

SAHTE İSMİNİ HAKETMEYEN GENLER; PSÖDOGENLER

Not Deserve the Pseudo Name; Pseudogenes

Dilara Sönmez¹, Bülent Gögebakan^{1,2}, Hasret Ecevit¹, Leyla Ataç¹, Meral Urhan Küçük^{1,2}, Müzeyyen İzmirlî^{1,2}

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Moleküler Biyokimya ve Genetik AD, Hatay, Türkiye

² Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Hatay, Türkiye

ÖZ

Psödogenler, gen benzeri olan fakat genlerden farklı olarak fonksiyonel ürününü kodlayamayan, sahte gen bölgeleridir. Promotör bölgelerindeki delesyon, insersiyon, çerçeve kayması gibi mutasyon veya zamanından önce stop kodunu bulundurma sonucu meydana gelirler. İnsan genomu, yaklaşık olarak 20.000 psödogen içermektedir. Psödogenler üretildikleri mekanizmalara göre tek kopya, tekrarlayan ve işlenmiş olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalara göre, herhangi bir görevi olmadığı zannedilen psödogenlerin bazı görevlerinin olduğu, hatta bazılarında kısa peptid ve protein üretebildiği gösterilmiştir. mRNA stabilitesini, gen ekspresyonunu düzenlediği ve genomun evriminde rol oynadığı bildirilmiştir. Bu raporlardan biri de psödogenlerin mikroRNA tuzakları ile tümör süpresör genler ve onkogenlerin düzenlenmesi yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Şu ana kadar psödogenlerin oluşum mekanizmaları ve görevleri, hatta psödogenin yapısı ile ilgili hiç Türkçe bir kaynak bulunmamaktadır. Bu nedenle, biz bu derlemede psödogenler hakkında okuyucuyu bilgilendirmeyi amaçladık.

Sonuç olarak ise bu genlerin 'sahte' ismini hak etmediğini, moleküler çalışmalar ile bu genlerin hücrede gen ekspresyonunda önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu yüzden bilim camiasında bu genlerin fonksiyonları doğrultusunda yeniden isimlendirilmeleri gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Psödogen, Sahte gen, Gen, mikroRNA

ABSTRACT

Pseudogenes are "false" genes which look like paternal genes, but do not produce a functional product. Pseudogenes arise from the functional genes due to mutations that prevent the transcription of the gene, such as within the gene promoter region, or fatally alter the translation of the gene, such as premature stop codons, frame shifts, insertion or deletion. The human genome may include approximately 20.000 pseudogenes. According to pseudogenes generation mechanisms, they can be categorized in to three groups, which are called as unitary pseudogenes, duplicated pseudogenes and processed pseudogenes. In recent studies indicate that some pseudogenes have functional roles even some pseudogenes have the ability to produce short peptides or proteins. In studies announced that expressed pseudogenes plays role in gene expression, genome evolution and regulates the messenger RNA stability. One of these reports about pseudogenes regulates tumor suppressors and oncogenes by acting as microRNA decoys. Until now, in our literature does not have any Turkish source about mechanisms of pseudogenes arises or roles, even their structure too.

Because of that, we aimed to give information about pseudogenes in our review. In conclusion, as molecular evidence, mentioned genes do not deserve "pseudo" or "false" nickname and determined to plays a significant role gene expression. Therefore, it is believed that these genes must take a new name accordingly in the direction of these functions in the scientific community.

Key Words: Pseudogene, False gene, Gene, microRNA

Gönderme tarihi / Received:10.10.2015

Kabul tarihi / Accepted:05.12.2015

İletişim: Doç. Dr. Müzeyyen İZMİRLİ, Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, 31034, Hatay, Türkiye

E posta: muzeyyenizmirli@gmail.com

GİRİŞ

Deoksiribonükleik asit veya kısaca DNA olarak bilinen genetik materyalimiz, tüm organizmalar ve bazı virüslerin canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için gerekli olan genetik talimatları taşıyan bir nükleik asittir (1). Moleküler anlamda gen, bir RNA veya polipeptit gibi fonksiyonel bir ürünün sentezini sağlayan DNA

parçalarıdır. Ökaryotlar için, fonksiyonel bir ürünün meydana gelmesi için bir gen bölgesi, promotör olarak bilinen bir regülatör bölgeye, bir ekzon bölgesine (tRNA ve rRNA genleri için zorunlu olmamakla birlikte) ve bir de sonlanma kodonuna sahip olmak zorundadır. Bunun dışında birçok ökaryotik canlıda olduğu gibi kodlama yapmayan intron ve transkripsiyonel aktivite arttırıcısı olan enhansır bölgelerini de içerebilmektedir. Gen bölgesi DNA'dan tüm bölümleri ile primer RNA ya çevrildikten sonra promotör, sonlanma kodonu, intron ve varsa enhansır bölgesi kesilip çıkarılır. Geride kalan ekzonlar birleştirilir ve bazı eklemelerin ardından mRNA halini aldıktan sonra amino asit sentezi için ribozomlara gönderilir (2).

Ökaryotik hücrelerde genom organizasyonu gen bölgeleri ve intergenik bölgeler olmak üzere iki kısma ayrılır. Gen bölgeleri genomun %25'ini kaplarlar ve tek kopya genler, multigen aileleri ve psödogenler olarak üç grupta incelenir. İntergenik bölgeler ise genomun %75'ini oluştururlar. Bunun %60'ını ardışık DNA tekrarları (mikro-satellitleri, mini-satellitleri ve satellitleri) oluştururken geri kalan %40'ını ise genoma serpiştirilmiş kısa (SINE) ve uzun (LINE) DNA tekrarları oluşturur (3).

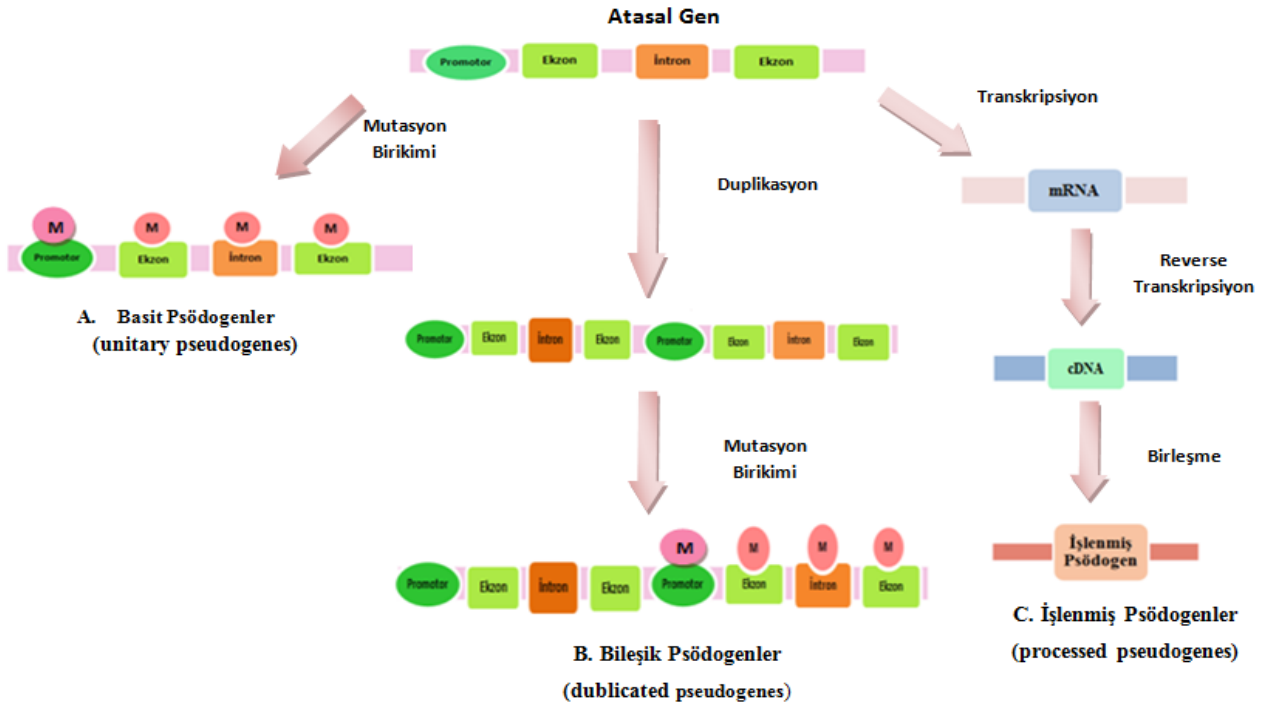
Psödogenler, promotör bölgelerindeki delesyon, insersiyon, çerçeve kayması gibi mutasyon veya zamanından önce stop kodonu bulundurma sonucu fonksiyonel proteinini kodlamayan gen benzeri (sahte) bölgelerdir. Bu yüzden psödogenler çoğalma seçilimi altında bulunmazlar. İlk olarak 1977'de Jacq ve arkadaşlarının *Xenopus laevis*'in homolog 5S genomik DNA sekansından transkribe olmayan bir grubun varlığını rapor etmeleriyle keşfedilmiş ve daha sonra yapılan çalışmalar, bu transkribe

olmayan grupların prokaryotlardan ökaryotlara birçok canlıda var olduğunu ortaya çıkarmıştır (4-6). Genomik dizileri atasal gene çok benzese de psödogenler bir şekilde ürüne dönüşme fonksiyonlarının kaybı ile meydana gelen bu eski genlerin kalıntıları olarak görülmüştür. Hiçbir fonksiyonunun olmadığı düşünülerek gerçek genlerin taklitçisi bu genlere psödogenler "sahte genler" adı verilmiştir. Fakat, son yapılan çalışmalarda ise, bu genlerin geliştirilmesi ile bazı hastalıkların patolojisinde rol alabilecekleri gösterilmiştir (6).

Psödogenler üretildikleri mekanizmalara göre 3 gruba ayrılır.

1. Tek kopya psödogenler (unitary pseudogenes)
2. Tekrarlayan psödogenler (duplicated pseudogenes)
3. İşlenmiş psödogenler (processed pseudogenes)

Tek kopya psödogenler (unitary pseudogenes) atasal genlerde rastgele mutasyonların birikimi sonucu transkripsiyon ve translasyon mekanizmalarının bozulmasıyla oluşur. Bu tarz psödogenlerden "atadan kalma, kalıntı, evrimsel atık vb..." olarak ta bahsedilmektedir (**Şekil 1A**). Tekrarlayan psödogenler (duplicated pseudogenes) ise yanlış gen dublikasyonu ile gen bölgesinin enhansır ve promotörlerinin bozulmasıyla veya çerçeve kayması mutasyonu, erken stop kodonu oluşumu ile gen bölgesinin fonksiyonunu kaybetmesiyle meydana gelir. Atasal genoma yakın bir bölgede bulunurlar (**Şekil 1B**). İşlenmiş psödogenler (processed pseudogenes) mRNA'dan köken alırlar. Protein kodlayan gen bölgesinin transkripsiyonu sonucu meydana gelen mRNA'nın ters transkriptaz enzimi ile cDNA'ya dönüşüp genomda yeni bir lokasyona yerleşmesi ile oluşur (**Şekil 1C**). Atasal genden uzakta olabilen işlenmiş psödogenler tek kopya ve tekrarlayan psödogenlerden farklı olarak intron bölgesi içermezler (6, 7).



Şekil 1. Psödogen oluşum mekanizması A. Basit Psödogenler (Unitary Pseudogenes), B. Bileşik Psödogenler (Duplicated Pseudogenes), C. İşlenmiş Psödogenler (Processed Pseudogenes)

Psödogenlerin Fonksiyonları

Birçok canlı grubunda bulunan bu genler kendi kendilerini DNA'nın içine ekliyor ve nesilden nesile aktarılıyorlar. Ama, neden minimum enerji prensibi ile yönetilen hücreler hiçbir fonksiyona sahip olmayan bu taklitçi genleri bir sonraki nesle aktarmak için enerji harcıyor (8). Bilinenin aksine psödogenler, mRNA seviyesinin düzenlenmesi ve genetik çeşitliliğe kaynak oluşturmak gibi birçok önemli fonksiyona sahiptirler. Örneğin, psödogenler genetik çeşitliliğe antikor-antijen varyasyonlarının ortaya çıkması sürecinde kaynaklık ederler. Ayrıca, ATP bağlayıcı kaset taşıyıcısının (ABCC6) psödogeni olan ABCC6P-1'in bozulması, ABCC6 mRNA'sının ekspresyonunda azalmaya neden olur (9). Bilinen birçok psödogeni olan, Oct4 ise, kök hücrelerde transkripsiyon faktörü olarak

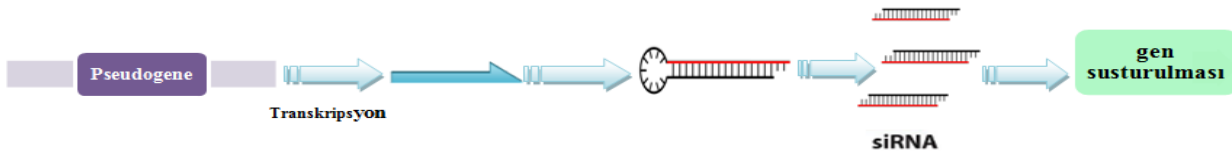
görev yapar. Oct4P1 psödogeninin aşırı ekspresyonu mezenşimal kök hücre farklılaşmasının inhibisyonuna yol açar (10). Son yıllarda psödogen ile ilgili yapılan çalışmalarda özellikle kanser gibi hastalıkların oluşum sürecinde ve organizmanın büyümesinin düzenlenmesinde önemli fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar ışığında psödogenler kısa peptit veya protein üretebilmekte, miRNA tuzağı olarak görev yapmakta, siRNA üretiminde kullanılıp genleri susturabilmekte ve antisense düzenlenmesinde rol almaktadır (6).

siRNA üretimi

İn vitro olarak sentezlenen siRNA'lar, 20-25 baz çifti uzunluğunda small interfering RNA veya short interfering RNA olarak adlandırılır. Hücre içinde 'Dicer' enzimleri tarafından tanınır ve yaklaşık 21-23 nükleotidlik istenmeyen miRNA'ları susturabilen ya da istenmeyen bir proteinin ifadesini bastırabilen küçük parçalara dönüştürülür (11). siRNA'lar iki önemli mekanizma ile psödogenlerden elde edilebilmektedir. İlki psödogenin saç tokası şeklinde bir yapı oluşturarak dicer proteini tarafından kesilmesi ile meydana gelir (**Şekil 2**). İkincisi ise bir mRNA tarafından biçimlendirilen çift zincirli RNA dubleksi ve onun ters transkribe edilmiş psödogeninden elde edilmesi şeklindedir. Böylece psödogen kökenli siRNA'lar RNA interferans mekanizması aracılığıyla atasal genleri düzenleme

yeteneğine sahip olabilirler (6). siRNA'ların üretimi için gerekli olan bir protein olan dicer kaybı psödogen türevi siRNA'ların seviyesinde bir azalmaya ve siRNA dizileri ile homologisi olan mRNA kodlayan genin ekspresyonunda bir artışa neden olur. Bu iddia, dsRNA'lardan gelen siRNA'ların gen ekspresyonunu baskılama yeteneğini kanıtlamaktadır (12). Örneğin; AU76 psödogeninden üretilen RNA'nın saç tokası şeklini alarak siRNA'ya dönüşmüş hali atasal kodlanan Rangap1 geninin ekspresyonunu inhibe etmektedir (13).

Örneğin Ppp4r1'den (protein fosfat kodlayıcı) üretilen bir mRNA ile bu gene yüksek homolojiyle benzer bir psödogenin antisense mRNA'sından üretilen siRNA'ların Ppp4r1'in ekspresyonunu baskıladığı görülmüştür (13).

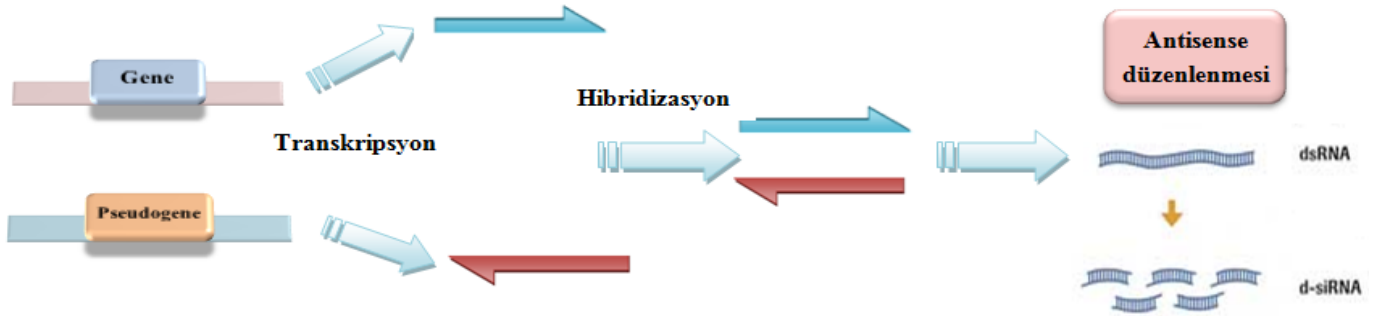


Şekil 2. Psödogenin siRNA üretimi fonksiyonu ile gen ekspresyonunu düzenlenmesi

Antisense psödogenler

İşlenmiş psödogenler genoma yerleşirken bazen promotörün ters yönlendirme vereceği şekilde antisense ipliğe yerleşebilir (**Şekil 3**). Antisense transkribe yol açan bu gen atasal genle önemli bir benzerlik taşırsa orijinal kodlanan genin anlamlı mRNA'sı ile hibridize olabilir (14, 15). Bu tür bir etkileşim nNOS (nöral nitrik oksit sentaz) mRNA'sı ve antisense yönünde transkribe edilmiş bir psödogenin mRNA'sı arasında gerçekleşmiştir (16). *Lymnea stagnails* salyangozunun benzer nöronları üzerinde yapılan bir çalışmada nNOS enzimini

kodlayan gen ile ilişkili psödogenin eş zamanlı kodlanması nNOS translasyonunda bir azalma ve iki iplik arasında dubleks bir yapının oluşmasına neden olmuştur (16). Benzer bir durum Oct4 içinde geçerli olup antisense yönünde üretilen Oct4'ün psödogenin transkripti bloke edildiğinde bu kez Oct4 ekspresyonunda bir azalmaya neden olmaktadır (17).



Şekil 3. Psödogenlerin bir sense konumlu gen ile bir antisense konumlu psödogeninhibridizasyonu sonucu siRNA üretimi ile gen ekspresyonunu düzenlemesi

miRNA tuzakları

miRNA'lar aslında mRNA'nın komplementeri olan ve üzerlerindeki transkribe edilmemiş 3' bölgelerini (3' UTR) hedefleyen, kısa kodlanmayan RNA'lardır. Bağlandıkları mRNA'da translasyonel baskıyla o mRNA'nın susturulmasına neden olurlar (6). Psödogenler miRNA'ların bağlandıkları hedefler olan mRNA'lara komplementer yapıda sekans içerebilir ve miRNA'lar için tuzak olarak görev alabilirler. Susturmak için mRNA'lara bağlanmak üzere gelen miRNA'lar fonsiyonel mRNA'lar yerine transkribe edilmiş psödogenlere bağlanırlar (6). miRNA tuzak mekanizmasına bir örnek ise bir tümör süpresör olan PTEN'dir. Bu yüzden PTEN proteininin seviyesinin düzenlenmesi tümör oluşumunu önlemek için önemlidir. PTENP1, PTEN tümör baskılayıcı genin psödogeni olup yüksek seviyede transkribe edilir (5). PTENP1'in transkriptinin nakavtı PTEN mRNA'sının seviyesinin ve dolayısıyla proteininin azalmasına neden olurken, PTENP1'in 3' UTR'si ile transfekte olmuş hücrelerde PTEN'nin ekspresyon seviyesi artmıştır. PTEN psödogeninin bir miRNA tuzağı gibi görev yapması miRNA'ların hücresel konsantrasyonunun etkisini düzenleyerek miRNA aracılı baskıdan PTEN'nin kaçmasına olanak sağlamıştır. Bu bulgular daha sonra yapılan sporadik kolon kanseri ve prostat kanseriyle ilişkili olan bulgularla tutarlılık göstermiştir. KRAS onkogeni ve

onun psödogeni olan KRASP1 arasında da benzer ilişki tespit edilmiştir (5).

Kısa Peptit veya Protein Üretme

Bilinen genel özelliklerinin aksine bazı psödogenlerin kısa peptit veya protein üretebilme yeteneğine sahip olduğuda gösterilmiştir. Sadece insan, şempanze ve makakları kapsayan primatlarda Fosfogliserat mutaz ailesi 3 (PGAM3) psödogeninin, ilk kez, protein kodlayan bir psödogen olduğu ortaya çıkartılmıştır (18). Polimorfizm ve ekspresyon dataları PGAM3 geninin protein üretme yeteneğini onaylayıncaya kadar, PGAM3 geninin upstream bölgesinde promotör benzeri diziler bulunmasına rağmen fonsiyonel ürünlerinin bulunmadığı düşünülmekteydi (18, 19). İşlenmiş psödogenlere benzer olarak, PGAM3 geninin, Menkes hastalığı geninin (MNK) retrotranspozon ve antisensi tarafından PGAM1 den köken aldığı bildirilmiştir (19). Eksprese olarak protein üretme yeteneğine sahip bir diğer psödogen, insanda konneksin 43 proteinini üretmektedir. Yapılan çalışmalar 43 kDa olan bu proteinin tümör hücrelerinde hücre büyümesini durdurma yeteneğinin olduğunu göstermiştir (20). Psödogenler ile alakalı bu bulgular bu genleri gerçekten "psödo=sahte" olarak adlandırma konusunda soru işaretine sebep olmaktadır (6).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Psödogenler uzun bir dönem, genomun büyük çoğunluğunu oluşturan fonksiyonel olmayan genler olarak adlandırıldı. Ancak yeni nesil dizileme çalışmaları ve diğer teknolojik gelişmeler yardımıyla gelişen deneysel araştırmalar sayesinde, psödogenlerin fonksiyonları üzerine çalışmalar yapılmış ve gen ekspresyonlarını düzenledikleri gözlenmiştir. Bu sayede kodlayıcı olmayan dizilerin önemi anlaşılmıştır. Devam eden ve ileride yine teknolojinin gelişmesiyle yapılacak olan çalışmalar, birçok yeni özelliğinin de keşfedilmesini sağlayacaktır. Ayrıca moleküler çalışmalar olmadan önce sahte zannedilen bazı genlerinde sahte olmadığını, bizim genin fonksiyonunu anlayabilmemiz için araştırma yapmamız gerektiği görülmüştür. Sonuç olarak, atasal genlere (multigen ve süper gen aileleri) göre sahte olarak tanımlanan ve "Psödo" sıfatını alan bu genlere, gerçek fonksiyonlarını tanımlayan yeni bir isim verilmesi gerekliliği bilim insanları tarafından tartışılmaktadır.

REFERANSLAR

1. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953;171(4356):737-8.
2. Kasap M. Gen İfadesinin Kontrolü. In: Kasap H, editor. *Tıbbi Biyoloji ve Genetik*. Adana: Nobel Kitap Evi; 2010. p. 231-8.
3. Kasap H. Genom Organizasyonu: DNA Dizileri ve Kromozom. . In: Kasap H, editor. *Tıbbi Biyoloji ve Genetik*. Adana Nobel Kitap Evi; 2010. p. 239-63.
4. Jacq C, Miller JR, Brownlee GG. A pseudogene structure in 5S DNA of *Xenopus laevis*. *Cell*. 1977;12(1):109-20.
5. Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature*. 2010;465(7301):1033-8.
6. Li W, Yang, Wei ve Wang, Xiu-jie. . Pseudogenes: Pseudo or Real Functional Elements? *Journal of Genetics and Genomics* 2013;40:171-7.
7. Xiao-Jie L, Ai-Mei G, Li-Juan J, Jiang X. Pseudogene in cancer: real functions and promising signature. *Journal of medical genetics*. 2015;52(1):17-24.
8. Pink RC, Wicks K, Caley DP, Punch EK, Jacobs L, Carter DR. Pseudogenes: pseudo-functional or key regulators in health and disease? *Rna*. 2011;17(5):792-8.
9. Piehler AP, Hellum M, Wenzel JJ, Kaminski E, Haug KB, Kierulf P, et al. The human ABC transporter pseudogene family: Evidence for transcription and gene-pseudogene interference. *BMC genomics*. 2008;9:165.
10. Lin H, Shabbir A, Molnar M, Lee T. Stem cell regulatory function mediated by expression of a novel mouse Oct4 pseudogene. *Biochemical and biophysical research communications*. 2007;355(1):111-6.
11. Ecevit H, Motor S, İzmirli M. Genden Tedaviye Yeni Yaklaşımlar: Kodlanmayan Nükleik Asitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*. 2013;13(4):26-34.
12. Tam OH, Aravin AA, Stein P, Girard A, Murchison EP, Cheloufi S, et al. Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes. *Nature*. 2008;453(7194):534-8.
13. Watanabe T, Totoki Y, Toyoda A, Kaneda M, Kuramochi-Miyagawa S, Obata Y, et al. Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature*. 2008;453(7194):539-43.
14. Pink RC, Carter DR. Pseudogenes as regulators of biological function. *Essays in biochemistry*. 2013;54:103-12.
15. McCarrey JR, Riggs AD. Determinator-inhibitor pairs as a mechanism for threshold setting in development: a possible function for pseudogenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986;83(3):679-83.
16. Korneev SA, Park JH, O'Shea M. Neuronal expression of neural nitric oxide synthase (nNOS) protein is suppressed by an antisense RNA transcribed from an NOS pseudogene. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 1999;19(18):7711-20.
17. Hawkins PG, Morris KV. Transcriptional regulation of Oct4 by a long non-coding RNA antisense to Oct4-pseudogene 5. *Transcription*. 2010;1(3):165-75.
18. Betran E, Wang W, Jin L, Long M. Evolution of the phosphoglycerate mutase processed gene in human and chimpanzee revealing the origin of a new primate gene. *Molecular biology and evolution*. 2002;19(5):654-63.
19. Dierick HA, Mercer JF, Glover TW. A phosphoglycerate mutase brain isoform (PGAM 1) pseudogene is localized within the human Menkes disease gene (ATP7 A). *Gene*. 1997;198(1-2):37-41.
20. Kandouz M, Bier A, Carystinos GD, Alaoui-Jamali MA, Batist G. Connexin43 pseudogene is expressed in tumor cells and inhibits growth. *Oncogene*. 2004;23(27):4763-70.