

Gametogenez ve embriyogenez sürecinde yeni bir molekül: Geminin

A new molecule in gametogenesis and embryogenesis: Geminin

Aylin Buhur , Canberk Tomruk , Cansın Şirin , Yiğit Uyanıkgil 

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZ

Germ kök hücreleri, popülasyonlarını korumak ve farklı gametler oluşturmak için uzun vadede bölünürler. Kararsız düzenleyici protein olan Geminin, kök hücrelerin bölünmeye devam edip etmeyeceğini veya terminal farklılaşmaya devam edip etmeyeceğini belirleyen faktörlerden biri olarak düşünülmektedir. Bu derlemede, Geminin molekülünün işlevleri incelenecektir.

Anahtar sözcükler: Gelişim biyolojisi, gametogenez; geminin.

ABSTRACT

Germ stem cells divide for a long-term to maintain their populations and form differentiated gametes. The unstable regulator protein Geminin is thought to be one of the factors that determine whether stem cells will continue to divide or undergo terminal differentiation. In this review, the functions of Geminin molecule will be examined.

Keywords: Developmental biology; gametogenesis; geminin.

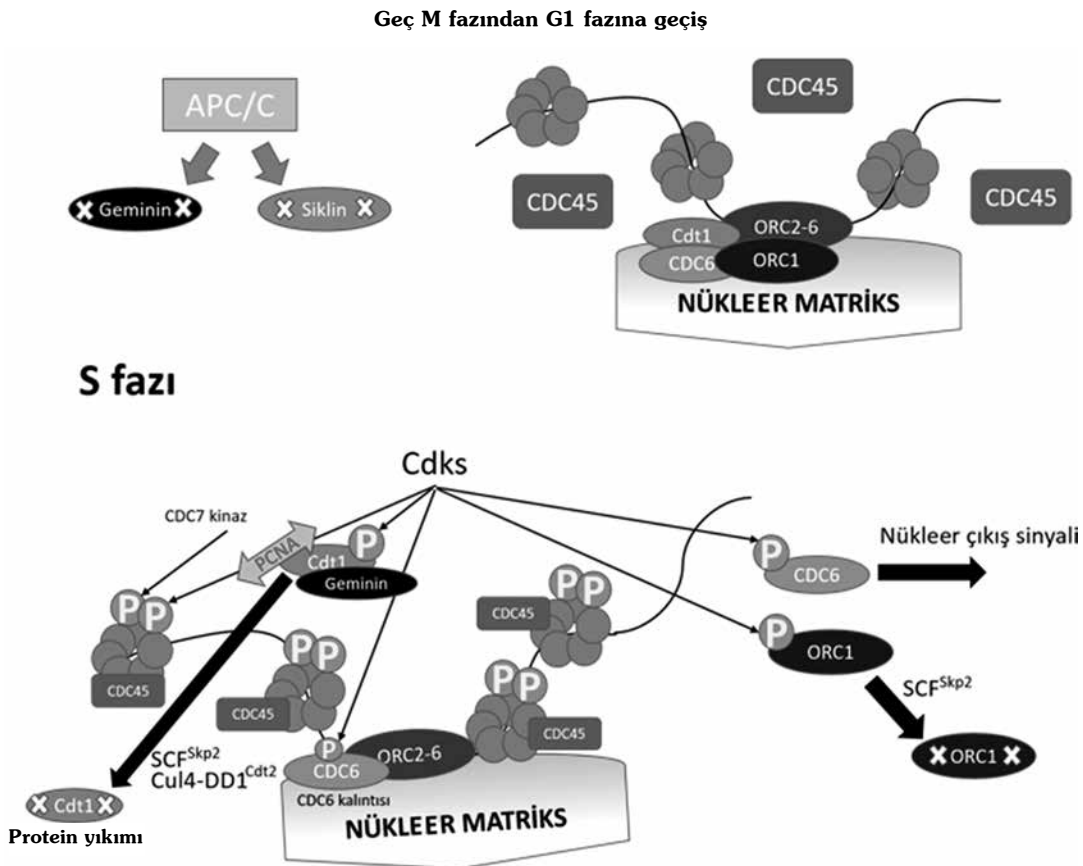
Geminin yaklaşık olarak 200 aminoasit dizisinden oluşan ve 25 kDa ağırlığına sahip nükleer bir proteindir.^[1] Geminin orijinal olarak *Xenopus* embriyolarında gastrulasyon sırasında işlev gören ve DNA replikasyonunu inhibe eden nötraliye edici bir molekül olarak tanımlanmıştır.^[1,2] Geminin, DNA replikasyonunun düzenlenmesinde ve hücre farklılaşma mekanizmasında önemli rollere sahiptir.^[3,4]

Siklin bağımlı kinazlar (Cdk) ve geminin aktiviteleri M+G1 fazı sırasında APC/C ubiquitin ligaz tarafından bastırıldığında, ORC (origin recognition complex), CDC6 ve Cdt1 MCM2-7 kompleksleri bir araya gelerek gerekli nükleer matris üzerindeki mekanizmayı oluşturur. Çoklu MCM (mini chromosome maintenance) kompleksleri, ORC bağlanma alanlarının dışında kromatin üzerine bağlanır. Hücreler S fazına girdiğinde, CDC45 ve diğer bazı

proteinler Cdk ve CDC7 kinaz aktivitesine bağlı MCM çevresinde toplanır, DNA çözülür. Daha sonra, DNA sentetik proteinleri tek iplikli DNA ile birleştirilir. Aktifleştirilmiş MCM, DNA replikasyonunda önemli bir rol oynar, muhtemelen bir replikatif DNA helikaz olarak ve aynı anda bilinmeyen bir mekanizma ile kromatin ile yer değiştirir. DNA çözüldükten sonraki adımlar, gösterilen modelde ihmal edilmiştir (Şekil 1). S fazından sonra ayrılmış MCM'nin yeniden yüklenmesi birden fazla mekanizma tarafından bastırılır. Bunlardan biri, ORC1 ve Cdt1'i fosforile eden Cdk'lar tarafından, SCFSkp2 aracılı proteolize maruz kalmalarıdır.^[5]

SPERMATOGENEZ SÜRECİNDE GEMİNİN

Spermatogenez, erkek germ kök hücrelerinin olgun spermatozoa üretme sürecinde ayrılıp



Şekil 1. Hücre döngüsü kontrol noktalarında gemininin rolü^[5]

farklılaştığı karmaşık bir gelişim sürecidir. Memeli testislerinde bu süreç seminifer tübüller içerisinde gerçekleşir ve üç fazdan oluşur.^[6,7] İlk olarak, proliferatif fazda, spermatogonya, bir dizi DNA replikasyon siklusunun yanı sıra mitozu uğrar ve daha sonra primer spermatositlere dönüşür.^[8] İkinci fazda; birincil spermatositler, haploid spermatidler üretmek için iki mayoz bölünme geçirirler.^[9] mayoz I bölünmenin profazı; leptoten, zigoten, pakiten, diptoten ve diyakinez olarak adlandırılan alt aşamalardan oluşur. Spermiyogenez olarak adlandırılan spermatogenezin son döneminde spermatidler spermatozoaya dönüşür ve tübül lümenine salınır.^[10]

Spermatogenezin tüm süreci, genom bütünlüğünü korumak ve germ hücrelerini yüksek mutasyon oranlarına karşı korumak için çeşitli proteinler ile yüksek ölçüde koordine edilir. Çeşitli kimsayasallar veya tedaviler bu süreci olumsuz etkileyebilir.^[11,12] Geminin, spermatogonanın mitotik olarak yenilenmesi için gereklidir fakat

spermatosit mayozu veya spermiyogenezini düzenlemekte rolü yoktur.^[13]

2017 yılında yapılan bir çalışmada selektif olarak Stra8-Cre/loxP koşullu nakavt sistemi kullanılarak erkek germ hattı içinde geminin bozulmuştur. Geminin eksikliği olan fareler, dejenere spermatogenez, azalmış sperm motilitesi ile birlikte atrofik testis ve sonuçta infertilite görülmüştür. Farklanmamış spermatogonya ve spermatosit sayısı anlamlı olarak azalmıştır ve pakiten en ciddi şekilde hasar gören aşama olmuştur. Geminin eksikliği germ hücrelerinde artmış DNA hasarı, azalmış Cdt1 ve Chk1/Chk2'nin aşırı fosforilasyonunu gözlemlemişlerdir.^[6] Yapılan daha önceki çalışmalarda gemininin ana rolünün Cdt1 proteinine bağlanıp inhibe ettiği bu da genom replikasyonunu tam olarak hücre döngüsü başına bir kez kontrol ederek genom stabilitesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.^[14-17] Gemininin silinmesi Cdt1'i aktive eder ve DNA re-replikasyonunu

indükler.^[18,19] DNA'nın aşırı çoğalması ATM/ATR yolağını aktive eder. Düşük Cdt1 seviyesi, replikasyonu indükleyen DNA hasarı nedeniyle Cdt1 proteolizinin bir sonucu olabilir.^[20,21]

Özetle geminin yokluğu, germ hücre kaybı ve sonuçta olarak infertilite ile sonuçlanır. Doğru bir DNA replikasyonu için gerekli olan geminin, hem spermatogonyal kendini yenileme hem de mayoz progresyonu için önemlidir. Spermatogenez sırasında DNA hasar onarımı için esastır.^[6]

OOGENEZ SÜRECİNDE GEMİNİN

Geminin mitoz bölünmede sentrozoma kısmen yerleşmiş ve uygun sentrozom duplikasyonunda rol oynar.^[22] Bir geminin fraksiyonu, sentrozoma lokalize edilir ve Gemininin sentrozomal lokalizasyonu Arp1 aracılı ve dynein dinamiğine bağlıdır. Gemininin sarmal yapıdaki konformasyonu sentrozomun hedeflenmesi ve sentrozom duplikasyonunun inhibisyonu için gereklidir.^[15]

Xenopus olgunlaşmamış oositlerdeki mayoz bölünmede geminin tükenmesi, olgunlaşma sırasında ve bu oositlerin aktivasyonundan sonra Cdt1 protein seviyesinde bir azalmaya yol açar. Geminin ayrıca, Cdt1'in bir stabilizatörü olarak hareket eder ve embriyonun erken bölünme döngülerine destek olur.^[21] Bir çalışmada, Gdf9-Cre/loxP sistemi kullanılarak, oogeneze ve embriyo gelişimindeki rollerini araştırmak için selektif olarak geminin fare oositlerinde silinmiştir. Araştırmacılar geminin delesyonunun oosit gelişimini, mayotik olgunlaşma, yumurtlamayı veya sonraki aşamada döllenmeyi bozmadığını ancak DNA re-replikasyonunu ve mayoz I'de hücre döngüsü kontrol noktasını aktive ederek zigotta gelişimsel gecikmeye neden olduğunu gözlemlemiştir.^[15]

Geminin proteini, mayoz sırasında çekirdekte lokalize olmasına ve mayoz I'de kromozomlarla birlikte lokalize olmasına rağmen geminin oosite spesifik bir susturulma ile oositlerin gelişimini ve olgunlaşmasını etkilemez. Mitoz bölünmede ise, geminin proteini sentrozomlara lokalize olur ve sentrozom duplikasyon sürecinde rol oynayabilir.^[22] Oositin mayoz olgunlaşma sürecinde hiçbir sentriyolün duplike olmaması nedeni ile geminin, oositin mayotik olgunlaşması sürecinde belirgin bir işlev görmemektedir.^[15]

EMBRYOGENEZ SÜRECİNDE GEMİNİN

Hücre döngüsü regülatörü olarak da bilinen geminin, aynı zamanda embriyonik paternde yer alan bir faktör olarak kabul edilmektedir.^[2] Gemininin, genetik inaktivasyonu, 8-hücre evresi sonrası embriyonik gelişimi durdurduğunu, trofoblast yönüne farklılaşmada hücrelerin pluripotensi göstermediği bildirilmiştir.^[24,25] *İn vitro* çalışmalar, geminin erken gelişim sırasında pluripotensi ve hücre kaderinin düzenlenmesindeki rolüne ilişkin kanıt olarak sunulmuştur.^[26-28]

Geminin, embriyonik kök hücreler (ESC), epiblast ve embriyonal karsinom (EC) hücrelerinde yüksek seviyelere ifade edilmektedir. Birbirinden bağımsız çalışmalarda, geminin gen inaktivasyon yaklaşımlarını kullanarak ESC'lerin veya EC'lerin kendi kendini yenileme ve farklılaşma potansiyelindeki rolüne dair kanıtlar sunulmuştur.^[29] Geminin, trofoblast proliferasyonu ve farklılaşmasında, replikasyonu önlediğinden, trofoblast dev hücresi morfolojisine yol açmaktadır.^[30]

Geminin, ilk olarak mRNA'ların bir blastomere mikroenjeksiyonu yoluyla nörolasyon aktivitelerini tanımlamak için fonksiyonel bir görüntüleme kullanarak Xenopus embriyosundan izole edilmiştir. Geminin RNA'sı, gastrulasyon başlangıcında dorsal, prospektif nöral ektoderimde ifade edilmektedir. Daha sonra nöral tüp, gelişen ektodermal plakodlar, bunların türevleri ve nöral krest türevli hücrelerde yaygın olarak kopyalanır. Gemininin aşırı ifadesini takiben anterior belirteçler azalırken, bu tür embriyolarda posterior nöral genler indüklenmektedir. BMP4 ve epidermal keratin, hem nöral olmayan hem de nöral yüzey ektodermi için iki belirteçdir. Nöral doku, korrin veya noggin gibi diğer nöral indükleyiciler tarafından uyarılırsa geminin transkripsiyonunun eşzamanlı olarak aktive olduğu da gösterilmiştir.^[31-33] Drosophila'da, geminin mutantlarında dorsal en periferik nöronların azaldığı göstermiştir.^[31] Gemininin ektopik aşırı ifadesi ektopik nöronal hücrelerin oluşumuna neden olmaktadır. Özellikle bu nedenle yetişkinde göz ve optik disk boyutunda azalmaya yol açmaktadır.^[31] Gemininin göz gelişimindeki rolü Medaka balıklarında da gösterilmiştir.^[33]

Sonuç olarak, geminin gerekli bütünleştirici işlevi nedeniyle embriyogenez sırasında

gelişimsel ve proliferatif kontrol arasında koordinasyonu sağlayan proteindir. Bu proteinin gelişim yolaklarındaki rolünün tam olarak anlaşılması ile spermatogenez, embriyogenez sürecindeki ortak ve ayrılan süreçlerin açığa çıkarılması sağlanabilir.

Çıkar çakışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

- McGarry TJ, Kirschner MW. Geminin, an inhibitor of DNA replication, is degraded during mitosis. *Cell* 1998;93:1043-53.
- Kroll KL, Salic AN, Evans LM, Kirschner MW. Geminin, a neutralizing molecule that demarcates the future neural plate at the onset of gastrulation. *Development* 1998;125:3247-58.
- Luo L, Kessel M. Geminin coordinates cell cycle and developmental control. *Cell Cycle* 2004;3:711-4.
- Seo S, Kroll KL. Geminin's double life: chromatin connections that regulate transcription at the transition from proliferation to differentiation. *Cell Cycle* 2006;5:374-9.
- Fujita M. Cdt1 revisited: complex and tight regulation during the cell cycle and consequences of deregulation in mammalian cells. *Cell Div* 2006;1:22.
- Yuan Y, Ma XS, Liang QX, Xu ZY, Huang L, Meng TG, et al. Geminin deletion in pre-meiotic DNA replication stage causes spermatogenesis defect and infertility. *J Reprod Dev* 2017;63:481-8.
- Oatley JM, Brinster RL. Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2008;24:263-86.
- de Rooij DG, Russell LD. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *J Androl* 2000;21:776-98.
- Russell LD. Histological and Histopathological Evaluation of the Testis. *International Journal of Andrology* 1993;16:83-83.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine E-Book. Elsevier Health Sciences; 2015.
- Barry KA, Schultz KM, Payne CJ, McGarry TJ. Geminin is required for mitotic proliferation of spermatogonia. *Dev Biol* 2012;371:35-46.
- Kılıç KD, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T, Erbaş O, Uyanıkgil Y, Bilge O. 2017. Sıçan testisinde subakut deltametrimin maruziyetinin etkileri: Histopatolojik bir çalışma. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi* 2016;2:266-71.
- Kılıç KD. Testiküler germ hücre tümörlü deneklerde cisplatin ya da karboplatin kemoterapisinin testiküler fonksiyon ve sperm nükleusuna etkisi *Androloji Bülteni* 2016;18:275.
- Wohlschlegel JA, Dwyer BT, Dhar SK, Cvetič C, Walter JC, Dutta A. Inhibition of eukaryotic DNA replication by geminin binding to Cdt1. *Science* 2000;290:2309-12.
- Ma XS, Lin F, Wang ZW, Hu MW, Huang L, Meng TG, et al. Geminin deletion in mouse oocytes results in impaired embryo development and reduced fertility. *Mol Biol Cell* 2016;27:768-75.
- Benjamin JM, Torke SJ, Demeler B, McGarry TJ. Geminin has dimerization, Cdt1-binding, and destruction domains that are required for biological activity. *J Biol Chem* 2004;279:45957-68.
- Li A, Blow JJ. Cdt1 downregulation by proteolysis and geminin inhibition prevents DNA re-replication in *Xenopus*. *EMBO J* 2005;24:395-404.
- Lin JJ, Dutta A. ATR pathway is the primary pathway for activating G2/M checkpoint induction after re-replication. *J Biol Chem* 2007;282:30357-62.
- Rakotomalala L, Studach L, Wang WH, Gregori G, Hullinger RL, Andrisani O. Hepatitis B virus X protein increases the Cdt1-to-geminin ratio inducing DNA re-replication and polyploidy. *J Biol Chem* 2008;283:28729-40.
- Ballabeni A, Melixetian M, Zamponi R, Masiero L, Marinoni F, Helin K. Human geminin promotes pre-RC formation and DNA replication by stabilizing CDT1 in mitosis. *EMBO J* 2004;23:3122-32.
- Hall JR, Lee HO, Bunker BD, Dorn ES, Rogers GC, Duronio RJ. Cdt1 and Cdc6 are destabilized by rereplication-induced DNA damage. *J Biol Chem* 2008;283:25356-63.
- Lu F, Lan R, Zhang H, Jiang Q, Zhang C. Geminin is partially localized to the centrosome and plays a role in proper centrosome duplication. *Biol Cell* 2009;101:273-85.
- Narasimhachar Y, Coué M. Geminin stabilizes Cdt1 during meiosis in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 2009;284:27235-42.
- Gonzalez MA, Tachibana KE, Adams DJ, van der Weyden L, Hemberger M, Coleman N, et al. Geminin is essential to prevent endoreduplication and to form pluripotent cells during mammalian development. *Genes Dev* 2006;20:1880-4.
- Hara K, Nakayama KI, Nakayama K. Geminin is essential for the development of preimplantation mouse embryos. *Genes Cells* 2006;11:1281-93.
- Yang VS, Carter SA, Hyland SJ, Tachibana-Konwalski K, Laskey RA, Gonzalez MA. Geminin escapes degradation in G1 of mouse pluripotent cells and mediates the expression of Oct4, Sox2, and Nanog. *Curr Biol* 2011;21:692-9.

27. Yellajoshyula D, Patterson ES, Elitt MS, Kroll KL. Geminin promotes neural fate acquisition of embryonic stem cells by maintaining chromatin in an accessible and hyperacetylated state. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:3294-9.
28. Tabrizi GA, Böse K, Reimann Y, Kessel M. Geminin is required for the maintenance of pluripotency. *PLoS One* 2013;8:73826.
29. Patmanidi AL, Champeris Tsaniras S, Karamitros D, Kyrousi C, Lygerou Z, Taraviras S. Concise Review: Geminin-A Tale of Two Tails: DNA Replication and Transcriptional/Epigenetic Regulation in Stem Cells. *Stem Cells* 2017;35:299-310.
30. de Renty C, Kaneko KJ, DePamphilis ML. The dual roles of geminin during trophoblast proliferation and differentiation. *Dev Biol* 2014;387:49-63.
31. Quinn LM, Herr A, McGarry TJ, Richardson H. The *Drosophila* Geminin homolog: roles for Geminin in limiting DNA replication, in anaphase and in neurogenesis. *Genes Dev* 2001;15:2741-54.
32. Luo L, Yang X, Takihara Y, Knoetgen H, Kessel M. The cell-cycle regulator geminin inhibits Hox function through direct and polycomb-mediated interactions. *Nature* 2004;427:749-53.
33. Del Bene F, Tessmar-Raible K, Wittbrodt J. Direct interaction of geminin and Six3 in eye development. *Nature* 2004;427:745-9.