency in a child with fatal classic Kaposi sarcoma. *J Exp Med*. 2010 Oct 25;207(11):2307–12.

15. Bkz. <http://www.genome.gov/11007255>

16. Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW, Singer J, Scott L, Erdos MR, Robbins CM, Moses TY, Berglund P, Dutra A, Pak E, Durkin S, Csoka AB, Boehnke M, Glover TW, Collins FS. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*. 2003 May 15;423(6937):293–8.

17. <http://www.nhs.uk/conditions/spinal-muscular-atrophy/Pages/Introduction.aspx>

18. <http://www.smatrust.org/what-is-sma/what-causes-sma/>

19. Monani UR, Lorson CL, Parsons DW, Prior TW, Androphy EJ, Burghes AH, McPherson JD. A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2. *Hum Mol Genet*. 1999 Jul;8(7):1177–83.

20. Cooper TA, Wan L, Dreyfuss G. RNA and disease. *Cell*. 2009 Feb 20;136(4):777–93

21. <http://quest.mda.org/news/dmd-driscapersen-outperforms-placebowalking-test>

22. <http://www.fiercebiotech.com/story/glaxosmithklines-duchenne-mddrug-mirrors-placebo-effect-phiii/2013-10-07>

18. BÖLÜM

1. Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013 Aug;14(8):475–88.

2. Küçük RNA sınıflarının kapsamlı bir tanımlaması için bkz. Castel SE, Martienssen RA. RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond. *Nat Rev Genet*. 2013 Feb;14(2):100–12.

3. Kang SG, Liu WH, Lu P, Jin HY, Lim HW, Shepherd J, Fremgen D, Verdin E, Oldstone MB, Qi H, Teijaro JR, Xiao C. MicroRNAs of the miR-17~92 family are critical regulators of T(FH) differentiation. *Nat Immunol*. 2013 Aug;14(8):849–57.

4. Baumjohann D, Kageyama R, Clingan JM, Morar MM, Patel S, de Kouchkovsky D, Bannard O, Bluestone JA, Matloubian M, Ansel KM, Jeker LT. The microRNA cluster miR-17~92 promotes TFH cell differentiation and represses subset-inappropriate gene expression. *Nat Immunol*. 2013 Aug;14(8):840–8.

5. Tassano E, Di Rocco M, Signa S, Gimelli G. De novo 13q31.1-q32.1 interstitial deletion encompassing the miR-17-92 cluster in a patient with Feingold syndrome-2. *Am J Med Genet A*. 2013 Apr;161A(4):894–6.

6. Daha fazla bilgi için bkz. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/feingold-syndrome>

7. Han YC, Ventura A. Control of T(FH) differentiation by a microRNA cluster. *Nat Immunol*. 2013 Aug;14(8):770–1.

8. Koerner MV, Pauler FM, Huang R, Barlow DP. The function of non-coding RNAs in genomic imprinting. *Development*. 2009 Jun;136(11):1771–83.

9. Rogler LE, Kosmyna B, Moskowitz D, Bebawee R, Rahimzadeh J, Kutchko K, Laederach A, Notarangelo LD, Gilianni S, Bouhassira E, Frenette P, Roy-Chowdhury J, Rogler CE. Small RNAs derived from lncRNA RNase MRP have gene-silencing activity relevant to human cartilage-hair hypoplasia. *Hum Mol Genet*. 2014 Jan 15;23(2):368–82.

10. Subramanyam D, Lamouille S, Judson RL, Liu JY, Bucay N, Derynck R, Blesch R. Multiple targets of miR-302 and miR-372 promote reprogramming of human fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2011 May;29(5):443–8.

11. Li Z, Yang CS, Nakashima K, Rana TM. Small RNA-mediated regulation of iPS cell generation. *EMBO J*. 2011 Mar 2;30(5):823–34.

12. Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013 Aug;14(8):475–88.

13. Huang TC, Sahasrabudhe NA, Kim MS, Getnet D, Yang Y, Peterson JM, Ghosh B, Chaerkady R, Leach SD, Marchionni L, Wong GW, Pandey A. Regulation of lipid metabolism by Dicer revealed through SILAC mice. *J Proteome Res*. 2012 Apr 6;11(4):2193–205.

14. Yi R, O'Carroll D, Pasolli HA, Zhang Z, Dietrich FS, Tarakhovsky A, Fuchs E. Morphogenesis in skin is governed by discrete sets of differentially expressed microRNAs. *Nat Genet*. 2006 Mar;38(3):356–62.

15. Crist CG, Montarras D, Pallafacchina G, Rocancourt D, Cumano A, Conway SJ, Buckingham M. Muscle stem cell behavior is modified by microRNA-27 regulation of Pax3 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Aug 11;106(32):13383–7.

16. Chen JF, Tao Y, Li J, Deng Z, Yan Z, Xiao X, Wang DZ. microRNA-1 and microRNA-206 regulate skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by repressing Pax7. *J Cell Biol.* 2010 Sep 6;190(5):867–79.

17. da Costa Martins PA, Bourajaj M, Gladka M, Kortland M, van Oort RJ, Pinto YM, Molkentin JD, De Windt LJ. Conditional dicer gene deletion in the postnatal myocardium provokes spontaneous cardiac remodeling. *Circulation.* 2008 Oct 7;118(15):1567–76.

18. de Chevigny A, Coré N, Follert P, Gaudin M, Barbry P, Béclin C, Cremer H. miR-7a regulation of Pax6 controls spatial origin of forebrain dopaminergic neurons. *Nat Neurosci.* 2012 Jun 24;15(8):1120–6.

19. Konopka W, Kiryk A, Novak M, Herwerth M, Parkitna JR, Wawrzyniak M, Kowarsch A, Michaluk P, Dzwonek J, Arnsperger T, Wilczynski G, Merckenschlager M, Theis FJ, Köhr G, Kaczmarek L, Schütz G. MicroRNA loss enhances learning and memory in mice. *J Neurosci.* 2010 Nov 3;30(44):14835–42.

20. Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, Hillman D, Sugimori M, Llinas R, Greengard P. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. *J Exp Med.* 2007 Jul 9;204(7):1553–8.

21. Pietrzykowski AZ, Friesen RM, Martin GE, Puig SI, Nowak CL, Wynne PM, Siegelmann HT, Treistman SN. Posttranscriptional regulation of BK channel splice variant stability by miR-9 underlies neuroadaptation to alcohol. *Neuron.* 2008 Jul 31;59(2):274–87.

22. Hollander JA, Im HI, Amelio AL, Kocerha J, Bali P, Lu Q, Willoughby D, Wahlestedt C, Conkright MD, Kenny PJ. Striatal microRNA controls cocaine intake through CREB signalling. *Nature.* 2010 Jul 8;466(7303):197–202.

23. Fernández-Hernando C, Baldán A. MicroRNAs and Cardiovascular Disease. *Curr Genet Med Rep.* 2013 Mar;1(1):30–38.

24. Suzuki H, Maruyama R, Yamamoto E, Kai M. Epigenetic alteration and microRNA dysregulation in cancer. *Front Genet.* 2013 Dec 3;4:258. eCollection 2013.

25. Kleinman CL, Gerges N, Papillon-Cavanagh S, Sin-Cahan P, Pramatarova A, Quang DA, Adoue V, Busche S, Caron M, Djambazian H, Bemmo A, Fontebasso AM, Spence T, Schwartzentruber J, Albrecht S, Hauser P, Garami M, Klekner A, Bognar L, Montes L, Staffa A, Montpetit A, Berube P, Zakrzewska M, Zakrzewski K, Liberski PP, Dong Z, Siegel PM, Duchaine T, Perotti C, Fleming A, Faury D, Remke M, Gallo M, Dirks P, Taylor MD, Sladek R, Pastinen T, Chan JA, Huang A, Majewski J, Jabado N. Fusion of TTYH1 with the C19MC microRNA cluster drives expression of a brain-specific DN-MT3B isoform in the embryonal brain tumor ETMR. *Nat Genet.* 2014 Jan;46(1):39–44.

26. Song SJ, Poliseno L, Song MS, Ala U, Webster K, Ng C, Beringer G, Brikbak NJ, Yuan X, Cantley LC, Richardson AL, Pandolfi PP. MicroRNA-antagonism regulates breast cancer stemness and metastasis via TET-family-dependent chromatin remodeling. *Cell.* 2013 Jul 18;154(2):311–24.

27. Kapsamlı derlemelerden biri için bkz. Schwarzenbach H, Nishida N, Calin GA, Pantel K. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2014 Mar;11(3):145–56.

28. Chen W, Cai F, Zhang B, Barekati Z, Zhong XY. The level of circulating miRNA-10b and miRNA-373 in detecting lymph node metastasis of breast cancer: potential biomarkers. *Tumour Biol.* 2013 Feb;34(1):455–62.

29. Hong F, Li Y, Xu Y, Zhu L. Prognostic significance of serum microRNA-221 expression in human epithelial ovarian cancer. *J Int Med Res.* 2013 Feb;41(1):64–71.

30. Shen J, Liu Z, Todd NW, Zhang H, Liao J, Yu L, Guarnera MA, Li R, Cai L, Zhan M, Jiang F. Diagnosis of lung cancer

in individuals with solitary pulmonary nodules by plasma microRNA biomarkers. *BMC Cancer*. 2011 Aug 24;11:374.

31. For more information see <http://emedicine.medscape.com/article/233442-overview>

32. Trobaugh DW, Gardner CL, Sun C, Haddow AD, Wang E, Chapnik E, Mildner A, Weaver SC, Ryman KD, Klimstra WB. RNA viruses can hijack vertebrate microRNAs to suppress innate immunity. *Nature*. 2014 Feb 13;506(7487):245–8.

33. Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science*. 2005 Sep 2;309(5740):1577–81.

19. BÖLÜM

1. <http://www.fiercepharma.com/special-reports/15-best-sellingdrugs-2012> for a summary of the best-selling drugs in recent years

2. Bu alana yönelik pek çok blog bulunmaktadır ve bunlardan biri: <http://biopharmconsortium.com/rnai-therapeutics-stage-a-comeback>

3. Detaylı bilgi için bkz. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/transthyretin-amyloidosis>

4. <http://investors.alnylam.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=805999>

5. Bu programla ilgili gelişmeler için bkz. at <http://mirnarx.com/pipeline/mirna-MRX34.html>

6. Koval ED, Shaner C, Zhang P, du Maine X, Fischer K, Tay J, Chau BN, Wu GF, Miller TM. Method for widespread microRNA-155 inhibition prolongs survival in ALS-model mice. *Hum Mol Genet*. 2013 Oct 15;22(20):4127–35.

7. Oszolac F, Kapranov P, Foissac S, Kim SW, Fishilevich E, Monaghan AP, John B, Milos PM. Comprehensive polyadenylation site maps in yeast and human reveal pervasive alternative polyadenylation. *Cell*. 2010 Dec 10;143(6):1018–29.

8. Antisens ifadenin genleri nasıl düzenleyebileceğine ilişkin çok iyi bir değerlendirme için bkz. Pelechano V, Steinmetz LM. Gene regulation by antisense transcription. *Nat Rev Genet.* 2013 Dec;14(12):880–93.

9. <http://www.drugs.com/cons/fomivirsen-intraocular.html>

10. <https://www.bhf.org.uk/heart-matters-online/august-september-2012/medical/familial-hypercholesterolaemia.aspx>

11. http://www.medscape.com/viewarticle/804574_5

12. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm337195.htm>

13. <http://www.medscape.com/viewarticle/781317>

14. <http://www.nature.com/nrd/journal/v12/n3/full/nrd3963.html>

15. Lindow M, Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug. *J Cell Biol.* 2012 Oct 29;199(3):407–12.

16. <http://www.fiercebiotech.com/story/merck-writes-rnai-punts-sirnaalnylam-175m/2014-01-13>

17. <http://www.fiercebiotech.com/press-releases/rana-therapeutics-raises-207-million-harness-potential-long-non-coding-rna>

18. <http://www.bostonglobe.com/business/2014/01/30/dicerna-shares-soarfirst-day-trading-after-biotech-raises-million-initial-public-offering/mbwMnXBSPsVCUVkGQLc64I/story.html>

19. <http://www.dicerna.com/pipeline.php> as of 14 April 2014.

20. <http://www.fiercebiotech.com/story/breaking-no-vartis-slams-brakesnai-development-efforts/2014-04-14>

20. BÖLÜM

1. Son hikâye, birkaç farklı araştırmacının bulduğu çeşitli bulguları bir araya getiriyor. Her yayına gönderme yapmak yerine, şu mükemmel derlemeyi tavsiye ederim: van der Maarel SM, Miller DG, Tawil R, Filippova GN, Tapscott SJ. Facioscapulohumeral muscular dystrophy: consequences of chromatin relaxation. *Curr Opin Neurol.* 2012 Oct;25(5):614–20.

2. Bu, ilk olarak Sidney Brenner tarafından oluşturulan bir ayrım ve terminolojidir.

Ana Metinde Bahsi Geçen ve Çöp DNA'nın İşe Karıştığı İnsan Hastalıklarının Listesi

Alzheimer hastalığı Kritik BACE1 mRNA'sına bağlanıp onu stabilize etmek eden bir antisens RNA'nın aşırı ifadesini içerebilir.

Angelman Sendromu Anormal damgalanmadan kaynaklanır. Damgalanmanın kontrolünde çöp DNA hayati öneme sahiptir ve damgalanma kontrol bölgelerle, promotorlarla, uzun kodlanmayan RNA'larla ve epigenetik sistemler arasındaki karşılıklı etkileşimlerle ilişkilidir.

Aplastik Anemi Olguların yaklaşık yüzde 5'i, kromozomların sonunda yer alan çöp bölgeler olan telomerlerin uzunluğunu koruyan kritik genlerden bazılarındaki mutasyonlardan kaynaklanır.

Bazal Hücreli Karsinom Olguların az bir kısmında hastalığa, genin başlangıcındaki protein kodlamayan bölgede meydana gelen mutasyonlar neden olmaktadır. Mutasyon, genden üretilen RNA'nın ifadesinin düşmesine yol açar.

Beckwith-Wiedemann Sendromu Anormal damgalanma sonucu ortaya çıkan bir durumdur. Damgalanmanın kontrolünde çöp DNA hayati öneme sahiptir ve damgalanma kontrol bölgelerle, promotorlarla, uzun kodlanmayan RNA'larla

ve epigenetik sistemler arasındaki karşılıklı etkileşimlerle ilişkilidir.

Burkitt Lenfoması 8. kromozomda yer alan Myc onkogeninin, 14. kromozoma translokasyonu sonucunda immnoglobulin promotorunun kontrolü altına girmesiyle ortaya çıkar.

Diskeratosis Konjenita Hepsi de kromozomların uçlarında yer alan çöp bölgeler olan telomerlerin uzunluğunun korunmasında rol alan birkaç farklı gende meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır.

Down Sendromu Sentromer olarak adlandırılan bir çöp bölgeye bağlı olan bir süreçle, gelişmekte olan gametlerde 21. kromozomun eşit olmayan bir şekilde dağılmasından kaynaklanır.

Duchenne Kas Distrofisi Bazı olgularda hastalık, distrofin RNA molekülünün uçbirleştirme işleminin anormal şekilde olmasına yol açan mutasyonlardan kaynaklanmaktadır.

Edward Sendromu Sentromer olarak adlandırılan bir çöp bölgeye bağlı olan bir süreçle, gelişmekte olan gametlerde 18. kromozomun eşit olmayan bir şekilde dağılmasından kaynaklanır.

Fasiyoskapulohumeral Musküler Distrofi Retroviral dizilerin anormal ifadesine yol açan, çöp DNA elemanlarının bir kombinasyonunun etkileşiminden kaynaklanır.

Fazladan parmak Bir morfojenin hızlandırısında meydana gelen tek bazlık bir değişimden kaynaklanır.

Feingold Sendromu Bazı olgularda hastalığa, küçük RNA'ların bir kümesinin kaybı yol açar.

Frajl X Sendromu Genin başlangıcında yer alan protein kodlamayan bölgedeki CCG tekrarının uzamasından kaynaklanır. Bu tekrar, hücrenin DNA'yı RNA'ya kopyalamasını zorlaştırarak genin ifade edilmesini engeller.

Friedreich Ataksisi Bir genin içinde yer alan protein kodlamayan bölgedeki GAA tekrarlarının uzamasından kaynak-

lanır. Bu tekrar, hücrenin DNA'yı RNA'ya kopyalamasını zorlaştırarak genin ifade edilmesini engeller.

Hepatit C Virüsü İnsan karaciğer hücresi tarafından üretilen bir küçük RNA, viral RNA'ya bağlanarak onu stabilize eder ve viral üretkenliğini artırır.

HHV-8 Duyarlılığı Bir gendeki uçbirleştirme sinyalinde yer alan bir mutasyondan kaynaklanır.

Holoprosensefali Bazı olguların, bir morfojenin hızlandırıcı bölgesinde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığı gösterilmiştir.

Hutchinson-Gilford Progeria Bir gende fazladan bir uçbirleştirme sinyali yaratan mutasyondan kaynaklanır.

İdiyopatik pulmoner fibrozis Hepsi de kromozomların uçlarında yer alan çöp bölgeler olan telomerlerin uzunluğunun korunmasında rol alan birkaç farklı gende meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır.

IPEX Sendromu Bir genin sonundaki protein kodlamayan bölgede meydana gelen bir mutasyondan kaynaklanır ve mRNA'nın düzgün şekilde işlenmesini önler.

Kanser çöp DNA, kanserde çeşitli seviyelerde yer alır. Örneğin belirli kanser türlerinde bazı uzun kodlanmayan RNA'ların aşırı ifadesi söz konusudur. Olguların çoğunda, bunların patolojik olarak oynadıkları rolün önemini belirleyebilecek yeteri kadar güçlü kanıtlar yoktur. Bununla birlikte, kromozomların uçlarında yer alan çöp bölgeler olan telomerlerin uzunluğunu koruyan proteinlerin aşırı ifadesinin, bazı tümörlerin gelişimine yol açabileceği artık genel olarak kabul edilmektedir. Uzun kodlanmayan RNA'ların anormal ifadesinden dolayı yanlış genlerin epigenetik enzimlerle hatalı hedeflenmesi de kanser hücrelerinin anormal şekilde çoğalmasına yol açan başka bir yöntem olarak aktif inceleme altındadır.

Kıkırdak-saç Hipoplazisi Uzun kodlanmayan RNA'ların içine gömülü olan küçük RNA'ları etkileyen mutasyonlardan kaynaklanır.

Kuzey Amerika Doğu At Ensefaliti Virüsü İnsan bağışıklık hücreleri tarafından üretilen bir küçük RNA'nın viral genoma bağlanır ve bağışıklık sisteminin, vücudun saldırı altında olduğunu fark etmesini önler.

Malign Melanom Olguların az bir kısmında hastalığa yol açan, bir genin başlangıcındaki protein kodlamayan bölgede meydana gelen bir mutasyondur ve proteine fazladan amino asit eklenmesine sebep olur.

Miyotonik Distrofi Bir genin sonundaki protein kodlamayan bölgede yer alan CTG tekrarının sayısının artmasından kaynaklanır. Tekrar RNA'ya kopyalanır, RNA'ya bağlanan proteinler çeker ve çok sayıdaki diğer mRNA moleküllerinin hatalı düzenlenmesine yol açar.

Nöropatik Ağrı Kilit iyon kanalının ifadesini düzenleyen uzun kodlanmayan RNA'nın aşırı ifadesinden kaynaklanabilir.

Ohio Amish Cüceliği Uçbirleştirme makinesinin düzgün bir şekilde çalışabilmesi için gerekli olan bir uzun kodlanmayan RNA'daki mutasyondan kaynaklanır.

Opitz-Kaveggia Sendromu Aracı kompleksteki uzun kodlanmayan RNA'larla olan etkileşimde önemli olan bir proteindeki kusurdan kaynaklanır.

Osteogenezis İmperfekta (cam kemik hastalığı) Vakaların az bir kısmında hastalığa yol açan, bir genin başlangıcındaki protein kodlamayan bölgede meydana gelen bir mutasyondur ve proteine fazladan amino asit eklenmesine sebep olur.

Pankreas Agenezisi Bazı vakalarda hastalığa, hızlandırıcı dizideki mutasyonların yol açtığı gösterilmiştir.

Patau Sendromu Sentromer olarak adlandırılan bir çöp bölgeye bağlı olan bir süreçle, gelişmekte olan gametlerde 13. kromozomun eşit olmayan bir şekilde dağılmasından kaynaklanır.

Prader-Willi Sendromu Anormal damgalanmadan kaynaklanır. Damgalanmanın kontrolünde çöp DNA hayati öne-

me sahiptir ve damgalanma kontrol bölgelerle, promotorlarla, uzun kodlanmayan RNA'larla ve epigenetik sistemler arasındaki karşılıklı etkileşimlerle ilişkilidir.

Retinitis Pigmentosa Bazı olgularda hastalık, normal uçbirleştirmenin sağlanması ve mRNA molekülünden çöp DNA'nın uzaklaştırılması için gerekli olan bir proteindeki kusurdan kaynaklanmaktadır.

Roberts Sendromu Çöp-aracılı yüksek-dereceli DNA yapısı için gerekli olan bir proteindeki kusurdan kaynaklanır.

Silver-Russel Sendromu Anormal damgalanmadan kaynaklanır. Damgalanmanın kontrolünde çöp DNA hayati öneme sahiptir ve damgalanma kontrol bölgelerle, promotorlarla, uzun kodlanmayan RNA'larla ve epigenetik sistemler arasındaki karşılıklı etkileşimlerle ilişkilidir.

Spinal Müsküler Atrofi SMN2 mRNA'sını fonksiyonel proteine çevirecek normal uçbirleştirme sürecini önleyen değişken bir baz çiftinden dolayı SMN2 geni, yakından ilişkili olduğu SMN1 genindeki mutasyonları telafi edememektedir.

X0 (Turner Sendromu) Tek bir X kromozomu olan kadınlar. Sentromer olarak adlandırılan bir çöp bölgeye bağlı olan bir süreçle, gelişmekte olan gametlerde X kromozomunun eşit olmayan bir şekilde dağılmasından kaynaklanır.

XXX Sendromu Üç X kromozomu olan kadınlar. Sentromer olarak adlandırılan bir çöp bölgeye bağlı olan bir süreçle, gelişmekte olan gametlerde X kromozomunun eşit olmayan bir şekilde dağılmasından kaynaklanır.

XXY (Klinefelter's Sendromu) İki X kromozomu olan erkekler. Sentromer olarak adlandırılan bir çöp bölgeye bağlı olan bir süreçle, gelişmekte olan gametlerde X kromozomunun eşit olmayan bir şekilde dağılmasından kaynaklanır.

Dizin

A

Alzheimer 101, 140, 141, 252, 289,
361, 393
antibiyotikler 185
antikorlar 208, 318, 319

B

bakteriler 185, 279

C-Ç

cam kemik hastalığı 259, 260, 261,
262, 396
cinsiyet kromozomları 108
cücelik 286, 302
çekirdekçik 184

D

damgalama 159, 161, 166, 167,
170, 171, 172, 173, 174, 175,
183, 367
distrofin 119, 121, 292, 293, 296,
297, 298, 394
diyabet 254, 276
diyet 85, 86, 254, 305
DNA metilasyonu 144, 146, 148,
153, 154, 164, 165
DNA parmak izi 68
Down sendromu 101, 354, 394

E

ekzonlar 280, 293
epigenetik 8, 117, 144, 145, 146,
148, 149, 150, 151, 152, 153, 154,
158, 159, 160, 162, 163, 165, 170,

173, 177, 178, 192, 193, 195, 196,
197, 211, 212, 213, 214, 215, 226,
229, 245, 247, 268, 312, 313, 328,
329, 331, 334, 337, 353, 393, 394,
395, 397

F

Feingold sendromu 301, 394
fibroblast 72, 371
fajil X proteini 38, 269, 270
fajil X sendromu 27, 116, 154, 270,
271, 394

G

gametler 89
gen ifadesi 101, 125, 146, 194, 207,
312, 317, 329
germ hücreleri 87, 164

H

hemofili 356
hemoglobin 26, 145, 146, 208, 212
hepatit C 315, 395
HIV 64, 287, 326
hızlandırıcılar 194, 195, 196, 198,
201, 202, 225
histon proteinleri 95, 163
HOX genleri 135, 212

I-i

iğ iplikçikleri 95, 98
immün sistem 301, 325, 333
İnsan Genom Projesi 29, 46, 47
insan genomu 17, 18, 29, 45, 46,

49, 51, 52, 54, 55, 57, 59, 60,
61, 62, 63, 65, 67, 125, 126, 143,
152, 161, 168, 183, 186, 205,
211, 221, 223, 224, 228, 229,
233, 237, 239, 247, 254, 291, 345
insülin 246, 273, 276, 380
intronlar 35, 253, 280

K

kalp krizi 289, 307
kanser 20, 75, 78, 98, 99, 100, 136,
137, 138, 139, 149, 193, 202,
209, 267, 287, 304, 311, 312, 395
kanser hücreleri 75, 98, 313
kardiyovasküler hastalıklar 350
kemik iliği 78, 79, 304
keratin 212, 213
kıkırdak-saç hipoplazisi 302
klonlama 122
kolesterol 326, 327
kök hücreler 76, 134, 200, 303, 304,
307, 308, 334

M

meme kanseri 98, 257
mesajcı RNA 37, 41, 42, 112, 179,
180, 181, 262, 263, 265, 272, 274,
275, 283, 294, 300, 301, 324, 332
mitokondri 186, 187, 188

N

nöronlar 38, 144, 145, 269, 270,
277, 308

O

obezite 84, 254, 255, 256, 258

P

Patau sendromu 102, 396
plasenta 61, 158, 159, 161, 173
promotorlar 192, 335
prostat kanseri 136, 137
pulmoner fibrozis 79, 81, 82, 395

R

ribozomal RNA 178, 179, 181, 183
ribozomlar 178, 179, 183, 294
romatoid artrit 252

rRNA 178, 179, 180, 181, 182, 183,
184, 185, 187, 189, 367

S

sperm 54, 66, 67, 87, 89, 97, 103,
108, 109, 110, 120, 155, 156,
157, 158, 164, 169, 170, 175,
218, 263, 333, 354
splaysozom 284, 290

T

taşıyıcı RNA (tRNA) 180
telomeraz 74, 75, 76, 77, 79, 80
telomeraz aktivitesi 74, 75
telomerler 75, 77, 80, 335
testosteron 108, 138, 139
tRNA 180, 181, 183, 186, 188, 215,
216, 368, 369
tümörler 139, 267, 312

U

uzun kodlanmayan RNA'lar 125,
126, 128, 132, 135, 148, 149,
150, 162, 196, 197, 203, 225, 324

X

X inaktivasyonu 111, 112, 113, 116,
118, 120, 217, 219
X kromozomu 105, 108, 109, 110,
111, 114, 115, 116, 117, 119, 121,
123, 151, 157, 217, 218, 219,
220, 221, 292, 397

Y

Y kromozomu 107, 108, 109, 116,
218, 220

Z

zigot 103, 109, 134

