

DNA Metilasyonu

DNA Methylation

Müzeyyen İzmirli¹, Turan Tufan², Davut Alptekin²

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ADANA

Arşiv Kaynak Tarama Dergisi (Archives Medical Review Journal) 2012; 21(4):274-282

ABSTRACT

Methylation is a chemical reaction in biological systems for normal genome regulation and development. It is a well known type of epigenetic mechanism. Methylation which regulates gene expression via epigenetic events like gene activation, repression, and chromatin remodelling, consists of two methylation systems. One of these systems is DNA methylation whereas the other is protein (histone) methylation. These systems are associated with some fundamental abnormalities and diseases. This review highlights the role of methylation in normal genome function, how it can be arranged and which diseases it cause. Furthermore, the role of methylation in some diseases and its functions in epigenetic mechanism has been reviewed.

Key Words: Methylation, DNA methylation, Histone Methylation

ÖZET

Metilasyon, biyolojik sistemlerde, genomun normal olarak düzenlenmesini ve gelişmesini sağlayan kimyasal bir reaksiyondur. Epigenetik mekanizmanın en iyi bilinenidir. Gen aktivasyonu, baskılanması ve kromatin şekillenmesi gibi epigenetik olaylarda yani gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlayan metilasyon, iki sistem içermektedir. Bu sistemlerden biri DNA metilasyonu diğeri ise protein (histon) metilasyonudur. Bunlar bazı yapısal anomaliler ve hastalıklar ile ilişkilidir. Bu derleme, metilasyonun genomdaki fonksiyonunu, nasıl düzenlendiğini ve hangi hastalıklara neden olduğunun altı çizilmiştir. Ayrıca metilasyonun hastalıklardaki rolü ve epigenetik mekanizmalardaki fonksiyonu anlatılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Metilasyon, DNA metilasyonu, Histon Metilasyonu

Metilasyon, biyolojik sistemlerde, genomun normal olarak düzenlenmesini ve gelişmesini sağlayan kimyasal bir reaksiyondur. Epigenetik mekanizmanın en iyi bilinenidir¹. Gen aktivasyonu, baskılanması ve kromatin şekillenmesi gibi epigenetik olaylarda yani gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlayan metilasyon, iki sistem içermektedir¹⁻³. Bu sistemlerden biri DNA metilasyonu diğeri ise protein (histon) metilasyonudur. Bunlar bazı yapısal anomaliler ve hastalıklar ile ilişkilidir. Bu yüzden bu derleme, metilasyonun genomdaki fonksiyonunu, nasıl düzenlendiğini ve hangi hastalıklara neden olduğunu altını çizmektedir. Bu makalede ayrıca metilasyonun hastalıklardaki rolü ve epigenetik mekanizmalardaki fonksiyonu anlatılmıştır.

Metilasyon

Metilasyon, bir kimyasal bileşiğe, metil grubunun (CH₃) eklenmesidir. Kimyasal bir reaksiyon olan bu işlem biyolojik sistemlerde de gerçekleşir ve neticesinde gen ifadesini, protein işlevlerini denetler, ağır metallerin değişikliğe uğratılmasında ve RNA metabolizmasında rol oynar¹.

Metilasyon organizmada protein metilasyonu ve DNA metilasyonu olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir.

Protein Metilasyonu

Protein metilasyonu proteini meydana getiren aminoasitlerden arjinin ve lizin aminoasitlerine metil grubunun eklenmesi ile gerçekleşir. Arjinini metilleyen enzim peptidilarjinin metiltransferaz olarak adlandırılır. Bu enzim arjinini bir ya da iki kez metilleyebilir. Dimetillenme aminoasitin ya iki metil grubunun aynı azot atomuna (asimetrik dimetil) ya da ayrı ayrı azot atomlarına birer metil gruplarının (simetrik dimetil) eklenmesi şeklinde olur. Lizin aminoasitine metil ekleyen enzim ise lizin metiltransferaz olarak adlandırılır. Lizin üç kereye kadar metillenebilmektedir (hipermetilasyon). Protein metilasyonu en çok histon proteinleri için çalışılmış bir sistemdir ve genellikle histon metilasyonu olarak anılırlar. S-Adenozil metiyoninden metil grupları histon metiltransferazlar (HDAC) tarafından histonlara aktarılır.

Burada histon proteinlerine 1, 2 veya 3 tane metil grubu (mono, di, tri metilasyon) eklenerek metillenirler. Bir genin ifade edilip edilmeyeceğini o geni açık veya kapalı konuma (switch on- switch off) getiren olay, bu ve benzeri modifikasyonlardır. Açık/kapalı gen setleri bulunduğu hücre tipine göre farklılık gösterir. Histon 3 kuyruğundaki metilasyonunun epigenetik düzenlemede çok önemli bir rolü vardır. Histon 3 lizin 4 (H3K4) tri-metilasyonu ökaryotlarda promotör bölgelerini belirler. Sonuç olarak, histonların metillenmesi gen ifadesini açık ya da kapalı konuma getirerek gen ürününün oluşup oluşmamasını denetler^{2,3}.

DNA Metilasyonu

Omurgalılarda tipik olarak CpG (C;sitozin-P;fosfat-G;Guanin) bölgelerine DNA metiltransferaz enzimi ile bir metil grubunun bağlanması neticesinde gerçekleşir. Metil grubu DNA'nın sitozin bazının pirimidin halkasının 5 numaralı karbonuna eklenir. Neticede 5 metil sitozin oluşur ve burada metil vericisi olarak yine S-Adenozil Metiyonin (SAM) görev yapar. Omurgalı genomunda CpG bölgeleri dediğimiz alanlar özellikle gen promotör bölgelerinde, yani genin başlangıcında normalden daha fazla bulunurlar. Bir nevi, genin başlangıcı CpG adacıkları tarafından işaretlenmiştir ve buraya bağlanacak moleküller için tanınma bölgesi oluşturur^{4,5}.

Metilasyon Mekanizmasında Görev Alan Moleküller

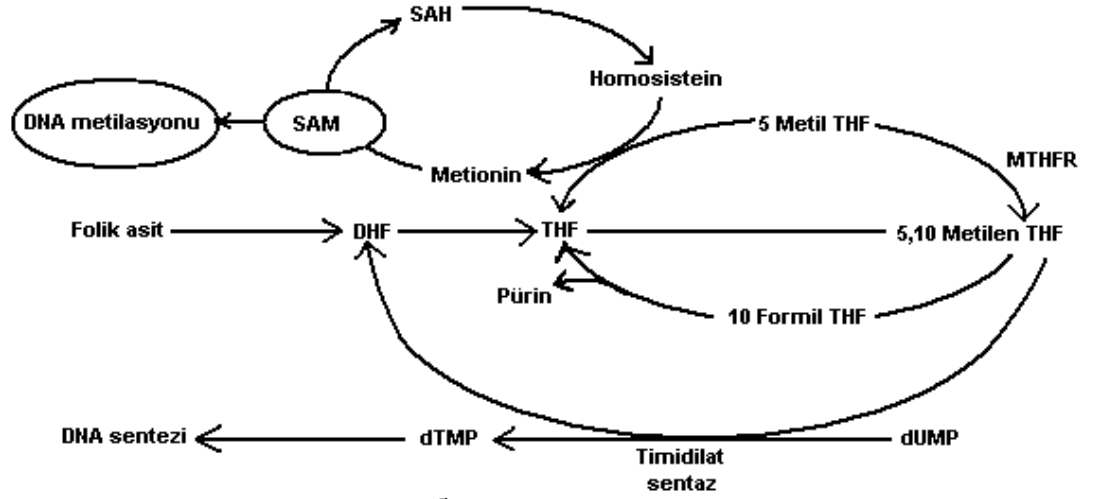
Metiltransferazlar

DNA'daki CpG adalarına metil grubu ekleyen enzim DNA metiltransferaz (DNMT) olarak adlandırılır. Memelilerde, DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B olarak adlandırılan üç tane DNA metil transferaz vardır⁶.

Peptidilarginin metiltransferaz ve lizin metiltransferaz enzimleri de protein moleküllerine metil grubu ekleyen enzimlerdir. İsimlerindende anlaşılacağı gibi, peptidilarginin metiltransferaz argini aminoaisitine, lizin metiltransferaz ise lizin aminoaisitine metil grubu bağlar⁶.

S-Adenozil Metiyonin (SAM)

Metil vericisi olarak görev yapan SAM, homosistein metabolizmasının ilk başmağını oluşturan moleküldür. SAM, esansiyel bir aminoasit olan metiyoninden meydana gelir ve S-adenozil homosisteine (SAH) dönüştürülür (Şekil 1). Bu da homosistein ve adenozin olarak hidrolize olur. Metiyoninin duruma bağlı olarak eksikliği ya da fazlalığı bu yolağın transsülfürasyon yolağına ya da remetilasyon yolağına girmesine neden olur⁶. Metiyonin depoları yeterli ise, homosistein B6 vitaminine bağımlı bir enzim olan sistatyon beta sentaz (CBS) ve γ -sistatyoninazın kataliz ettiği reaksiyonlarla sisteine dönüştürüleceği transsülfürasyon yolağına girer. Metiyoninin korunması gerekiyor ise, remetilasyon yolağına girer. Bu yolda ilk olarak, vitamin B12 bağımlı bir enzim olan metiyonin sentaz (MS) homosisteinden bir metil grubu 5-metiltetrahydrofolata aktararak, homosisteininin 5-metiltetrahydrofolata dönüşümünü sağlar. İkinci basamakta; 5-metiltetrahydrofolat, vitamin B2 kofaktörü eşliğinde metilen tetrahydrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi ile 5,10 metilen tetrahydrofolata dönüştürülür. Bir diğer metilasyon yolağında ise metil vericisi olarak betain kullanılır ve reaksiyonu betainhomosistein metiltransferaz (BHMT) enzimi katalize eder⁷.



Şekil 1. DNA metilasyonu mekanizması⁷.

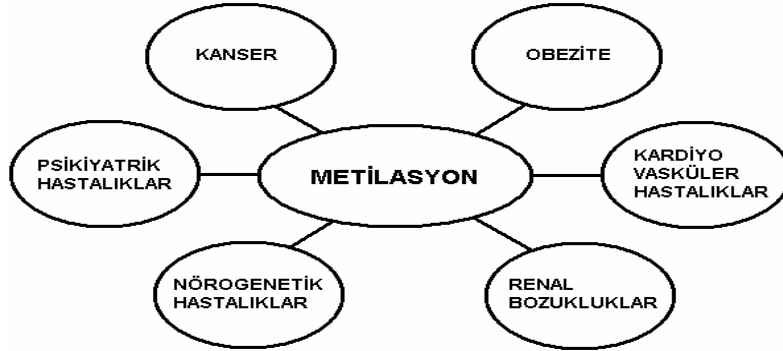
Metilasyonun Fonksiyonları

Omurgalılarda, zigotun oluşumundan sonra, ilk sekiz hücreli olduğu dönemde yani zigotun totipotent kök hücre olduğu ve her türlü hücreye dönüşebildiği dönemde canlının genomu metil içermemektedir. Metillenme bu aşamadan sonra başlar ve blastula aşamasında tamamlanır. Bu dönemden sonra metilasyon çevresel faktörlerle de etkileşerek gen ifadesine etki eder. Neticede interlökin sinyalizasyonunu denetler, kanser oluşumuna etki eder. Metilasyonun görev aldığı sistemlerden bir diğeri ise bakterilerin konak savunmasıdır. Burada bakteriler metilli ve metilsiz genomları kendine belirteç olarak belirleyip, genomun kendisinini yoksa yabancı bir konağamı ait olduğunu ayırt etmekte kullanırlar. Metilasyonun en çok bilinen fonksiyonlarından biri de DNA replikasyonu neticesinde meydana gelen eski ve yeni ipliklerin ayırımında da rol almaktadır. Metillenmiş DNA aktif durumda değildir, metil grubunu kaybettikten sonra aktif hale gelmektedir. Daha öncede bahsettiğimiz gibi metillenme DNA'nın CpG adacıklarında meydana

gelmektedir. Bu durum yalnızca embriyonik kök hücrelerde böyle değildir. Embriyonik kök hücrelerde metillenme CpG adacıkları dışında meydana gelmektedir. X kromozomunun inaktivasyonu yine metilasyon mekanizması ile açıklanmaktadır. Metilasyon sadece gen bölgelerinde değil aynı zamanda gen içermeyen perisentromerik heterokromatin bölgeleri gibi alanlarda da gözlenmektedir. Buradaki metilasyon kromozomun yapılanması ve bu yapının bozulmamasını sağlamakla ilgilidir. Ayrıca hareketli genetik elementlere karşı da defans gösteren bir mekanizma olan metilasyon, imprint olan genlerin ekspresyonu için de kritik bir role sahiptir⁸.

Metilasyon Mekanizmasındaki Bozukluklar ve İlişkili Hastalıklar

Metilasyon ile ilgili genlerdeki mutasyonların ortaya çıkması ya da metilasyon mekanizmasının bozulması neticesinde organizmanın işleyişinde tanımlanan bir kısım bozukluklar vardır. Bunlardan biri olan metil transferaz DNMT3B genindeki mutasyon böyle bir bozulmaya neden olur ve sonuçta ICF (Immundeficiency Centromere, Facial anomalies) sendromu ortaya çıkar. ICF hastalarında satellit DNA'larda hipometilasyonun olduğu gözlenmiştir⁹. Mental retardasyon ve otistik davranışlar ile karakterize olan Rett sendromu, X kromozomu ile ilişkili bir hastalıktır. X kromozomundaki MeCP2 genindeki mutasyon neticesinde gerçekleşir. Bu genin ürünü CpG bölgelerine bağlanan bir proteindir ve bildiğimiz gibi bu bölgeler aynı zamanda metil bağlanan bölgelerdir ve mutasyonu organizmada metilasyon problemlerine neden olur¹⁰. Metilasyon problemleri neticesinde gerçekleştiği gösterilen diğer hastalıklar olarak Beckwith-Wiedemann sendromu (BWS)¹¹, Prader Willi Sendromu (PWS)¹² ve Angelman Sendromu (AS)¹³ sayılabilir. Tüm bunlara ilave olarak metilasyon anomalileri kardiyovasküler hastalıklar¹⁴ ve kanser¹⁵ ile de ilişkili bulunmuştur (Şekil 2).



Şekil 2. Metilasyon ve ilişkili olduğu hastalıklar

Diğer taraftan bazı araştırmalar davranış, stres gibi duygu durumu ile ilgili hastalıkların da epigenetik faktörlerden etkilendiğini göstermiştir. Bebek-anne arasındaki ilişkinin, bebeğin ruhsal gelişimi ve stres koşulları ile baş edebilme becerilerini etkilediği, yapılan deneysel çalışmalarda göstermiştir¹⁶. Yapılan diğer çalışmalarda da metilasyonun; obezite, endokrin sistem hastalıkları¹⁷ ve renal bozukluklar (18) ile de ilişkisi gösterilmiştir.

Sonuç

Metilasyon en çok çalışılmış ve etkisi araştırılmış bir epigenetik mekanizmadır. Pek çok moleküle ve bu moleküllerin dahil olduğu sistemdeki bozukluklar ile de bağlantılı bir olaydır. Özetle, bir hastalığın tedavi protokolü ayarlanırken yalnızca eksik veya hatalı olan moleküllerin giderilmesi ya da eklenmesi ile ilgili bir süreç değil de bu süreçleri etkileyen epigenetik mekanizmaların iyi anlaşılacak şekilde kişiye özgü tedavilerin belirlenmesi önemli bir konudur.

Kaynaklar

1. Mann MRW, Bartolomei MS. Epigenetic reprogramming by maternal behaviour and pharmacological intervention nature versus nurture; let's the whole thing off. *Epigenetics* 2007; 2:22-8.
2. Grewal SI, Rice JC. Regulation of heterochromatin by histone methylation and small RNAs. *Curr Opin Cell Biol.* 2004; 16:230-238.
3. Nakayama J, Rice JC, Strahl BD, Allis CD, Grewal SI. Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. *Science.* 2001; 292(5514):110-113.
4. Bird A. I λ 2 transcription unleashed by active DNA demethylation. *Nat Immunol.* 2003; 4:208-9.
5. Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res.* 1998; 72:141-96.
6. Costello JF, Plass C. Methylation matters. *Med Genet.* 2001; 38:285-303.
7. Izmirli M, Alptekin D, Topcuoğlu MS, Güzel AI. Investigation of Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in coronary by-passed patients due to coronary atherosclerosis etiology. *Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci.*2009; 21:303-8.
8. Kazazian HH, Moran JV. The impact of L1 retrotransposons on the human genome. *Nat Genet.* 1998;19:19-24.
9. Ballestar E. An introduction to epigenetic. *Adv Exp Med Biol.* 2011; 711:1-11.
10. Van Den Veyver IB, Zoghbi HY. Methyl-CpG-binding protein 2 mutations in Rett syndrome. *Curr Opin Genet Dev.* 2000; 10:275-9.
11. Maher ER, Reik W. Beckwith-Wiedemann syndrome: imprinting in clusters revisited. *J Clin Invest.* 2000; 105:247-52.
12. Nicholls RD, Saitoh S, Horsthemke B. Imprinting in Prader-Willi and Angelman syndromes. *Trends Genet.* 1998; 14:194-200.
13. Tycko B. Epigenetic gene silencing in cancer. *J Clin Invest.* 2000; 105:401-7.
14. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinsen K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 1996; 27:517-27.
15. Stern LL, Mason JB, Selhub J, Choi SW. Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the Methylene tetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000; 9:849-53.
16. Green J, Goldwyn R. Annotation: Attachment disorganisation and psychopathology: New findings in attachment research and their potential implications for developmental psychopathology in childhood. *J Child Psychol Psychiatry.* 2002; 43:835-46.
17. Seki Y, Williams L, Vuguin PM, Charron MJ. Minireview: Epigenetic programming of diabetes and obesity: animal models. *Endocrinology.* 2012; 153:1031-8.

18. Sapienza C, Lee J, Powell J, Erinle O, Yafai F, Reichert J, Siraj ES, Madaio M. DNA methylation profiling identifies epigenetic differences between diabetes patients with ESRD and diabetes patients without nephropathy. *Epigenetics*. 2011; 6:20-8.

Yazışma Adresi:

Dr. Müzeyyen İzmirli
Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
İSTANBUL

e-mail: muzeyyenizmirli@gmail.com