



## Ökaryot Hücrelerde Korunmuş Mikro RNA'lar ve Hedef Transkripsyonların Faliyetleri

Parizad Allahverdikhon VAZİRİ\* Kiarash Afshar Pour REZAEIEH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

\*Sorumlu yazar

e-posta: parizad.a.v@gmail.com

Geliş Tarihi : 11 Mart 2012

Kabul Tarihi : 16 Haziran 2012

### Özet

Son birkaç yıldır gen ifadesinin kontrolünde önemli rol oynayan düzenleyici RNA moleküllerinin keşfedilmesi, yeni bir araştırma alanının doğmasına neden olmuştur. İlk olarak bitkilerde keşfedilen ~21 nükleotid uzunluğunda kısa RNA moleküllerinin, sitoplazmada mRNA'nın translasyonunu baskılayarak ve mRNA moleküllerini yıkararak gen ifadesini düzenledikleri artık bilinmektedir. Genom yapısının ve işlevinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan, keşfedilmeyi bekleyen işlevsel bakımdan farklı birçok küçük RNA sınıfları olduğu görülmektedir. Gen ifadesinin susturulmasını sağlayan RNAi yolları, "small interfering RNA (siRNA)" ve mikro RNA (miRNA) adı verilen küçük, protein kodlamayan ve gen ifadesinin negatif düzenleyicisi olan RNA parçacıklarının aracılığıyla gerçekleşmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** miRNA, RNA, gen ifadesi, genom yapısı

## Scoping the Conserved micro-RNAs and Their Target Transcripts in Eukaryotes Cells

### Abstract

Discovery of regulatory RNA molecules during last years has played an important role in controlling gene expression and has led to development of a new research area. About 21 nucleotide long, short RNA molecules were first discovered in plants. By now, it is well known that small RNA molecules inhibit mRNA transformation in cytoplasm and break mRNA molecules to regulate gene expression. Many different functionally small RNAs that play an important role in regulating genome structure and function are waiting to be explored. The silencing of gene expression by RNAi pathways, are processed through the "small interfering RNA (siRNA)" and micro RNA (miRNA) which are small, negative regulators of gene expression and non protein-coding RNA fragments.

**Key Words:** miRNA, RNA, gene expression, genomic structure

## GİRİŞ

İyi tanımlanmış iki küçük RNA tipi bulunmaktadır; MikroRNA (miRNA)'lar ve short interfering RNA (siRNA)'lar. miRNA ve siRNA'lar biyokimyasal ve fonksiyonel olarak ayırt edilemediklerinden orijinlerine göre ayrılırlar (Çizelge 1). miRNA'nın etkileri ilk 1993'te Victor Ambros ve çalışma arkadaşları tarafından *C.elegans* solucanında keşfedildi. miRNA'ların varlığı çeşitli bitki ve hayvanlarda teyit edilmiştir [1]. miRNA yaklaşık 70-130 nükleotidlik ve mükemmel olmayan bir baz eşleşmesi sonucu oluşmuş saç tokası şeklindeki bir öncül yapının Dicer tarafından kesilmesi ile ortaya çıkmaktadır.

Bitkilerde miRNA'lar translasyonu durdurabilmekte, ayrıca mRNA yıkımını başlatabilmektedir. miRNA'lar endojen küçük RNA kılavuzlarıdır. Aynı genleri düzenler ve kusurlu bir tamamlayıcılığa sahiptir. 100 mRNA 1 miRNA tarafından düzenlenmiş olabilir. Bitkilerde, miRNA'nın hedefe mükemmel yakın komplementer uyum gösterdiği saptanmış, ancak vertebralılarda bu mükemmel komplementer uyum saptanamamıştır. miRNA'lar dsRNA'ların saç tokası şekilli prekürsörlerinden elde edilirken, siRNA'lar uzun dsRNA'lardan oluşur. İlk keşfedilen küçük RNA ise miRNA'dır.

**Çizelge 1.** miRNA ve siRNA'ların orijinlerine göre ayrılmaları

Sınıflama	Alt sınıflama	Uzunluk (bç:baz çifti)	Biyogenez	Etki mekanizmaları	Biyolojik fonksiyonları
Mikro RNA (mi RNA)		19-25	Hairpin öncüllerinin Dhrosa ve Dicer tarafından iki aşamalı olarak bölünmesi	Translasyonel baskılama mRNA bölünmesi	Gelişim ve hücre farklılaşmasında rol oynar
Short RNA (si RNA )	Endojen trans-acting RNA (tasi RNA)	21-22	Uzun endojen dsRNA'ların Dicer	mRNA bölünmesi	Bilinmiyor
	Repeat associated RNA(rasi RNA)	24-26	Tekrarlayan sekanslardan ayrılan uzun ds RNA'ların bölünmesi	Histon ve /veya DNA modifikasyonu	Transpozonların, tekrarlayan genlerin ve viruslerin susturulması
	Small scan RNA	28	Uzun ds RNA'ların Dicer yardımı ile bölünmesi	DNA eliminasyonuna neden olan histon metilasyonu	Konjugasyon sırasında genomun tekrar düzenlenmesi
Küçük Kodlama yapmayan RNA'lar		20	Dicer ile belirlenmemiş prekürsörlerden oluşum	Transkripsiyonel transaktivasyon	Bilinmiyor

### Oluşumu ve İşlenmesi

Micro-RNA (miRNA) çeşitli organizma ve hücrelerden bulunup klonlanan ve karakterize edilen ikinci tip küçük RNA olarak tanımlanırlar [2, 3 ,4]. miRNA'lar bitkilerden [5] memelilere [6] kadar genin kodlanmayan bölgesinden oluşan yaklaşık 22nt'lik hedef mRNA'yı kesmek ya da translasyonel baskılanmayı sağlayan önemli düzenleyici görevleri olan noncoding proteinlerdir. Bazı miRNA'lar konak olarak buldukları mRNA'ların intronlarında bulunurlar ve dolayısı ile o mRNA'nın promotörü tarafından sentez edilirler [2]. miRNA'ların kendilerine ait bir gen yapısı ve promotörü olduğu düşünülmektedir. Sentezlenen ilk miRNA, pri-miRNA olarak adlandırılmıştır ve çoğu pri-miRNA'da yaklaşık 700 baz uzunluğundadır. Bu pri-miRNA'ların RNA pol II tarafından sentezlendiğine inanılmaktadır [7].

pri-miRNA transkripte olduktan sonra çekirdek ve stoplazma içinde temel olarak iki enzim görev aldığı çeşitli işlemlerden geçer. Bu iki enzim birbirleri ile uyumlu bir şekilde çalışmakta olup, birinin ürünü diğerinin substratı olarak kullanılır. Bu enzimlerden ilki transkripsiyon sonrası oluşan yaklaşık 700 bazlık primRNA'yı endonükleaz aktivitesi ile kesen RNAaz III ailesi üyesi Drosha'olarak tanımlanır [8]. Drosha sahip olduğu endonükleaz aktivitesi ile, pri-miRNA'yı her iki ucundan kesebilmektedir. Bu kesim işlemi sonucunda oluşan RNA pre-miRNA olarak adlandırılır ve yaklaşık olarak 70-100 baz uzunluğuna sahiptir. Pre-miRNA, pri-RNA'da olduğu gibi loop yapısına sahip olup, bir çok yanlış eşleşme sonucunda oluşmuş baloncuklar içermektedir. Pre-miRNA daha sonra çekirdek por kompleksini geçerek sitoplazmaya aktarılır. Bitkiler hariç; pre-miRNA sitoplazmaya geçtiğinde miRNA olgunlaşmasında rolü olan, Dicer enzimi devreye girer. Bitkilerde pre-miRNA çekirdek içinde Dicer'e benzer bir enzim tarafından kesilip, oluşan ürün sitoplazmaya geçmektedir. Kesimlenen

yaklaşık 22 bç uzunluğundaki dsRNA' lar enzimin sahip olduğu ATP 'ye bağlı helikaz aktivitesi ile dsRNA' nın termodinamik olarak zayıf olan ucundan birbirinden ayrılmaya başlar. Meydana gelen ipliklerden hangisinin RISC ( RNA induced silencing complex ) kompleksi tarafından tanınıp susturma işlemini yapacağı yapılan mutasyon çalışmalarında helikaz aktivitesi sırasında ortaya çıkan ipliklerden serbest 5' ucu olanın , dicer enzimleri ile fiziksel etkileşim içinde olan RISC proteinleri tarafından tanındığını ortaya koymaktadır.

Dicer'in kesimleme ve helikaz aktivitesinden sonra geriye kalan işlemler bitki ve hayvanlarda aynıdır. RISC kompleksi ; kesimlenme ve dsRNA' nın ayrılmasından sonra RNA' ya bağlanır . Bu sayede miRNA komplementer dizi ile birleşerek hedef mRNA' nın bulunmasını sağlamaktadır. miRNA mekanizmasında her iki RNA arasındaki eşleşme tam değildir. Bu nedenle RISC kompleksi hedef mRNA'yı parçalamak yerine ribozom ile birleşmesini önleyerek mRNA' nın translasyonunu engellemektedir .Ya da tamdır ve kesim yapar. Yapılan çalışmalar hedef RNA'nın parçalanmasının veya translasyonunun durdurulmasının sadece siRNA (veya miRNA) ve mRNA arasındaki eşleşme düzeyine bağlı olduğunu, farklı bir RISC kompleksinin gerekmediğini göstermiştir.

### Gen Aktivasyonu

Çift iplikçikli RNA gen ifadesini ayrıca etkinleştirebilmektedir, buna "küçük RNA indüklenmiş gen aktivasyonu" (small RNA-induced gene activation veya RNAa) denir. Gen promotörlerinin dsRNA ile hedeflenmesi, ilişkili genlerde güçlü bir transkripsiyon aktivasyonu yaratabilmektedir. İnsan hücrelerinde bu hem sentetik dsRNA ile ("küçük etkinleyici RNA" veya İng small activating RNA veya saRNA), hem de endojen miRNA için gösterilmiştir. Bitkilerde miRNA oluşumunun yolu, Drosha'nın homologlarının olmamasından dolayı hayvanlardakinden biraz farklıdır;

onun yerine Dicer homologları tek başlarına birkaç işlem aşamasını yürütürler. Ayrıca intronik sapılmiklerden meydana gelen miRNA'ların oluşumunda da Drosha değil, Dicer görev alır DNA'nın anlamlı veya ters anlamlı iplikçığı de miRNA'nın oluşumunda kalıp işlevi görebilir.

#### **Hücrel işlevler**

miRNA'nın işlevinin gen düzenlemesi olduğu anlaşılmaktadır. Bu amaçla bir miRNA bir veya daha çok mRNA'yı tamamlayıcıdır. Ökaryotik miRNA genlerinin benzerleri bakterilerde de bulunmuştur, bunlar mRNA ile eşleşerek mRNA çokluğunu ve çevirisini kontrol etmektedirler, ancak bu süreçte Dicer enziminin bir benzeri yer almadığı için bu RNA'lar genel olarak miRNA olarak sayılmamaktadırlar.

#### **KAYNAKLAR**

- [1]Pehlivan, S. 2006. [www.acikarsiv.gazi.edu.tr/dosya/gulnur\\_pehlivan\\_tez.pdf](http://www.acikarsiv.gazi.edu.tr/dosya/gulnur_pehlivan_tez.pdf) Arşiv, 15: 320.
- [2] Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W. 2001. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*. 294: 853–858.
- [3] Lau N. C., Lim L. P., Weinstein E. G. 2001. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*. 294: 858–862.
- [4] Bartel B., Bartel D. P. MicroRNAs: at the root of plant development? 2003. *Plant Physiol*. 132: 709–717.
- [5] Bartel D. P. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis mechanism, and function. *Cell*. 116: 281–297.
- [6] Chen C. Z., Li L., Lodish H. F. 2004. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science*. 303: 83–86.
- [7] Lee Y., Kim M., Han J. 2004. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO J*. 23:4051-4060.
- [8] Denli A., Tops B., Plasterk R. 2004. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complexes. *Nature*. 432:231-240.