

HÜCRE SIKLUSUNUN MOLEKÜLER DÜZENLENİMİ

Dr. Seyhun SOLAKOĞLU (*) • Doç. Dr. Y. Doğan ANIL (*)

ÖZET: Hücre bölünmesinin zamanlaması ve düzenleniminde kritik rol oynayan moleküler düzeneklerin belli aşamaları tartışıldığı bu derleme G₁ fazı sürecinde beliren hücre içi olayları ve G₂/M geçişinde önemli bir yer tutan "Maturation Promoting Factor" (MPF) aktivitesini anahatlarıyla ele almaktadır. Hücre proliferasyonunu koşullayan genetik düzenlenim ve onkogenetik çalışmalarda giderek daha fazla ilgi çeken proto-onkogenlerin proliferasyonla ilişkisine değinilmektedir.

SUMMARY: Molecular Regulation of the Cell Cycle. Prominent stages of the molecular mechanisms which play a crucial role in the regulation and timing of the cell division cycle, have been reviewed in this article. Recent developments on the research of intracellular events involving in G₁ phase and "Maturation Promoting Factor" activity, that has an important role in G₂/S boundary, have been defined on main lines. Finally the genetic regulation of cell division and the participation of proto-oncogenes with proliferation have been summarized.

GİRİŞ

Hücre bölünmesi ve bunu yürüten düzenekler, yani hücrenin çoğalma siklusu gerek biyokimyasal, gerekse neoplastik süreçler hakkında önemli ipuçları vermesi açısından son yıllarda yoğun ilgi toplayan bir konu olmuştur. Birkaç yıl öncesine dek hücre bölünmesi dendiğinde akla ilk gelenler DNA replikasyonu ve mitozu düzenleyen mekanizmalara ilişkin tanımlar olmasına karşın bugün, hücrenin bölünme kararını vermesine ve bunu gerçekleştiren kontrol düzeneklerine yönelik yeni bilgiler ağırlık kazanmaktadır.

Siklusun genel tanımı "bir hücrenin geçirdiği ve kardeş iki hücrenin ortaya çıkmasıyla sonuçlanan olaylar zinciri" biçiminde yapılabilir. Bu genel tanım kapsamında hücre bölünme siklusu sırasında dört aşamayı; büyümesini, DNA replikasyonunu (sentez fazı), sentrozom eşlenmesini ve kromozom ayrışmasını (mitoz fazı) gerçekleştirmek zorundadır. Son yıllarda yoğunluk kazanan araştırmalar doğrultusunda DNA replikasyonu gerçekleşmeden önce hücrenin siklus içinde ilerlemesini yönlendiren işlevsel moleküller ve mitozu giriş zamanını belirleyen olayların moleküler temeli aydınlatılmaya başlamıştır.

G1-S Geçişinin moleküler düzenlenimi

Hücrenin G₀ denilen sessiz dönemden çıkması büyük ölçüde hücre dışı etkenlerin etkisi altında gerçekleşmektedir (4,28). Hücre, ortamdaki pH, ısı, besin durumu gibi dışarıklı bileşenlerin stabil ve yeterli olması halinde G₁ fazı olarak tanımlanan mitoz-sentez fazları arasında yer alan bir dönemden geçer. G₁ fazı hücrenin bölünmeye hazırlıklı olup olmadığına ilişkin bilgilerin toplandığı bir aşamadır.

Hücrenin dışarıklı uyarılarla etkileşim süreci G₁ fazı içinde aşamalar halinde gerçekleşmektedir (28). Birinci aşamada uyarının hücre membranında bulunan reseptörlerle etkileşmesi söz konusudur. Güncel bilgilere göre hücre-membranı üzerinde temel olarak üç tür reseptör bulunmaktadır (1). Hücre bölünme siklusuyla ilgilendiren uyarılar daha çok, ligandları tarafından aktive edildiklerinde doğrudan enzim olarak iş gören katalitik reseptörler aracılığı ile iletilir. En fazla etkileşen uyarılar büyüme faktörleridir (3,18). Bunlar küçük proteinlerdir, ancak çoğunun reseptörü çok sayıda aminoasit içeren büyük peptid zincirlerinden oluşmaktadır. Bu reseptörlere ait aminoasitlerin büyük bölümü hücre dışında yer alırken bir bölümü de membran ve sitoplazmaya uzanır (1). Reseptör uyarı aldığı anda hücre sitoplazmasında

yer alan katalitik bölge dimerize olur. Bu olay reseptörün özelliğine göre ya tirozine özgü kinaz aracılığı ile doğrudan (12) ya da fosfolipaz C aktivasyonu ile dolaylı biçimde (35) otofosforilasyonu başlatır. Fosfolipaz C, inozitol fosfolipidlerini diasil gliserol ve inozitol trifosfat bileşenlerine ayırır. Diasil gliserol ve inozitol trifosfat bileşenlerine ayırır. Diasil gliserol plazma membranındaki protein kinaz-C'yi aktive ederek pek çok hücrel proteinleri fosforilemektedir, inozitol trifosfat ise kalsiyumun yoğunlaştığı bölmeden Ca²⁺ salımını artırarak sitozoldeki Ca²⁺ derişimini yükseltir.

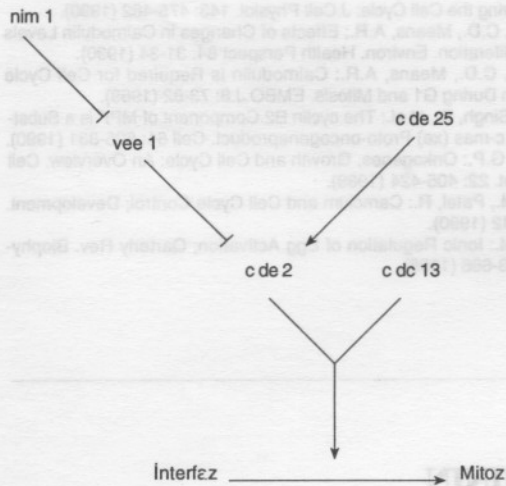
Proliferasyonu uyarıcı rol üstlenen Epidermal büyüme faktörünün (Epidermal Growth Factor-EGF) ekstrasellüler Ca²⁺'un hücre içine alınmasını kolaylaştırdığı göz önüne alındığında (18) Ca²⁺ iyonunun gen transkripsiyonu ve hücre proliferasyonundaki özel yeri daha iyi anlaşılmaktadır (14). Kalsiyum bağlayıcı bir protein olan kalmodulin gerek mitotik içcik oluşumunda, gerekse mitoz için gerekli fosforilasyonlarda düzenleyici rol üstlenir (31,32). Erlich Assit Tümör hücrelerinde belirlenen kalsiklin de Ca²⁺ bağlayıcı bir protein olarak karşımıza çıkar ve bu protein üzerindeki Ca²⁺ bağlanma bölgeleri aynı protein üzerinde bulunan Zn²⁺ bağlayıcı bölgeler tarafından aktive edilmektedir (10). Ancak çinkonun proliferasyonda doğrudan rol oynadığına ilişkin bulgular ortaya konamamıştır (28). Kalmodulin, Na⁺/H⁺ transportunda değişiklikler oluşturarak başka protein kinazları da aktive eder (32,36). Başka bir deyişle fosfoproteinler başta olmak üzere Na⁺, Ca²⁺, H⁺ iyonları, diasilgliserol, inozitol fosfatlar, siklik mononükleotidler, prostoglandinler ve poliaminler gibi ikincil ulaklar kinazları aktive etmektedir (11,12,16,28). Ancak kinaz aktivitesinin çok farklı düzeneklerle gerçekleşmesi henüz kesin sonuçlara varmamızı önlemektedir.

Kinaz aktivasyonu çekirdek içinde gen ekspresyonunu uyarmakta ve mRNA sentezini başlatmaktadır. -galaktosidaz modelinde olduğu gibi (12) kinazın, ökaryota özgü DNA promotor dizisine önceden bağlanmış olan düzenleyici proteinlerin konumunu değiştirerek komşu genlerin transkripsiyonunu aktive (ya da inaktive) ettiği düşünülmektedir (2,34).

Erken G₁ döneminde etkin hale geçen genler, heterojen çekirdek mRNA'ları üretilir üretilmez inaktive olur. Bu mRNA'ların kodladığı proteinlerin büyük bölümü düzenleyici olmaktan çok hücrenin varlığını sürdürmesine yönelik olarak sentezlenir (2).

G₁ fazının ileri döneminde başlatılan gen transkripsiyonları protein sentezine bağımlı olarak gerçekleşir ve hücre içine taşınan aminoasitlerin varlığına gereksinim gösterir (28). Sonradan aktive olan genlerin daha önce oluşmuş gen regülatörleri ile etkileşim göstermeleri olasıdır. Aktive olan

* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Çapa-İstanbul



Şekil 2
Genetik etkileşim

kez bakteriyel B-galaktozidaz modeli ortaya çıkarıldıktan sonra değerlendirilmeye başlanmıştır. Hücre proliferasyonunda rol oynayan ikinci üyüler da ökaryot hücrelerinin spesifik başlatıcı DNA dizilerine bağlanan özgün düzenleyici proteinlerin konumunu değiştirerek gen aktivasyonunu sağlamaktadır. Burada karşımıza düzenleyici proteinler olarak Fos ve Jun proto-onkojenleri çıkmaktadır (3). Proto-onkojenler virüslerdeki enkojenik genlerin ökaryot hücrelerdeki karşılığı biçiminde tanımlanır. Hücre proliferasyonunda, erken G₁ döneminde yeni protein sentezinden bağımsız olarak üretilen Fos, Jun, Myc, Krox 20 gibi proto-onkojenlerin çoğunun daha sonra gen aktivasyonunu sağlamak üzere DNA dizilerine özgün olarak bağlanan aktivasyon faktörleri olabilecekleri düşünülmektedir (30,33).

Yeni çalışmalarda belirlenen proto-onkojenlerin kodladığı bazı proteinlerin bu süreçte rol oynadığı belirtilmiştir (29,30,33). Siklinin bu onkojen ürünü proteinlerden birisi olan p 39^{mos} ile fosforillenmesi halinde proteazın yıkıcı etkisine karşı direnç kazandığına ve özellikle embriyogenez sırasında hücrenin mayozda tutuklu kalması gibi düzenleyici olayları gerçekleştirdiğine ilişkin deneysel sonuçlar bulunmaktadır (13). Pp 39^{mos}'un progesteron etkisine maruz kalan hücrelerde birikmeye başlaması ve calpain II gibi Ca²⁺'a bağımlı bir proteaz aracılığı ile fertilizasyondan sonraki 30 dakika içinde yıkılması siklus kontrolünün anahtar düzeneğinde pek çok sürecin içiçe bulunduğunu göstermektedir (13,15,16).

Hücre bölünme siklusunda düzenleyici rol üstlenen gen ürünlerinin birbirleriyle karşılıklı etkileşimleri de söz konusudur. Bu etkileşim S.pombede cdc25 geni ürünü olan proteinin cdc2 ve cdc13 ile birlikte mitozu indükleyici ya da Wee 1 gen ürününün cdc 2 geni üzerinde oluşturduğu gibi inhibe edici yönde gerçekleşebilir (26). Etkileşimde geçerli olan ilke gen ürünü olan proteinlerin miktarında çok birbirlerine oranlarının değişmesidir. Maya hücrelerinde mitoz girişin nıml, wee 1, cdc 2, cdc 25 ve cdc 13 genlerinin etkileşimi ile olası olduğu düşünülmektedir (Şekil 2) (2,12,20,27). Siklusa ilişkin görüşleri birleştiren ortak bir model oluşturulmuştur. Buna göre MPF'yi oluşturan p 34^{cdc2}'nin defosforilasyonunu cdc25 geninin ürünü olan protein kolaylaştırırken wee 1 geciktirmektedir (12,27). Siklin yıkımını ve dolayısıyla MPF inaktivasyonunu ise S.pombede suc 1 geninin ürünü olan p 13 proteinini kolaylaştırmaktadır (27). Ancak start ve mitoz

arasında belirlenen farklılık yeni soruları gündeme getirmektedir. Belki de p 34^{cdc2} için siklusun farklı noktalarında farklı substratlar kullanılmaktadır; ya da S.pombede hem start hem de mitoz için aynı proteinin kullanıldığı kanıtlanmış olmasına karşın başka türlerde start ve mitozda p 34^{cdc2} benzeri farklı moleküller yer almaktadır (6). Bugün araştırmacılar arasındaki yerleşik anlayış düzenleyici bileşenlerin dinamik bir işleyiş içinde olduklarıdır. İntrasek moleküllerin hızlı ve büyük değişimleri, dış faktörlerin hafif değişimlerinden etkilenmektedir. Düzenleyici faktörlerin üretimi hücre dışı uyarılara çok duyarlı olmak zorundadır. Bu ise ancak moleküllerin sürekli bir dönüşüm içine girmesiyle olasıdır. Dinamik düzenlenim, protein ve mRNA miktarlarının hem sentez hem de yıkımlarının hızı ile kontrol edilmesi ya da büyüme faktörlerinin sayısının sentez ve yıkım hızlarına bağlı olarak belirlenmesiyle örneklenebilir.

Hücre siklusundaki biyokimyasal süreçler ve işlevsel moleküllerin iyece tanınması başta kanser olmak üzere tüm insanlığı ilgilendiren pek çok sorunun çözümünde pratik ve teorik yeni yaklaşımların getirilmesine öncü olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D.: Molecular Biology of the cell. 2nd. Edition, Garland Publishing Inc. New York, London (1989).
2. Alfa, C.E., Ducommun, B., Beach, D., et al.: Distinct Nuclear and Spindle Pole Body Populations of Cyclin-cdc2 in Fission Yeast. Nature 347: 680-682 (1990).
3. Andrews, B.J., Hershowitz, I.: Regulation of cell Cycle-Dependent Gene Expression in Yeast. J.Biol.Chem. 265: 14057-14060 (1990).
4. Armelin, H.A.: Peptide Growth Factors and Cell Cycle Control. Biomedical Pharmacother. 44: 103-108 (1990).
5. Baserga, R.: Multiplication and division in Mammalian Cells, Si0th Edition, Marcel Decker Inc., New York, (1976).
6. Blow, J.: Mitosis Comes Apart. TIG, 5: 166-167 (1989).
7. J., Nurse, P.: A cdc 2-like Protein is Involved in the Initiation of DNA Replication in Xenopus Egg Extracts. Cell 62: 855-862 (1990).
8. D'urso, G., Marracciano, R.L., et al.: Cell Cycle Control of DNA Replication by a Homologue from Human Cells of the p 34^{cdc2} protein Kinase. Science 250: 786-791 (1990).
9. Edgecombe, M., Patel, R., Whitaker, M.: A cyclin Abundance Cycle-Independent p 34^{cdc2} Tyrosine Phosphorylation Cycle in Early Sea Urchin Embryos. EMBO J.10: 3769-3775 (1991).
10. Fillipek, A., Heizman, C.W., Kuznicki, J.: Calyculin is a Calcium and Zinc Binding Proteins. FEBS Lett. 264: 263-266 (1990).
11. Gautier, J., Matsukava, T., et al.: Dephosphorylation and Activation of xenopus p 34^{cdc2} Protein Kinase During the Cell Cycle. Nature 339: 626-629 (1989).
12. Gould, L.K., Nurse, P.: Tyrosine Phosphorylation of the Fission Yeast cdc2-Protein Kinase Regulates Entry into Mitosis. Nature 342: 39-45 (1989).
13. Hunt, T.: Under Arrest in the Cell Cycle. Nature 342: 483-4 (1989).
14. Iida, H., Sakaguchi, S., et al.: Cell Cycle Control by Ca²⁺ in Saccharomyces Cerevisiae. J.Biol.Chem. 265: 21216-21222 (1990).
15. Lee, G.: Cell Cycle: Progression from Interphase to Telophase; Science 245: 766-777 (1989).b
16. Levin, D.E., Fields, O.F., et al.: A Candidate Protein Kinase C Gene, PKC-1 is Required for the Cerevisiae Cell Cycle. Cell 62: 213-224 (1990).
17. Maller, J.L., Gautier, J., et al.: Naturation Promoting Factor and the Regulation of the Cell Cycle. J.Cell.Sci.Suppl. 12P: 53-63 (1989).
18. Morgan, C.J., Pledger, W.J.: Cell Cycle Dependent Growth Factor Regulation of Gene Expression; J.Cell Physiol. 141: 535-542 (1989).
19. Murray, A.W., Kirschner, M.V.: Dominoes and Clocks. The Union of two Views of the Cell Cycle. Science 246: 614-621 (1989).
20. Murray, A.W.: The Cell Cycle as a cdc2 Cycle. Nature 342: 14-15 (1989).
21. Murray, A.W., Kirschner, M.W.: Cyclin Synthesis Drives the Early Embryonic Cell Cycle. Nature 339: 275-80 (1989).
22. Murray, A.W.: Cyclin Synthesis and Degradation and the Embryonic Cell Cycle. J.Cell.Sci. Supp. 12 p: 65-76 (1989).
23. Murray, A.W., Solomon, M.J. et al.: The Role of Cyclin Synthesis and Degradation in the Control of Maturation Promoting Factor Activity. Nature 339: 280-285 (1989).
24. Murray, L.E., Singer, R.A.: The G1 Interval in the Mammalian Cell Cycle: dual Control by Mass Accumulation and Stage Specific Activities. Cell

- Prolif. 24: 215-228 (1991).
25. Norbury, C., Nurse, P.: Controls of Cell Proliferation in Yeast and Animals. Ciba Found. Symp. 150: 168-177 (1990).
 26. Norbury, C., Nurse, P.: Animal Cell Cycles and Their Control. Annu. Rev. Biochem. 61: 441-470 (1992).
 27. O'Farrell, P., Edgar, B.A.: Directing Cell Division During Development. Science 246: 635-640 (1989).
 28. Pardee, B.A.: G1 Events and regulation of Cell Proliferation: Science 246: 603-608 (1989).
 29. Pines, J., Hunter, T.: Isolation of a Human cyclin cDNA: Evidence for Cyclin mRNA and Protein Regulation in the Cell Cycle and for Interaction with p34^{cdc2}; Cell 58: 833-846 (1989).
 30. Rahm, M., Hultgardh-Nilsson, A.: Intracellular Distribution of the c-fos Antigen During the Cell Cycle: J.Cell Physiol. 143: 475-482 (1990).
 31. Rasmusen, C.D., Means, A.R.: Effects of Changes in Calmodulin Levels on Cell Proliferation. Environ. Health Perspect 84: 31-34 (1990).
 32. Rasmusen, C.D., Means, A.R.: Calmodulin is Required for Cell Cycle Progression During G1 and Mitosis. EMBO.J.8: 73-82 (1989).
 33. Roy, L.M., Singh, B., et al.: The cyclin B2 Component of MPF is a Substrate for the c-mas (xe) Proto-oncogene product. Cell 61: 825-831 (1990).
 34. Studzinski, G.P.: Onkogenes, Growth and Cell Cycle: An Overview. Cell Tissue Kinet. 22: 405-424 (1989).
 35. Whitaker, M., Patel, R.: Calcium and Cell Cycle Control; Development. 108: 525-542 (1990).
 36. Whitaker, M.: Ionic Regulation of Egg Activation; Quarterly Rev. Biophysics. 15: 593-666 (1988).