



Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi

Dergiye Geliş Tarihi: 30.01.2013
Yayına Kabul Tarihi: 15.04.2013

Baş Editör: Naim Çağman
Danışman Editör: Mikail Akbulut

P Cisimcikleri ve mRNA Döngüsü

Tuğba GÜRKÖK^a (t.gurkok@gmail.com)
Gülşen BOZTEPE^{a,b} (gulsenboztepe58@gmail.com)
Mesut KOYUNCU^a (mesutko@yahoo.co.uk)
İskender PARMAKSIZ^{c,1} (iskender.parmaksiz@gop.edu.tr)

^aGaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 60250 Tokat

^bTunceli Üniversitesi, Tunceli MYO, 62100, Tunceli

^cGaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü 60250 Tokat

Özet – Ökaryotik hücrelerin gen ekspresyonunda translasyonun kontrolü ve mRNA yıkımı önemli bir role sahiptir. P cisimcikleri mRNA moleküllerinin depolandığı, yıkıma uğratıldığı translasyonel olarak baskı altında tutulduğu ve RNAi aracılı susturmanın yapıldığı sitoplazmik oluşumlardır. Bu çalışmada sitoplazmik mRNA molekülünün hücredeki dinamiği ve metabolizması hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler –
mRNA yıkımı, P
cisimcikleri, stres
granülleri

Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research 5 (2013) 54-60

P Bodies and mRNA Cycle

Abstract – Control of translation and mRNA decay has an important role in gene expression for eukaryotic cells. P bodies (Processing bodies) are cytoplasmic foci where mRNA molecules stored, degraded, translationally repressed and RNAi mediated silenced. In this study we discuss the dynamics and mechanism of cytoplasmic mRNA molecule.

Keywords –
mRNA decay,
P bodies,
stress granules

Received: 30.01.2013

Accepted: 15.04.2013

1. Giriş

Ökaryotlarda gen ekspresyonu çekirdekte genin aktivasyonu ile başlar. Bunun sonucu olarak üretilen mRNA çekirdekte ribonükleoprotein yapıda mRNP adı verilen ve mRNA molekülünün yarı ömrünü de belirleyen protein-mRNA kompleksi şeklinde çıkararak sitoplazmaya yönlendirilir [6]. mRNA sitoplazmada translasyon mekanizması ile işlevsel

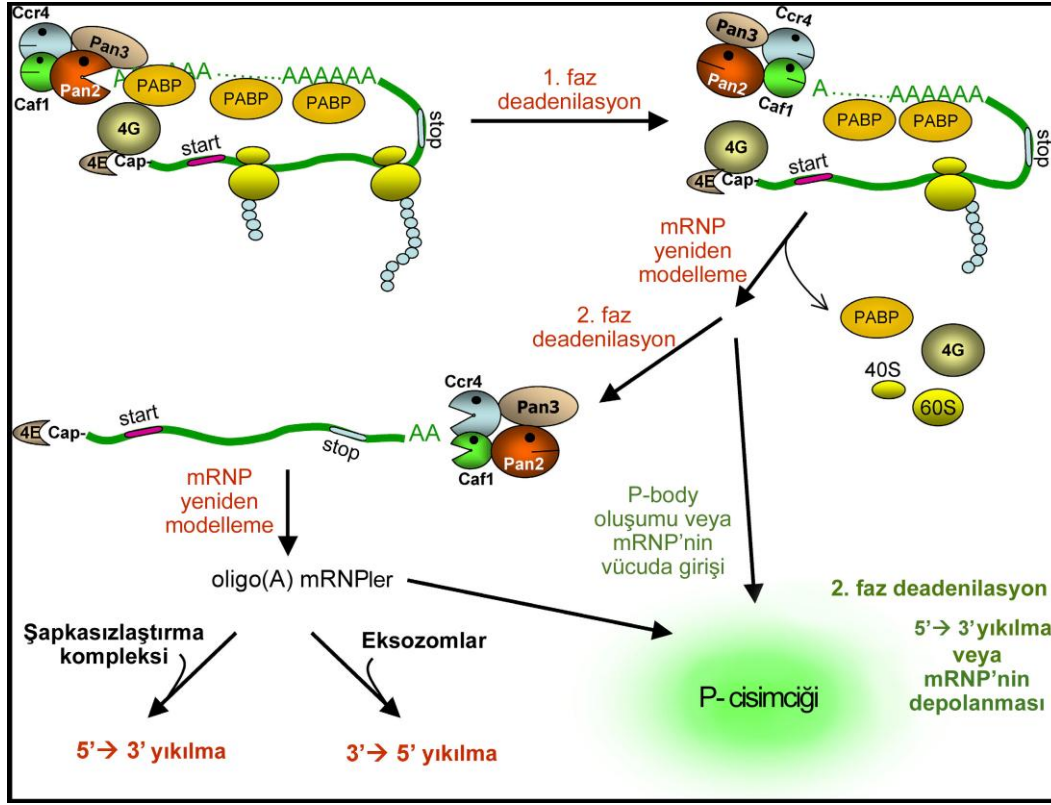
¹Sorumlu Yazar

bir proteine dönüştürülebilirken bazı durumlarda inaktif halde bekletilebilir ya da yıkıma uğratılabilir (Şekil 1). Translasyon öncesinde mRNA'ların protein kodlayan dizilerinin doğruluğunun kontrol edilmesi ve gen ekspresyon sürecinin düzenlenmesinde değişik kontrol mekanizmaları bulunmaktadır [1].

Doğru kodlanmayan molekülleri ya da hücrede yaşam döngüsünün sonuna gelmiş mRNA molekülleri 5' cap ucu, poli(A) kuyruğu ya da transkriptin içinden yıkıma uğratılmaktadır. Ökaryotlarda genel olarak farklı yıkım yolları tanımlanmıştır [15, 17]. mRNA yıkımı deadenilasyon olarak isimlendirilen mRNA'nın 3'poli(A) kuyruğunun yıkımı ile başlamaktadır. Deadenilasyon mekanizmasında işlev yapan Ccr4p/Pop2p deadenilaz kompleksi enzimleridir. Deadenilasyonun ardından mRNA 3'→5' yönünde eksozom olarak adlandırılan ekzonükleaz kompleksi ile 3' ucundan yıkıma uğratılmaktadır. Başlık uzaklaştırıcı Dcp2 enziminin ardından 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi gösteren Xrn1 enzimi 5' ucundan yıkımı gerçekleştirmektedir [8]. Translasyon ve mRNA yıkımı rekabet halindedir. Bu ilk defa mRNA yıkımında anahtar basamak olan şapkasızlaştırma yani cap yapısının uzaklaştırılmasının bulunması ile ortaya atılmıştır ki, aynı zamanda translasyonun başlamasının uyarılması ile paraleldir [16]. Ayrıca translasyonun başlamasını uyarıcı cap bağlama proteini eIF4E şapkasızlaştırma enzimlerini Dcp1/Dcp2 *in vivo* ve *in vitro* şartlarda inhibe etmektedir [20].

2. P Cisimcikleri

mRNA molekülünün translasyon oranı da düzenleyici mekanizmalar tarafından translasyonun inhibisyonu ve deadenilasyon ve şapkasızlaştırmanın artırılması ile kontrol altında tutulmaktadır [12]. Pek çok çalışma mRNA'nın şapkasızlaştırılmasının ve yıkımının Dcp1–Dcp2 holoenzimi mRNP kompleksi ve spesifik mRNA aktivatörlerini içeren P cisimcikleri (Processing bodies) adı verilen yoğun sitoplazmik bölgelerde gerçekleştiğini göstermektedir [9, 12, 18]. Ancak son çalışmalar, mRNA yıkımının sadece P cisimciklerinde değil, aynı zamanda mRNA ribozomlara bağlı iken de gerçekleşebildiğini göstermiştir [11]. P cisimcikleri sitoplazmada oluşan protein-RNA kompleksleridir ancak protein kompozisyonu halen tam olarak belirlenememiştir. Mayadan memelilere kadar şapkasızlaştırma enzimleri olan Dcp1p/Dcp2p, şapkasızlaştırma aktivatörleri olan Dhh1p/RCK/p54, Pat1p, Scd6p/RAP55, Edc3p, Lsm1p-7p kompleksi ve 5'→3' ekzonükleaz Xrn1p enzimlerini içermektedir. mRNA'nın yıkımı, translasyonel baskılanması ve depolanması gibi görevleri bulunmaktadır [4, 5, 21]. Membrana sahip olmadıkları için organel olarak tanımlanmamışlardır. Hücrede sayıları 3–9 arasında değişmektedir ve bu sayı hücreler arasında da değişiklik göstermektedir. Hücreler arasında sayıları ve büyüklüklerinin farklılık göstermesi hücre döngüsünün evresine ve bunun yanı sıra, hücrenin proliferasyon oranı ile besinlerin varlığına bağlıdır [24]. Bu gözlemler P cisimciklerinin dinamik bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Canlı hücre şartlarında yapılan çalışmalar P cisimciklerinin hücrede hareketinin oldukça sınırlı ve mikrotübül ağının varlığına bağlı olduğunu ve mikrotübül depolimerizasyonunun bu oluşumların hareketlerinde azalmaya ve sayılarında artmaya sebep olduğunu göstermiştir [1].



Şekil 1. Deadenilasyon, P cisimcikleri ve mRNA yıkımı arasındaki ilişki [25]

3. Stres Granülleri

Translasyonu yapılmayan RNA'lar stres granülleri adı verilen ikinci bir sitoplazmik RNP granülü oluşturabilirler. Stres granülleri dinamiktir ve translasyonun başlangıç sürecinde durdurulan mRNA'lardan oluştuğu düşünülmektedir. Stres granülleri translasyonu yapılmamış RNA'lar ile birlikte translasyon başlama faktörleri (eIF4E, eIF4G, eIF4A, eIF3, and eIF2), ribozomun 40S alt birimi ve poli(A) bağlanma proteini (Pab1) içerir [3]. Öncelikle memeli hücrelerinde çalışılmışlardır ve genellikle stres altındaki hücrelerde görülmüş olup bu bölgelerde translasyon başlangıcı inhibe edilmiştir. Ayrıca maya hücrelerinde besin stresi, osmotik stres ve UV stresinde P cisimciklerinin de miktarının arttığı belirlenmiştir [6]. Bununla birlikte Matsumoto ve ark. (2011), Hsp90 proteinin de bu yapıların oluşumu üzerinde etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Hsp90 inhibitörleri ile yaptıkları çalışmada her iki yapının da sayı ve boyutlarında azalmalar meydana geldiğini bildirmişlerdir. Stres granüllerindeki mRNA'ların, translasyondan çıkan mRNA'lar mı yoksa translasyona girenler mi ya da her ikisinin de mi olduğu sorusu henüz çözümlenememiştir.

4. mRNP Moleküllerinin Sitoplazmadaki Dinamiği

Bazı bulgular sitoplazmik mRNA'ların polizomlar, P cisimcikleri ve stres granülleri arasında bir döngü içinde olduğunu göstermiştir. Translasyon başlangıcının ilaçlar, stres veya mutasyonlarla engellenmesi polizomlardaki mRNA'ların azalmasına, P cisimcikleri

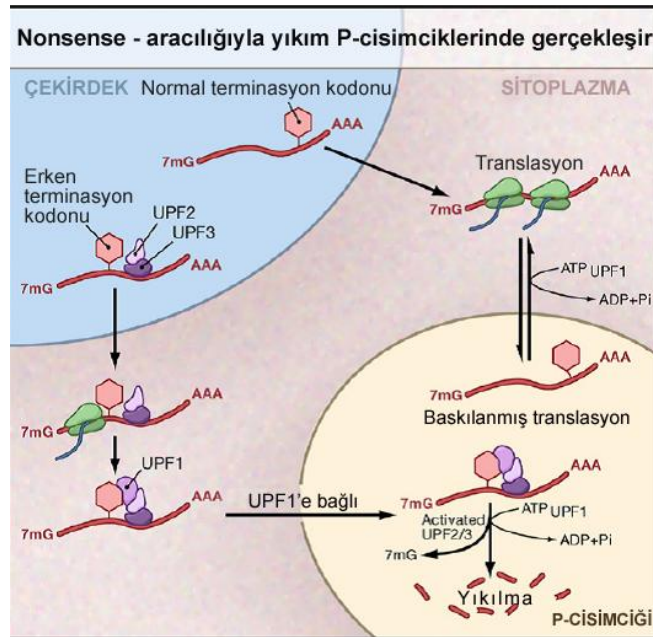
ve stres granüllerinde artmaya sebep olduğunu göstermiştir [10, 23]. Bununla birlikte translasyonun uzama evresini bloke ederek mRNA'ların polizomlarda tutulması P cisimcikleri ve stres granüllerinin sayılarının azalması ile sonuçlanmıştır [16]. Halen P cisimcikleri ve stres granülleri arasındaki dinamik tam olarak belirlenmemiştir. Ancak stres durumlarında mRNA moleküllerinin önce stres granüllerine ardından P cisimciklerine aktarıldığı düşünülmektedir [2].

5. mRNA Moleküllerinin P Cisimcikleri İçinde Depolanması

Translasyonda olmayan mRNA'ların P cisimcikleri içinde biriktirildiği çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir. Yarı saflaştırılmış P cisimcikleri RNaz A ile muamele edildiğinde bozuldukları gözlenmiştir [23]. Bu da P cisimciklerinin oluşumu için mRNA'ya ihtiyaç duyulduğunu, sayı ve boyutlarının translasyonu yapılmayan mRNA'ların oranı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Maya ve memeli hücrelerinde P cisimcikleri içinde yer alan mRNA'ların da tekrar translasyona döndüğü belirlenmiştir [5]. Örneğin hücrede strese bağlı translasyonun engellenmesi durumunda P cisimciklerinin boyutlarının arttığı belirlenmiştir [13]. Translasyon baskılaması ve mRNA aktarımında görev alan maternal mRNA depolama granülleri P cisimcikleri içinde bulunan pek çok proteine de sahiptir [2]. Dolayısıyla bu bölgelerde de mRNA'nın depolanması ve translasyonel kontrolü söz konusudur.

6. Nonsense Aracılı Yıkım

Nonsense aracılı yıkım (NMD) olgunlaşmamış translasyon terminasyon kodonu içeren mRNA'ların yıkım sürecidir. Mekanizma çalışılan tüm ökaryotik hücrelerde bulunmaktadır ve translasyon ile sıkı bir bağlantı içindedir [14].

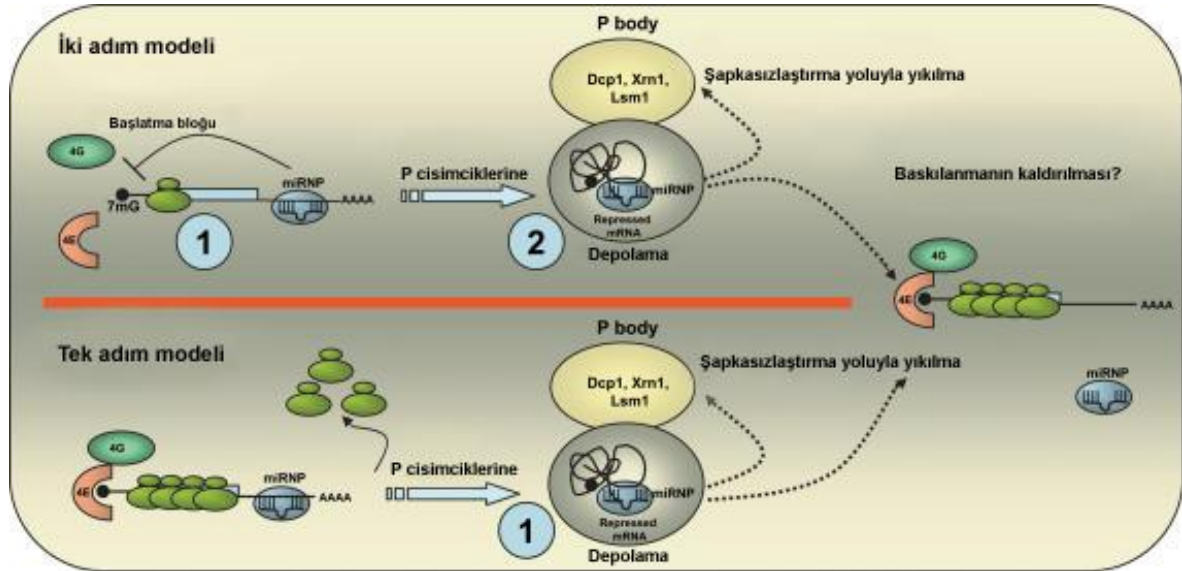


Şekil 2. Nonsense aracılı yıkım yolu. (Sheth and Parker, 2006)

Örneğin translasyon mekanizması tarafından nonsense kodonun algılanması yıkımı hızlandırmaktadır (Şekil 2). Nonsense kodonlar hücrede toksik etki gösterebilecek kesilmiş proteinlerin oluşumuna sebep olabileceğinden nonsense aracılı yıkım oldukça önemlidir [5]. NMD faktörleri UPF1 (upframeshift-1), UPF2 ve UPF3, P cisimcikleri ile birleşebilmektedir. UPF1 hatalı mRNA'yı P cisimciklerine yönelterek yıkımı sağlar [7].

7. miRNA ve siRNA Aracılı Yıkım

Memeli P cisimcikleri olarak ta bilinen GW cisimcikleri post translasyonel düzenlemede görev almaktadırlar ve bu yapılar RNAi efektör proteinlerini içerdiğinden RNA interferens ile ilişkilidir. Pek çok ökaryotik organizmada miRNA (mikro RNA) ve siRNA (küçük müdahaleci RNA) molekülleri mRNA inaktivasyonu, viral savunma, kromatin modifikasyonu ve transpozon susturması gibi işlevlere sahiptirler [25]. siRNA ve miRNA'ların mRNA depolanması ve yıkımı üzerinde etkili oldukları bilinmektedir. Yaklaşık 22 nükleotid uzunluğundaki miRNA molekülleri translasyon düzenleyici moleküller olarak isimlendirilmektedir ve mRNA'nın 3' UTR ucuna komplementer dizilere sahiptir. miRNA'lar genellikle translasyonu engellediği için ya da mRNA yıkımını tetiklediği için negatif düzenleyicilerdir. Şekil 3'te belirtildiği üzere iki adım modelinde miRNA hedef mRNA'nın 3' UTR kısmına bağlandığında mRNP kompleksi eIF4E molekülünü de işin içine alarak 7mG cap molekülünün fonksiyonunu engelleyerek translasyon başlangıcını durdurmaktadır. Daha sonra mRNA: miRNP kompleksi P cisimciklerine depolanmak üzere gönderilir. Baskılanan mRNA ve Dcp1, Xrn1 gibi P cisimciklerinin bileşenlerinin depolanması için farklı bölümler olduğu düşünülmektedir. Depolanan mRNA şapkasızlaştırma ile yıkılabilir ya da baskılama ortadan kalktıktan sonra tekrar translasyona girebilir. Tek adım modelinde ise miRNP molekülünün heder RNA'ya bağlanması bu molekülü P cisimciklerine yönlendirebilir [19].



Şekil 3. RNA yıkımında miRNA işlevi [19]

Son dönemlerde bu konu üzerinde yoğun çalışmalar olmasına rağmen halen P cisimciklerinin hangi proteinleri içerdiği ya da hangi işlevlere sahip olduğu tam olarak belirlenememiştir. mRNP molekülleri, polizom yapıları, P cisimcikleri ve stres granülleri arasındaki denge ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Gen ekspresyonunun anlaşılması için bu dengelerin bilinmesi gerekmektedir, çünkü mikroarray gibi gen ekspresyon çalışmalarında, proteomik ve transkriptomik çalışmalarda büyük önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- [1] Aizer A. & Shav-Tal, Y. 2008. Intracellular trafficking and dynamics of P bodies. www.landesbioscience.com/journals/prion/article/7773. Erişim Tarihi: 10.01.2013.
- [2] Anderson, P., and Kedersha, N. 2006. RNA granules. *J. Cell Biol.* 172, 803–808.
- [3] Anderson P, Kedersha N. 2008. Stress granules: the Tao of RNA triage. *Trends Biochem Sci* 33:141–150.
- [4] Bashkurov, V. I.; Scherthan, H.; Solinger, J. A.; Buerstedde, J. -M.; Heyer, W. D. 1997. "A Mouse Cytoplasmic Exoribonuclease (mXRN1p) with Preference for G4 Tetraplex Substrates". *Journal of Cell Biology* 136 (4): 761.
- [5] Brengues, M., Teixeira, D., and Parker, R. 2005. Movement of eukaryotic mRNAs between polysomes and cytoplasmic processing bodies. *Science* 310: 486–489.
- [6] Bruno I, Wilkinson MF. 2006. P-Bodies React to Stress and Nonsense Cell 125
- [7] Chamieh, H., Ballut, L., Bonneau, F. and Le Hir, H. 2008. NMD factors UPF2 and UPF3 bridge UPF1 to the exon junction complex and stimulate its RNA helicase activity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15, 85–93
- [8] Collier J, Parker R. 2004. *Annu Rev Biochem.* 73:861.
- [9] Eulalio A, Behm-Ansmant I, Izaurralde E. 2007. P bodies: at the crossroads of post-transcriptional pathways. *NatRevMol Cell Biol* 8:9–22.
- [10] Gilks N, Kedersha N, Ayodele M, Shen L, Stoecklin G, Dember LM, Anderson P. 2004. Stress granule assembly is mediated by prion-like aggregation of TIA-1. *Mol Biol Cell*,15:5383–5398.
- [11] Hu W, Petzold C, Collier J, Baker KE. 2010. Nonsense mediated mRNA decapping occurs on polyribosomes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Struct Mol Biol* , 17:244–247.
- [12] Franks TM, Lykke-Andersen J. 2008. The control of mRNA decapping and P-body formation. *Mol Cell.* 32:605–615.
- [13] Koritzinsky, M., Magagnin, M.G., van den Beucken, T., Seigneuric, R., Savelkoul, K., Dostie, J., Pyronnet, S., Kaufman, R.J., Wepler, S.A., Voncken, J.W., et al. 2006. Gene expression during acute and prolonged hypoxia is regulated by distinct mechanisms of translational control. *EMBO J.* 25, 1114–1125.
- [14] Maquat, L.E. 2004. Nonsense-mediated mRNA decay: splicing, translation and mRNP dynamics. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 89–99.
- [15] Meyer S, Temme C, Wahle E. 2004. Messenger RNA turnover in eukaryotes: pathways and enzymes. *Crit Rev Biochem Mol Biol.*39:197–216.
- [16] Muhrad D, Decker CJ, Parker R. 1994. Deadenylation of the unstable mRNA encoded by the yeast MFA2 gene leads to decapping followed by 5'→3' digestion of the transcript. *Genes Dev*;8:855–866.
- [17] Parker R, Song H. 2004. The enzymes and control of eukaryotic mRNA turnover. *Nat Struct Mol Biol*;11:121–127.
- [18] Parker R, Sheth U. 2007. P bodies and the control of mRNA translation and degradation. *Mol Cell* 25:635–646.
- [19] Pillai RS. 2005. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA, *RNA* 11(12):1753–61.

- [20] Schwartz DC, Parker R. 1999. Mutations in translation initiation factors lead to increased rates of deadenylation and decapping of mRNAs in *Saccharomyces cerevisiae*. *MolCell Biol* 19:5247–5256.
- [21] Sheth, U., Parker, R. 2003. Decapping and decay of Messenger RNA occur in cytoplasmic processing bodies. *Science* 300: 805–808.
- [22] Sheth U, Parker R. 2006. Targeting of aberrant mRNAs to cytoplasmic processing bodies. *Cell*. 125(6):1095–109.
- [23] Teixeira D., Sheth U., Valencia-Sanchez, M.A., Brengues, M., Parker, R. 2005. Processing bodies require RNA for assembly and contain nontranslating mRNAs. *RNA* 11, 371–382.
- [24] Yang Z, Jakymiw A, Wood MR, Eystathioy T, Rubin RL, Fritzler MJ, Chan EK. 2004. GW182 is critical for the stability of GW bodies expressed during the cell cycle and cell proliferation. *J Cell Sci*; 117:5567–78.
- [25] Zheng D, Ezzeddine N, Chen A, Zhu W, He X, Shyu A. 2008. Deadenylation is prerequisite for P-body formation and mRNA decay in mammalian cells. *J. Cell Biol.* Vol. 182 No. 1 89–101
- [25] Matsumoto K, Minami M, Shinozaki F, Suzuki Y, Abe K, Zenno S, Matsumoto S, Minami Y. 2011. Hsp90 is involved in the formation of P-bodies and stress granules. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 407: 720–724
- [25] Pontes O. and Pikaard CS. 2008. siRNA and miRNA processing: new functions for Cajal bodies *Current Opinion in Genetics & Development* 18:1–7