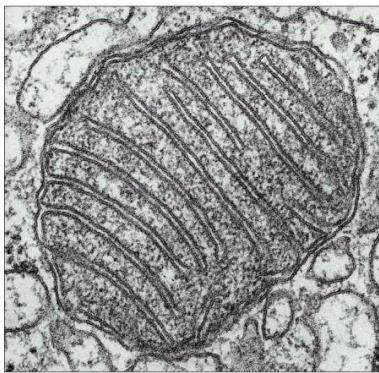


Mitochondrial DNA

Umut Fahrioglu, PhD MSc



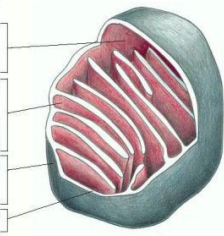
Mitokondri

Matrix. This large internal space contains a highly concentrated mixture of hundreds of enzymes, including those required for the oxidation of pyruvate and fatty acids and for the citric acid cycle. The matrix also contains several identical copies of the mitochondrial DNA genome, special mitochondrial ribosomes, tRNAs, and various enzymes required for expression of the mitochondrial genes.

Inner membrane. The inner membrane (red) is folded into numerous cristae, greatly increasing its total surface area. It contains proteins with three types of functions: (1) those that carry out the oxidation reactions of the electron-transport chain, (2) the ATP synthase that makes ATP in the matrix, and (3) transport proteins that allow the passage of metabolites into and out of the matrix. An electrochemical gradient of H^+ , which drives the ATP synthase, is established across this membrane, so the membrane must be impermeable to ions and most small charged molecules.

Outer membrane. Because it contains a large channel-forming protein (called porin), the outer membrane is permeable to all molecules of 5000 daltons or less. Other proteins in this membrane include enzymes involved in mitochondrial lipid synthesis and enzymes that convert lipid substrates into forms that are subsequently metabolized in the matrix.

Intermembrane space. This space (white) contains several enzymes that use the ATP passing out of the matrix to phosphorylate other nucleotides.



Mitokondri

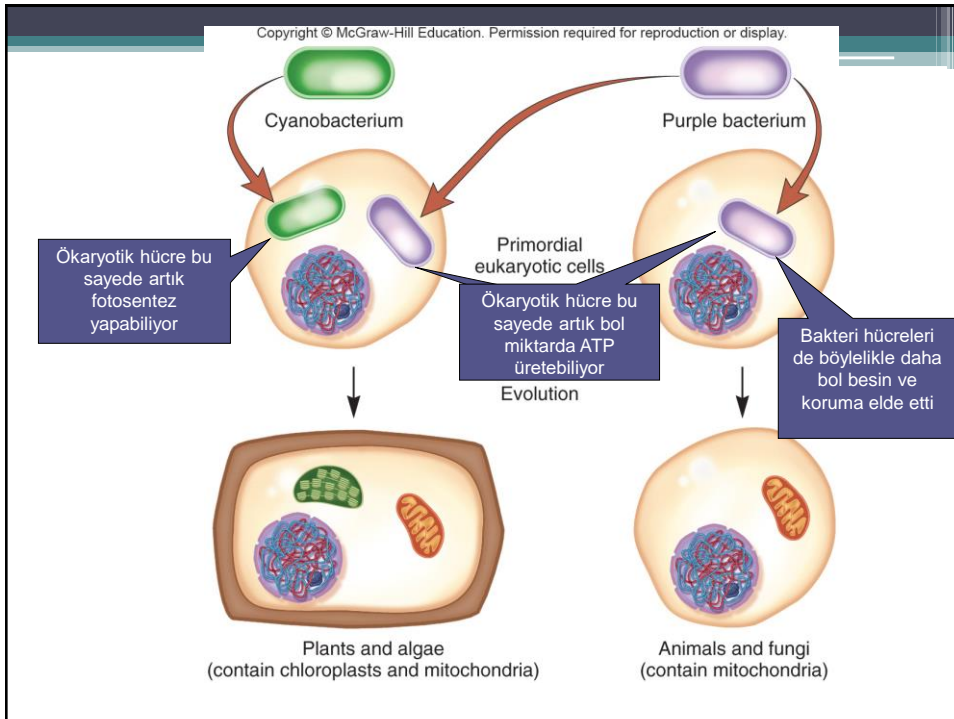
- Şekerlerden, yağlardan ve diğer yakıtlardan oksijen yardımı ile ATP üretme işlemi olan hücresel solunumun merkezidir.
- İki zarla çevrilmiştir (iç ve dış) fakat endomembran sisteminin parçası değildir.
- Zarlardan bir tanesi (iç zar) çok kıvrımlıdır (Bu kıvrımlara kristae denir).
- Mitokondrinin içini dolduran yarı akışkan sıvıya da matriks ismi verilir.
- Ebat olarak bir bakteri hücresi kadardır.
- Kendi DNA ve ribozomlarına sahiptir ve dolayısıyla kendi proteinlerini kodlayıp üretebilir.
- Trikarboksilik asit (TCA) döngüsü, yağ oksidasyonu ve ATP üretimi mitokondri içinde olan reaksiyonlardan bazılarıdır.

Mitokondri devam

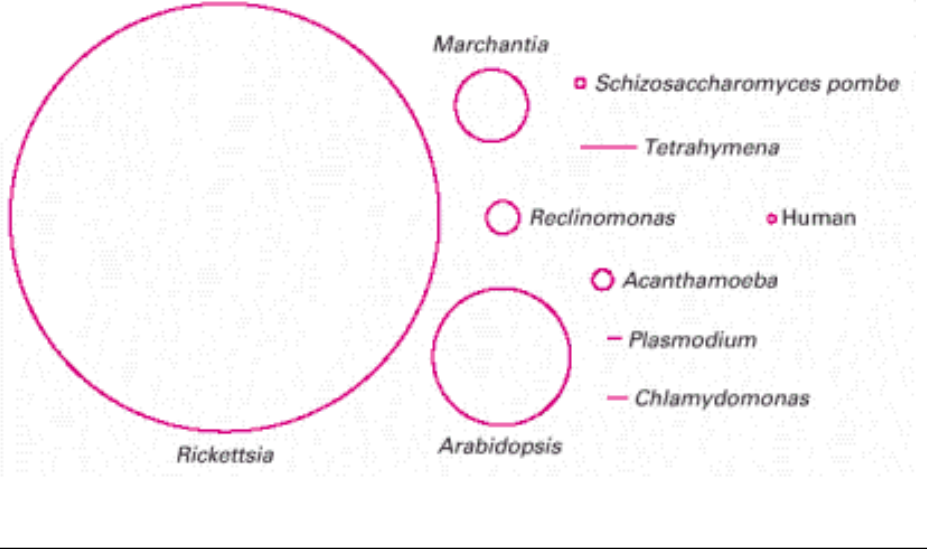
- Yaklaşık 1- 10 μm uzunluğundadırlar
- Mitokondrilerin sayıları ve hücre içindeki yerleri hücredeki görevleri ve organizmanın türü ile direk ilişkilidir. Mayada sadece 1 tane var iken insanların karaciğer hücresi yaklaşık 500 – 1000 tane arası mitokondriye sahiptir.
- Şekillerini değiştirebilirler, hareket ederler, bölünebilirler veya birleşebilirler.
- Bitkilerin de mitokondrileri vardır. Neden?
- İş zar niye kıvrımlıdır? Bu kıvrımlar mitokondriye ne gibi bir avantaj sağlar.

Mitokondrideki işlevlerin yerleri

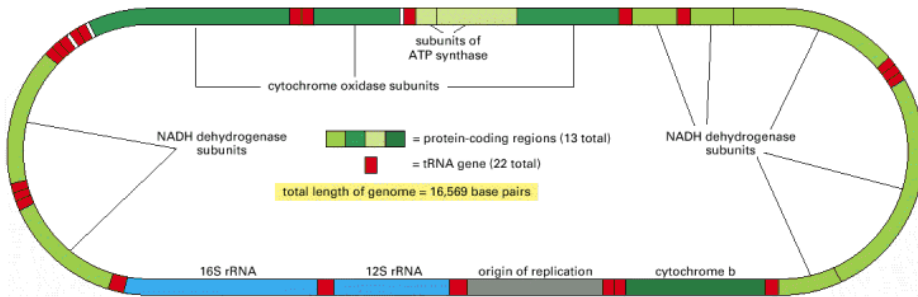
Zar veya kompartman	İşlevler
Dış zar	Phosfolipit sentezi Yağ asidi desatürasyonu Yağ asidi elongasyonu
İç zar	Elektron transportu Oksidatif fosforolasyon Metabolit transportu
Intermembran boşluk	Nükleotidlerin fosforilasyonu
Matriks	Pyruvate oksidasyonu TCA döğüsü Yağların β – oksidasyonu DNA replikasyonu RNA sentezi Protein sentezi



İnsan mitokondri genomunun karşılaştırması

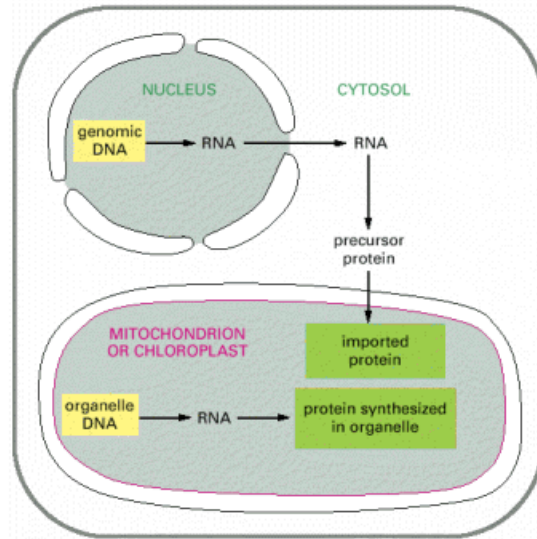


İnsan mitokondri genomu

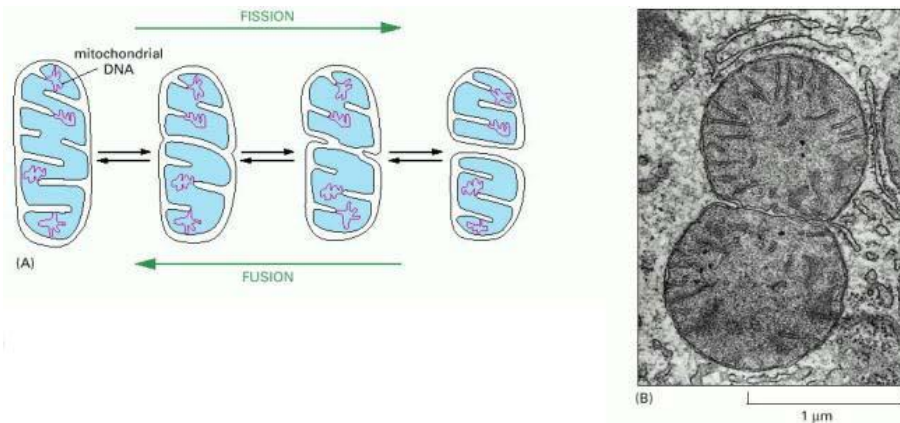


37 gen. Üretilen proteinler ve RNA'lar ihtiyas olanın sadece %5'i kadardır. Bu proteinlerin 13 tanesi elektron taşıma sistemi için gereklidir.

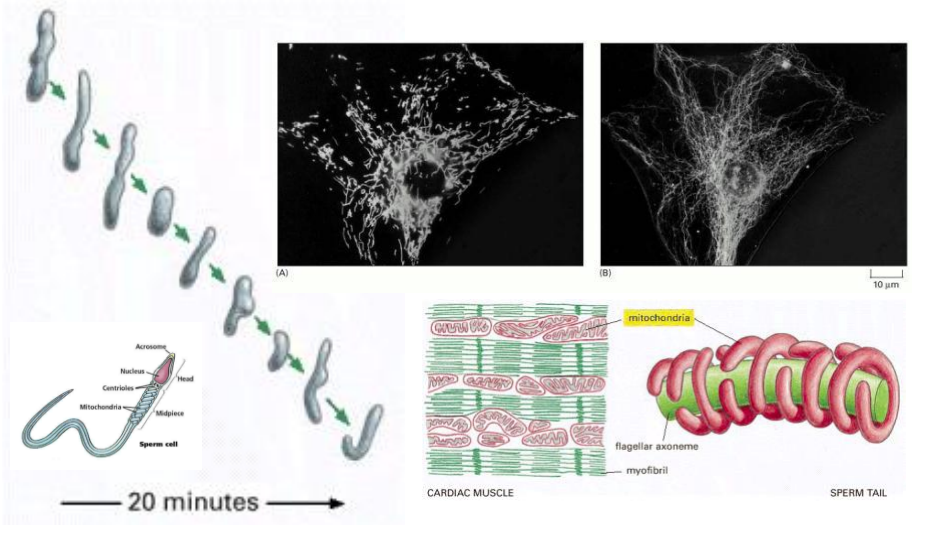
Mitokondri proteinleri



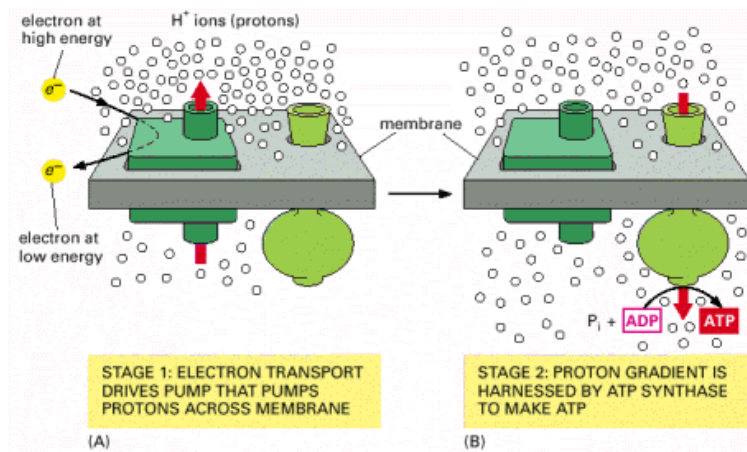
Mitokondride Füzyon ve Fizyon



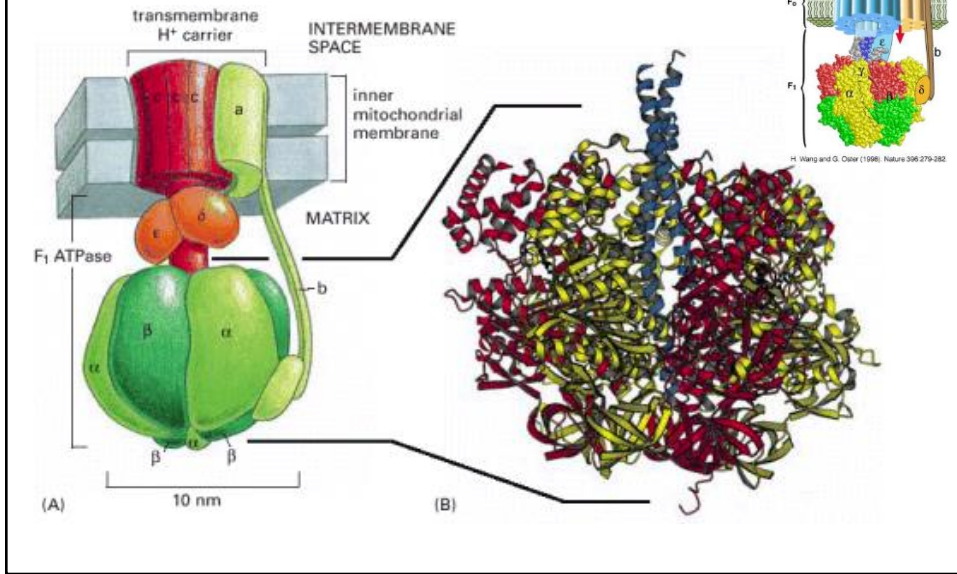
Mitokondrinin hücre içindeki farklı yerleri ve şekilleri



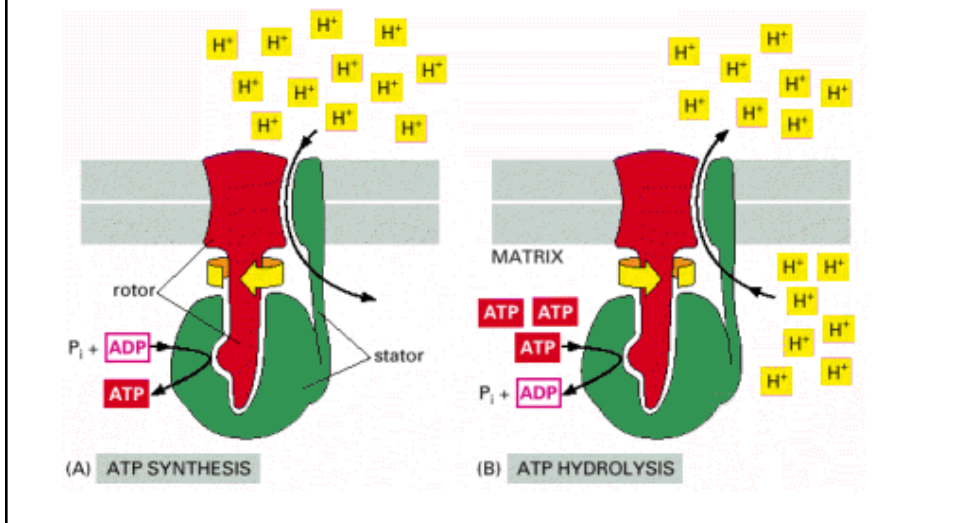
Enerjinin dizginlenmesi



ATP sentaz

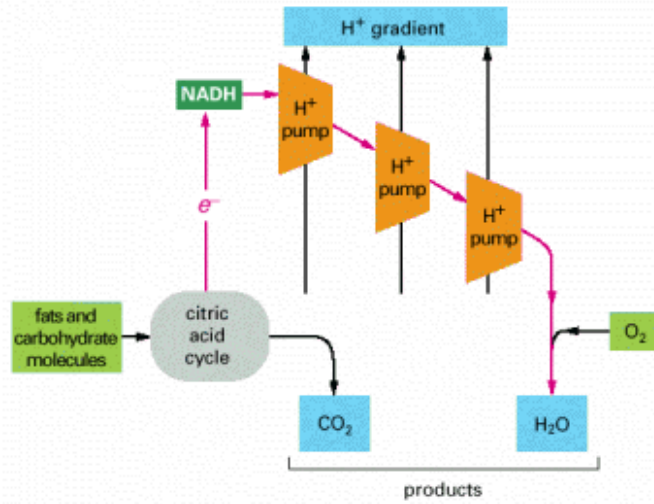


ATP sentaz ter yönde de işlem yapabilir

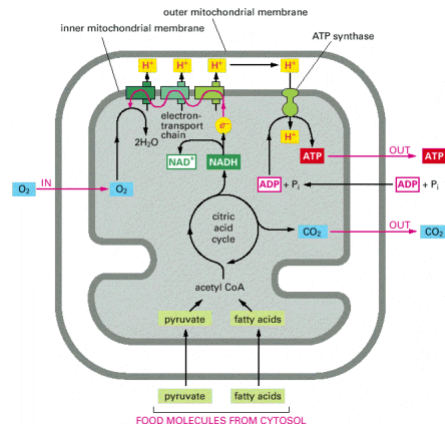
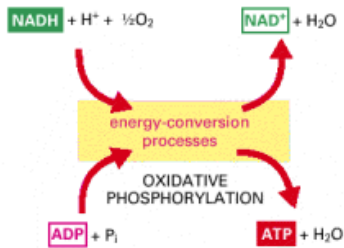
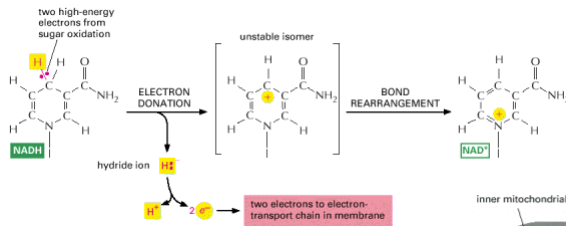


Elektron transferi

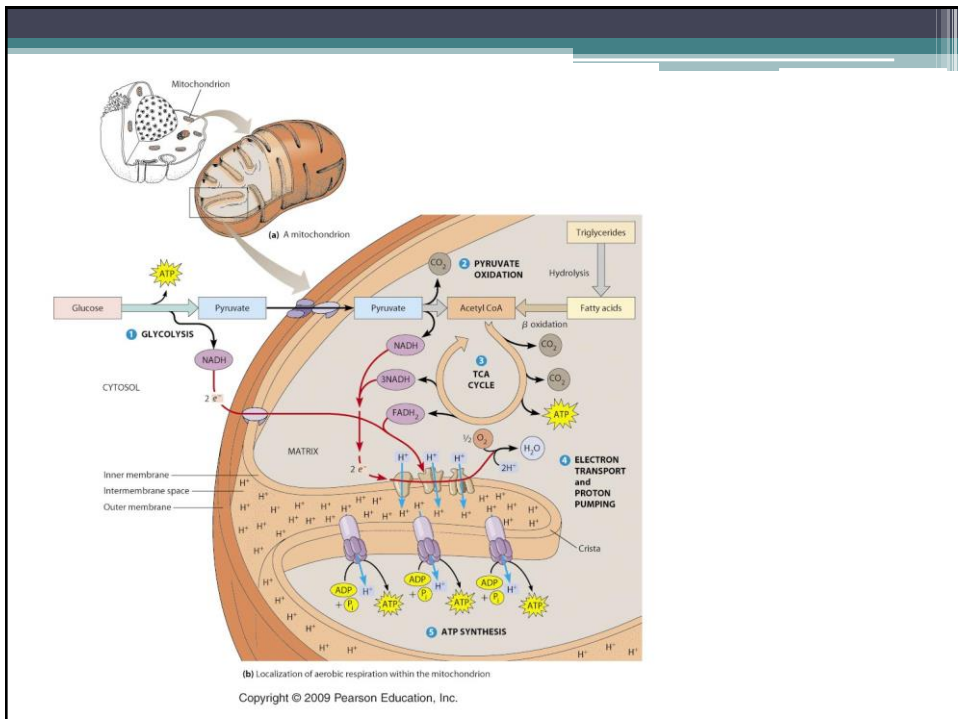
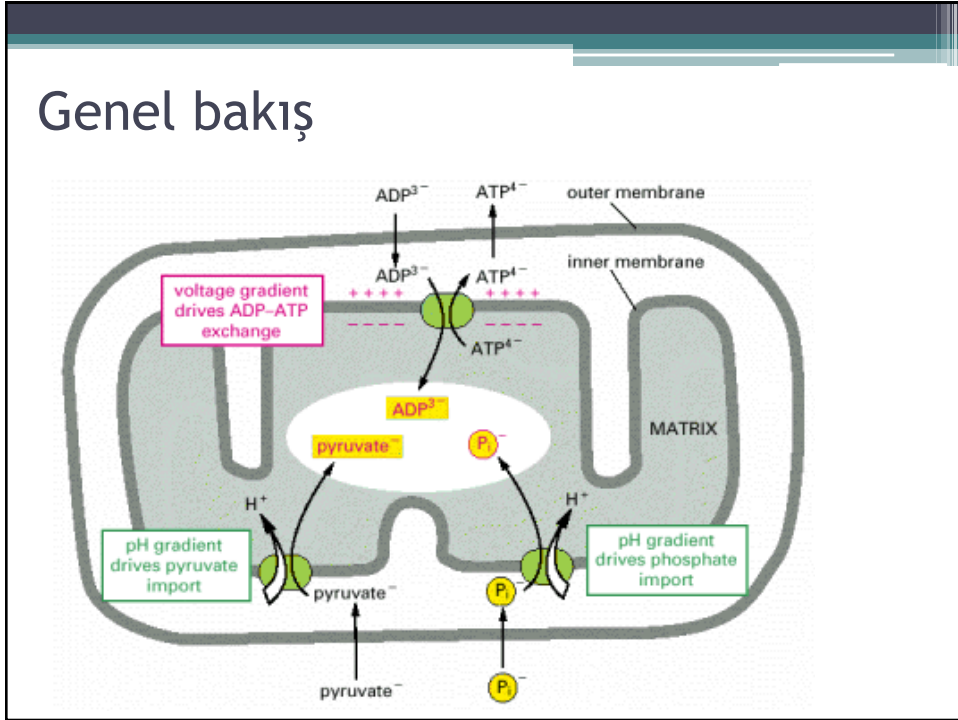
(A) MITOCHONDRION



Elektron nasıl kullanılır?

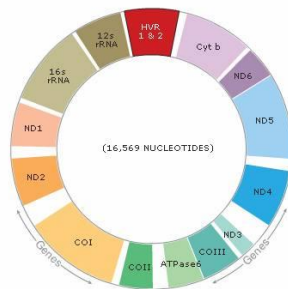


Genel bakış



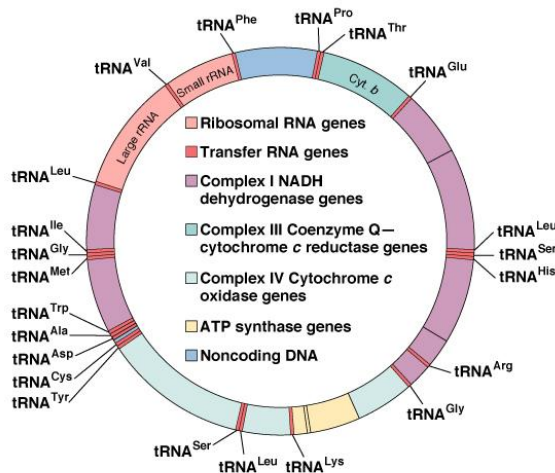
Mitokondrial DNA

- Hücre başına 10 ile yüzlerce arasında mitokondri vardır.
- İnsan mitokondri genomu (mtDNA) tek bir halka kromozomdan oluşur ve 16,569 bazcıftidir.
- Her mitokondrion 5 ile 10 arasında mitokondri kromozomu taşır.
- Halka, çifete sarmal genomda rekombinasyon olmaz.
- Çoğu mitokondri **homoplazmiktir**.
- Protein kodlamayan bölgeler çok azdır. Genomun %90'ı genlerden oluşur. Geriye kalan %10'da bu genlerin kontrol bölgeleridir.
- Mitokondride kullanılan genetik kod nükleer genomda kullanılan genetik koddan çok az daha farklıdır.
- Mitokondri DNA'sının mutasyon oranı daha fazladır. Bu sizce nedendir?



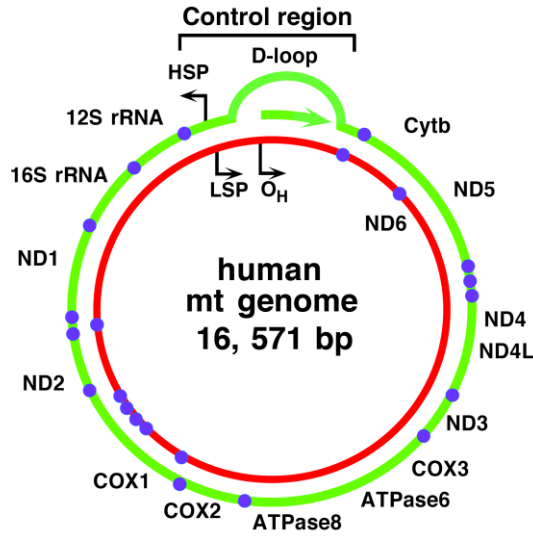
- 2 ribozomal RNA
- 22 transfer RNA
- 13 ATP sentezinde görev yapan polipeptid
- Oksidatif fosforilasyon kompleksinin 80-90 polipeptidi nükleer genom tarafından üretilir.

1500 proteinin çoğu nükleer genom tarafından üretilir.



©Addison Wesley Longman, Inc.

Mitokondri genomunun organizasyonu



D-loop: displacement loop, Merkezi kontrol bölgesi

HSP and LSP: heavy (ağır)- and light (hafif)- strand zincir promoterleri

Mitokondri D-loop (Kontrol bölgesi)

- Replikasyon Orijini için tek bölgeyi içerir
- Transkripsiyon için promoterleri içerir
 - L zinciri: 9 gene
 - H zinciri: 28 gene
- mtDNA'nın geriye kalanına göre kontrol bölgesi daha polimorfik bir bölgedir.

mtDNA'nın kendi tRNA ve rRNA'sı var

- 37 gene, bu genlerin hiçbirinin intronu yok. (bu neden?)
 - 13 protein kodlayan
 - 2 rRNA
 - 22 tRNA
- Oksidatif fosforilasyon için gerekli proteinlerin yaklaşık 80 tanesi çekirden genomundan geliyor

mtDNA'ya karşı çekirdek DNA

mtDNA

- 1 sirküler DNA
- 16.6 kb
- 37 gene

Çekirdek DNA

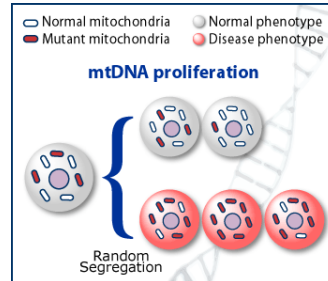
- 22 otozom
- X & Y seks kromozomları
- 3.1×10^9 bp = 3,100 Mbp = 3,100,000 kb
- Yaklaşık 30,000 gene

mtDNA'nın kalıtımı

- Kalıtım **annedendir**.
- Her yumurta yaklaşık 100,000 mitokondri içerir (Buna karşılık spermde 100'den az mitokondri bulunur. Bu mitokondrilere ne olur?)
- Bir hücre bölünürken anne hücrenin mitokondrileri kardeş hücreler arasında rastgele bölünür. (Stokastik segregasyon).

mtDNA'da bulunan mutasyonlar için farklı bir kalıtım şekli vardır.

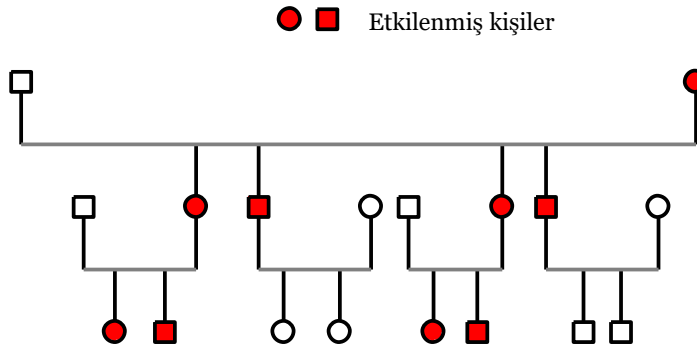
- Bu farklı kalıtım şekilleri mitokondri koromozomunun 3 farklı özelliğinden dolayıdır:
 - Replikatif segregasyon
 - Homoplazmi ve heteroplazmi
 - Maternal kalıtım

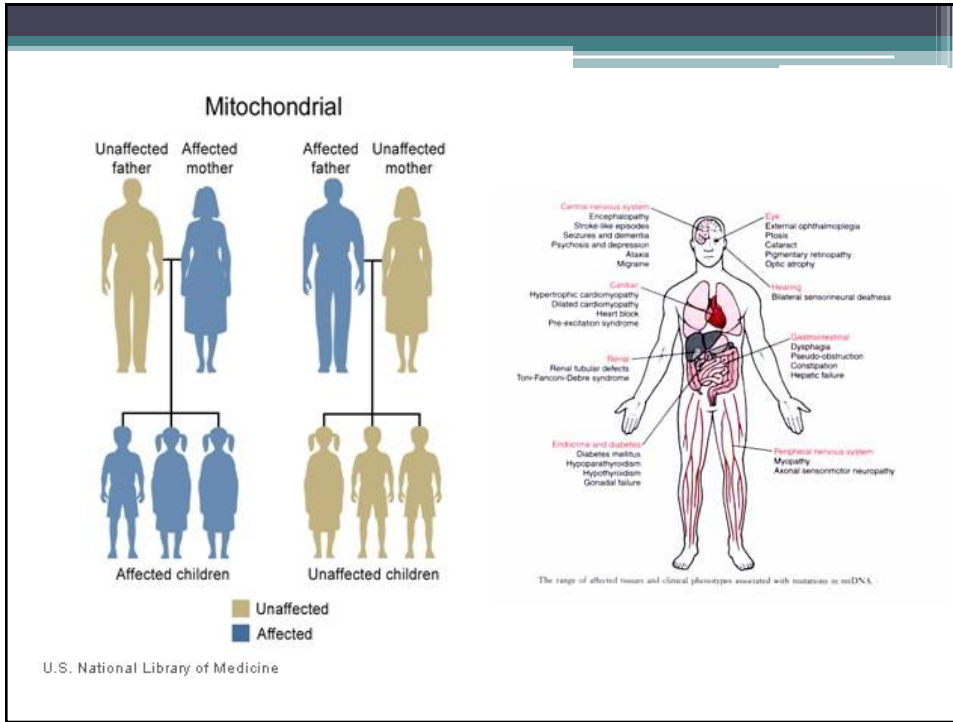


Heteroplazmi

- **Heteroplazmi:** Birden fazla tür mitokondri DNA'sının hücrede bulunma durumuna denir. Değişken hastalık semptomlarının gözlemlenmesine neden olur. Bunun nedeni şöyle açıklanabilir:
 - Farklı hücrelerde iyi ve kötü mitokondrilerin ayrışımı.
 - Etkilenen hücreler farklı oranlarda kötü mitokondri içerebilir.
 - Eşik etkisi.

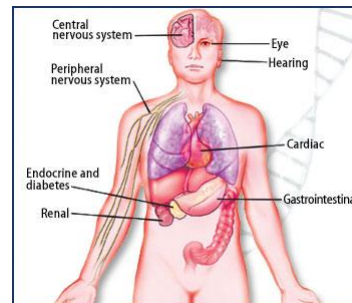
Mitokondrial kalıtımı gösteren pedigr





Mitokondrial hastalıklar

- Nisbeten korumasız ve tamir edilmeyen bir DNA, mtDNA çekirden DNA'sında olan hasarın 10 kat daha fazlasını taşır.
- Yaklaşık 150 farklı tip kalıtsal mitokondri bozukluğu bilinmektedir.
- Hangi hücre tipleri mtDNA mutasyonlarından daha fazla etkilenir?
 - Bölünmeyen hücreler
 - Konstitütif olarak oksidatif dokular
 - kalp, beyin, böbrek
 - Episodik oksidatif dokular
 - kaslar



mtDNA'da mutasyon tipleri

- Protein kodlayan bölgelerde oksidatif fosforilasyon proteinlerindeki aktiviteyi etkileyen missense mutasyonlar.
- Mitokondri protein sentezini etkileyecek tRNA ve rRNA genlerinde nokta mutasyonları.
- mtDNA molekülünde delesyon ve duplikasyonlar yaratacak yeniden düzenlemeler (genelde somatik)

Heteroplazmi ve mtDNA genetik hastalıkların özellikleri

- mtDNA molekülündeki delesyonların bir sonraki nesile aktarılma olasılığı çok düşüktür. Fakat heteroplazmik mtDNA nokta mutasyonların ve/veya mtDNA duplikasyonları bazı mutant mtDNA moleküllerini aktarır.
- Yumurtadaki mitokondrilerin sayısı önce azaltılır ve daha sonra önceden bahsediler yüksek rakama artırılır (Buna mitokondri genetik darboğazı denir).
- Yüksek oranda mutant mtDNA taşıyan annelerin daha düşük orandan mutant mtDNA taşıyan annelere göre hasta çocukları olma olasılığı daha yüksektir.

mtDNA'da tRNA ve rRNA mutasyonları

- Bu mutasyonlar hastalık yaratan tüm mutasyonların protein kodlayan genlerde olmadığını göstermek açısından önem taşır.
- 22 tRNA geninin 20 tanesinde 90 patojenik mutasyon.
- Oksidatif fosforilasyon anomalilerinin en sık görülen nedenidir.
- Wobble etkilenir.
- MELAS' a neden olur (mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke like episodes) ve sensorinöral prilingual sağırlığa.

Delesyonlar nedeni ile olan mitokondrial hastalıklar

- 1-9 kb ebatında en az 1 tRNA geni kapsayan delesyonlar
- Delesyonlar için homoplazmik olan hücreler yaşayamaz
- Progresif eksternal oftalmopleji
 - Göz hareket kontrolünün giderek kaybolması
- Kearns Sayre Sendromu
 - Progresif eksternal oftalmopleji, göz pigment hastalıkları, kalp hastalığı, serebellar disfonksiyon, diyabet, işitme kaybı, kas zayıflığı
- Pearson Sendromu
 - Çocukluk anemisi, pankreas disfonksiyonu, karaciğer, böbrekler (genellikle ölümcül)
- Yukardaki hastalıkların ikisi de genellikle sporadik somatik mutasyonlardan dolayı olurlar. Sadece %5 oranında maternal transmisyon görülür. Neden oran bu kadar düşüktür?

Nokta mutasyonlarından dolayı olan mitokondri hastalıkları

- Leber herediter optik nöropati (LHON)
 - Optik sinirin dejenerasyonu, körlük çok hızlı gelişir.
 - Çoğunlukla 20'li yaşlardaki erkekleri etkiler.
 - Büyük bir cinsiyet ayrımı var (erkek taşıyıcıların %50'sinde görme kaybı var fakat bayanların sadece %10'unda). NEDEN?
 - Mutasyon için genelde homoplazmikler
 - Kompleks I proteinlerinde problem olur (NADH-ubiquinone)
 - Kısmi penetrans

mtDNA'da otozomal olarak iletilen delesyonlar

- Fenotipi kronik progresif eksternal oftalmoplejiye benzer.
- Böyle bir gen tarafından üretilen bir protein One Twinkle proteinidir (mitochondriye özel DNA polymerase γ . Loss of function of this is associated with both dominant and recessive multiple deletion syndromes)
- mtDNA depletion syndrome. This is due to mutations in any of the six nuclear genes that are required to maintain nucleotide pools in the mitochondrion.

Mitokondri hastalıkları

- Bu hastalıklar ya mtDNA ya da nükleer DNA'sından dolayı olabilir.
- Bu hastalıklar aynı aile içinde bile çok farklılık gösterebilir özellikle de hastalığın nedeni mtDNA'dan kaynaklanıyorsa.
- Farklı yaşlarda kendini gösterebilir (nükleer genlerden olan hastalıklar kendini çocukluk dönemlerinde gösterirken mtDNA'dan olan hastalıklar çocukluğun daha geç evrelerinde veya yetişkinlikte kendini gösterir)
- Mitokondrial hastalıklar kendilerine genellikle nöropati, miyopati, diyabet, endokrinopati ve diğer sistemik bir bozukluk olarak gösterirler.
- **Leber hereditary optic neuropathy** **Leber herediter optik nöropati** gibi bazı hastalıklar da tek bir organı etkilerken birçok farklı sistemde kendini gösteren de vardır.
- Diyabet ve sağlığın bazı türlerinin de mtDNA'da bulunan nokta mutasyonlarından dolayı olduğu düşünülmektedir.
- **Leigh syndrome** solunum zincirindeki bir problemden dolayıdır.

mtDNA ve yaşlanma

- mtDNA somatik delesyonlar yaş ilerledikçe birikmektedir
- Bu özellikle bölünmeyen hücrelerde daha belirgindir.
- Somatik mtDNA delesyonları nörolojik ve müsküler işlev kaybı ile alakalı mı?
 - Kalp ve beyinde mtDNA delesyonlarının biriktiği gözlemlenmiştir.
 - Dejeneratif hastalıkların sorumluluğunun bir kısmı da buradan geliyor olabilir: Parkinson's, Alzheimer's, Huntington's