

Yeni Buluşlar: GELİŞME GENLERİ

Dr.Cengiz AYBİRDİ*

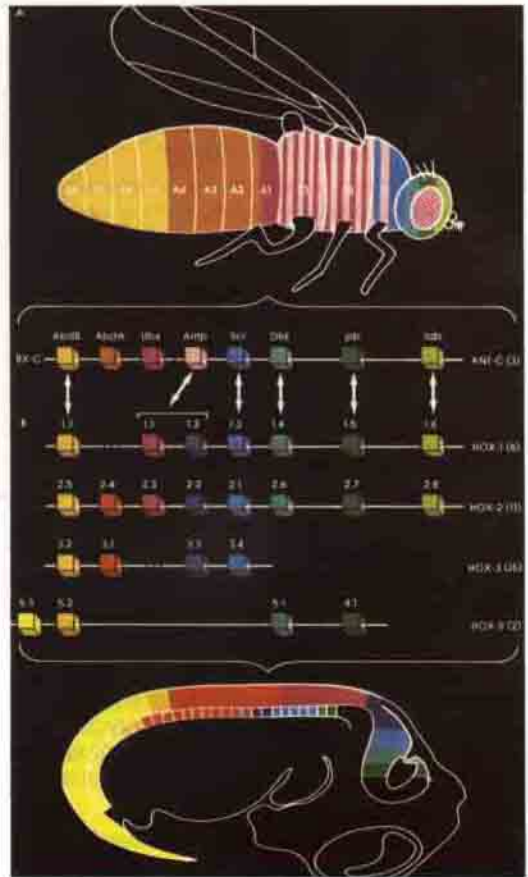
Bir sinekle bir fare arasında pek az benzerlik vardır. Buna rağmen son yıllarda genetik bilimi bize şunu göstermiştir: Bir sirke sineği (*Drosophila*) yumurtasının erişkin hale gelmesini sağlayan genlerle bir fare yumurtasının erişkin hale gelmesini sağlayan genler birbirine çok benzerdir. Böylece embriyolojide yeni bir çağ başlamıştır: Moleküler çağ.

XVII. yüzyılda İngiliz hekim William Harvey, ilk defa şu aksiyomu ileri süren kişi olmuştur: Bütün canlıların başlangıcı bir yumurtadır. XIX. yüzyılda Alman fizyolojist T.Schwann, yumurtanın o güne kadar sandığı gibi bir hayvancık değil, bir hücre olduğunu gösterdi.

Embriyolojistler (embriyonun gelişmesini inceleyen bilim adamları) o zaman şu soruyla ilgilenmeye başladılar: Yumurta denen tek hücre, döllenikten sonra, nasıl oluyor da çok çeşitli görevleri olan hücrelerden yapılmış bir canlıya dönüşüyordu? Yumurtadan bir canlı oluşmasının sırrı neydi? Embriyondaki hücre yığınları, hangi mekanizmalarla bir simetri ve eksen (ön-arka uçlar ve karın ve sırt yüzeyleri) kazanıyordu? Her doku ve her organ nasıl olur da tam bulunması gerekli yerde bulunabiliyordu? Örneğin memelilerde neden beyin kafa içinde oluşuyor da göğüs veya karında oluşmuyor, karaciğer neden hep sağda, dalak ve kalp hep solda bulunuyor? Aynı türde neden organların yeri hep aynı kalıyor?

1935'te Nobel Tıp ödülü alan Alman bilim adamı H.Spermann, deniz kestanesi yumurtaları üzerindeki çalışmalarıyla, embriyondaki hücre tabakalarının hareketini ve bunun embriyonun ön ve arka ucunu belirlediğini gösterdi. Embriyon morula (içi dolu küre), blastula (içi boş küre) ve gastrula (bir kutbu içeri çökmüş içi boş küre) safhalarından geçer.

ABD'den T.H.Morgan, sirke sineği üzerindeki deneylerinden sonra ilk kez "gen" kavramını getirdi ve embriyonun gelişmesinde moleküller mekanizmaların etkisini ortaya koydu. Moleküler genetiğin babası olan Morgan, mutasyon oluşturmadaki kolaylıkları nedeniyle sirke sineğini seçmişti. İlginçtir ki, Morgan'ın yıllar önce sirke sineğinde bulunduğu gelişme genlerinin çok benzerleri, son zamanlarda memelilerde de bulunmuştur; bunlara "homeobox" veya "homeogen" adı verilmektedir.



Memelilerin ve sirke sineğinin gelişme genleri birbirine benzer. Şekilde farklı genler farklı renklerde gösterilmiştir. A'da sirke sineğinin 3. kromozomunda BX-C ve ANT-C genleri görülmüyor. B'de üstte fare embriyonunun 6, 11, 15 ve 2. kromozomları üzerindeki homeogen'ler gösterilmiştir. Oklar sinek ve fare gelişme genlerinin benzerliğini gösteriyor. Gerek sinek, gerekse farede önden arkaya gen sırasının yine önden arkaya vücut bölümlerinin gelişmesinden sorumlu olduğu görülmüyor (kromozomda ve vücutta renk sırası aynı).

YUMURTADAN ERİŞKİN HAYVANA

Memelilerde döllenmiş yumurta önce ikiye, sonra sırasıyla dörde, sekize... bölünür. 30-40 hücreden oluşmuş morula safhasında hücreler farklılaşmamıştır; yani biçim ve görev bakımından aralarında fark yoktur. Embriyon daha büyüdükçe hücreler farklılaşır, yani her hücre vücutta yapacağı göreve uygun bir biçim alır; bazı hücreler deri, bazıları beyin vb. yapacak şekilde değişikliğe uğrar. *Drosophila*'da durum farklıdır; yumurta hücresi hemen bölünmeye başlamaz, yalnızca yumurtanın çekirdeği üstüste bölünmeler yaparak çoğalır; yumurta sitoplazmasının belli noktalarında belli proteinler yoğunlaşır, çekirdekler bu noktalara hareket eder ve bir sitoplazma parçasına sarılarak yeni hücreler oluştururlar. Dro-

* Ank. Üniv. Tıp Fak. İç Hastalıkları Uzmanı.



Şekilde ortasından uzunlamasına ikiye bölünmüş 12 günlük fare embriyonu görülüyor (gebelik 21 gün sürer). Solda şematik olarak organlar gösterilmiştir. Sağda HOX-1.4 geni ürünü olan homeoproteinler pembe renkte görülmektedir. Bu genin omurilik ve omurganın gelişmesini sağladığı anlaşıyor; çünkü bu genin kontrol alanını gösteren pembe renge yalnız bu iki organda rastlanıyor. Burada in situ hibridizasyon tekniği kullanılmıştır.

sophila embriyonunda bundan sonraki safha "segment"lerin oluşmasıdır. Segment nedir? Erişkin bir sineğin vücudu halkalıdır. Örneğin, erişkin sineğin göğsünde (toraks) üç ve karnında (abdomen) sekiz halka vardır. Embriyonda her halkanın ilkel şekli mevcuttur; buna, segment denir.

Morgan, gelişme genlerini mutasyon deneyleriyle belirledi. Üç türlü gelişme geni buldu. İki segmentler oluşmadan önce etkin olup, ön-arka ve karın-sırt kutuplaşmasını sağlar. 1979'da Heidelberg'den C.N. Volhard grubu gösterdi ki, bu genlerin mutasyonu kafası, göğsü ve ön karnı olmayan, yalnız iki arka ayağı olan sinekler oluşturmaktadır. Aynı grup, 1980'de ikinci tür gelişme genlerini buldu. Bunlardaki 15 kadar mutasyon, segmentlerin oluşmasını, sayısını ve biyokimyasal özelliklerini etkiliyordu. 3. sınıf gelişme genleri ise, segmentlerden organların gelişmesini kontrol etmektedir. Bu genlerin mutasyonları, örneğin 4 kanatlı, 4 çift ayaklı (normalde 3 çift ayak) ve kafasında antenler (duyarga) yerine ayaklar içeren sinekler oluşmasına neden olmaktadır. Vücudun bir bölümünün diğer bir vücut bölümüne nakledilmesi olayına "homeosis", bu gibi mutasyonlara "homeotik mutasyon" ve buna neden olan genlere "homeotik gen" denmektedir. Sirke sineğinde homeotik genler 3. kromozom üzerinde iki bölgede toplanmıştır: Antennapedia (ANT-C) ve Bithorax (BX-C) bölgeleri; ANT-C kafa ve 1. göğüs halkasını, BX-C 2. ve 3. göğüs ve 8 karın halkasını oluşturur. Homeotik genler embriyon segmentlerini erişkin halkalarına çeviren genlerdir.

HOMEOBOX'UN KEŞFİ

1980lerin başlarında, İsviçre'den W.Mc Ginnis ve W.Gehring, ABD'den M.Scott ve A.Weiner, önemli bir keşif yaptılar: Homeotik genlerin hepsinin yapısında "homeobox" adı verilen bir DNA parçası bulunuyordu; çeşitli homeotik genlerde homeobox'ın yapısı hemen hemen aynıydı. Homeobox denen gen parçası, 60 aminoasitli bir molekül sentez ettiriyordu. Bu moleküle "homeodomaine" adı verildi. Ho-

meotik genlerin sentez ettirdiği proteinler (homeo-proteinler) mutlaka homeodomaine denen parçayı içermektedir. 1988'de W.Gehring gösterdi ki, homeodomaine, α sarmallı bir parça aracılığıyla DNA'ya bağlanabilmektedir.

Demek ki, homeoproteinler, DNA üzerindeki özel noktalara yapışarak, embriyonun gelişmesini düzenleyen proteinlerdir. Homeoproteinler, bazı genlerin çalışmasını durdurur, bazı genlerin çalışmasını ise artırır ve embriyon oluşmasını (morfogenez) böyle etkiler. Bugün için bu proteinlerin hangi genleri etkilediği bilinmiyor.

1984'te İsviçre'den W.Gehring ve E.D. Roberts, ABD'den F.Ruddle, kurbağa ve fare kromozom DNA'larında sirke sineği homeobox'ına benzer parçalar buldular. Fransa'da CNRS/INSERM 184. ünitesinden Pierre Chambon, Strasbourg'da memeli homeobox'ları üzerindeki çalışmalara devam etti.

Bugün farede ve insanda, sirke sineğinin ANT-C homeobox'ına çok benzer bir parça içeren 25-30 kadar gelişme geni biliniyor. Göttingen'den P.Gruss, Yale'den F.Ruddle ve Napoli'den D.Boncinelli, 6., 11., 15. ve 2. kromozomlar üzerinde dört grup oluşturan, herbiri 5-10 genlik homeogenler buldular. Homeobox kelimesi kısaltılarak HOX yapıldı. Memelilerde dört kompleks bilinmektedir: HOX-1, HOX-2, HOX-3 ve HOX-5. Memelilerde homeobox denen bu DNA parçaları, "homeodomaine" denen protein parçaları yaptırmaktadır. Homeodomaine'ler DNA'nın belli noktalarına yapışarak embriyonun gelişmesini kontrol eder.

ENSEDEN AYAKLARA HOMEOPROTEİNLER

Araştırmacılar gelişme genlerinin oluşturduğu proteinlerin embriyondaki dağılımını incelemek için "in situ hibridizasyon" denen yöntemi kullandılar. Bu yöntemle embriyon, mikroskopta görülebilecek kadar ince kesitlere ayrılır, kesitler lam üstüne konur, lamin üstüne aranan proteini sentez ettirecek mRNA'yı tanıyacak bir sıvı dökülür. Bu sıvıda aranan mRNA'ya sarılacak radyoizotoplu bir molekül

(komplemanter mRNA) vardır. Bu lamalar 2 hafta süreyle bir fotoğraf filmi üzerinde bırakıldığında, aranan protein bulunduğu alanlar siyah noktalar şeklinde kararır. Bu yöntemle 7 günlük bir embriyonda HOX-1.4 genine ait mRNA'lar bulundu (mRNA'lar, bir gene ait proteinin sentezinde aracılık yapan moleküllerdir). Bu gelişme geninin mRNA aracılığı ile sentez ettirdiği proteinler, önce mezoderm ve ektoderimde, daha sonra bu tabakalardan oluşan organlarda (sinir tübü, omurga taslakları ve akciğerler, barsaklar, fetal böbrekler ve kol-bacak tomurcuklarının mezodermik bölümleri) bulundu. Demek ki, HOX-1.4 geni (HOX-1 grubunun 4. geni) sözü edilen embriyon tabakalarının ve organlarının oluşmasını sağlamaktadır.

Bir diğer ilginç nokta şudur: Bütün gelişme genleri, vücudun uzunlaşmasına eksen boyunda bir "ön sınır" gösterirler; yani belli bir gelişme geninin etkisi, daima kuyruk bölgesinden başlayarak devam eder ve başa yakın bir sınırdan kaybolur. Genellikle her gelişme geninin ön sınırı diğerlerinden farklıdır. Etkisini embriyonun ön yarısında gösteren gelişme genlerine "ön genler", arka yarısına gösterenlere "arka genler" denmektedir. Ön genler başa yakın organların (akciğer, barsaklar, mide, gırtlak vb.), arka genler kuyruğa yakın organların (böbrekler vb.) gelişimini sağlar. Örneğin ön genlerden HOX-1.4 ve HOX-5.1'in etkisi kuyruktan boyuna kadar, arka genlerden HOX-1.2 ve HOX-3.3'ün etkisi kuyruktan göğüs ortalarına kadar devam eder.

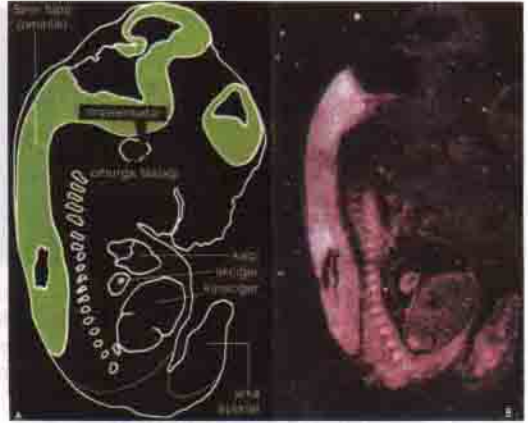
Özetle embriyonun kuyruğundan başına doğru giderken her seviyede değişik homeoprotein karışımlarına rastlarız. Bu farklı homeoproteinler, DNA'nın farklı noktalarına yapışarak, hücrelere "neyi nasıl yapmaları" konusunda bilgi iletirler, hücreler bunlara uyarak o seviye için gerekli doku ve organları oluştururlar. Gelişme genlerinin ürünleri olan homeoproteinler, embriyon hücreleri için adeta "danışma büroları" görevi yapmakta, hem onları gitmeleri gereken yerlere sevk etmekte, hem de o yerlere giderken hangi yapı değişimlerini yapmaları gerektiğini (farklılaşma) onlara hatırlatmaktadır (Sayın sinir hücresi, söz lütfen kafaya yönelin ve orada dendrit ve aksonlar çıkararak beyni oluşturmaya başlayın!).

ORGANLARIN OLUŞMASINDA GELİŞME GENLERİ

Acaba gelişme genleri, organların oluşmasında nasıl bir rol oynamaktadır? Bu amaçla arka genlerden HOX-5.2 araştırılmıştır. Bu gen, yumurtalık ve erbezlerinin somatik (seksüel olmayan) hücrelerinin oluşmasını sağlar. Fare embriyonunda 10. gün bu organları oluşturacak "cinsel kabartılar" belirir. HOX-5.2 geninin ürün olan protein, daha bu kabartılar oluşmadan o bölgede belirir; yumurtalık ve erbezleri olgunlaştıktan sonra da, yani erişkin hayatta da, o bölgede kalır. Muhtemelen bu gen, hem bu organları oluşturmada, hem de onların devamlarını sağlamaktadır. Bu genler sayesinde ki, bu organlar eriyip kaybolmamaktadır.

KOL VE BACAK OLUŞMASINDA GELİŞME GENLERİ

Dokuz günlük embriyonun kol-bacak tomurcuklarında bol miktarda HOX-5.2 geninin proteinleri bu-



Gelişme genleri (homeogenler) embriyonda kol ve bacakların gelişmesini etkilerler. A'da 9 günlük bir fare embriyonunun şeması görülmüştür. Kol-bacak tomurcukları kırmızı renktedir. B'de bu tomurcuklarda HOX-U5.2 geninin yaptığı protein (homeoprotein) görülmüştür. Tomurcukların dışında HOX-5.2 homeoproteinine rastlanıyor. Demek ki, kol ve bacakların gelişmesini HOX-5.2 geni sağlamaktadır.

lunur. İlginçtir ki, HOX-5.2 proteinleri yalnız ve yalnız kol-bacak tomurcuklarında görülür. Tomurcuklardan kol ve bacaklar uzadıkça hücreler farklılaşır ve HOX-5.2 proteinlerine, yalnızca kemiğe dönüşecek kıkırdak hücrelerinde rastlanır. Bir diğer ilginç nokta da şudur: Fetal kol ve bacaklarda HOX-5 gen grubuna ait 5 genin proteinleri bulunur. Bu genlerin 2. kromozom üzerindeki diziliş sıraları ile kol veya bacak üzerinde bu genlere ait proteinlerin diziliş sırası aynıdır. Yani her gen, kol veya bacağın belli bir bölümünün oluşmasını üstlenmiştir.

Bir embriyonun gelişmesindeki "genetik strateji"yi kısaca bir daha gözden geçirelim. Canlı, DNA'sında yazılı doğrusal bilgiyi, organ oluşumunda 3 boyutlu bilgi haline getirmek zorundadır. Bu işi bazı kromozomlarda bulunan gelişme genleri (homeogen) sağlar. Her gelişme geni, kendine özgü bir protein (homeoprotein) sentez ettirir. Her gelişme geninde homeobox (veya HOX) denen 60 bazlık bir DNA parçası vardır; HOX, homeoprotein içinde homeodomaine denen 60 aminoasitik bir bölüm oluşturur. Homeodomaine DNA'nın belli (ve bugün için bilinmeyen) bazı noktalarına yapışarak bazı genleri susturur, bazılarını ise uyarır. Böylece embriyonda kuyruktan başa doğru her seviyede farklı homeoprotein karışımları bulunur. Bu proteinler nereye gideceğini şaşırmış embriyon hücrelerine yol gösterir, hücreleri farklılaştırır ve gitmeleri gereken organa yönelir. Gelişme genleri sayesinde ki, aynı türde aynı organlar genellikle hep aynı yerde bulunur ve aynı yapıyı gösterir. Gelişme genleri, embriyon hücrelerinin öğretmenleri gibidir. Tam bir canlı oluştuktan sonra da gelişme genleri görevlerine devam eder; adam olmuş öğrencilerini gururla seyreden bir öğretmen gibi.