

## Ökaryotlardaki Transkripsiyonu Düzenleyici Proteinler

Kemal BÜYÜKGÜZEL

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi:16.06.1998

**Özet:** Transkripsiyona bağlı düzenleme, ökaryot genlerinin faaliyetinde çok önemli olup bu düzenleme büyük ölçüde mRNA sentezi düzeyinde kontrol edilmektedir. Ökaryotlarda gen faaliyetinin transkripsiyon aracılığı ile kontrolü, prokaryotlarda olduğu gibi DNA'nın belirli bir bölgesine bağlanan proteinler ile düzenleyici DNA sekansları arasındaki etkileşim sonucu meydana gelmektedir. Ökaryot genlerinin transkripsiyonunu promotorler, zenginleştiriciler ve baskılayıcılar olarak isimlendirilen farklı düzenleyici elemanlar etkilemektedir. Farklı DNA sekanslarından oluşan bu elemanlar, DNA'nın belirli bir bölgesine bağlanan proteinler için bağlanma bölgelerini oluşturmaktadır. Bu proteinler DNA'ya, içerdikleri bazı ortak motifler aracılığı ile bağlanmaktadır. Ökaryotlardaki düzenleyici proteinler tarafından kullanılan ortak motifler, Heliks-Dönü-Heliks, Çinko Parmağı ve Lösin Fermuarı olarak adlandırılmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Düzenleyici proteinler, DNA'ya bağlanıcı motifler, heliks-dönü-heliks, çinko parmağı, lösin fermuarı, ökaryotik genlerin transkripsiyonu.

### Eukaryotic Transcriptional Regulatory Proteins

**Abstract:** Transcriptional regulation is of considerable importance in the expression of eukaryotic genes, and a considerable degree of regulation is controlled at the level of mRNA synthesis. As in prokaryotic organisms, transcriptional control in eukaryotes results from an interplay between regulatory DNA sequences and site-specific DNA-binding proteins. Transcription of eukaryotic genes is influenced by various regulatory elements, termed promoters, enhancers and silencers. These regulatory elements are composed of discrete DNA sequences, which constitute binding sites for sequence-specific DNA-binding proteins. These proteins bind DNA by some common structural motifs. The motifs that are utilized by eukaryotic regulatory proteins are helix-turn-helix, zinc finger and leucine zipper.

**Key Words:** Regulatory proteins, DNA-binding motifs, helix-turn-helix, zinc finger, leucine zipper, transcription of eukaryotic genes.

### Giriş

Prokaryot ve ökaryot hücreler metabolik faaliyetlerini çeşitli mekanizmalar aracılığı ile düzenleyebilmektedir. Düzenleyici mekanizmalar, etkilerini genelde gen faaliyeti üzerinde göstermekte olup bu etkilerde birçok protein anahtar rolü oynamaktadır.

Gen faaliyeti esasen transkripsiyon seviyesinde düzenlenmektedir. Bilindiği gibi, prokaryotlarda birçok gen operon adı verilen birimlerde kümelenmiştir. Operonlardaki genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesi, aktivatör proteinler tarafından aktive etmek, repressör proteinler tarafından ise kösteklenmek suretiyle sağlanmaktadır (1). Ökaryotlardaki gen faaliyeti

de temelde transkripsiyon düzeyinde kontrol edilmektedir (2, 3). Ancak ökaryot kromozomları prokaryot kromozomlarına göre hem daha büyük bir yapıya hem de daha yüksek bir yapısal organizasyon derecesine sahiptirler. Maya, meyve sineği ve insan genomu, *Escherichia coli* genomuna göre sırayla 4, 40 ve 1000 misli daha fazla DNA içermektedir. Bu fazlalık ökaryotlara, prokaryotlarda bulunmayan potansiyeller kazandırdığı gibi bunlardaki replikasyon ve gen faaliyeti olaylarına da yeni boyutlar getirmiştir (2, 4, 5). Ökaryot kromozomlarındaki bazı özel genlerin faaliyeti, transkripsiyon faktörlerine bağlıdır. Örneğin 5S ribozomal RNA genlerinin transkripsiyonu, DNA'daki oluklara uyan ve çoklu metal bağlayıcı uzantılara sahip proteinlerin bu genlere bağlanmasına bağlıdır (6, 7).

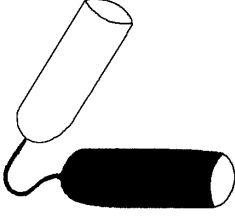
Böceklerde gelişmeyi kontrol eden birçok gen, DNA'ya bağlanan bir protein bölgesi veya alanını kodlayan ve homeobaks (homeotik gen grubu) adı verilen tekrarlanan bir motife sahiptir. Yüzseksen baz çifti içeren bu motif, 60 amino asit kökünden oluşan ve homeoalan veya homeobölge adı verilen bir proteini kodlamaktadır. Homeoalanda bazik karakterli amino asit köklerinin yüksek miktarda bulunması, bunun DNA'ya bağlandığı kanısını uyandırmaktadır (8, 9).

Homeobaks sadece böceklere özgü bir motif değildir. Bu motif aynı zamanda amfibiler ve insan dahil çalışılan birçok omurgalının homeotik genlerinde de saptanmıştır. Şimdiye kadar çeşitli organizmalarda homeobaks motifine sahip yüzden fazla gen saptanmıştır (9, 10).

Gen faaliyetlerinin kontrolünde rol oynayan proteinlerin aktifliği allosterik değişimler ve tersinir kovalent etkileşimler ile kontrol edilmektedir. Bu proteinler DNA'yı büyük ölçüde diğer proteinleri tanıdıkları gibi tanımaktadırlar. Bunlar öncelikle etkileşecekleri yüzey ile uygunluk gösteren bir üçüncül yapı oluşturmakta ve daha sonra geniş bir yüzeyde çok sayıda atomik etkileşimi sağlayabilecek yakınlıktaki bir mesafeye ulaşmaktadırlar (5, 11). Protein ve DNA'nın birbirini tanıması, bir proteinin diğer proteini tanımasında olduğu gibi hidrojen bağları, iyonik ve hidrofob etkileşimler aracılığı ile olmaktadır (12). Protein ve DNA arasındaki etkileşimin spesifikliği ile ilgili problemler, büyük ölçüde X ışını kırınımı çalışmaları ile çözümlenmiştir. Bu çalışmalar, proteinlerin DNA'yı ortak yapısal motifler aracılığı ile tanıdıklarını ve bu tanımda simetrik bir uygunluğun da sözkonusu olduğunu ortaya çıkarmıştır. Gerek prokaryotlar gerekse ökaryotlarda transkripsiyonu düzenleyen proteinlerde saptanan ortak yapısal motifler heliks–dönü–heliks, çinko parmağı ve lösin fermuarı olmak üzere üç grup altında toplanabilir (13, 14, 15).

#### Heliks–Dönü–Heliks Motifi

DNA'ya sekansa (nicel ve nitel yapı taşı dizilişi) özgü bir şekilde bağlanan proteinlerden üçünün moleküler yapısı 1980'lerin başında açıklanmıştır. Bunlardan ikisi lambda fajının kodladığı küçük proteinler yani CRO ve C1 proteinleri, diğeri ise *E. coli*'nin katabolit aktivatör proteini olan CAP proteindir (9). Herbiri iki alt birim içeren bu proteinlerin DNA'ya iki alt birimi (dimer) ile bağlandığı ve bağlanma bölgelerinin ikili bir simetri gösterdiği bilinmektedir. Bunların üç boyutlu yapıları incelendiğinde, birbirinden oldukça belirgin bir beta ( $\beta$ ) dönüşü ile ayrılan farklı iki  $\alpha$ -heliksten meydana geldikleri ve yapının bir saç tokasına benzediği anlaşılmıştır. Bu yapıya heliks–dönü–heliks motifi adı verilmiştir (14, 16) (Şekil 1).

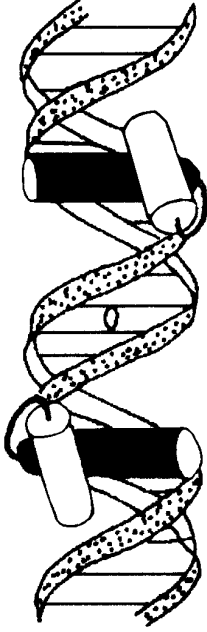


Şekil 1. Heliks–Dönü–Heliks motifi  
 □ heliks–2  
 ■ heliks–3 (tanıyıcı heliks)  
 — β dönüşü

Dimerin karboksil (–COOH) uca yakın olan alt birimi kendisi ile analog olan diğer  $\alpha$ –heliks ile özel bir konum kazanacak durumdadır. Karboksil uca yakın alt birime Heliks–3 adı verilmektedir. Heliksler arasındaki bu özel konum çeşitli kriterlere dayanmaktadır. Kriterlerden birincisi, bu tip proteinlerdeki heliksler arasındaki mesafe hemen hemen eşittir ve bu mesafe, B–DNA (Watson–Crick DNA’sı veya normal DNA)’nın bir yüzünde birbirini izleyen büyük olukları ayıran mesafe ile uygunluk göstermesidir. İkincisi, helikslerin birbirine göre paralel olmayan bir konformasyona sahip olmalarıdır. Üçüncü kriter ise, heliks–3’ün her durumda heliks–2 ile hidrofob etkileşimler aracılığı ile kenetlenmesi ve dolayısıyla kararlı bir şekilde kalabilmesidir. Bu etkileşim heliks–3’ün üst kısmının DNA ile temasını sağlamaktadır. Heliks–3, proteinin DNA’ya bağlanmasına yardımcı olduğundan tanıyıcı heliks olarak da adlandırılır. İki heliks arasındaki mesafe 34 Å dur ve bu mesafe, DNA’nın iki büyük oluğu arasındaki mesafeye eşittir. İki heliks veya altbirim arasındaki polar olmayan etkileşimler bunların oluşturduğu motifi kararlı kılmaktadır. Bu modele göre, heliks–3 veya tanıyıcı heliksin alt tarafında bulunan amino asit kökleri, DNA’nın büyük oluğundaki bazlar ile hidrojen bağı oluşturmaktadır (17) (Şekil 2).

Heliks–2’nin dördüncü amino asit kökü daima hidrofob bir yan gruba sahip, beşinci kök ise glisin veya alanin gibi nispeten kısa yan gruba sahip bir amino asit köküdür. İki heliks arasındaki  $\beta$  dönüşü çoğunlukla glisin ile başlamakta, bunu daima hidrofob yan gruba sahip bir amino asit kökü izlemektedir. Bunlara ilâveten, heliks–3’ün dördüncü ve yedinci kökleri daima hidrofob karakterli amino asit kökleridir (8, 14).

Prokaryotlardaki bu motifin keşfedilmesi, ökaryotlarda genleri düzenleyen çeşitli proteinlerdeki heliks–dönü–heliks motifinin saptanmasını da sağlamıştır. *Saccharomyces cerevisiae*’nin MAT $\alpha$  1 ve MAT $\alpha$  2 olarak tanımlanan çiftleşme tipi genlerinin ürünlerindeki amino asit sekansları, heliks–2 ve heliks–3’ün uygun dört konumundan üçünde,  $\beta$  dönüşünde ise ikinci konumunda hidrofob amino asit kökü dağılımına sahiptir. Bakterilerdeki birçok proteinde de ikinci konumda hidrofob amino asit kökü bulunmaktadır. Diğer taraftan gerek MAT $\alpha$  1 gerekse MAT $\alpha$  2’deki heliks–3’ün yedinci konumunda birer triptofan kökü içerdikleri ve bu amino asit kökünün bakteri orijinli proteinlerin çoğunda aynı konumda bulunduğu saptanmıştır. Heliks–dönü–heliks motifinin ökaryot proteinlerinde de bulunduğu anlaşılması, bu proteinlerin gen faaliyetinin düzenlenmesinde rol oynayabilecekleri fikrini ortaya çıkarmıştır (18). Johnson ve Herskowitz’in biyokimyasal deneyleri, mayadaki çiftleşme tipi gen ürünlerinin, bakterilerdeki DNA’ya bağlanan proteinler ile sekans benzerliği gösterdiklerini ve DNA’nın belirli bir bölgesini tanıyabildiklerini ortaya çıkarmıştır (1).



Şekil 2. Heliks–Dönü–Heliks motifinin DNA ile etkileşimi.

Laughon ve grubu, maya ve bakterilerdeki heliks–dönü–heliks motifine sahip proteinler arasındaki sekans benzerliklerinin, *Drosophila*'daki *antennapedia*, *fushitarazu* ve *ultrabithorax* gibi homeotik genlerin ürünlerine kadar uzandığını saptamıştır. Maya ve bakterilerdeki proteinlerde bulunan heliks–dönü–heliks motifi için karakteristik olan hidrofob amino asitlerin konumu, *Drosophila*'daki homeotik gen grubu ürünlerinin karboksil ucundaki 30 amino asit kökü uzunluğundaki kısım ile büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (9, 11).

Homeobaks proteinlerindeki sekansın, bakterilerdeki heliks–dönü–heliks motifini içeren proteinlerinki ile benzer olduğunun anlaşılması bu proteinlerin de DNA ile etkileşerek gen faaliyetini düzenleyici bir rol oynayabilecekleri kanısını uyandırmıştır (10, 11). Homeotik gen ürünlerinin spesifik DNA sekansları ile güçlü bir şekilde etkileştikleri ve DNA'nın sekansa özgü bir şekilde tanınmasının bu proteinlerdeki homeoalan adı verilen 60 amino asitlik bir bölge aracılığı ile olduğu, yapılan araştırmalar ile kesinlik kazanmıştır. Homeoalanda bazik karakterli amino asit köklerinin fazla bulunması bu proteinlerin DNA'ya homeoalan aracılığıyla bağlandığını destekleyen diğer bir kanıttır (9, 11). Homeobaks proteinleri arasındaki yüksek derecedeki homoloji, kurbağa, fare ve insanda DNA'ya bağlanabilen diğer proteinleri kodlayan genlerin klonlanmasını da kolaylaştırmıştır. Diğer taraftan, bu üç omurgalı grubuna dahil ökaryotlardaki gen ürünlerinin *Drosophila melanogaster*'in *antennapedia* geni ürünleri ile % 90 oranında amino asit benzerliği göstermesi bütün dikkatlerin omurgalıların gelişmesi üzerinde toplanmasına neden olmuştur (9, 10, 11).

### Çinko Parmağı Motifi

Bu motif, *Xenopus laevis*'de 5S ribozomal RNA genlerinin faaliyeti ile ilgili çalışmalar sırasında keşfedilmiştir (7, 15, 19). Bu genlerin transkripsiyonu, genin merkezi veya ortasındaki 50 nukleotitik bir alan ile düzenlenmektedir. Bu düzenleyici bölgeye iç kontrol alanı (iç promoter veya promotor) adı verilmiştir. Bu iç promoter, IIIA transkripsiyon faktörü (TFIIIA) adı verilen 40 kD'luk bir protein tarafından tanınmaktadır. TFIIIA'nın bir molekülü, bir kompleks oluşturmak üzere 5S RNA genine bağlanır. Bu kompleks sırasıyla TFIIIC, TFIIIB ve RNA polimeraz III'e bağlanmaktadır. B ve C faktörleri ayrıca tRNA genlerinin transkripsiyonunu başlatmada da iş görmektedir. TFIIIA'nın DNA'nın yüzeyi ile etkileştiği, bu proteinin amino asit sekansında tekrarlanan bir motifin saptanmasıyla anlaşılmıştır (7, 15, 20). TFIIIA'nın primer amino asit sekansında herbiri yaklaşık otuz amino asit kökü uzunluğunda dokuz tane benzer bölge (Cys-N<sub>2</sub>-Cys-N<sub>12</sub>-His-H<sub>3</sub>-His) bulunmaktadır. Bu tekrarların herbiri özdeş kısımlarda iki sistein (Cys) ve iki histidin (His) kökü içermekte olup, bu proteinde aynı zamanda dokuz tane de Çinko (Zn) iyonu bulunmaktadır (6, 8). Klug ve arkadaşlarının yaptıkları X ışını kırınımı deneyleri, herbir çinko atomunun, sisteinlerin kükürt (Cys-S), histidinlerin ise azot (His-N) atomlarına tetrahedral bir şekilde bağlanarak parmak şeklinde yapılar oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır (7, 19) (Şekil 3).

Parmak şeklindeki yapının ucu, DNA'nın büyük ya da küçük oluğuna uymaktadır. Parmak şeklinde yapılara sahip birçok protein, transkripsiyon sırasında bu yapılar aracılığı ile iç kontrol alanına bağlı halde kalabilmektedir. RNA polimeraz, genin bir tarafından diğer tarafına doğru ilerlerken, TFIIIA'nın birkaç parmağı kalıp koldan ayrılmakta diğerleri ise dubleks veya kodlanan kola bağlı halde kalmaktadır (3) (Şekil 4).

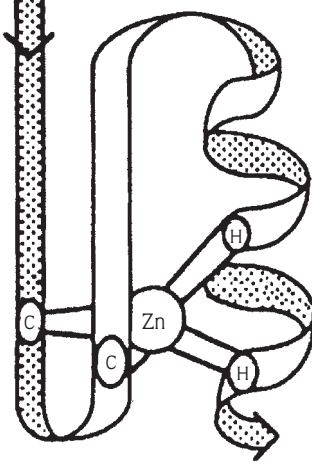
TFIIIA'daki histidin ve sistein köklerinin uzaysal dağılımı, çinko parmağı oluşturan diğer proteinlerin belirtilmesi için yeterli bir ayrıcalıktır. Maya, meyve sineği ve insandan elde edilen gen düzenleyici proteinlerdeki bu yapı, TFIIIA'daki yapı ile büyük benzerlik göstermektedir (8, 11, 18).

Memelilerdeki hormon reseptörlerinden mayadaki gen düzenleyici proteinlere kadar, DNA'ya bağlanıcı çok sayıdaki proteinde ikili sistein-histidin (Cys<sub>2</sub>-His<sub>2</sub>) düzenlenmesi bulunmaktadır. Bu gruba, omurgalılarıdaki glukokortikoid reseptörü ile mayadaki gen düzenleyici bir protein olan GAL 4 proteini de dahildir (21, 22).

Bu motifin önemli özelliği, çinko ile TFIIIA arasında koordinasyon bağları ile oluşan parmak benzeri yapıların tekrarlanması ve çinkonun bu tekrarlar da kritik bir rol oynamasıdır. Mutant TFIIIA proteinleri yapılarındaki parmak motiflerini kaybettikleri zaman DNA'ya karşı sekansa özgü bir şekilde gösterdikleri ilgilerini de kaybetmektedirler. TFIIIA'da bulunan Cys köklerinin yerinin başka bir amino asitle tutulması veya bu köklerin polipeptid zincirinden çıkarılması da DNA'ya sekansa özgü bağlanma yeteneğini ortadan kaldırmaktadır (7, 18, 19).

### Lösün Fermuarı Motifi

DNA'ya bağlanmayı sağlayan bu üçüncü motifin varlığı, memelilerdeki çeşitli onkogen ürünleri (FOS, MYC, JUN) ile mayada bulunan ve DNA'yı sekansa özgü bir şekilde tanıyan bir proteinin (GCN4) amino asit sekans benzerliklerinin karşılaştırılması sırasında ortaya çıkarılmıştır (23).

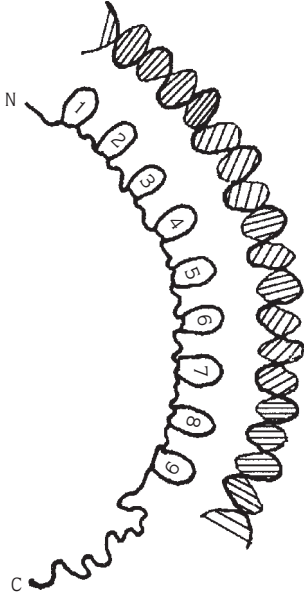


Şekil 3. Çinko Parmağı motifinin üç boyutlu yapısı.

24). Bu sekans karşılaştırma çalışmaları sonucunda C/EBP olarak tanımlanan bir protein saptanmıştır. Sıçan karaciğerinden elde edilen bu protein ısıya dayanıklı bir çekirdek proteindir. C/EBP'yi kodlayan genin klonlanıp sekanslanması, bunun DNA'ya bağlanıcı bölgesindeki amino asit sekansının FOS, MYC ve JUN gibi şekil değiştirici (onkogen) proteinler ile açık bir benzerlik gösterdiğini anlamayı sağlamıştır (8, 10, 23).

C/EBP'nin DNA'ya bağlanan bölgesinin yaklaşık yarısına eşit olan ve 35 amino asit kökü içeren kısmında, yedili bir lösin tekrarı bulunmaktadır. Bu yapıda, düzenli bir diziliş gösteren zıt yüklü amino asitler de fazla miktarda bulunmaktadır. Bu zıt yüklü amino asitler, heliksiçi çiftlerin meydana gelişini sağlamaktadır (Şekil 5). Bu özelliklerin tümü FOS, MYC, JUN ve GCN4 proteinleri için de geçerlidir.

Heliksiçi çift oluşturma yeteneği, heliksin kararlılığına katkıda bulunmaktadır. Bu yapıya sarılan heliks yapısı adı da verilmektedir. Düzenleyici proteinlerde saptanan bu yapıyı keratinlerde, laminlerde ve miyozinin ağır zincirinin kuyruğundaki dördüncül yapıda da görmek mümkündür (8). Bu benzerlik, bu sınıf polipeptidlerin lösin tekrar heliksi ile dimerleşebilecekleri varsayımına neden olmuştur. Daha sonra C/EBP ve bununla akraba proteinlerin iç yüzey dimerleşmesinin lösinine bağlı olduğu anlaşılmıştır. Bununla beraber, lösin fermuarı, C/EBP'nin DNA ile sekansa özgü tarzda etkileşimi için ihtiyaç duyulan tek faktör değildir. Çalışmalar lösin tekrarının amino ucuna doğru yerleşmiş 30 amino asit kökü içeren bir parçasının, proteinin DNA'ya bağlanması sırasında değişmeden kaldığını ortaya çıkarmıştır (2, 8, 12). Bu parçadaki amino asitlerin çoğu bazik karakterli olup C/EBP'nin 35 amino asitlik bölgesindeki bazik amino asit kökleri ile yüksek derecede benzerlik göstermektedir. Böylece helikslerarası dimerleşme iki alt birimdeki bazik karakterli bölgelerin yardımı ve lösin fermuarı tarafından gerçekleştirilmekte ve bu yolla protein DNA'ya bağlanmaktadır. Örneğin FOS proteini DNA'ya yalnız başına bağlanamadığı halde JUN ile birleştiği zaman bağlanabilmektedir. Bu durum FOS/JUN birleşmesinin, bunların yapılarındaki lösin fermuarı ile gerçekleştiğini göstermektedir (24).



Şekil 4. TFIIIA'nın DNA ile etkileşimi.

İnsanın çeşitli dokularına ait hücrelerden elde edilen bazı proteinlerin de DNA ile sekansa özgü bir şekilde etkileşebildikleri ortaya çıkarılmıştır. Bu proteinler, gerek prokaryotlar gerekse maya ve meyve sineği gibi ökaryotlarda bulunan DNA'ya bağlanıcı proteinler ile yapısal benzerlik göstermektedir.

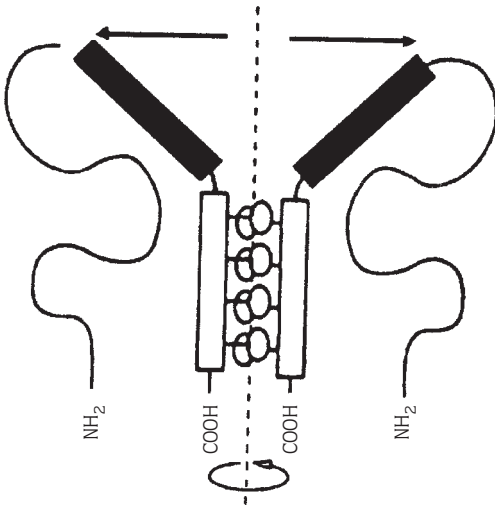
Bakteri, maya ve böceklerle ait homeoalan proteinlerindeki heliks–dönü–heliks motifine insan hücrelerinden elde edilen homeoalan proteinlerinde de rastlanması, bu proteinlerin de DNA'ya sekansa özgü bir şekilde bağlanabileceği fikrinin ortaya atılmasına sebep olmuştur. İnsan oct–1 homeoalan proteini ile ilgili çalışmalar bu fikri desteklemiş ve bu proteinin DNA'nın tanınması ve transkripsiyonun düzenlenmesinde yardımcı bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır (6, 8, 25). Diğer taraftan, insan B lenfositleri ve HeLa hücre kültüründen elde edilen özütlerde immunoglobulin ağır zincirinin (IgH) zenginleştirici ve promotöründe yer alan bir oktamer (ATGCAAAT) sekansa bağlanabilen iki tane protein tespit edilmiştir. Genel olarak oktamere bağlanıcı proteinler adı verilen bu proteinler heliks–dönü–heliks motifi ile yapısal benzerlik göstermektedir. OCT 1 ve OCT 2 olmak üzere ikiye ayrılan bu proteinlerin ikisi de immunoglobulin genlerinin faaliyetinde pozitif düzenleyici olarak iş görmektedirler. Bu proteinlere ilâveten HeLa hücresi çekirdek özütünden OBP 100 adı verilen ve herpesvirus genlerinin düzenleyici sekanslarına bağlanabilen bir protein ile TEF–1 adı verilen ve SV40 virusunun genlerindeki düzenleyici sekanslara bağlanabilen diğer proteinler de elde edilmiştir (6, 8).

İnsan kökenli hücre kültürü çalışmaları, CP1, CP2 ve CTF/NF1 olarak isimlendirilen ve ökaryot promotörlerindeki CCAAT sekansına bağlanabilen proteinlerin varlığını ortaya çıkardı. Bu

proteinlerin herbiri, iki altbirimli olup DNA'ya dimer halinde bağlanmaktadır. Bu proteinler de gen faaliyetlerinin kontrolünde pozitif düzenleyici olarak iş görmektedirler. HeLa hücre kültürü özütünden elde edilen ve DNA ile sekansa özgü bir şekilde etkileşebilen diğer bir protein ise AP1 proteindir. Bu protein, SV40 virusunun zenginleştiricisi ile etkileşebilen bir HeLa transkripsiyon faktörüdür. Lösin fermuarı yapısı gösteren AP1, bir protoonkogen proteini olan FOS ile yapısal benzerliğe sahiptir. Yapılan çalışmalar, AP1'in ancak FOS veya diğer bir protoonkogen proteini olan JUN ile birleştiği takdirde DNA'ya bağlanabildiği ortaya çıkarılmıştır (6).

İnsan ve diğer yüksek organizasyonlu canlıların hücrelerindeki gen transkripsiyonu yeni bir protein sentezine gerek duyulmadan kontrol edilebilmektedir. Bu olay, latent aktivatörler adı verilen ve hücrede işlevi herhangi bir şekilde maskelenen proteinler sayesinde gerçekleşmektedir. Bu proteinler ısı şoku transkripsiyon faktörleri olarak da adlandırılan ısı şoku proteinleri ve hormon reseptör proteinleridir. Isı şoku transkripsiyon faktörleri ilk defa *Drosophila* hücre özütünde tespit edilmiş daha sonra sırasıyla maya ve insan kökenli HeLa hücre kültüründen elde edilen özütlerde de saptanmıştır. Bu tip proteinin DNA'ya bağlanmak için kullandığı yapısal motif kesin olarak bilinmemekle beraber, DNA'ya bağlanmadan önce bir fosforil grubu bağlayarak aktifleştiği bilinmektedir. Proteinin fosforillenmiş formu, DNA'ya sekansa özgü bir şekilde bağlanır ve transkripsiyonun kontrolünde pozitif düzenleyici olarak görev yapar.

Hormon reseptörleri aracılığı ile transkripsiyonun başlatılmasında da yeni bir protein sentezine ihtiyaç duyulmaz. İnsan dahil birçok omurgalıda gen faaliyetinin düzenlenmesinde hormon reseptörleri de önemli rol oynamaktadır. Gen faaliyetinin hormon reseptörleri aracılığı ile aktifleştirildiği hususundaki ilk çalışmalar, glukokortikoid reseptörü proteini üzerinde yapılmıştır. Glukokortikoid reseptörü, DNA üzerindeki düzenleyici elemana (GRE) çinko parmağı motifi aracılığı ile bağlanarak hem pozitif hem de negatif düzenleyici olarak iş görmektedir (21,



Şekil 5. Lösin Fermuarı motifinin üç boyutlu yapısı.



22, 25). Benzer şekilde tiroid, östrojen ve progesteron reseptör proteinleri de DNA'ya çinko parmağı motifindeki sisteinler aracılığı ile bağlanmakta ve transkripsiyonu aktifleştirmektedirler (6, 22).

Yüksek organizasyonlu ökaryot canlıların hücrelerinden elde edilen diğer bir latent aktivatör ise NF-KB proteinidir. Bu protein, B lenfositlerinin DNA'sına bağlanan bir protein olup immunoglobulin hafif zinciri geninin zenginleştiricisi içindeki düzenleyici elemanı tanıma yeteneğindedir. B lenfositlerin öncü formlarının sitoplazmasında bulunan NF-KB, hücre farklılaşması ve hücrelerarası sinyal iletimini kontrol eden bir transkripsiyon aktifleştiricisidir. İnsan ve diğer yüksek organizasyonlu ökaryot canlıların hücre kültürlerinden izole edilen MYOD ve MYC grubu proteinler de ökaryotlardaki transkripsiyonun düzenlenmesinde pozitif aktifleştirici olarak iş görmektedirler. İnsan hücrelerinde pozitif transkripsiyon aktivatörü olarak iş gören MYC proteini DNA'ya, diğer MYC grubu proteinlerinde olduğu gibi heliks-ilmik-heliks adı verilen farklı bir yapısal motif aracılığı bağlanmaktadır. Heliks-ilmik-heliks proteinleri hücre farklılaşması ve gelişiminde büyük önem arz etmektedir. Bu proteinler lösin fermuarı proteinleri ile yapısal benzerlik gösterirler. Lösin fermuarı proteinleri gibi heliks-ilmik-heliks proteinleri de DNA ile etkileşebilen veya başka bir protein ile dimer oluşturabilen bazik bir bölgeye sahiptirler. Heliks-ilmik-heliks proteinleri gen faaliyetinin düzenlenmesinde heterodimer halinde iş görmektedirler. Örneğin kas hücrelerinin farklılaşmasında birincil sinyal olarak görev yapan MYOD proteini ancak E2A proteini ile bir heterodimer oluşturduğu zaman DNA'ya bağlanabilmektedir (6, 8, 26).

İnsan doku ve hücre kültürü özütleri ile yapılan çalışmalar, transkripsiyonu düzenleyici proteinler haricinde transkripsiyon faktörleri adı verilen ve transkripsiyonun başlamasında önemli rolleri olan çeşitli proteinleri ortaya çıkarmıştır. Transkripsiyon faktörü II olarak bilinen bu proteinler, ökaryot genlerinin RNA polimeraz II tarafından transkripsiyonu sırasında farklı görevler yapmaktadırlar. Ökaryotların tümünde bulunan TBP proteini (TATA kutusuna bağlanıcı protein), transkripsiyonu başlatıcı kompleksi oluşturmak üzere promoterin küçük olduğuna bağlanır ve RNA polimeraz II'nin promoteri tanımasını sağlar. *Drosophila* ve insan hücrelerinden elde edilen TBP'nin molekül ağırlığı, 22 kD ile 38 kD arasında değişmektedir. Farklı ökaryotlardan elde edilen TBP'lerin amino asit sekansları karşılaştırıldığında, bunların karboksil ucu alanlarında 180 amino asit kökü içeren bir bölgenin korunduğunu amino ucu alanlarının ise gerek amino asit kökü sayısı gerekse sekansı bakımından değişiklik gösterdiği görülmüştür. Karboksil ucu alanınının diğer bir özelliği de lizin bakımından zengin kırk amino asitlik bir bölge ile birbirinden ayrılan 60 amino asit kökünden oluşan iki tekrara sahip olmasıdır. TATA faktörü de denilen TBP'nin promotere sıkı bir şekilde bağlanmasını transkripsiyon faktörü IIA (TFIIA) sağlamaktadır. İnsan hücrelerinden elde edilen TFIIA proteini 34, 19 ve 14 kD'luk üç altbirimden meydana gelmiş bir heterotrimerdir. TFIIIB ise RNA polimerazın, başlangıç kompleksine seçici bağlanmasını sağlayan bir protein olup sadece 35 kD'luk bir altbirimden ibarettir. RNA polimeraz II'nin başlangıç kompleksine bağlanmasını kararlı kılan protein ise RAP 30/74 proteindir. İnsan kökenli RAP 30 kD ve 74 kD'luk iki altbirimden oluşmaktadır. Protein 30 kD'luk altbirimi ile RNA polimeraz II'ye bağlanırken 74 kD'luk altbirim bu bağlanmayı kararlı kılmaktadır. İnsan hücrelerinde transkripsiyonun başlatılmasını sağlayan bu proteinlerin haricinde TFIIH, TFIIIE,

TFIIIG, TFIIJ olarak adlandırılan çeşitli proteinler de saptanmış ancak bunların transkripsiyondaki görevleri kesin olarak açıklanamamıştır (25, 26).

Ökaryotlarda DNA metabolizmasını, protein: protein etkileşimlerini ve hücre döngüsünü düzenleyen replikasyon proteini A (RPA) bu temel görevleri yanında, transkripsiyonun düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Bu protein insan dahil birçok ökaryotta bulunmakta olup üç farklı altbirimin oluşturduğu trimer bir proteindir. İnsan hücrelerindeki replikasyon proteini A (hsRPA) 70 kD, 32 kD ve 14 kD'luk altbirimlere sahiptir. RPA proteini tek kollu DNA'ya bağlanabildiği gibi transkripsiyon sırasında çift kollu DNA'nın düzenleyici sekanslarına da bağlanarak transkripsiyonun düzenlenmesini de sağlamaktadır. Örneğin, insan hücrelerinde RPA proteini metalotiyonin promotöründe transkripsiyonun başlama noktasının hemen yanına bağlanarak bu promotörün faaliyetini önlemektedir. RPA, aynı zamanda insan hücrelerinde DNA helikaz ve bazı DNA polimeraz enzimlerinin aktifliğini artırmaktadır. Bu protein FOS, JUN ve p53 gibi çeşitli onkogen ürünleri ile de etkileşebilmektedir. Protein onkogen ürünlerinden özellikle p53 proteini ile birleştiğinde bunun DNA'ya bağlanmadığı ve dolayısıyla fonksiyonunu kaybettiği anlaşılmıştır (27).

DNA'ya bağlanıcı proteinleri kodlayan genlerin büyük çoğunluğu klonlanmış ve bunların özellikleri anlaşılmıştır. Böylece genetikçiler spesifik DNA sekanslarına bağlanan proteinleri kodlayan düzenleyici birçok geni belirlemiş, haritalamış ve izole etmişlerdir. Ayrıca bu genlerin kodladığı düzenleyici proteinler bakımından az gelişmiş canlılar ve yüksek organizasyonlu canlılar arasında bir benzerlik bulunduğu ortaya çıkarılmıştır (3, 12). Bununla beraber, prokaryotlara göre çok daha büyük bir genomu sahip ökaryotlardaki gen faaliyetinin düzenlenmesinde ilave ve yardımcı mekanizmalara ihtiyaç duyulması doğal karşılanmalıdır.

## Kaynaklar

1. Marians, K.J. (1992), Prokaryotic DNA Replication. Annu. Rev. Biochem. 61, 673–719.
2. Coverley, D., Laskey, R.A. (1994) Regulation of eukaryotic DNA replication. Annu. Rev. Biochem. 63, 745–76.
3. Moss, B. (1990) Regulation of Vaccinia virus Transcription. Annu. Rev. Biochem., 59, 661–88.
4. Stryer, L., Biochemistry (1988) W.H. Freeman Company/New York. Third Ed.
5. Van Holde, K.E. (1990) Biochemistry. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.
6. Pabo, C.O. (1992) Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition. Annu. Rev. Biochem. 61, 1053–95.
7. Fairall L., Rhodes, D., Klug, A. (1986) Mapping of the sites of Protection on a 5 S RNA Gene by the *Xenopus* Transcription Factor IIIA, A model for the Interaction. J. Mol. Biol. 192, 577–591 .
8. Johnson, F.F., McKnight, S.L. (1989) Eukaryotic Transcriptional Regulatory Proteins. Annu. Rev. Biochem. 58, 799–839.
9. Gehring, W.J., Affolter, M., Burglin, T. (1994), Homeodomain proteins. Annu. Rev. Biochem. 63, 487–526.
10. Radetsky, P. (1991) The Homeobox. From Egg to Adult, a report from the Howard Hughes Medical Institute, 55 pp.

11. Pabo, C.O. (1984) Protein–DNA Recognition. *Annu. Rev. Biochem.* 53, 293–321.
12. Von Hippel, P.H., Bear, D.G., Morgan, W.D., McSwiggen, J.A. (1984) Protein–Nucleic acid interactions in transcription: a molecular Analysis. *Annu. Rev. Biochem.* 53, 389–446.
13. Ptashne, M. (1986) *A Genetic Switch: Gene Control and Phage  $\lambda$* . Cambridge, England. Blackwell Scientific and Cell, 128 pp.
14. Harrison, S.C., Aggarwal, A.K. (1990) DNA recognition by proteins with the helix–turn–helix motif. *Annu. Rev. Biochem.* 59, 933–69.
15. Coleman, J.E. (1992) Zinc proteins: Enzymes, storage proteins, transcription factors and replication proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 61, 897–946.
16. Kim, P.S. (1990) Intermediates in the folding reactions of small protein. *Annu. Rev. Biochem.*, 59, 631–60.
17. Kowalczykowski, S.C., Eggleston, A.K. (1994) Homologous pairing and DNA strand–exchange proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 63, 951–1043.
18. Kurjan, J. (1992) Pheromone response in yeast. *Annu. Rev. Biochem.* 61, 1097–1129.
19. Hanas, J.S., Hazuda, D.J., Bogenhagen, D.F., Wu, F.Y.–H., Wu, C.W. (1983) *Xenopus* Transcription Factor A Requires Zinc for Binding to the 5S RNA Gene. *J. Biol. Chem.* 258(23), 14120–1425.
20. Chothia, C. (1990) The classification and origins of protein folding patterns. *Annu. Rev. Biochem.*, 59, 1007–39.
21. Weinberger, C., Hollenberg, S.M., Rosenfeld, M.G., Evans, R.M. (1985) Domain structure of human glucocorticoid receptor and its relationship to the *v-erb-A* oncogene product. *Nature*, 318, 670–72.
22. Lucas, P.C., Granner, D.K. (1992) Hormone response domains in gene transcription. *Annu. Rev. Biochem.* 61, 1131–73.
23. Marcu, K.B., Bossone, S.A., Patel, A.J. (1992) *Myc* function and regulation. *Annu. Rev. Biochem.* 61, 809–60.
24. Landschulz, W.H., Johnson, P.F., McKnight, S.L. (1988) The leucine zipper: A Hypothetical structure common to a New Class of DNA–Binding Proteins. *Science*, 240, 1759–1762.
25. Uptain, S.M., Kane, C.M., Chamberlin, M.J. (1997) Basic mechanisms of transcript elongation and its regulation. *Annu. Rev. Biochem.* 66, 117–72.
26. Conaway, R.C., Conaway, J.W. (1993) General initiation factors for RNA polymerase II. *Annu. Rev. Biochem.* 62, 161–90.
27. Wold, M.S. (1997) Replication protein A: a heterotrimeric, Single–stranded DNA binding protein required for eukaryotic DNA metabolism. *Annu. Rev. Biochem.* 66, 61–92.