

## İMPRİNTİNG MERKEZLERİ

Ajlan Tükün\*

### ÖZET

*Imprinting, bir genin parental kökenine bağlı olarak yalnızca bir kromozomda ifade bulmasıdır. Beckwith-Wiedeman sendromu, Prader-Willi sendromu, Angelman sendromu, Russel-Silver sendromu ve Albright herediter osteodistrofisi gibi bazı hastalıklar yanısıra kanser gelişiminde de imprinting bozukluklarının rolü olduğu bilinmektedir. Imprint genler kromozomlar üzerinde kümeler halinde yerleşir ve birlikte kontrol edilirler. Kontrolü sağlayan bölgelere imprinting merkezleri adı verilir. Imprinting merkezleri, ayırtedici genomik işaretin tanımlanması ve gelişim boyunca bunun sürdürülmesinden sorumludurlar. Imprinting sürecinde rol oynadığı gösterilen farklı mekanizmalar, "imprinting" in, protein sentezini kontrol eden basit mekanizmalardan evrimleştiğini düşündürmektedir. Ancak, imprinting merkezlerinin nasıl ve hangi proteinler tarafından tanındığı hala aydınlanmamıştır.*

Anahtar Kelimeler: *Imprinting, Imprinting Merkezi, Prader-Willi Sendromu, Angelman Sendromu, Beckwith-Wiedeman Sendromu*

### SUMMARY

Imprinting Centers

*Imprinting is expression of a gene from only one chromosome in a parent-of-origin dependent manner. The role of imprinting defects in Beckwith-Wiedeman syndrome, Prader-Willi syndrome, Angelman syndrome, Russel-Silver syndrome and Albright hereditary osteodistrophy as well as in progress of cancer is known. Imprint genes localized on chromosomes generally as clusters and are regulated together. Their regulation appears to be mediated by imprinting centers. Imprinting centers are responsible for the establishment of differential genomic marks and the maintenance of these marks through development. Different mechanisms which take place in imprinting process suggest that imprinting has evolved in mammals by using conventional mechanisms of transcriptional regulation. But, it is not clear that how these centers are established and which proteins carry out this process.*

Key words: *Imprinting, Imprinting Center, Prader-Willi Syndrome, Angelman Syndrome, Beckwith-Wiedeman Syndrome*

Genom üzerinde maternal ve paternal katkının eşit olmadığı ilk kez 1984'te bağımsız iki grup tarafından nükleer transfer çalışmaları ile gösterilmiştir (1,2). Uniparental dizomik (UPD) fare modelleri üzerinde yapılan çeşitli çalışmalardan sonra, insanda da bazı kromozomal bölgelerin tek ebeveynden kalıtlarının belli hastalıklar

larla birlikteliği gösterilmiştir. Bunlardan Beckwith-Wiedeman sendromu (BWS), Prader-Willi sendromu (PWS), Angelman sendromu (AS), Russel-Silver sendromu ve Albright herediter osteodistrofisinin imprint genlerle assosiyasyonu kesinleşmiştir (3). Ayrıca, imprint genlerin monoallelik ekspresyonlarının bozulmasının, kanser ile

\* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim Dalı Öğretim üyesi

ilişkili en yaygın mutasyon modelini oluşturabileceği ileri sürülmektedir (3).

"Imprint" genlerin, memeli genomunun yalnızca % 0,1-1'ini oluşturdukları düşünülmektedir (3,4). Ancak, kapladıkları alanın hakettiğinden çok daha fazla ilgi çekmektedirler. Bunun nedeni, imprint genlerin; aynı nükleer çevreyi paylaşan fakat işlevsel olarak birbirinden farklılık gösteren iki alelin birbiri ile karşılaştırılmasına olanak tanıyarak epigenetik faktörlerin etkisi konusunda kusursuz bir model oluşturmasıdır.

Imprinting çok basamaklı bir süreç olarak tanımlanmaktadır (3,4,5):

1. Kromozom, parental orjiniine göre işaretlenir. Bunun, iki alelin birbirinden fiziksel olarak farklı bölümlerde bulunduğu bir dönemde (gametogenez ya da zigotta çekirdek birleşmesi öncesinde) kazanılan bir özellik olduğu öngörülür (3,4).

2. Parental orjine özgü işaret hücre bölünmelerinde ve farklılaşma sürecinde korunur ve sürdürülür.

3. Bu işaret transkripsiyonu gerçekleştiren hücresel birimler tarafından tanınır ve böylece monoalelik ekspresyon sağlanır.

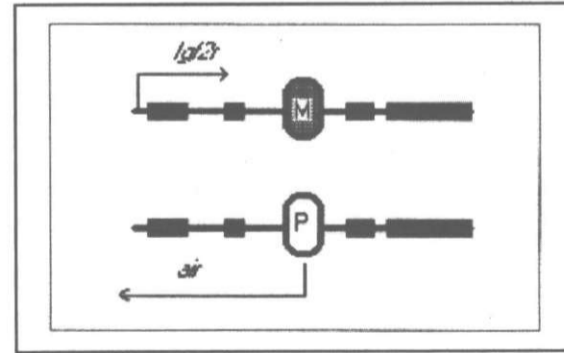
4. Germ hücrelerinde silinerek yeniden uygun şekilde düzenlenir.

İlk işaretin nasıl koyulduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, CpG metilasyonunun işaretleme mekanizması için en güçlü aday olduğu düşünülmektedir. Bisülfid sekanslama, CpG-duyarlı restriksiyon ve *Dnmt1* enzimi defektli olan fare çalışmaları ile imprint genlerde metilasyonun varlığı ve metilasyonun olmaması ile monoalelik ekspresyonun bozulduğu gösterilmiştir. Olay, *cis* ve *trans* etkili faktörlerle yönlendirilir. Ancak, parental orjine özgü kontrolün genler arasında farklılık gösterdiği bilinmektedir (3,4,6,7). Genellikle, metilasyonun genin baskılanmasına yol açtığı düşünülmekle birlikte, bu değişmez bir kural değildir (3,4,5,6). Genellikle, *H19* ve *Snrpn* genlerinde olduğu gibi, bir cis-etkili aktivatörün (promotor, enhancer) modifikasyonu ile imprint gen baskılanırken, bazen *Igf2*'de olduğu gibi cis-etkili represörün (represör bağlayan bölge gibi) modi-

fikasyonu ile imprint gen aktivasyonu kazanmaktadır (4). Gerçekleşen ebeveyne özgü metilasyonunun, embriyonun preimplantasyon döneminde gerçekleşen genel demetilasyondan korunması gerekmektedir (6). Bu nedenle, metilasyon işaretleme için mükemmel çalışsa da, işaretin sürdürülmesi süreci diğer bazı mekanizmaların desteğine gereksinim duymaktadır. Burada, kromatin yapısının en önemli rolü oynadığı bilinmektedir. Kromatinin sessiz formda kalması ile metilasyon, H4 proteininin hipoasetilasyonu ve sıkı kromatin paketlenmesi arasında ilişki olduğu bilinmektedir (6,7,8,9).

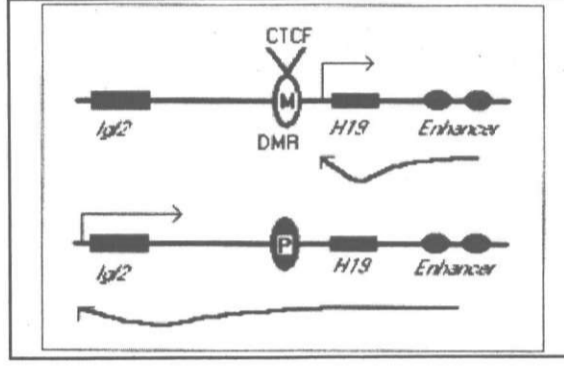
Imprint genin komşuluğundaki diğer genler de olaydan etkilenir. Bu etkilenme metilasyonun bifonksiyonel rolü nedeniyle resiprokal imprinting şeklinde (*AS/PWS* ve *H19/Igf2*) ya da komşu genlerin koordine çalışması şeklinde gerçekleşebilir (3,4). Bu nedenle, imprint genler genellikle kümeler şeklinde yerleşir ve birlikte kontrol edilirler (4). Bu kontrol, imprinting merkezleri (=imprinting centers, IC) ile sağlanmaktadır (6).

Imprinting merkezleri, differansiyel işaretin oluşturulması ve gelişim boyunca bunun sürdürülmesinden sorumlu bölgelerdir. Bu bölgeler delesyon haritaları ile tanımlanmışlardır. Burada temel prensip, imprinting programını aksatan en küçük delesyonun yakalanmasıdır. Yapılan çalışmalar, farklı kümelerin imprinting merkezlerinin farklı yapıda olduklarını ve işleyiş mekanizmalarının birbirinden değişik olduğunu göstermektedir (3,4,5,6).



Şekil 1. *Igf2/air* imprinting merkezi ve çalışması (metile IC içi dolu, metile olmayan IC ise boş yuvarlak olarak gösterilmiştir, M=maternal, P=paternal). Ben-Porath&Cedar, 2000.

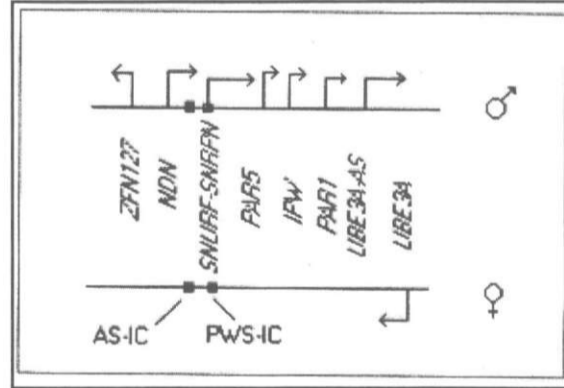




Şekil 3. *H19/Igf2* imprinting merkezi (*H19DMR*) ve insulator etkisi (metile DMR içi dolu, metile olmayan DMR ise boş yuvarlak olarak gösterilmiştir, M=maternal, P=paternal). Ben-Porath&Cedar, 2000.

#### PWS/AS imprinting merkezi

15q11-q13'e lokalize imprint gen kümesi içindeki 4Mbp'lik delesyon ile AS veya PWS'larının geliştiği ve delesyonun AS için maternal ve PWS için paternal kromozomda olduğu bilinmektedir (3,4,6,13). Maternal ekspresyonu olan ve delesyonun aşağı bölgesinde yer alan *UBE3A*'nın AS'u için aday gen olduğu ileri sürülmektedir. Paternal kromozomda ifade bulan altı farklı genin (*ZNF127*, *NDN*, *SNURF/SNRPN*, *PAR5*, *IPW*, *PAR1*) ise delesyonun sentromere yakın bölgesinde lokalize olduğu gösterilmiştir (Şekil 4).

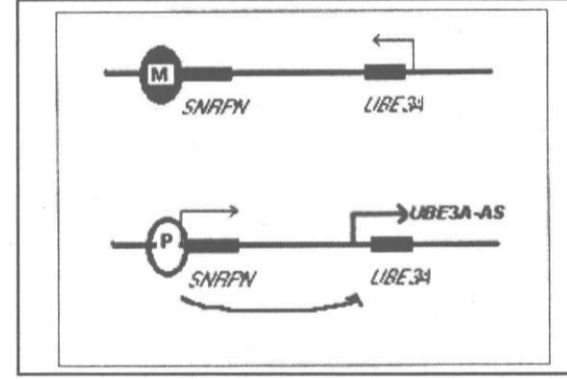


Şekil 4. 15q11-q13'de yer alan imprint gen kümesi. Pfeifer, 2000.

Kümenin ortasında yer alan *SNURF/SNRPN* promotorunun maternal kromozomda, gelişmenin her basamağında hipermetile olduğu gösterilmiştir. Delesyon haritaları *PWS-IC*'nin *SNURF/SNRPN* promotorunu da içine alan

4.3kb'lık bir alan olduğunu düşündürmektedir (3). Maternal alelde promotoru da içine alan bu bölgenin metilasyonu *SNURPN* geninin susturulması ile sonlanır (6). Paternal ifade bulunduğu bildirilmiş olan *UBE3A-AS* transkriptinin, paternal kromozomda *UBE3A*'yı bloke ettiği öne sürülmektedir (Şekil 5). Ancak, son olarak AS'a özgü farklı bir imprinting merkezinin (*AS-IC*) de olduğu bildirilmiştir. Bu merkez, *SNURF/SNRPN* promotorunun yaklaşık 40 kb yukarısında 1.15kb uzunluğunda bir elementtir (Şekil 4). Anneden gelen 15 numaralı kromozomda *AS-IC*'nin delesyonu ile paternal tarzda imprinting oluştuğu gözlenmiştir. Ayrıca, PWS bölgesinin baba, AS bölgesinin ise anne kromozomunda daha gevşek paketlenildiği ve nükleaz duyarlılıklarının farklı olduğu da bildirilmiştir.

Bugüne kadar çalışılan ve yukarıda özetlenen imprinting merkezlerinin yapı ve çalışmalarındaki farklılık ilgi çekicidir. Imprinting için DNA me-



Şekil 5. PWS/AS bölgesinde ekspresyon kontrolü (metile PWS-IC içi dolu, metile olmayan PWS-IC ise boş yuvarlak olarak gösterilmiştir, M=maternal, P=paternal). Ben-Porath&Cedar, 2000.

tilasyonunun önemi açıktır, ancak transkripsiyon üzerine etkisi lokuslar arasında farklılık göstermektedir. Imprinting sürecinde rol oynayan promotor aktivasyonu, insulator fonksiyonu ve kromatin yapılanması gibi modeller, "imprinting" in memelilerde transkripsiyonun bilinen kontrol mekanizmalarından evrimleştiğini düşündürmektedir. Ancak, imprinting merkezlerinin ilk olarak nasıl ve hangi proteinler tarafından tanıdığı hala yanıtlanmamış bir soru olarak varlığını sürdürmektedir.

**KAYNAKLAR:**

1. McGrath J, Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell*, 1984,37:179-83
2. Surani MA, Barton SC, Norris ML. Development of reconstituted eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 1984, 308:548-50
3. Pfeifer K. Mechanisms of Genomic Imprinting. *Am J Hum Genet*, 2000,67:777-87
4. Sleutels F, Barlow DP, Lyle R: The uniqueness of the imprinting mechanism. *Curr Opin Genet Dev*, 2000,10:229-33
5. Fundele RH, Surani MA, Allen ND. Consequences of genomic imprinting for fetal development in Genomic imprinting, eds. W.Reik, A. Surani, IRL press, Oxford, 1997, s.98-112
6. Ben-Porath I, Cedar H. Imprinting: focusing on the center. *Curr Opin Genet Dev*, 2000,10:550-4
7. Robertson KD, Jones PA. DNA methylation: past, present and future directions. *Carcinogenesis*, 2000,21(3):461-7
8. Quimsey MB. Structure and function of the nucleus: anatomy and physiology of chromatin. *CMLS, Cell Mol Life Sci*, 1999,55:1129-40
9. Cheung WL, Briggs SD, Allis CD. Acetylation and chromosomal functions. *Curr Opin Cell Biol*, 2000,12:326-33
10. Neumann B, Wutz A, Smrzka OW, Barlow DP, Lyle R. Imprinting at the mouse and human *IGF2R* loci in Genomic imprinting, eds. W.Reik, A. Surani, IRL press, Oxford, 1997, s.38-52.
11. Bartolome MS. Function and epigenetic modification of the imprinted *H19* gene in Genomic imprinting, eds. W.Reik, A. Surani, IRL press, Oxford, 1997, s.53-69.
12. Kaffer Cr, Srivastava M, Park KY, Ives E, Hsieh S, Battle J, Grinberg A, Huang SP, Pfeifer K. A transcriptional insulator at the imprinted *H19/Igf2* locus. *Genes Dev*, 2000,14:1908-19
13. Horsthemke B. Imprinting in the Prader-Willi/Angelman syndrome region on chromosome 15 in Genomic imprinting, eds. W.Reik, A. Surani, IRL press, Oxford, 1997, s.177-90.