



Epigenetik Mekanizmalar ve Tarımsal Üretimde Epigenetik Yaklaşımlar

Ayşe Gül İNCE^{1*}, Mehmet KARACA²

¹Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Akdeniz Üniversitesi 07059, Antalya, Türkiye

²Tarla Bitkileri Bölümü, Ziraat Fakültesi, Akdeniz Üniversitesi 07059, Antalya, Türkiye

*Sorumlu yazar

E-posta: aince@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi: 02 Ekim 2019

Kabul Tarihi: 04 Aralık 2019

Özet

Geçmişten günümüze yapılan araştırmalar bitkilerde bilinen genetik çözümlenmelerin yetersiz kaldığı, genetiğin daha ötesindeki mekanizmalarla açıklanabilen birçok olgunun olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle son yirmi yılda bitkilerde gerçekleşen moleküler regülasyonların çoğunda epigenetiğin önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. Günümüzde teknolojinin ilerlemesi ve yeni metodolojilerin geliştirilmesiyle DNA dizisi üzerindeki kimyasal modifikasyonlar, histon ve histon olmayan proteinlerdeki modifikasyonlar ile kromatin yapısındaki değişiklikler veya her ikisinin bir arada gerçekleşmesiyle oluşan epigenomik kalıtsal değişikliklerin genetik kalıtım yanında önemi giderek artmaktadır. Bu derlemede epigenetik mekanizmalar ve epigenetiğin tarımsal üretimde uygulama alanları tanıtarak derlemenin gelecekte bitkilerde epigenetik üzerine yapılacak yeni çalışmalar için bir kaynak niteliğini taşıması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, RNA tabanlı kontrol mekanizmaları

Epigenetic Mechanisms and Epigenetic Approaches in Agricultural Production

Abstract

Research from the past to the present day revealed that there are many phenomena that are known to be insufficient in the genetic analysis of plants and that can be explained by mechanisms beyond genetics. Epigenetics has been suggested to play an important role in most of the molecular regulation in plants, especially in the last two decades. Nowadays, with the advancement of technology and the development of new methodologies, chemical modifications on the DNA sequence, modifications in histone and non-histone proteins, changes in chromatin structure, or the combination of both, the importance of epigenomic hereditary changes is becoming increasingly important as well as genetic inheritance. In this review, epigenetic mechanisms and application areas of epigenetics in agricultural production are introduced and it is aimed that the review will be a resource for future studies on epigenetics in plants.

Key words: DNA methylation, histone modification, RNA-based control mechanisms

GİRİŞ

Epigenetiğin epigenesis kavramı olarak antik Yunan dönemlerinde Aristoteles, Democritus ve Leucippus gibi filozoflarca yeni bir canlılık gelişimini açıklamak için ortaya atıldığı bilinmekle birlikte bilim alanı olarak ortaya çıkışı yaklaşık olarak son 20 yıl gibi kısa bir zaman dilimini kapsamaktadır [1]. Farklı bilim adamlarınca farklı anlamlarda kullanılmış olan epigenetik moleküler biyologlar için DNA dizi değişimi olmaksızın gen fonksiyonundaki kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanmaktadır.

Kelime anlamı olarak eski Yunancada “epi” ön eki “üstü”, “ötesi” anlamlarını taşıırken “genesis” kelimesi “doğuş”, “köken”, “oluşum” anlamlarını kapsamaktadır. Epigenesis kelimesinin ilk kullanıldığı dönemlerde “oluşum/ gelişim öncesi” tabiriyle aşama aşama gelişme dönemleri kastedilmiştir. Epigenetik terimi bir bilim alanı olarak ilk kez 1942’de Conrad Waddington tarafından kullanılmış olup fenotip ve genotip arasında bir ara faktör olduğu belirtmiş olsa da 1940’lardan 1990’lı yıllara kadar DNA dizi değişimi olmaksızın meydana gelen kalıtsal değişikliklerden bahsedilmemiştir [2].

1990 yılında Holiday tarafından organizmalarda farklılaşmış hücreler ve gen ekspresyon paternlerinin mitotik kalıtımıyla oluşan gen ekspresyon değişiklikleri epigenetik olarak tarif edilmiştir [1]. Ardından Wu ve Morris, [3] epigenetik mekanizmaların gen fonksiyon değişikliklerine öncülük ettiğini belirtmişler ve DNA dizi değişimi olmaksızın

sadece mitotik değil mayotik kalıtımla da meydana gelen gen ekspresyonunda ki değişiklikler olarak epigenetiği tarif etmişlerdir. İlerleyen yıllarda bilim dallarının çalışma konularına ilişkin görüşlerde ise moleküler biyologların bilinen bir gen, bilinen bir ürün; genetikçilerin bilinen bir gen, bilinmeyen bir ürün; biyokimyacıların bilinmeyen bir gen bilinen bir ürün; epigenetikçilerin ise bilinmeyen bir gen ve bilinmeyen bir ürün üzerinde yoğunlaştıkları fikri ortaya atılmıştır [4].

Günümüzde epigenetik terimi DNA dizisindeki değişikliklerden kaynaklanmayan kalıtsal gen ifadesindeki varyasyonları inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır [5]. Epigenetiğin ana hedef molekülleri DNA, RNA ve kromatin (nükleozomlar)’dır. Bu moleküllerdeki dizi dışındaki kalıtsal özellikler epigenetiğin ilgi alanındadır. Epigenetik ile birlikte epizom, epigenomik, epiallel, EpiRIL (epigenetic recombinant inbred lines) kavramlarının da kullanımı son yıllarda yaygınlaşmaya başlamıştır. Epiallel dizi farkı olmadan, DNA, RNA, kromatin (histon) ve nükleusun uzaysal konumundan kaynaklı düzenli ve kalıtsal fenotipik veya fizyolojik varyasyonu oluşturan allelleri ifade etmektedir. Epiallellerin varlığı epigenetiği modifikasyonlardan ayıran temel farktır [5].

Epigenetik başta kliniksel tıp olmak üzere aralarında eczacılık, adli tıp, bitkisel ve hayvansal üretim (tarım) ve temel bilimlerde çalışan bilim adamları arasında büyük yankı uyandırmıştır. Bunun temel nedeni moleküler biyolojinin ana kuralında belirtilen ve hücredeki bütün

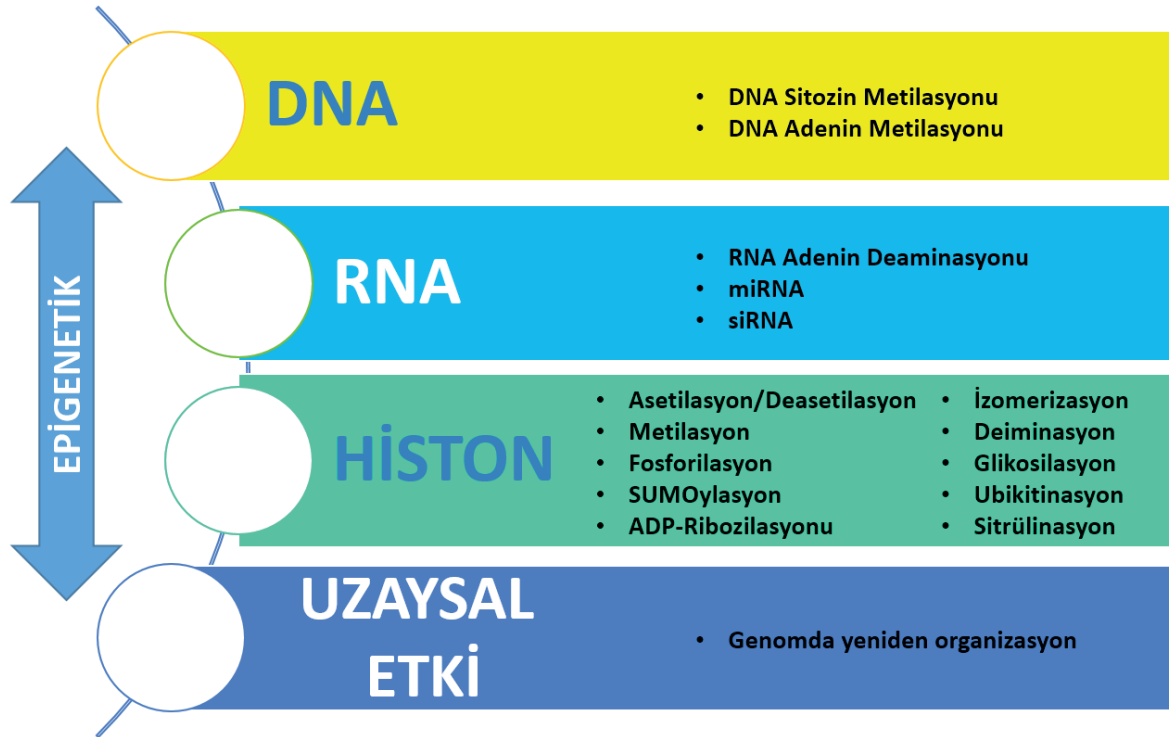
fizyolojik ve fenotipsel olayların salt DNA dizisinden şifrelenmediğinin epigenetik bilim dalı ile ortaya konmuş olmasıdır. Organizmanın farklı organlarında bulunan tamamen aynı DNA dizisine sahip hücrelerin nasıl birbirinden bağımsız fonksiyonlara sahip olabildikleri, örneğin insanda lenfositlerin nasıl hücre bölünmesi yoluyla fenotiplerini stabil bir şekilde koruyabildikleri, aynı nükleoplazma içinde bulunan ve neredeyse özdeş DNA dizilerine sahip XX kromozomundan hangisinin inaktive edileceğinin nasıl belirlendiği, aynı genetik materyale sahip tek yumurta ikizlerinin nasıl hastalıklara yatkınlıklarının farklı olabildiği, birbiriyle aynı genetik materyale sahip iki hücrenin nasıl birbirinden farklı gelişim gösterebildiği, bir bitkide bulunan yaprakların neden birbirlerinden farklı olabildiği gibi olayların bir kısmının modern moleküler biyolojik yaklaşım ve teknikler ile ortaya konulamaması üzerine epigenetik ve epiallel kavramları ortaya çıkmıştır. En basit yaklaşımla tek yumurta ikizi genomik analiz ile ayırt edilemezken basit parmak iziyle ayırt edilebilmektedir. Canlılar alemi içerisinde bitkiler doğada var oldukları çevreyi değiştiremedikleri, içinde buldukları değişken ve çoğunlukla da olumsuz iklim koşullarıyla başa çıkmak zorunda kaldıkları için sahip oldukları epigenom ve epigenetik mekanizmalar sayesinde bitkiler tarafından gen aktivitesinde önemli değişiklikler yapabildiği ve öngörülemez ortamlarda başarılı bir şekilde hayatta kaldıkları ve bu epigenetiksel özellikleri kalıtım yoluyla aktararak nesillerini devam ettirebildikleri düşünülmektedir. Günümüzde epigenetik varyasyonun ve regülasyonun DNA ve kromatin yapısında gerçekleşen enzim-destekli kimyasal modifikasyonların sonucu oluştuğu bilinmektedir [5]. Bu durum epigenetik mekanizma kontrollünün (örneğin inhibisyonunun) anlaşılması ile epigenetik regülasyonların tıpta tanı ve tedavide kullanımının, tarımda verim ve kalitenin artırılmasında kullanımının, temel bilimlerde

hücrel olaylarının şifrelerinin çözümünde kullanımının önemli rol üstlenebileceğini göstermektedir. Bu derlemede bitkilerde gen ifadesinde anahtar rol oynayan epigenetik mekanizmalar tanıtarak tarımsal üretimde epigenetiğin uygulama alanları ile ilgili bilgiler verilmesi hedeflenmiştir.

MOLEKÜLER EPİGENETİK MEKANİZMALAR

Epigenez olarak ifade edilen epigenetik mekanizmanın işleyişinde çevresel ve/veya içsel bir sinyalin oluşumu, bu sinyalin hücre veya doku tarafından algılanması ve yanıt verilmesi sonucu nükleusta veya organel genomlarında başta sitozin olmak üzere DNA dizisi üzerindeki kimyasal modifikasyonlar, histon ve histon olmayan proteinlerdeki modifikasyonlar ile kromatin yapısındaki değişiklikler veya her ikisinin (DNA dizi modifikasyonu ve histon modifikasyonları) birden oluşumu ile yeni bir fenotip veya hücrel fizyolojik olay meydana gelmektedir [5-11].

Bazı epigenetiksel varyasyonlar organizmalar arasında farklılıklar göstermektedir. Ökaryotlarda, prokaryotlara oranla daha etkili olan epigenetik mekanizmanın işleyişi aynı zamanda bitkiler ve hayvanlar aleminde de farklılık göstermektedir. Ökaryotlarda epigenetik mekanizmalar DNA düzeyinde genellikle adenin ve sitozin metilasyon modifikasyonları, RNA düzeyinde adenin deaminasyonu ve diğer RNA düzenleme olaylarından kaynaklanan kromatin yapısında histon ve histon olmayan proteinlerin asetilasyonu, deasetilasyonu, metilasyonu, fosforilasyonu, SUMOylasyonu, ubikitinasyonu, ADP-ribozilasyonu, prolin izomerizasyonu ve deiminizasyonu, glikosilasyonu veya sitrülasyonu gibi olayların ya tek başlarına ya da birlikte oluşarak DNA'nın nükleusdaki uzaysal konumunun değiştirilmesi ve kromatinin tekrar düzenlenmesi ile de ortaya çıkmaktadır (Şekil 1) ve bunlar ana başlıklar halinde tanımlanmaya çalışılmıştır [8, 12-14].



Şekil 1. Epigenetik mekanizmalar. Metilasyon: CH_3 grubunun enzimsel eklenmesi; Asetilasyon: bir hidrojen atomunun yerine bir asetilin (COCH_3) eklenmesi; Deasetilasyon: asetil grubunun aminoasitten uzaklaştırılması; Fosforilasyon: uygun bir kinaz enzimi ile bir fosfat grubunun bir proteindeki aminoasite eklenmesi; SUMOylasyon: SUMO proteinlerin (küçük ubikutin benzeri proteinler) diğer proteinlerdeki amino asitlere eklenmesidir; Ubikitinasyon: bir veya daha fazla ubikütünün bir proteindeki aminoasite eklenmesi işlemidir; ADP-ribozilasyonu: bir proteine ADP-riboz molekülünün eklenmesi işlemi; Prolin izomerizasyonu: bir izomerin konformasyonel dönüşümü; Glikosilasyon: riboz/deoksiriboz molekülü ile baz arasındaki kovalent bağın koparılması işlemi; Sitrülasyon: post transasyon modifikasyonu ile arginin amino asitinin sitrülün aminoasitine dönüştürülmesi.

1. DNA Tabanlı Kontrol Mekanizması: “DNA Metilasyonu”

Ökaryotik organizmalarda metilasyonun epigenetik varyasyonun ana kaynağı olduğu bilinmektedir. DNA metilasyon seviyesinin çok yüksek (hipermetilasyon) veya çok düşük (hipometilasyon) oluşu aralarında DNA replikasyonu ve onarımı, gen transpozisyonu ve transkripsiyonu, hücre farklılaşması ve gen suskunluğu, imprinting, biyo-savunma, transgen ifadesi, hücrede yabancı gen ifadesinin de yer aldığı birçok genetik fonksiyonu etkilemektedir. Araştırmalarda sitozin metilasyonu, çoğu organizmada embriyonik ve doğum öncesi gelişim, kanser, bakteriyel konuk savunması, transgen suskunluğu, hormon regülasyonu, biyotik ve abiyotik stres, genom katlanması ve türleşme, heterosiz, imprinting olayları üzerine etkili olmasından dolayı kullanılmaktadır [7-14].

Kimya biliminde metilasyon bir kimyasal bileşiğe bir metil (CH_3) grubunun bağlanması veya transfer edilmesidir. Biyokimya biliminde ise spesifik olarak bir hidrojen atomunun bir metil grubuyla yer değiştirmesi anlamında kullanılmaktadır. Metilasyon DNA molekülü üzerinde bilinen ender kovalent modifikasyonlardan olup özellikle Sitozinin 5 nolu karbonunda gerçekleşmektedir. Metilasyon primidin-dimerlerin oluşumuna neden olduğu gibi, transkripsiyonun baskılanması, transpozonların hareketlerinin kısıtlanması, genomik imprinting, X kromozom inaktivasyonu, doku ve organ spesifik gen ekspresyonunda da etkilidir [15-18].

Canlı genomlarında DNA metilasyonları farklı tipte ve sınıftaki DNA metiltransferazlar tarafından S-adenosilmetionin (SAM) molekülünü substrat olarak kullanmakta ve adenin veya sitozin nükleotitini 6-metiladenin (m^6A), 4-metilsitozin (m^4C) ve 5-metilsitozine (m^5C) dönüştürebilmektedir. DNA metilasyon paterninin oluşturulması ve sürdürülmesinde DNMT1, DNMT3a ve DNMT3b ile birlikte DNMT2 ve DNMT3L de görev aldığı bilinmektedir. Adenin nükleotit metilasyonunun ilk olarak bitkilerde TGATCA dizisindeki ilk adeninin altı nolu azotunda olduğu bildirilmektedir. Bu tip metilasyonun daha çok mRNA ve diğer RNA tiplerinde yaygın olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Ancak araştırmalarda DNA'daki adenin metilasyonunun epigenetik etkileri üzerine yapılmış olan çalışmaların sayısı sınırlıdır. Metil grubu eklemesi (transferi) m^6A ve m^4C 'de C-N'a gerçekleşirken m^5C 'de C-C'a gerçekleşmektedir [17-20]. Nüklear DNA (nDNA) metilasyonu bitki genomlarının spesifik bir özelliği olup bazı durumlarda türe, dokuya, organa, organel ve gelişme dönemine özgü olabilmektedir. Bitkilerde nükleotit metilasyonu olarak sitozinin 5-metilsitozine (m^5C) ve adeninin N6-metiladenine (m^6A) dönüşümünün yaygın olduğu bilinmektedir. Metilasyon işlemi çok sayıda ve farklı metiltransferaz enzimleri tarafından gerçekleştirilmekte olup bu enzimler bazı durumlarda epigenetik enzimleri olarak adlandırılmaktadır.

Bitki genomlarında özellikle sitozin bazında bulunan metilasyonun oldukça yüksek sıklıkta olması nedeni ile 5-metilsitozin (m^5C) A, T, G, C'nin dışında beşinci baz olarak adlandırılmaktadır. Metilasyon CG zengin dizilerde daha etkin olmaktadır. Bu CG zengin bölgeler CG adacıkları olarak isimlendirilir. CG zenginliği genellikle hücre işlevinde görev alan (housekeeping) genlerinin transkripsiyon başlama kısımlarında veya bu bölgelerin promotörlerinde (%60) görülmekle birlikte farklılaşmış dokularda daha az, tümör hücrelerinde ise farklı metilasyon paternleri görülmektedir. Günümüzde CG adacıklarıyla birlikte artık CHH ve CHG adacıkları kavramı da daha sık kullanılmaya başlamıştır [15-18].

Günümüze değin yapılan araştırmalarda sitozin metilasyonunun, çoğu organizmada embriyonik ve doğum öncesi gelişim, kanser, bakteriyel konuk savunması, transgen suskunluğu, hormon regülasyonu, biyotik ve abiyotik stres, genom katlanması ve türleşme, heterosiz, imprinting olayları

üzerine etkili olduğu belirlenmiştir [7-14].

Sitozin metilasyonu kadar önemli olan diğer bir işlem demetilasyondur. Demetilasyon işlemi sitozindeki metil grubu On-onbir translokasyon ailesi (TET) enzimleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Demetillenme olayı aktif veya pasif veya her ikisi birden olarak gerçekleşebilmektedir. Pasif DNA demetilasyonu genellikle yeni sentezlenmiş olan DNA sarmalında DNMT1 enzimi tarafından replikasyon sırasında, aktif DNA demetilasyonu ise TET enziminin oksidasyonundan sonra 5-mC'nin uzaklaştırılması şeklinde gerçekleştirilmektedir. On-onbir translokasyon ailesi TET1, TET2 ve TET3 olup bu proteinler genellikle CHG bölgelerinde etkin olup 5-mC önce 5-HmC, sonra 5-formil sitozine (5-fC) ve 5-karboksitiozine (5-caC) hidrolisilaz aktiviteyi ile dönüştürülmektedir. 5-fC doğrudan sitozine Timin DNA glikolaz (TDG) ile baz kesim onarım (BER) işlemi ile dönüştürülebilmektedir [2, 12].

5-hidroksimetilsitozin (5-hmC) ise 5-mC'in hidroksilli formudur. 5-mC'in oksidasyonu ile oluşturulmaktadır. TET ailesi enzimleri ve DNMT proteinleri bu reaksiyonda görev almaktadır. Hidroksimetilsitozinin (5-hmC) bitkilerde epigenetik fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte çoğunlukla promotör kısmında yer aldığı ve transkripsiyonun aktivasyonu, DNA demetilasyonu, kromatinin yeniden düzenlenmesi ve bazı spesifik genlerin regülasyonunda önemli olduğu bilinmektedir [21].

2. RNA Tabanlı Kontrol Mekanizmaları

RNA uzun yıllardır DNA ve proteinlerin gölgesinde kalmıştır. Bu durum son yıllarda özellikle küçük RNA'ların (“small RNA”, siRNA) önemini keşfinden sonra değişmiştir. RNA interferens (RNAi) organizmaların gen aktivitelerini, (hangi genin ve nasıl aktivasyonunu veya inaktivasyonunu) kontrol eden bir sistemdir. Bu sistemde miRNA ve siRNA olmak üzere iki farklı kontrol sistemi bulunmaktadır. miRNA ve siRNA diğer RNA'lara ve/veya mRNA'ya bağlanarak gen aktivasyonu veya susturmayı (silensini) kontrol etmektedir [22-26]. miRNA'lar üretildikten sonra DNA bağımlı RNA polimeraz II, DICER-LIKE1 (DCL1) ve ARGONAUTE1 (AGO1)'nin kombinasyonel etkisiyle işlev görmektedir. siRNA'lar ise çoğunlukla DNA bağımlı RNA polimeraz IV ve V, RNA bağımlı RNA polimeraz 2 (RDR2), DICER-LIKE3 (DCL3), ve ARGONAUTE4 (AGO4)'ün kombinasyonel etkileriyle işlevsel olmaktadır [27]. Bu işlemler nükleusta ve sitoplazmada gerçekleşebilmektedir. En kısa tanımlama ile kısa bir RNA molekülünün kendisine tamamlayıcı sekansı bulunan bir mRNA'ya bağlanarak bu mRNA'nın ekspresyonunu baskılamasıdır. Baskılama olayı nükleusta mRNA'nın yıkımı şeklinde olabileceği gibi sitoplazmada mRNA'nın translyonunu önleme şeklinde de gerçekleşebilmektedir [27].

DNA ve RNA'da nükleobazların deaminasyonu, kendiliğinden hidroliz, endojen veya çevresel faktörlerin yanı sıra deaminaz enzimlerinin bir sonucudur. Adenosin, yanlış kodlama yapan ve tercihen sitozin ile çiftlenen baz olan inosine deamine edilir. DNA durumunda, bu özellikle inosinin tanınması ve uzaklaştırılmasıyla ilgili DNA onarım enzimleriyle karşılanan premutagenik bir olaydır. Bununla birlikte, RNA'da, inosin, transkriptom çeşitliliğini üretmek için özel enzimler tarafından yüksek oranda düzenlenmiş bir şekilde sunulan temel bir modifikasyondur ve içlerinde kanser, viral enfeksiyonlar ve nörolojik ve psikiyatrik bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıklarında etkin olduğu saptanmıştır. Deaminaz reaksiyonunu katalize eden enzimlerden özellikle Endonükleaz V enzimleri, DNA tamir enzimleri olarak sınıflandırılrsa da, bu enzimlerin RNA'da inosinin işlenmesinde rol oynadığı anlaşılmaktadır. Bu, DNA ve RNA işleme arasında ilginç ancak keşfedilmemiş bir bağlantı sağlamaktadır. Fizyolojik ve moleküler düzeyde inosinin DNA ve RNA'daki etkisinin anlaşılması için daha

fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır [28].

Aynı genomda (endogenik) veya başka bir genomdan (eksojenik) sentezlenen küçük boyutlardaki RNA moleküllerinin hedef mRNA'nın transkripsiyon sırasında, hemen transkripsiyon sonrası veya translasyon sırasında çok özel bir şekilde yıkılması veya bozulması (degradation) işlemler süreci RNAi olarak isimlendirilmektedir [23]. RNAi kromatin yapısının değiştirilmesi ile ökromatin heterokromatin dönüşümlerinde, metilasyon, asetilasyon olayları ile de ilgili süreçlerde görev alması nedeni ile epigenetik etkiye de sahiptir. Ayrıca transpozon (hareketli DNA bölgeleri) hareketini kısıtladığı ve böylece genomda önemli işlevi olduğu düşünülmektedir. İnterferens RNA biyosentezi tam olarak anlaşılmalı olmamasına karşın patojenik hastalıklarla savaşmada, parazitik veya istenmeyen genlerin susturulmasında, kalite ve verim özelliklerinin artırılmasında ileride etkin bir şekilde kullanılabilir niteliktedir. Heterokromatik siRNA'lar transpozonlar ve tekrarlı DNA dizilerinden üretilme eğiliminde olup transpozonların RNA yönlendirmeli DNA metilasyonu (RdDM) ile susturulması ve genom stabilitesinin korunmasında önemli rol üstlenmektedirler [27].

3. Histon ve Histon Olmayan Protein Tabanlı Mekanizmalar

Histonlar, kromatinlerin başlıca protein bileşenleri olup ökaryotlarda, her bir nükleozom yapısı, Histon 2A (H2A), Histon 2B (H2B), Histon 3 ve Histon 4 (H4)'den oluşan ve herbirinden iki kopya içeren ana histon oktomeri ile bunu çevreyen 147 bp uzunluğundaki DNA'dan meydana gelmektedir. Elektron mikroskobu ile görüntülediği zaman nükleozom yapıları «beads on a string» adı verilen tespit taneleri şeklinde yan yana yer almakta ve bu yapıda «boncuk» nükleozomları «iplik» ise DNA'yı betimlemektedir. Her nükleozom yapısı ise paketlenmede histon adı verilen bağlayıcı proteinlerle birbirlerine bağlanmaktadır. Histon proteinleri, basitçe «DNA paketlenme» proteinleri olmayıp, bu proteinler aynı zamanda kromatin dinamiğinin düzenleyicileri olarak tanımlanmaktadır. Histonların N-terminal kuyruklarında görülen modifikasyonların kromatin fonksiyonunu değiştirdiği aralarında gen düzenlenmesi, DNA tamiri ve kromozom kondensasyonu gibi çeşitli mekanizmalarında bulunduğu çoğu biyolojik aktivitede önemli rol üstlendiği bilinmektedir. Histonlar DNA ve nükleolar proteinlerle etkileşimlerini değiştirmek için posttranskripsiyonel modifikasyonlara uğramaktadır. Histon kuyruklarında görülen modifikasyonlar i) Asetilasyon (Transkripsiyon aktivasyonu, telomerlerin baskılanması ve DNA tamirinde), ii) Metilasyon (Transkripsiyon baskılanması ve gen regülasyonunda), iii) Fosforilasyon (DNA tamiri ve mitozda), iv) Ubikitilasyon (Transkripsiyon aktivasyonunda), v) SUMOylasyon (Transkripsiyon baskılanması ve gen regülasyonu), vi) ADP-Ribozilasyon (DNA onarımı ve hücre sel sinyalleşme), vii) İzomerizasyon (Transkripsiyon), viii) Deiminasyon (Sitrülinasyon) ve ix) Glikosilasyon önemli olup hepsi geriye dönüşümlüdür ve spesifik bir enzimle gerçekleşmektedir [2, 29]. Bu modifikasyonlar primer olarak, histon proteinlerinin N-terminal kuyruklarında meydana gelmekte ve kromozom fonksiyonunu en az iki şekilde etkilediği bilinmektedir. İlk mekanizmada histon proteinlerinin yükü değişmektedir. Bunun sonucunda histon yapısı veya DNA'ya bağlanma afiniteleri değişmekteyken ikinci mekanizmada ise bu modifikasyonlar protein tanıma bölgeleri için bağlanma bölgesi oluşturarak örneğin, bromodomainler veya kromodomainler sırasıyla asetillenmiş lisin veya metillenmiş lisini tanıyarak bağlanmaktadır. N-terminal kuyruklarda lisinler asetil ya da metil grupları tarafından modifiye edilmektedir. Lisinlere asetil grubu Histon asetil transferaz (HAT) ile eklenirken asetil gruplarını uzaklaştırmak için

bir dizi histon deasetilaz (HDAC) enzimi kullanılmaktadır. Asetilasyon histonların ayrılmasına deasetilasyon ise histonların tekrar oluşmasında görev yapmaktadır. Ökromatin histonları heterokromatin histonlarına oranla daha fazla asetilasyona tabi tutulmuşlardır. Asetilasyonun tersine, N-terminal kuyrukların farklı kısımlarının metilasyonu belli amino asitlere bağlı olarak hem baskılanmış hem de aktive kromatin ile ilişkilidir. Serin amino asitleri fosfat molekülleri ile modifiye olmaktadır. Histon H3'ün N-terminal kuyruğunun fosforilasyonu özellikle mitotik kromozomların sıkıca paketlenmiş kromatinlerinde görülmekte olup bu modifikasyonlar gen ekspresyonlarında rol alan proteinler tarafından okunabilecek bir «kod» ile sonuçlanmaktadır. Negatif yüklü fosfat gruplarının histon kuyruğuna eklenmesi, histonun DNA'ya afinitesini azaltmaktadır. Örneğin, H3'ün serin10'un fosforilasyonu gen aktivasyonu ile ilişkilidir [2, 30-31].

Asetilasyon ve deasetilasyon temel histon proteinleri üzerinde etkilidir. Çok üniteli protein kompleksinden oluşan Histon Asetil Transferaz (HAT) histonlardaki lisin amino asitine asetil grubu ekleyerek (negatif yük) histonların pozitif yükünü azaltmakta ve dolayısıyla DNA-Histon bağlılığını (afinitesini) azaltmaktadır. Asetillenmiş kromatin 30 nm fiber yapıdan 10 nm fiber yapısına inmekte (çözülme) ve promotörün transkripsiyon faktör proteinlerine açılmasına sağlamaktadır. Deasetilasyonda ise durum tersi yönünde işlemektedir. Histon deasetilaz asetil grubunu uzaklaştırmakta ve 10 nm fiber yapı 30 nm fiber yapıya dönüşmektedir. Deasetilasyon bu durumda transkripsiyonu baskılamaktadır [2, 31].

Histon metilasyonunda histon proteinlerinin N-terminal kuyruklarının farklı kısımları örneğin lisin ve arginin grupları metillenmektedir. Arginin metilasyonu gen aktivasyonunda rol almaktadır. Histon kuyruklarında lisin gruplarının metilasyonu kompakt kromatin yapısı açısından önemlidir. Bu nedenle heterokromatin ve ökromatin bölgelerin sürdürülmesine olanak sağlamaktadır. Öte yandan, histon lisin metilasyonu ökromatin içerisinde gen transkripsiyonunun aktivasyonu ve baskılanmasında düzenleyici rol oynamaktadır [2, 31]. Bir molekülün farklı bir formuna dönüşümü olan izomerizasyonun özellikle H3 histonunun prolin izomerizasyonu sonucu lisin metilasyonunun düzenlendiği ve gen ifadesinin etkilediği örneği en iyi örneklerden biridir [32].

Histon fosforilasyonunda H1 fosforilasyonunda H1'i diğer histonlardan ayırmakta ve transkripsiyona yol açmaktadır. Histon ubiquitinasyonunda ise genellikle 76 amino asit uzunluğunda 8.6 kDa büyüklüğünde olan Ubikitin proteinleri (Ub) kondensat kromatinde (heterokromatin) az iken, az kondensat kromatinde (örneğin ökromatin) fazla oranda bulunur [33]. ADP-ribosilasyonu, bir proteine bir veya daha fazla ADP-riboz parçası eklenmesidir. Hücre sinyalleşmesi, DNA onarımı, gen regülasyonu ve apoptoz da dahil olmak üzere birçok hücre sel proste yer alan, ters çevrilebilir bir post-translasyonel modifikasyondur.

Deiminasyon veya Sitrülinasyon bir imin grubunun çıkarılması veya dönüştürülmesi olup özellikle bir protein içindeki argininin amino asitinin sitrüline dönüşmesi gibi translasyon sonrası bir modifikasyondur. Riboza herhangi bir histon proteinin N-, O- and C- Glikosilasyon, glipiasyon ve fosfoglikosilasyon tipleriyle bağ oluşturması olan Glikosilasyon ise hücre dışı matris hücre bağlanması ve hücre içindeki protein-ligand etkileşimleri de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik işlemler için kritiktir.

Histonlar korunmuş ökaryotik proteinlerdir. Bu nedenle nükleozomları oluşturan proteinler tüm ökaryotlarda büyük ölçüde benzerdir. Ancak ökaryotik hücrelerde çeşitli histon varyantları bulunabilir. Bu yapılar standart histonlarla yer değiştirerek alternatif nükleozomlar oluşturabilmektedir. Bu nükleozomlar kromozomlarda belli bölgeler oluşturur

ya da nükleozomlara spesifik fonksiyonlar sağlamaktadır. Birçok histon hücre döngüsünün S fazında sentezlenir ve replikasyon çatalının hemen arkasındaki sentezlenen DNA helikslerinde nükleozomlara girer. Buna karşın, birçok histon varyantı interfaz boyunca sentezlenmektedir. Örneğin, H2Az, H2A'nın tüm ökaryotik hücrelere dağılmış bir varyantıdır ve DNA'nın transkribe bölgeleri ile ilişkilidir. H2Az histon varyantı nükleozomun baskılayıcı kromatin yapısı oluşumunu engelleyerek transkripsiyona daha uygun, kolaylıkla ulaşılabilen bir kromatin yapısı şekillendirmektedir [2, 31].

4. Uzaysal Etki

Günümüzde bir genin kromozom üzerindeki konumunun, kromozomun nükleus içerisindeki konumunun, nükleusun hücre içerisindeki konumunun, hücrenin doku içerisindeki konumunun, dokunun organ içerisindeki konumunun, organın organizma içerisindeki konumunun oluşturduğu etkiyle gen ifadesinin etkilendiği bilinmektedir. Ökaryotik genomların çekirdekte kromozom katlanması, interkromozomal temaslar ve çekirdeksel yapılarla etkileşimi yoluyla mekansal olarak düzenlenmekte olduğu ve genomun çekirdeğin içindeki düzeninin evrimsel süreçlerle şekillendiği ve korunduğu ve muhtemelen uyarlanabilir bir işlev gördüğü fikrine yol açmaktadır. Hem DNA bağımlı proteinler hem de kromatin yapısındaki değişiklikler, çekirdek içindeki genlerin ve daha büyük alanların konumlandırılmasını etkilemektedir. Tek tek genlerin stabil çekirdeksel işaretlere göre konumsal olarak konumlandırılması, sekansa özgü DNA bağımlı proteinleri alan cis etkili DNA elemanları ile kontrol edilebilmektedir. Bu, genomun uzaysal/mekansal organizasyonunun DNA bağlama proteinleri için bağlanma bölgeleri tarafından genetik olarak kodlanabileceğini ve ayrıca potansiyel olarak genetik olmayan mekanizmalar yoluyla kromatin yapısındaki değişiklikleri içerebileceğini göstermektedir. Çekirdek içindeki kromozomların konumu, hücre tipi ile de ilişkili olup daha yüksek oranda kopyalanan gen bakımından zengin kromozomlar, çekirdeğin merkezine doğru konumlandırılmaya meyilliyken gen bakımından fakir kromozomlar, nükleer çevreye doğru konumlanma eğilimindedir [34].

Kromatin modifikasyonları sıklıkla mekansal pozisyon ile ilişkilidir ve bazı durumlarda genomun normal mekansal düzenlenmesi için gereklidir. Transkripsiyon faktörleri ve kromatin değişimleri birbirlerini etkilemekte ve dolaylı etkilere sahip oldukları için, çoğu durumda, bu mekanizmalardan birinin, uzaysal konumlandırma için tek başına yeterli olup olmadığı henüz belirlenmemiştir. Ayrıca, transkripsiyon faktörlerinin işlevi, asetilasyon ve SUMOylasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlarla düzenlenebilmektedir [35]. Hem DNA bağımlı proteinlerin hem de kromatin modifikasyonlarının, genomun uzaysal/mekansal organizasyonunu kontrol etmede (yani, hiçbiri yeterli değildir) önemli rol oynadığı durumlarda, aynı lineer yolda veya bir kombinasyon mekanizması ile işlev görebilmekte olduğu düşünülmektedir. Transkripsiyon faktörleri gibi sekansa özgü DNA bağımlı proteinler için bağlanma bölgeleri, kromozom katlanması ve uzaysal konumlandırmayı etkileyen genetik bilgi olarak işlev gördüğü ve histon metilasyonu ve değişken histonlar gibi genetik olmayan kromatin değişiklikleri, çekirdek içindeki bireysel genlerin ve kromozomal alanların konumlandırılmasının kontrolünde de önemli rol oynadığı bilinmektedir [36]. Ancak "genomun uzaysal yani mekansal organizasyonu aktif mekanizmalar tarafından kontrol ediliyorsa, o zaman bilginin kaynağı nedir ve uzaysal/mekansal organizasyon, DNA dizisi, kromatin değişimi (potansiyel olarak DNA dizisinden bağımsız olarak) veya her ikisinin bir kombinasyonu tarafından mı kodlanıyor?" gibi sorular hala araştırmacılar için merak uyandıran soruların başında gelmektedir.

İlerleyen çalışmalarda, genomun mekansal organizasyonunu kontrol eden moleküler ve evrimsel mekanizmaların daha eksiksiz bir şekilde anlaşılması için çalışacaktır. İlerleme kaydetmek için öncelikle, nükleer biyolojinin ortaya çıkan özelliklerinin bir ürünü olan uzaysal/mekansal organizasyonu, aktif mekanizmaların ürünü olan mekansal organizasyondan ayırt etmek ve bütünü anlamak için uzaysal organizasyonu belirlerken DNA bağımlı proteinler ve kromatin değişimleri arasındaki ilişkiyi dikkatlice tanımlamak gerekmektedir. Genlerin ve alanların subnükleer pozisyonlandırılmasının, DNA bağımlı proteinler, kromatin yapısı ve bazı durumlarda her ikisi tarafından kontrol edildiği düşünüldüğünden hem DNA dizisine bağımlı hem de DNA dizisinden bağımsız mekanizmaların, genomun uzaysal/mekansal organizasyonunu nasıl etkilediği ve bu tür mekanizmaların evrimsel olarak nasıl bir süreç izlediğini öğrenmek gelecekteki çalışmalar için heyecan verici ve önemli bir konuyu teşkil etmektedir [36].

TARIMSAL ÜRETİMDE EPİGENETİK YAKLAŞIMLAR

1. Genetik ve Epigenetik Varyasyon

Biyolojide organizmaların görünen özelliklerinin genomlarında bulunan nükleotit dizisi ile kontrol edildiği birleştirici bir temadır. Modern biyolojinin başka bir köşe taşı da özellikle fenotipik sonuçlar doğuran çevre etkisi olmaksızın rastgele olarak kalıtsal bilginin kromozomlar üzerinde yer değiştirmesidir. Günümüzde mevcut biyolojik düşünceyle bu elementler epigenetik alanında yapılan çalışmalarla test edilmektedir. Kromatin ve DNA metilasyonu temelli mekanizmalar ile RNAi'nin ilişkisi genetik kontrol ve çevre arasındaki yarı bağımsız bir epigenetik kalıtım sistemine aracılık etmektedir [37-38]. Bitkilerde epigenetik durum nesiller boyunca epiallellerin aktarılmasıyla kalıtımlanabilir. Bu epigenetik alleller polimorfizmin yeni kaynağı olarak kabul edilebilir ve yeni fenotipler üretilebilir [39]. Populasyonlardaki kalıtsal fenotipik varyasyon seleksiyon ve ıslah için temeldir. Özellikle bitki ıslahında metillenmiş epiallellerin önemi i) seçilmiş populasyonlar içindeki bireyler arasındaki metilasyon pateninde varyasyonun tespiti, ii) fenotipi etkileyen metilasyon pateninin derecesi, iii) üstün fenotipler ile bağlantılı metilasyon varyantlarının kalıtsal stabilitesinin değerlendirilmesi ile belirlenebilir [40-41].

2. Bitki Stres Toleransının Geliştirilmesi

Bitkilerde büyüme boyunca çevresel biyotik ve abiyotik stres koşullarının epigenetik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Bitkilerin stresi nasıl algıladığı ve bunun nasıl epigenetik değişikliklere neden olduğu tam olarak bilinmemektedir. Kuraklık, tuzluluk, yüksek ışık, ağır metaller gibi stres koşulları altında makro moleküllere zarar verebilen oksijen radikallerinin birikimi bilinen bir mekanizmadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda stres koşullarında DNA metil transferaz, DNA glikosilaz gibi enzimleri etkileyerek DNA metilasyonunun azalmasına veya artmasına neden olan stres koşullarına bağlı olarak farklı sonuçlar alındığı gösterilmiştir. Aynı zamanda histon metil transferaz, histon asetilaz, histon deasetilaz gibi enzimlerin etkilenecek histon metilasyonu, asetilasyonu gibi modifikasyonların azaldığı veya erken ya da geç çiçeklenme, dölllenme eksikliği gibi değişimlere stres koşullarının neden olduğu bilinmektedir [42]. Arabidopsis'te yapılan çalışmada defans genlerinin strese tepkisinde mikro RNA (miRNA)'ların düzenleyici rolü CSD1 ve CSD2 süperoksidadaz dismutaz represörü olarak miR389'un tanımlanmasıyla ortaya konmuştur. Oksidatif stres koşullarında miR389'un ekspresyonu azalmaktadır.

Oksidatif stres koşullarında bu düşük regülasyon CSD1 ve CSD2 ifadesinin posttranskripsiyonel indüklenmesi için önemli olduğunu göstermiştir. Bu durum miRNA aracılığıyla oksidatif stres koşullarında dayanıklılığın geliştirilebileceğini göstermiştir [43]. Ayrıca bitki genomu adına hasarlı bölgelerde yapılan onarım çalışmaları genetik ve epigenetik değişikliklere neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalar epigenetik düzenlemenin kök epidermisinde hücre akıbetinin belirlenmesinde önemli olduğunu göstermiştir [44]. Histon deasetilaz (HDACs) inhibitörü olan Trichostatin A (TSA) ile muamele edildikten sonra Arabidopsis fidelerinin çimlenmesi ile ilgili alınan sonuçlar saç hücre oluşumunu teşvik etmiştir. TSA uygulaması ile CAPRICE, GLABRA2 ve WER de H3 ve H4 kor histonlarının hiperasetilasyonunu arttırdığı saptanmıştır. Bu durum çevresel bir etkinin epigenetiksel olarak değişime neden olduğunun kanıtıdır [45]. Bu mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi strese karşı dayanıklılık için daha etkin bir yol bulma hedefinde ıslahçılara yardımcı olabilecektir [46].

3. Genomik İmprinting

Bazı imprinted genler genetiksel değil epigenetiksel olarak kontrol edilir. Epigenetik DNA dizisindeki değişikliklerden kaynaklanmayan, ama aynı zamanda genetiksel olan, gen ifadesi değişiklikleri epigenetiğin konusudur. İmprinted genler epigenetik genlerdir. İmprinted genler: mono allellik olarak ifade edilir. Bu ya anne genomundan yada baba genomundan gelir. İmprinting gen baskılanmasında gen transkripsiyona bulunduğu bölgeden dolayı alınmaz. Bunun nedeni o bölgenin özel olarak represörlerle baskılanmasıdır. Heterokromatin bölgelerinde bulunan bu genler imprinting genleridir. Örneğin telomerlerde ve sentomer bölgeleri heterokromatin bölgeleridir eğer genler bu bölgelerde ise transkripsiyonları baskılanır. Histon deasetilaz enzim kompleksi genellikle heterokromatin yapısını teşvik ederek bir geni baskılayabilmektedir. Heterokromatin bölgesinin yayılması histon proteinlerinin örneğin H3 proteinin kuyruğunun histon metil transferaz enzimi ile metillenmesi ile durdurulabilmektedir [46]. Bir başka örnekte ise endosperm de ebeveynsel genomik imprinting nedeniyle dişi ve erkek gametler arasındaki metil transferaz 1 enzim aktivitesinin regülasyonu ve demetilasyon enzimi demetilaz 1 enziminin aktivitesi asimimetrik bir düzene geçebilmekte ve bu durum endosperm de kalıtsal anne ve baba allellerinin DNA metilasyonunda global bir dengesizliğe neden olabilmektedir [47].

4. RNAi Teknolojisinin Ürün Geliştirmede Kullanımı

RNAi teknolojisi yaygın olarak gen fonksiyonunun analizi için bir araç olarak kullanılmıştır. RNAi de başarılı olmak için en yaygın yol bir dsRNA ile hairpin RNA (hp RNA) üreten bir transgen kullanmaktır [48-49]. Bitkilerde çift sarmallı RNA yönteminin tetikleyici genin susturulmasında iyi bir yöntem olduğu geçmişte gösterilmiştir. Ancak hairpin RNA tarafından indüklenen RNAi metodu klasik gen susturma yöntemi olan antisens RNA yönteminden çok daha etkin bir yöntemdir. Doku spesifik promotörler taşıyan yapılar rehber RNA susturulmasında başarıyla kullanılmıştır. Örneğin tohum spesifik genler napin ve lectin promotörleri kullanılarak etkili şekilde susturulmuştur [50]. RNAi teknolojisi ürün geliştirme içinde bir araç olarak kullanılmıştır. Örneğin mısır endospermının primer proteinleri olan ve a, b, g, d olarak dört sınıfa ayrılan zein proteinleri tohumda düşük lisin içeriğine neden olan proteinlerdir. RNAi tekniği ile elde edilen bir mutantta lisin içeriğince zengin mısır tohumları üretilmiştir [51]. Ayrıca RNAi teknolojisi

kullanılarak kafein içeriği düşürülmüş kahve [52], karetonoid ve flavonoid içeriği yükseltmiş domates [53] geliştirilmiştir.

5. Çiçeklenme Zamanının Epigenetik Kontrolü

Angiospermlerde vejetatif ve generatif gelişme birçok içsel ve dışsal etmenlerin kontrolü altındadır. Çiçeklenme çiçeklenme aktivatör geni olan FT geninin ekspresyonu ile teşvik edilmektedir. Diğer bir gen olan FLC proteini (çiçeklenme lokusu C) FT geninin ekspresyonunu baskılamaktadır. Diğer bir ifadeyle FLC proteinlerinin bol olduğu durumda bitkiler çiçeklenmezler. Soğuk durumda FLC proteinini kodlayan genler susturulur. Ortamın yeniden ısınması ile FLC ekspresyonu yine değişmeden ifade edilmez. Bu durum genel anlamda vernalizasyon olarak adlandırılır. Vernalizasyon işleminde FLC'nin aktif olması bitkinin vejetatif durumda kalmasına neden olur. FLC'nin soğuklanma öncesi örneğin sonbaharda vejetatif dönemde soğuklanmadan sonra generatif döneme geçmesine neden olur. FLC geni epigenetiksel olarak vernalizasyondan sonra susturulmaktadır [26].

Vernalizasyon epigenetik kontrol atındadır. Bitkilerde vernalizasyon ve çiçeklenme epegonumun tekrar ayarlanması ile gerçekleşmektedir. Çiçeklenme lokusu C (FLC) MADS kutu transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır. FLC çiçeklenmede ana etki genlerinden olan FT baskılamaktadır. Vernalizasyon FLC genini susturmaktadır. FLC geninin susturulması vernalizasyona gerçekleşmektedir. FLC geninin susturulmasında kromatin modifikasyonu ve histon varyantları önem kazanmaktadır. Vernalizasyon öncesi FLC geninin promotör ve intronu H3 histonunda asetilasyon, vernalizasyondan sonra H3K27me ve H3K9me metilasyonları ile susturma işlemi gerçekleşmektedir [54-56].

FLC geninin aktivasyonuna H4 asetilasyonu, H3 üzerindeki Lys-4 ve-36 üzerinde metilasyon ve ayrıca H2A.Z varyantının eklenmesi önemlidir. Yapılan çalışmalarda soğuk uygulamasının uzatılması VRN2 PRC2 kompleksinin parçası olan vernalizasyon duyarsız 3 (VERNALIZATION INSENSITIVE3) geninin ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. VRN2 PRC2 kompleksi ve diğer histon modifikasyon sistemlerinin FLC geninin histonlarını düzenlemektedir. FLC genindeki H3K4 metilasyonu ve H4 asetilasyonu, H3K9me ve H3K27me3 modifikasyonları gerçekleşmektedir. LHP1 (ORC1-like) FLC ile birleşerek soğuk uygulaması sırasında susturmada görev almaktadır. Böylece FT geni ekspresyonunda ve çiçeklenme başlatılmaktadır [57-60].

Bitkilerde endosperm ve polen vejetatif nükleusunda yüksek düzeyde epigenetik düzenlemeler bulunmaktadır. Endosperm nükleuslarında heterokromatinin ökrömatine dönüşümü bir epigenetik işaret olarak görülmektedir. Polen vejetatif çekirdeğindeki transpozonlar metilasyon düzeylerini azaltmaktadır. Bitkilerde epigenetik düzenlenme üreme döneminde düzenlenmekte ve RNA destekli DNA metilasyon patikaları kullanılmaktadır. Generatif olmayan hücrelerde ise siRNA'nın düzenlemede etkili olduğu öngörülmektedir [11, 62].

SONUÇ

Kuvvetli deneysel destekler ile günümüzde ortaya çıkan şey bitkinin bilinen fizyolojik özellikleri üzerine çevresel değişikliklerin yanı sıra bitki genomunun yeniden yapılanması da önemli rol oynamaktadır. Genetik varyasyon kaynaklarının yanı sıra epigenomik varyasyon kaynaklarının da bitki ıslahında etkin olarak kullanılması ıslah çalışmalarına yön verebilecek düzeydedir. Geçtiğimiz 20. yüzyılın büyük bölümünde bitki ıslahı temelde doğal seleksiyonun yanı sıra yapay seleksiyon uygulamalarıyla seleksiyon ıslahına

dayandırılmıştır. Ancak genomik devrim ile birlikte sekans bilgisi ve sekansların karşılaştırılabilirliği, tek nükleotit farklarının belirlenebilmesi ve nükleotit değişikliklerinin etkilerinin öneminin anlaşılması, transkripsiyon faktörleri ve diğer düzenleyici elementler ve düzenleyici genlerin öneminin artması gibi önemli gelişmeler ıslahçıların ufkunu açmıştır. Artık günümüzde en az genomik bilgileri kadar etkin rol oynayan örneğin herhangi bir DNA-protein bağlanma bölgesinde meydana gelebilecek kromatin modifikasyonun sonucunda yeni bir hedef molekülün oluşabileceği ve kalıtsal özellik taşıyabileceği gerçeği ile karşı karşıya olan ıslahçılar en az genomik markırlar kadar epigenetik markırları da bitki ıslahı çalışmalarında etkin olarak kullanabilecek durumda olacaklardır.

KAYNAKLAR

- [1] Tsaftaris AS, Polidoros AN, Kapazoglou A, Kovacevic ETNM. 2008. Epigenetics and plant breeding. *Plant Breeding Review*. 30:49-178.
- [2] Chen M, Lv S, Meng Y. 2010. Epigenetic performers in plants. *Development Growth and Differentiation*. 52:555-566.
- [3] Wu CT, Morris JR. 2001. Genes, genetics, and epigenetics: A correspondence. *Science*. 293:1103-1105.
- [4] Zilberman D, Henikoff S. 2005. Epigenetic inheritance in Arabidopsis: Selective silence. *Current Opinion in Genetics and Development*. 15:557-562.
- [5] Karaca M, Aydın A, Ince AG. 2019. Cytosine methylation polymorphisms in cotton using TD-MS-RAPD-PCR. *Modern Phytomorphology*. 13:13-19.
- [6] Holliday, R. 1990. Mechanisms for the control of gene activity during development. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 65:431-471.
- [7] Martienssen RA, Colot V. 2001. DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi. *Science*. 293:1070-1074.
- [8] Akimoto K, Katakami H, Kim HJ, Ogawa E, Sano CM, Wada Y, Sano H. 2007. Epigenetic inheritance in rice plants. *Annals of Botany*. 100:205-217.
- [9] Dodd IB, Sneppen K. 2011. Barriers and silencers: a theoretical toolkit for control and containment of nucleosome-based epigenetic states. *Journal of Molecular Biology*. 414:624-637.
- [10] Hegarty MJ, Batstone TG, Barker L, Edwards, KJ, Abbott RJ, Hiscock SJ. 2011. Nonadditive changes to cytosine methylation as a consequence of hybridization and genome duplication in *Senecio* (Asteraceae). *Molecular Ecology*. 20:105-113.
- [11] Karaca M, İnce AG. 2011. Moleküler Biyoloji Ders Notu. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Basımevi Yayınları. Sayı:23, Sayfa:314.
- [12] Meyer P. 2011. DNA methylation systems and targets in plants. *FEBS Letters*. 585:2008-2015.
- [13] Vanyushin BF, Ashapkin VV. 2011. DNA methylation in higher plants: Past, present and future. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1809:360-368.
- [14] Li PC, Demirci F, Mahalingam G, Demirci C, Nakano M, Meyers BC. 2013. An integrated workflow for DNA methylation analysis. *Journal of Genetics Genomics*. 40:249-260.
- [15] Fujimoto R, Sasaki T, Ishikawa R, Osabe K, Kawanabe T, Dennis ES. 2012. Molecular mechanisms of epigenetic variation in plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 13:9900-9922.
- [16] Jia GF, Fu Y, He C. 2013. Reversible RNA adenine methylation in biological regulation. *Trends Genetics*. 29:108-115.
- [17] Jin X, Pang Y, Jia FX, Xiao GH, Li Q, Zhu YX. 2013. A Potential role for CHH DNA methylation in cotton fiber growth patterns. *PLOS One*. 8:e60547.
- [18] Kravets AP, Mousseau TA, Litvinchuk AV, Ostermiller S, Vengzhen G, Grodzinskiy D. 2010. Wheat plant DNA methylation pattern changes at chronic seed gamma irradiation. *Cytology and Genetics*. 44:276-279.
- [19] Barciszewka MZ, Barciszewka AM, Rattan SI. 2007. TLC-based detection of methylated cytosine: Application to aging epigenetics. *Biogerontology*. 8:673-678.
- [20] Rodriguez-Negrete E, Lozano-Duran R, Piedra-Aguilera A, Cruzado L, Bejarano ER, Castillo AG. 2013. Geminivirus Rep protein interferes with the plant DNA methylation machinery and suppresses transcriptional gene silencing. *New Phytologist*. 199:464-475.
- [21] Gao Y, Chen J, Li K, Wu T, Huang B, Liu W, Kou X, Zhang Y, Huang H, Jiang J, Yao C, Liu X, Lu X, Xu Z, Kang L, Chen J, Wang H, Cai T, Gao S. 2013. Replacement of Oct4 by Tet1 during iPSC induction reveals an important role of DNA methylation and hydroxymethylation in reprogramming. *Cell Stem Cell*. 12:453-469.
- [22] Sunkar R, Zhu JK. 2004. Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from Arabidopsis. *Plant Cell*. 16:2001-2019.
- [23] Matzke MA, Birchler JA. 2005. RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nature Reviews Genetics*. 6:24-35.
- [24] Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. 2006. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 57:19-53.
- [25] Chuang JC, Jones PA. 2007. Epigenetics and microRNAs. *Pediatric Research*. 61:24-29.
- [26] Heo JB, Lee YS, Sung S. 2013. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs in plants. *Chromosome Research*. 21:685-693.
- [27] He G, He H, Deng XW. 2013. Epigenetic variations in plant hybrids and their potential roles in heterosis. *Journal of Genetics Genomics*. 40:205-210.
- [28] Alseth I, Dalhus B, Bjoras M. 2014. Inosine in DNA and RNA. *Current Opinion in Genetics and Development*. 26:116-23.
- [29] Berger SL. 2007. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*. 447:407-412.
- [30] Cloos PA, Christensen J, Agger K, Helin K. 2008. Erasing the methyl mark: Histone demethylases at the center of cellular differentiation and disease. *Genes and Development*. 22:1115-1140.
- [31] Seffer I, Nemeth Z, Hoffmann G, Matics R, Seffer AG, Koller A. 2013. Unexplored potentials of epigenetic mechanisms of plants and animals-theoretical considerations. *Genetics and Epigenetics*. 5:23-41.
- [32] Nelson CJ, Santos-Rosa H, Kouzarides T. 2006. Proline isomerization of histone H3 regulates lysine methylation and gene expression. *Cell*. 126:905-16.
- [33] Cerutti H, Casas-Mollano JA. 2009. Histone H3 phosphorylation: Universal code or lineage specific dialects? *Epigenetics*. 4:71-75.
- [34] Parada LA, McQueen PG, Misteli T. 2004. Tissue-specific spatial organization of genomes. *Genome Biology*. 5:R44
- [35] Texari L, Dieppois G, Vinciguerra P, Contreras MP, Groner A, Letourneau A, Stutz F. 2013. The nuclear pore regulates GAL1 gene transcription by controlling the localization of the SUMO protease Ulp1. *Molecular Cell*. 51:807-818.
- [36] Bricker J. 2017. Genetic and epigenetic control of the spatial organization of the genome *Molecular Biology of the Cell*. 28:364-369.
- [37] Richards EJ. 2006. Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics*. 7:395-

401.

[38] Henderson IR, Jacobsen SE. 2007. Epigenetic inheritance in plants. *Nature*. 447:418-424.

[39] Kakutani T. 2002. Epi-alleles in plants: Inheritance of epigenetic information over generations. *Plant Cell Physiology*. 43:1106-1111.

[40] Zhang X, Yazaki J, Sundaresen A, Cokus S, Chan SWL, Chen H, Henderson IR, Shinn P, Pellegrini M, Jacobsen SE, Ecker JR. 2006. Genome-wide high-resolution mapping and functional analysis of DNA methylation in *Arabidopsis*. *Cell*. 126:1-13.

[41] Richards EJ. 2011. Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field. *Current Opinion in Genetics and Development*. 14:204-209.

[42] Boyko A, Kovalchuk I. 2008. Epigenetic control of plant stress response. *Environmental Mutagenesis and Genomics*. 49:61-72.

[43] Sunkar R, Kapoor A, Zhu JK. 2006. Posttranscriptional induction of two *cu/zn* superoxide dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by down regulation of miR398 and important for oxidative stress tolerance. *Plant Cell*. 18:2051-2065.

[44] Costa S, Shaw P. 2006. Chromatin organization and cell fate switch respond to positional information in *Arabidopsis*. *Nature*. 439:493-496.

[45] Xu CR, Liu C, Wang YL, Li LC, Chen WQ, Xu ZH, Bai SN. 2005. Histone acetylation affects expression of cellular patterning genes in the *Arabidopsis* root epidermis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 102:14469-14474.

[46] Hauser MT, Aufsatz W, Jonak C, Luschnig C. 2011. Transgenerational epigenetic inheritance in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1809:459-468.

[47] Jullien PE, Berger F. 2010. DNA methylation reprogramming during plant sexual reproduction? *Trends Genetics*. 26:394-399.

[48] Waterhouse PM, Helliwell CA. 2003. Exploring plant genomes by RNA-induced gene silencing. *Nature Reviews Genetics*. 4:29-38.

[49] Zhai J, Liu J, Liu B, Li P, Meyers BC, Chen X, Cao X. 2008. Small RNA-directed epigenetic natural variation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*. 4:e1000056.

[50] Stoutjesdijk P, Singh SP, Liu Q, Hurlstone CJ, Waterhouse PM, Green AG. 2002. hpRNA-mediated targeting of the *Arabidopsis* FAD2 gene gives highly efficient and stable silencing. *Plant Physiology*. 129:1723-1731.

[51] Segal G, Song R, Messing J. 2003. A new opaque variant of maize by a single dominant RNA-interference-inducing transgene. *Genetics*. 165:387-397.

[52] Ogita S, Uefuji H, Yamaguchi Y, Koizumi N, Sano H. 2003. Producing decaffeinated coffee plants. *Nature*. 423:823.

[53] Davaluri GR, van Tuinen A, Fraser PD, Manfredonia A, Newman R, Burgess D, Brummell DA, King SR, Palys J, Uhlig J, Bramley PM, Pennings HM, Bowler C. 2005. Fruit-specific RNAi-mediated suppression of DET1 enhances carotenoid and flavonoid content in tomatoes. *Nature Biotechnology*. 23:890-895.

[54] De Lucia F, Crevillen P, Jones AM, Greb T, Dean C. 2008. A PHD-polycomb repressive complex 2 triggers the epigenetic silencing of FLC during vernalization. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 105:16831-16836.

[55] Kim DH, Doyle MR, Sung S, Amasino RM. 2009. Vernalization: winter and the timing of flowering in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 25:277-299.

[56] Kim DH, Sung S. 2013. Coordination of the vernalization response through a VIN3 and FLC gene family

regulatory network in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 25:454-469.

[57] Sung S, Amasino RM. 2004. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current Opinion in Genetics and Development*. 7:4-10.

[58] Tamada Y, Yun JY, Woo SC, Amasino RM. 2009. ARABIDOPSIS TRITHORAX-RELATED7 is required for methylation of lysine 4 of histone H3 and for transcriptional activation of FLOWERING LOCUS C. *Plant Cell*. 21:3257-3269.

[59] Heo JB, Sung S. 2011. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science*. 331:76-79.

[60] Yun JY, Tamada Y, Kang YE, Amasino RM. 2012. *Arabidopsis* trithorax-related3/SET domain GROUP2 is required for the winter-annual habit of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology*. 53:834-846.

[61] Saze H. 2008. Epigenetic memory transmission through mitosis and meiosis in plants. *Cell Development Biology*. 19:527-536.