

GENETİK ŞİFRE VE TRANSKRİPSİYON



Giriş

- Ökaryotlardaki transkripsiyon, prokaryot ve bakteriyofajlara benzer ancak daha karmaşıktır.
- Transkripsiyon, bir ana polimeraz enzimine ve destekleyici proteinlere gereksinim duyan karmaşık bir işlemdir.

Genetik bilgi

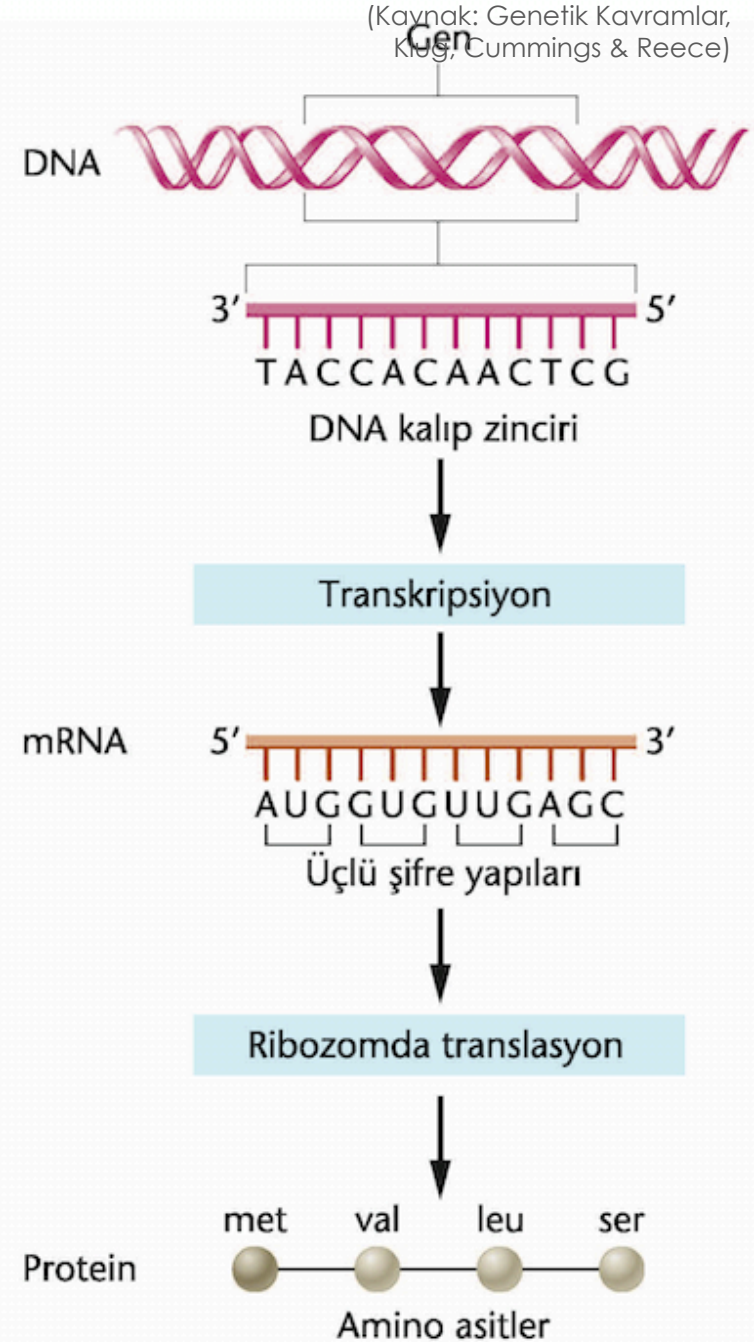
- Genetik bilgi, yeryüzündeki tüm canlılar için hemen hemen evrensel olan üçlü şifreler halinde DNA'da depolanır.
- Genetik bilgi, transkripsiyon işlemi süresince DNA'dan RNA'ya aktarılır.

Genetik bilgi

- RNA'da, dört ribonükleotid harften oluşan üçlü kodonlar bulunur.
- 20 amino asit, 4 farklı ribonükleotidin kodonlar şeklinde yapılanması ile 64 farklı kodondan oluşur.

Genetik bilgi

- DNA'nın iki zincirinden birindeki bilgi transkripsiyonla RNA'ya aktarılır (mRNA).
- Bu RNA'lar ribozomla ilişki kurar ve burada mRNA'nın şifresi, protein oluşturmak için çözülür.



Karakteristik özellikler

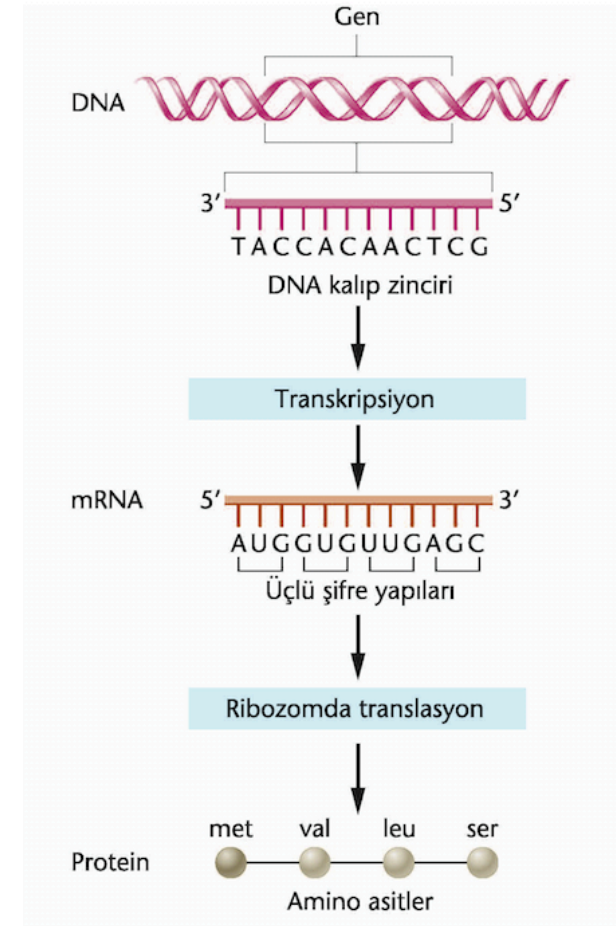
- Genetik şifre bazı karakteristik özelliklere sahiptir:
 - Harfler olarak betimlenen bazılar kullanılır.
 - Kodon denilen 3'lü ribonükleotid grubu bir amino asidi belirler.
 - Özgündür: Her üçlü yalnız bir amino asidi belirtir.
 - Dejeneredir. Aynı aminoasit, birden fazla kodon tarafından şifrelenebilir.

Karakteristik özellikler

- Şifrede başla ve dur sinyalleri bulunur.
- Şifre hemen hemen evrenseldir.
- Duraksamazdır. Translasyon başladığında kodonlar arasında boşluk ve duraksama olmaz.
- Üst üste çakışmaz.

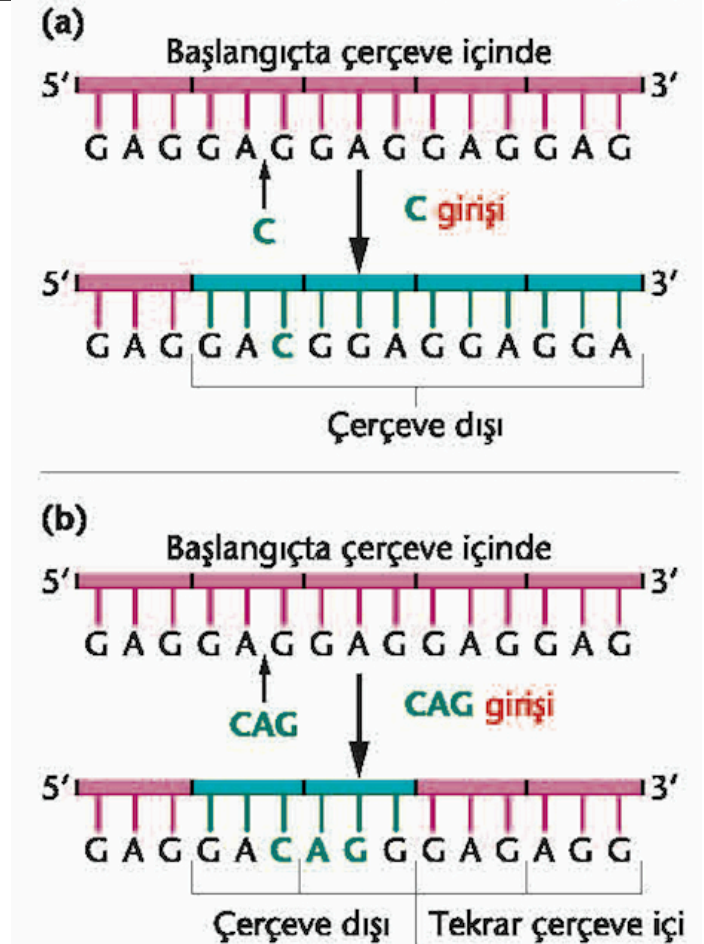
Şifrenin üçlü (triplet) doğası

- Genetik şifre üçerli gruplar halinde okunur.
- Dört baz üçerli gruplar halinde 64 farklı üçlü grup oluşturabilir.



Üçlü yapıya ait ilk deneyler

- Francis Crick, Leslie Barnett, Branner ve R. J. Wattstobin'in deneyleri, şifrenin üçlü yapıda olduğuna dair ilk kanıtları sunmuştur.
- Deneylerinde *E. coli* bakterisinde çerçeve kayması mutasyonu uygulamışlardır.



şifrenin üst üste çakışmayan doğası

- şifrenin çakışmadığını gösteren 3 bulgu vardır:
 - İlk bulgu: şifre üst üste çakışıyor olsaydı proteinlerdeki üçlü peptid dizileri bir bakıma sınırlanmış olurdu.
 - İkinci bulgu: Çakışan bir şifrede nokta mutasyonu, peş peşe bulunan iki amino asidi de etkilemeliydi.

şifrenin üst üste çakışmayan doğası

- Üçüncü bulgu:
 - Francis Crick tarafından öne sürölmüştür.
- Crick, translasyon sırasında adaptör moleküllerin olabileceğini ve üst üste çakışmanın bu işlemini çok karmaşık hale getireceğini, translasyonun etkinliğini düşürebileceğini öne sürmüştür.

şifrenin duraksamaz ve dejenere doğası

- Crick, genetik kanıtlara dayanarak, okuma çerçevesinde duraksama (noktalama) olamayacağını ileri sürmüştür.
- Crick'in çerçeve kayması çalışmaları, ilk önerisinin aksine şifrenin dejenere olduğuna işaret etmiştir.

DNA'nın şifresi çözülüyor !

- 1961'de Marshall Nirenberg ve J. Heinrich Matthaei ilk özgül şifre dizilerini belirlemişlerdir.
- Bu başarı iki deneysel sistemin kullanılmasından kaynaklanmaktadır:
 - *In vitro* (hücreden-arı) protein sentez sistemi
 - Sentetik mRNA sentezinde kullanılan polinükleotid fosforilaz enzimi.

Homopolimer şifreler

- Nirenberg ve Mattaei, ilk deneylerinde tek tip ribonökleotid içeren RNA homopolimerlerini sentezlemiştir(AAA, CCC, UUU, GGG).
- Her farklı mRNA'nın denenmesiyle, yeni sentezlenen proteinlere hangi amino asidin girdiğini saptayabilmişlerdir.

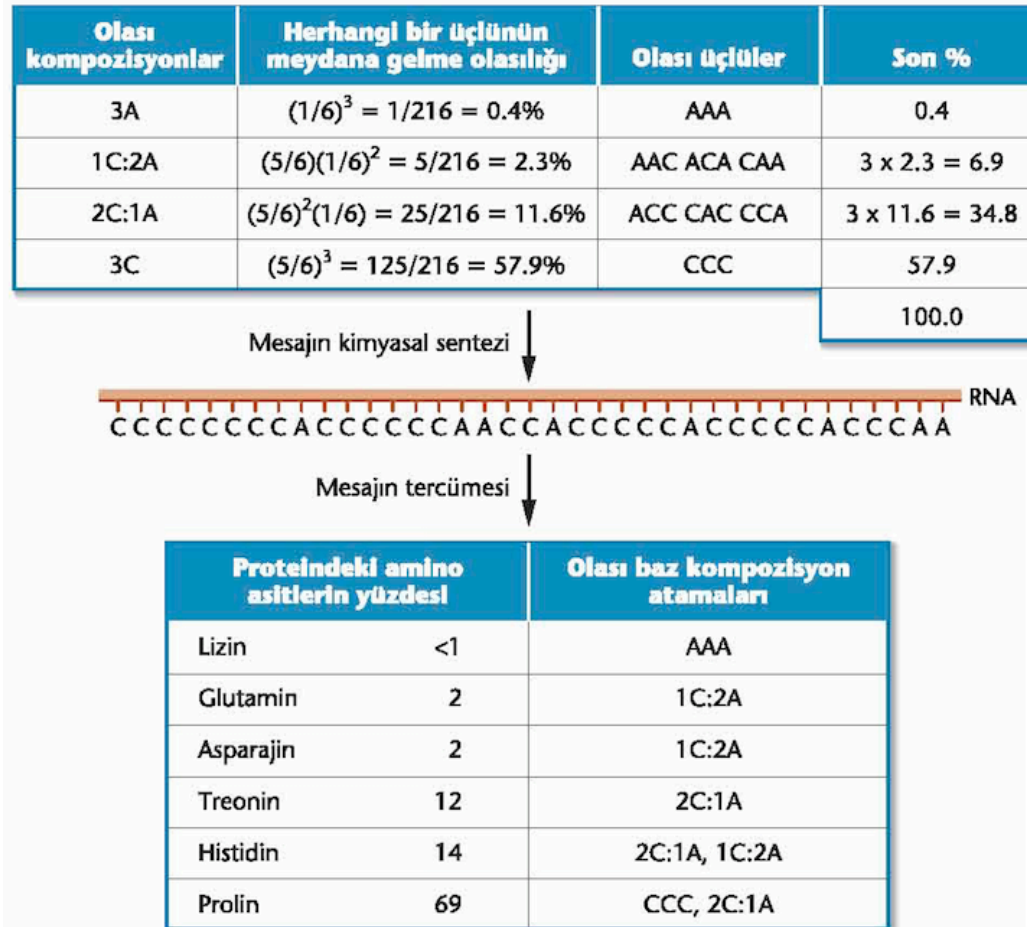
Karışık kopolimerler

- Nirenberg-Mattaei ve Ochoa, bir sonraki aşamada RNA heteropolimerlerini kullanmaya yönelmişlerdir.
- Bu yaklaşımda, yapay mesaj oluşturmak için ortama iki ya da daha fazla ribonükleozid difosfat birlikte ilave edilir.

Karışık kopolimerler

- Her tip ribonükleozid difosfatın diğerlerine göre oranı başlangıçta bilinmektedir.
- Dolayısıyla, oluşacak olan sentetik mRNA'daki herhangi bir üçlü kodonun frekansı tahmin edilebilmektedir.
- Bu mRNA, *in vitro* protein sentez sistemine ilave edilerek sentezlenen proteindeki amino asidin yüzdesi hesaplanır.
- Bu yolla amino asitleri sentezleyen kodonlar tahmin edilebilir.

Karışık kopolimerler

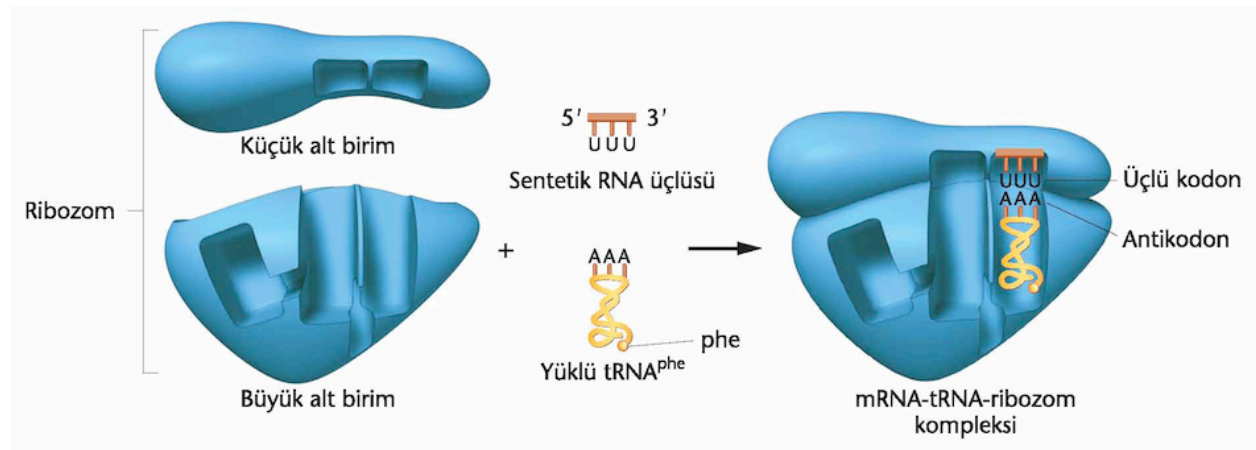


Karışık kopolimerler

- Araştırmacılar, 4 farklı ribonükleotidi kullanarak yapay mRNA'lar oluşturmaya devam etmişlerdir.
- Ancak kodonların özgül dizileri bu aşamada saptanamamıştır.

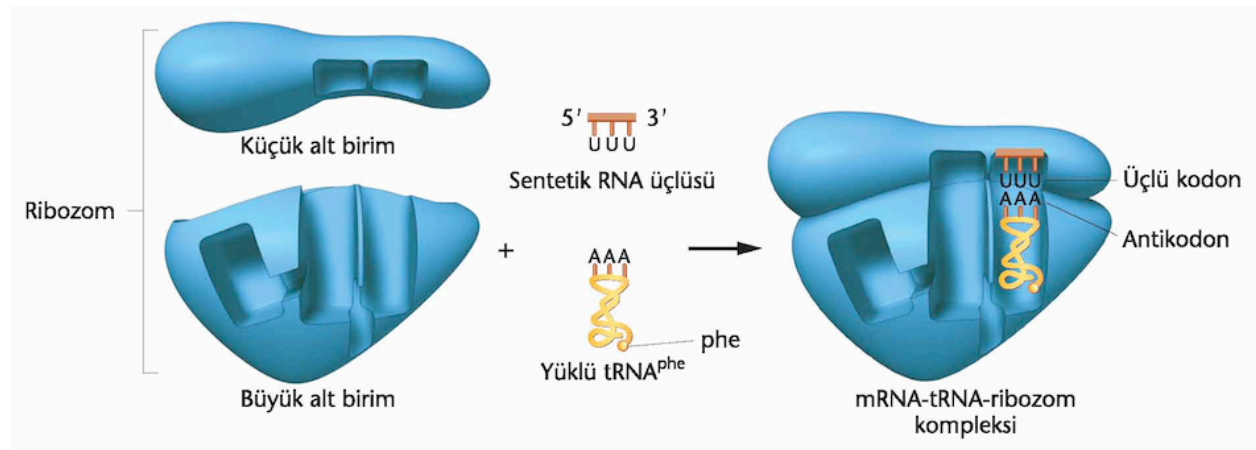
Üçlü bağlama deneyleri

- 1964'te Nirenberg ve Leder kodonların özgül dizisini ortaya çıkaran triplet bağlama deneyini geliştirmiştir.
- Teknik, ribozomların, üç ribonükleotidlik kısa RNA dizilerine bağlanarak kompleks oluşturması temeline dayanır.



Üçlü bağlama deneyleri

- Üçlü ribonükleotid, tRNA'daki komplementer diziyi kendine çekerek mRNA gibi davranmaktadır.
- Bu olay, kodon-antikodon eşleşmesi olarak bilinmektedir.



Üçlü bağlama deneyleri

TABLO 13.2**ÜÇLÜ BAĞLAMA
DENEYİNDEN ELDE EDİLEN
ÜÇLÜ NÜKLEOTİTLERE
ÖZGÜL AMİNO ASİTLER**

Üçlü nükleotitler	Amino Asit
UGU UGC	Sistein
GAA GAG	Glutamik asit
AUU AUG AUA	İzolösin
UUA UUG CUU	Lösin
CUC CUA CUG	Lösin
AAA AAG	Lizin
AUG	Metiyonin
UUU UUC	Fenilalanin
CCU CCC CCG CCA	Prolin
UCU UCC UCA UCG	Serin

Tekrarlayan kopolimerler

- 1960'ların başında Gobin Khorana, içinde kısa dizilerin birçok kez tekrarlandığı uzun RNA moleküllerinin sentezini gerçekleştirmiştir.
- Bu RNA, *in vitro* sisteme ilave edilerek elde edilen amino asitler incelenmiş ve hangi tripletin hangi amino asidi şifrelediği belirlenmiştir.

Tekrarlayan kopolimerler

- Örn; UUC UUC UUC üçlü tekrarların oluşturduğu dizi, başlangıç noktasına bağlı olarak UUC (fenilalanin), UCU (serin), CUU (lösin) şeklinde oluşabilir.

TABLO 13.3

TEKRARLAYAN SENTETİK RNA KOPOLİMERLER KULLANILARAK POLİPEPTİTLERE AMİNO ASİTLERİN KATILIMI

Tekrarlayan Kopolimer	Oluşan Kodonlar	Polipeptitlerdeki Amino asitler
UG	UGU	Sistein
	GUG	Valin
AC	ACA	Threonin
	CAC	Histidin
UUC	UUC	Fenilalanin
	UCU	Serin
	CUU	Lösin
AUC	AUC	İzolösin
	UCA	Serin
	CAU	Histidin
UAUC	UAU	Tirozin
	CUA	Lösin
	UCU	Serin
	AUC	İzolösin
GAUA	GAU	Hiçbiri
	AGA	Hiçbiri
	UAG	Hiçbiri
	AUA	Hiçbiri

Dejenere şifre

- Amino asitlerin hemen hepsi iki, üç yada dört farklı kodon tarafından belirlenmektedir.
- Aynı amino asidi belirleyen kodonların ilk iki harfi aynı yalnız üçüncü harf farklıdır.
- Crick, üçüncü pozisyondaki bu dejenerasyonu gözlemlemiş ve bunu açıklamak için 1966'da Wobble hipotezini öne sürmüştür.

İkinci pozisyon

		U	C	A	G		
Birinci pozisyon (5'-ucu)	U	UUU	UCU	UAU	UGU	U	C
		UUC <i>phe</i>	UCC <i>ser</i>	UAC <i>tyr</i>	UGC <i>cys</i>		
	UUA	UCA	UAA <i>Dur</i>	UGA <i>Dur</i>	A	G	
	UUG	UCG	UAG <i>Dur</i>	UGG <i>trp</i>			
C	leu	CUU	CCU	CAU	CGU	U	C
		CUC	CCC <i>pro</i>	CAC <i>his</i>	CGC <i>arg</i>		
	CUA	CCA	CAA <i>gln</i>	CGA	A	G	
	CUG	CCG	CAG	CGG			
A	ile	AUU	ACU	AAU	AGU	U	C
		AUC	ACC <i>thr</i>	AAC <i>asn</i>	AGC <i>ser</i>		
	AUA	ACA	AAA <i>lys</i>	AGA <i>arg</i>	A	G	
	AUG <i>met</i>	ACG	AAG <i>lys</i>	AGG <i>arg</i>			
G	val	GUU	GCU	GAU	GGU	U	C
		GUC	GCC <i>ala</i>	GAC <i>asp</i>	GGC <i>gly</i>		
	GUA	GCA	GAA <i>glu</i>	GGA	A	G	
	GUG	GCG	GAG	GGG			

 Başlama Sonlanma

Wobble hipotezi

- Crick'in hipotezine gre, tRNA seiminde ilk iki ribonkleotid ncye gre daha kritiktir.
- Crick'e gre, kodon-antikodon etkileşiminde nc pozisyondaki hidrojen bağının kurulmasında esneklik vardır ve baz eşleşme kuralına sıkıca uyma zorunluluğu yoktur.

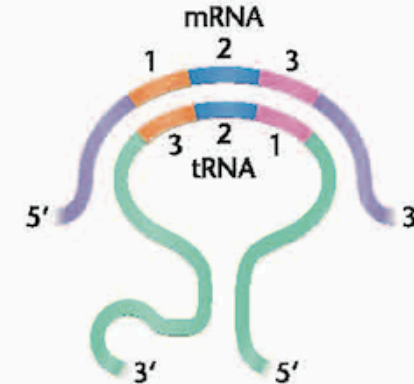
Düzenli genetik şifre

- Yine bu şablonla ilgili başka bir gözlem, kodon dizileri ve onlara karşılık gelen amino asitler için düzenli genetik şifre tanımının ortaya çıkmasına yol açmıştır.
- Buna göre ortak amino asitleri kodlayan genlerde bir ya da iki ortak baz bulunmaktadır.

TABLO 13.4

ANTİKODON-KODON BAZ EŞLEŞMESİNİN KURALLARI

tRNA'nın 1. pozisyonundaki (5' ucu) baz	mRNA'nın 3. pozisyonundaki (3' ucu) baz
A	U
C	G
G	C ya da U
U	A ya da G
I	A, U, ya da C



Başlama ve sonlanma

- AUG methionini sentezler ve buna bazen başlatıcı kodon denmektedir.
- Nadiren başlangıç noktasında bulun GUG de methionini sentezleyebilmektedir.
- UAA, UGA ve UAG sonlanma kodonları olarak işlev görür ve amino asit şifrelemez.

Genetik şifrenin doğrulanışı

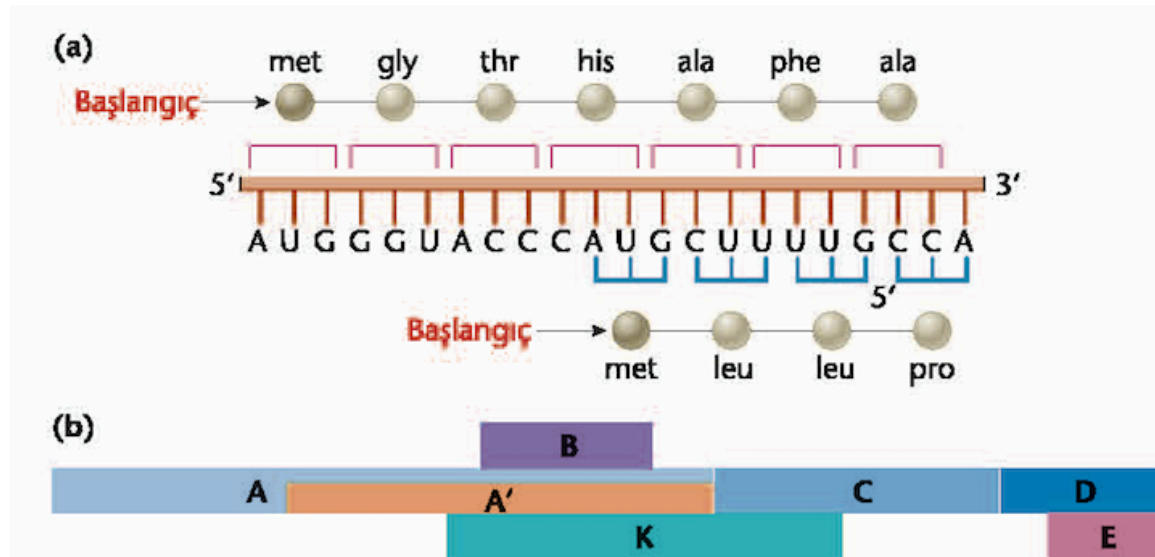
- Genetik şifre, Walter Fiers ve arkadaşlarının RNA içeren bakteriyofaj MS2 ile yaptıkları analizlerle doğrulanmıştır.
- Genomunun basit bir sistem oluşu Fiers ve arkadaşlarının MS2 bakteriyofajını seçmelerindeki en büyük etkendir.

Evrensel şifre

- 1960-1978 yılları arasında virüsler, bakteriler, arkebakteriler ve ökaryotlarda genetik şifrenin evrensel olduğu kabul edilmiştir.
- Maya ve insan mitokondrilerinde bazı istisnalar bulunmaktadır.

Çakışan genler

- mRNA'da başlangıç noktaları yer değiştirdiğinde farklı okumalar ortaya çıkabilir.
- Bu da çakışan genler kavramını ortaya çıkarır.



Protein sentezinde mRNA'nın varlığı

- Elliot Volkin ve arkadaşları 1956 ve 1958'de *E. coli*'de bakteriyofaj enfeksiyonunun hemen ardından oluşan RNA'nın analizi ile ilgili bir makale yayınlamışlardır.
- Yeni sentezlenen RNA'yı izlemek için ^{32}P izotopu kullanmışlardır.
- Sentezlenen RNA'nın baz kompozisyonunun faj DNA'sına çok benzediğini fakat bakteriyel RNA'dan farklı olduğunu bulmuşlardır.

Protein sentezinde mRNA'nın varlığı

TABLO 13.6

ENFEKTE OLMAMIŞ *E. coli*'DE VE BAKTERİYOFAJ T2 VE T7 İLE ENFEKTE OLMUŞ *E. coli*'DE SENTEZLENEN RNA'NIN BAZ KOMPOZİSYONLARININ KARŞILAŞTIRILMASI (MOL YÜZDELERİ OLARAK)

	Adenin	Timin	Urasil	Sitozin	Guanin
T2 ile enfekte olan hücrelerde enfeksiyon sonrası RNA	33	—	32	18	18
T2 DNA	32	32	—	17*	18
T7 ile enfekte olan hücrelerde enfeksiyon sonrası RNA	27	—	28	24	22
T7 DNA	26	26	—	24	22
<i>E. coli</i> RNA	23	—	22	18	17

*5-hidroksimetil sitozin.

Kaynak: Volkin ve Astrachan (1956); Volkin, Astrachan, ve Countryman (1958).

Protein sentezinde mRNA'nın varlığı

- Bu yeni sentezlenen RNA kararsız ya da kısa ömürlü olsa da, yeni faj proteinlerinin sentezini başlatabilmektedir.
- Dolayısıyla Volkin ve arkadaşları, protein sentezi işlemindeki başlangıç basamağının RNA sentezi olabileceğini düşünmüşlerdir.

Protein sentezinde mRNA'nın varlığı

- ▣ Ribozomların protein sentezinde rol aldığının bilinmesine rağmen, buradaki rollerinin ne olduğu açık değildi.
- ▣ Bir olasılık da her bir ribozomun kendisine bağı protein sentezi için özgöl olabileceğı idi.

Protein sentezinde mRNA'nın varlığı

- Belki de, DNA'daki genetik bilgi, ribozomun sentezi sırasında onun RNA'sına aktarılıyordu.
- Böylece farklı ribozom grupları belirli proteinlerin translasyonu ile kısıtlanıyordu.

Protein sentezinde mRNA'nın varlığı

- Alternatif bir hipoteze göre ise;
 - Ribozomların protein sentezi için özgül olmayan "çalışma masaları" olduğu ve
 - Özgül genetik bilginin bir "haberci" RNA ile taşındığı düşünölmekte idi.

Ribozomların protein sentezinde görevi

- Bu sorun, 1961 'de yayınlanan ve *E. coli*-faj sistemi ile yapılan harika bir deneyle açıklığa kavuşturulmuştur.
- Deneyde, enfekte olmamış *E. coli* ribozomları ağır izotoplarla işaretlenmiş ve sonrasında radyoaktif RNA nükleotidlerinin varlığında faj enfeksiyonu gerçekleştirilmiştir.
- Araştırmacılar, translasyon sırasında bu bileşenleri izleyerek faj proteinlerinin sentezinin, enfeksiyondan önce var olan bakteriyel ribozomlarda gerçekleştiğini gostermişlerdir.

Ribozomların protein sentezinde görevi

- ▣ Ribozomlar, sentezlenen proteine özgöl gibi görünmüyordu.
- ▣ Bu durum, protein sentez işleminde başka bir tip RNA'nın aracı molekül olarak davrandığı fikrini güçlendiriyordu.

RNA polimeraz, RNA sentezini yönlendirir

- RNA'nın DNA kalıbı üzerinden sentezlendiğini kanıtlamak için, bu sentezi yönlendirebilen bir enzimin varlığının gösterilmesi gerekiyordu.
- 1959'da bazı araştırmacılar, birbirlerinden bağımsız olarak, sıçan karaciğerinde böyle bir molekülün bulunduğunu saptadılar.
- RNA polimeraz olarak adlandırılan enzim, DNA polimerazla aynı genel substratlara gereksinim duymaktadır.

RNA polimeraz, RNA sentezini yönlendirir

- En önemli fark, substrat nükleotitlerde deoksiriboz yerine riboz şekerinin bulunmasıdır.
- DNA polimerazın aksine, sentezin başlatılması için primer gerekli değildir.

Promotorlar, kalıba bağlanma ve sigma alt birim

- Transkripsiyon sonucu, DNA ikili sarmalının zincirlerinden biri üzerindeki bir bölgeye komplementer olan tek zincirli RNA molekülü sentezlenir.
- Birinci basamak, kalıba bağlanma basamağı olarak tanımlanır.
- Bakteride bu ilk bağlanma, RNA polimerazın sigma alt biriminin promotor denilen özgül DNA dizilerini tanımasıyla gerçekleşir.

Promotorlar, kalıba bağlanma ve sigma alt birim

- Promotor bölge, genin transkripsiyonunun başlangıç noktasına göre daha yukarıda yani 5'- kısımda yer almaktadır.
- Enzim, promotor bölgeyi tanıyana kadar belli bir uzunluktaki DNA boyunca keşif yapmaktadır.
- Sonuçta enzim, 40 nükleotidi transkripsiyonun başlangıç noktasından yukarıda yer alan 60 nükleotidlik bir bölgeye bağlanmaktadır.

Promotorlar, kalıba bağlanma ve sigma alt birim

- Enzim bağlanması gerçekleştikten sonra, sarmal bu bölgede denatüre olur.
- Böylece DNA kalıbı enzimin çalışmasına müsait duruma gelir.
- Transkripsiyonun başladığı bu noktaya transkripsiyon başlangıç bölgesi denir.

Promotor diziler

- Bu diziler, transkripsiyonun başlama etkinliğini idare ederler.
- Bakterilerde transkripsiyonun hızını yöneten hem güçlü hem de zayıf promotorlar tespit edilmiştir.

Promotor diziler

- Promotor dizisindeki mutasyonlar, gen ifadesinin başlamasına, etkinliğinin azalmasına ya da artmasına neden olabilir.
- Promotor ve RNA polimeraz arasındaki ilişki transkripsiyonu yönetmektedir.

Promotor-enzim etkileşimi: konsensus diziler

- Bunlar aynı organizmanın farklı genlerinde ya da birbirine yakın organizmaların bir ya da daha fazla geninde bulunan, benzer (homolog) dizilerdir.

Promotor-enzim etkileşimi: konsensus diziler

- Bakteriyel promotorlarda bu tip iki dizi bulunmuştur.
- Birincisi, transkripsiyonun başlangıç noktasının 10 nükleotit yukarısında yer alan TATAAT dizisidir.
- Diğeri, transkripsiyon başlangıç noktasının 35 nükleotit yukarısında bulunan TTGACA dizisidir.

Promotor-enzim etkileşimi: konsensus diziler

- Bu dizilere cis-etkili elementler denir.
- Buradaki *cis* terimi organik kimyadaki isimlendirmeden alınmıştır ve diğer fonksiyonel gruplara göre yanında ya da aynı tarafta anlamına gelmektedir.

Promotor-enzim etkileşimi: konsensus diziler

- Bu terimin tersi trans'tır ve diğer fonksiyonel gruplara göre çapraz konumda (karşısında) anlamındadır.
- Bu durumda moleküler genetikte, cis-elementler genin içinde aynı DNA molekülündeki bitişik kısımlardır.
- Aksine trans-akting faktörler ise DNA elementlerine bağlanan moleküllerdir.

Promotor-enzim etkileşimi: konsensus diziler

- Ökaryotik genlerin çoğunda -10 bölgesindeki benzer bir konsensus dizi tanımlanmıştır.
- Bu dizi adenin ve timince zengin olduğu için TATA kutusu olarak adlandırılır.

Değişken gen ifadesi

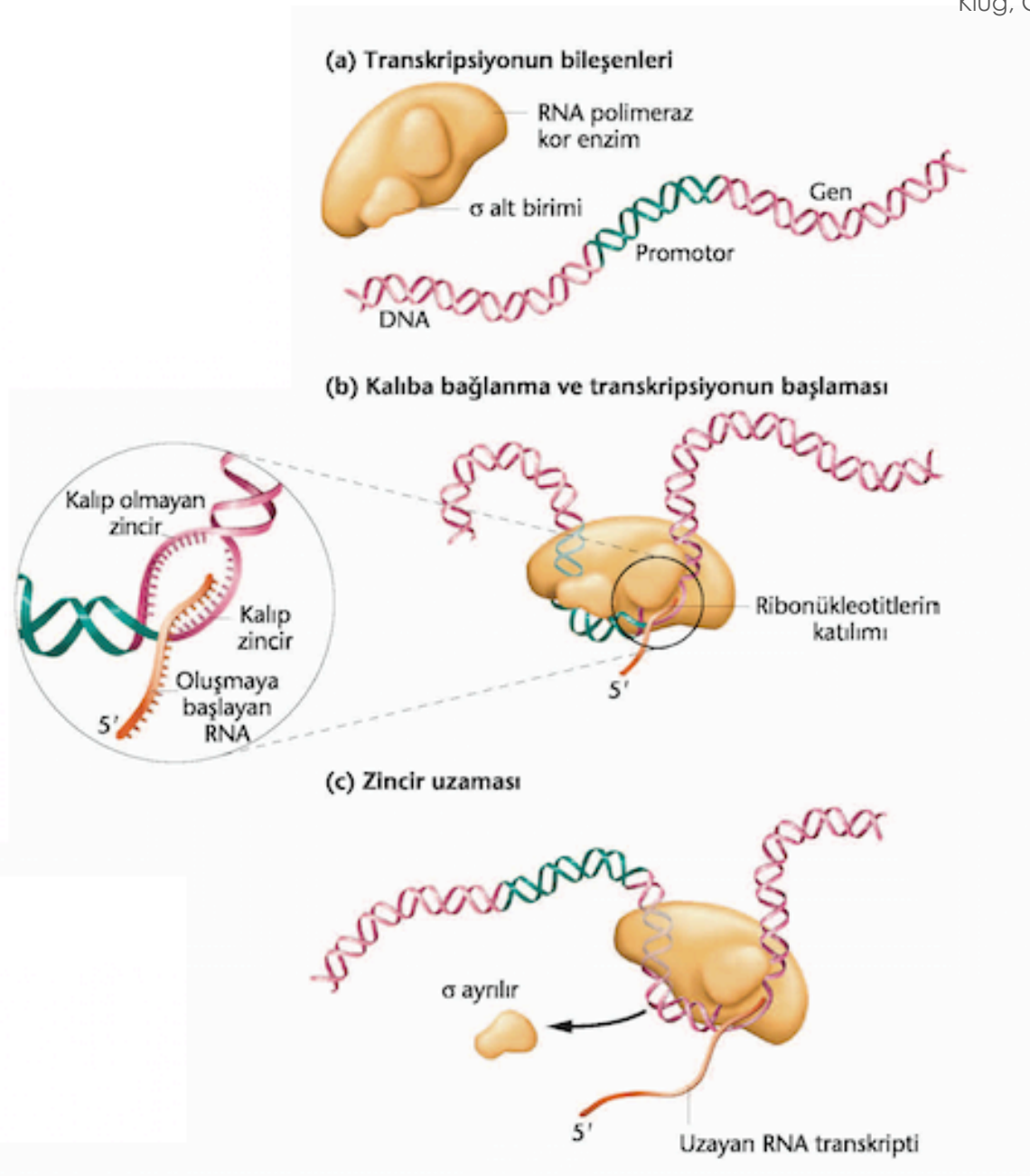
- RNA polimerazın farklı promotorlara bağlanma derecesi oldukça değişiklik göstermektedir.
- Bu durum değişken gen ifadesine yol açar.
- Bunun, promotor dizilerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünölmektedir.

Sigma alt birimi

- Bakteriyel genlerin çoğunun promotorları sigma alt birimini tanımaktadır.
- Ancak, *E. coli*'de RNA polimerazın özgün sigma alt birimlerini içeren çeşitli formları vardır.
- Bu formlar değişik promotor dizilerini tanır ve transkripsiyona başlama özgüllüğü sağlar.

RNA sentezinin başlaması, uzaması ve sonlanması

- RNA polimeraz, promotoru tanıyıp bağlandıktan sonra DNA kalıp zincirinin başlangıç noktasındaki ilk nükleotide komplementer olan ilk 5'-ribonükleozit trifosfatın takılmasını gerçekleştirerek, sentezin başlama basamağını katalizler.



RNA sentezinin başlaması, uzaması ve sonlanması

- Enzimin primer gereksinimi yoktur.
- RNA polimerizasyonu, bir sonraki komplementer ribonükleotidin girmesi ve bir öncekine fosfodiester bağı ile bağlanması şeklinde meydana gelir.
- Bu işlem 5'-3' yönüne doğru devam eder.
- Böylece zincirleri birbirine antiparalel, 8 bç'lik geçici bir DNA/RNA dubleksi yaratılmış olur.

RNA sentezinin başlaması, uzaması ve sonlanması

- Traskripsiyon sonucunda sentezlenen RNA molekülü, genin kalıp zincirini temsil eden DNA dizisine tamamen komplementerdir.
- Kalıp zincirde nerede A, T, C ya da G varsa, RNA molekülüne sırasıyla bunların komplementeri olan U, A, G ya da C nükleotidleri yer alır.

RNA sentezinin başlaması, uzaması ve sonlanması

- Sonuçta hücredeki bütün proteinlerin sentezi için gerekli bilgi bu tür RNA molekülleri tarafından sağlanır.
- Bakterilerde, protein ürünleri aynı metabolik yolda yer alan gen gruplarının, kromozom üzerinde çoğunlukla birlikte kümeler oluşturduğunu da belirtmek gerekir.
- Böylesi durumların çoğunda, genler art arda sıralanır ve son gen dışında diğerleri, transkripsiyonu sonlandıran sinyalleri içermez.

RNA sentezinin başlaması, uzaması ve sonlanması

- Bu durumda, transkripsiyon sonucunda birden fazla proteini şifreleyen büyük bir mRNA molekülü ortaya çıkar.
- Bakteri ve faj genleri geçmişten bu yana sistron olarak adlandırıldığı için bu RNA'ya polisistronik mRNA denir.

RNA sentezinin başlaması, uzaması ve sonlanması

- Bu şekilde kopyalanan gen ürünlerinin hepsi aynı anda gerekli olduğu için bu durum, genetik bilginin transkripsiyonu ve translasyonu için etkin bir yoldur.
- Kural olarak ökaryotlarda monosistronik mRNA'lar bulunur.

Ökaryotlarda transkripsiyon farklıdır

- Ökaryotik transkripsiyon çekirdekte meydana gelir ve üç (3) ayrı RNA polimeraz tarafından yönlendirilir.
- Prokaryotların aksine ökaryotlarda RNA kopyası transkripsiyon tamamlanmadan ribozomla ilişki kurmaz.
- mRNA'nın, translasyon için çekirdekten stoplazmaya taşınması gerekir.

Ökaryotlarda transkripsiyon farklıdır

- Ökaryotik genlerin transkripsiyonunun başlaması için nükleozomun gevşemesi (kromatin iplik-protein birlikteliği) ve kromatin ipliklerinin ayrılması gerekir.
- Böylelikle DNA, RNA polimeraz ve diğer düzenleyici proteinler tarafından ulaşılabilir hale gelir.

Ökaryotlarda transkripsiyon farklıdır

- Transkripsiyonun başlaması ve düzenlenmesi için,
 - DNA'nın yukarı bölgesindeki cis-akting DNA dizileri ile
 - Transkripsiyonun başlaması ve uyarılmasında görev alan trans-akting protein faktörleri arasında yoğun ve karmaşık ilişkilerin kurulması gerekir.

Ökaryotlarda transkripsiyon farklıdır

- Bu moleküllerin sadece %25 kadarı mRNA'ya çevrilir.
- mRNA'ya çevrilenlerde, ribonükleotid dizilerinin oldukça önemli bir miktarı kesilip çıkartılır.
- Geri kalan parçalar çekirdekten taşınmadan ve translasyondan önce birleştirilir.
- Bu olaya 'splicing' (kesip çıkarma ve tekrar birleştirme) adı verilir.

Ökaryotlarda transkripsiyonun başlaması

- Ökaryotlarda değişik tip genlerin transkripsiyonunu gerçekleştiren üç tip özel RNA polimeraz bulunur.
- Bunların her biri prokaryotik RNA polimerazdan daha büyük ve daha karmaşık yapıdadır.

Ökaryotlarda transkripsiyonun başlaması

- RNA polimeraz II aktivitesi, hem genin içindeki cis-akting elementler hem de bu DNA elementlerine bağlanan trans-akting faktörler tarafından kontrol edilir.
- Enzimin etkin bir biçimde transkripsiyonu başlatmasına yardımcı olan en az üç tane cis-akting DNA elementi bulunur.
- Bunlar; promotor, ko-promotor ve enhansır elementlerdir (etki arttırıcı).

Ökaryotlarda transkripsiyonun başlaması

- Bütün ökaryotik genlerde bulunan Goldberg-Hogness ya da TATA kutusu cis-akting ko-promotor elementlere bir örnektir.
- TATA kutusunun konumu, transkripsiyonun başladığı nükleotidin pozisyonunu tayin eder.

Ökaryotlarda transkripsiyonun başlaması

- Ökaryotik promotorun bir parçasını oluşturan diğer bir cis-akting DNA dizisi CAAT kutusudur.
- CAAT kutusu ile beraber düzenleyici elementler promotorun verimli çalışmasını etkiler.

RNA polimerazın işlevi ile ilgili yeni bulgular

- Roger Kornberg ve arkadaşları, mayadan elde ettikleri RNA polimeraz üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapmışlardır.
- Bu çalışmalar transkripsiyon hakkında çok ayrıntılı bilgiler vermiştir.
- Maya RNA polimeraz II'si muazzam bir üç boyutlu kompleks oluşturmaktadır.

RNA polimerazın işlevi ile ilgili yeni bulgular

- Kopyalanacak olan DNA sarmalının promotor bölgesi, enzimin iki büyük alt birimi arasında oluşan artı yüklü yarığa yerleşir.
- Alt birimler, bir çift çeneyi andıran bir yapı oluşturur.

RNA polimerazın işlevi ile ilgili yeni bulgular

- DNA ile ilişki kurmadan önce çene açıktır.
- DNA ile ilişki kurduğunda ise, kısmen kapanarak transkripsiyonun başlangıcında sarmalı emniyet altına alır.
- Enzimin bu bağlantıda rol alan kritik bölgesi kıskaç olarak adlandırılır.

Başasırız transkripsiyon

- Kısaç tarafından emniyete alınan DNA kalıp zinciri, enzimin aktif merkezine yakın bir bölgeden itibaren açılmaya başlar.
- Ancak kompleksin tümü dayanıksızdır.
- Yalnız birkaç ribonükleotid ilavesinden sonra transkripsiyon çoğunlukla son bulur.
- Bu sürece başasırız transkripsiyon adı verilir.

Başasırız transkripsiyon

- Bu işlem, 11 ribonükleotidlik dayanıklı bir DNA–RNA hibridi oluşana kadar birkaç kez tekrarlanır.
- Bu yapı oluştuktan sonra kompleks dayanıklılık kazanır ve RNA transkripti kararlı bir biçimde uzamaya devam eder.

Transkripsiyonun devamı

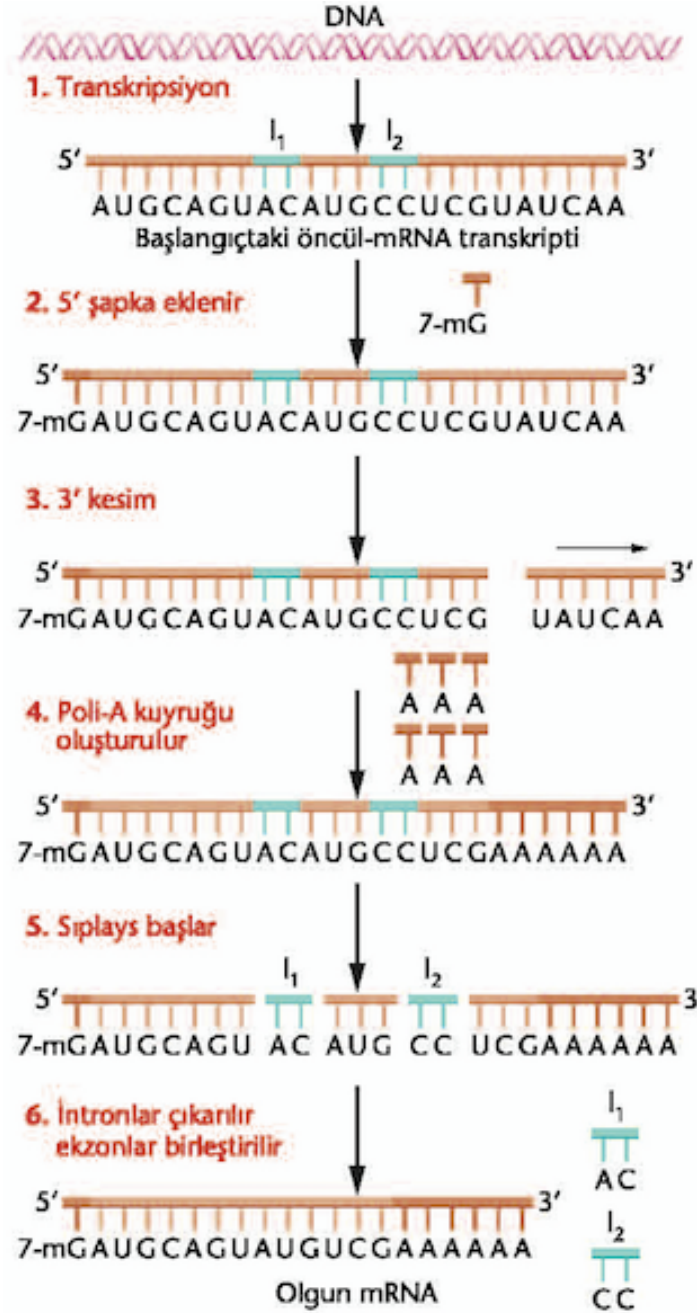
- Transkripsiyonun devamı sırasında enzim, DNA üzerinde hareket eder.
- İlk sentezlenen DNA enzimin içindeki bir oluktan geçerek üstte ve arkada kapak olarak adlandırılan bir yapıdan dışarı çıkar.
- Enzimin altında, gözenek (por) denilen başka bir alan daha tanımlanmıştır.

Transkripsiyonun sonlanması

- Bu alan RNA bazlarının komplekse giriş yapmasını sağlar.
- Transkripsiyon sonunda DNA'da sonlanma sinyalini taşıyan kısma gelinir.
- Kompleks bir kez daha dayanıksız hale geçer.
- Kıskaç açılır, transkripsiyon sona ererken DNA ve RNA enzimden ayrılır.
- Bu şekilde, transkripsiyon modelini oluşturan döngü tamamlanmış olur.

Heterojen çekirdek RNA'sının işlenmesi

- DNA'daki baz dizisi önce bir mRNA dizisi şeklinde kopyalanır.
- Prokaryotlarda daha sonra bu mRNA dizisinin, genetik şifreye göre, amino asit dizileri şeklinde doğrudan translasyonu sağlanır.
- Bunun aksine ökaryotlardaki mRNA, translasyona katılmak için stoplazmaya geçmeden önce karmaşık bir işlemden geçer.



Heterojen ekirdek RNA'sının işlenmesi

- Ökaryotik RNA transkriptlerinin mRNA olmaları yolundaki ilk transkripsiyon sonrası değişiklik (post-transkripsiyonel modifikasyon), bu moleküllerin 5' ucuna 7 metil guanozin şapka yapısının takılmasıdır.
- Transkript henüz tamamlanmadan takılan bu şapka yapısı, muhtemelen molekülün 5' ucunu nükleazlara karşı korumaktadır.

Ökaryotik genler kesintilidir

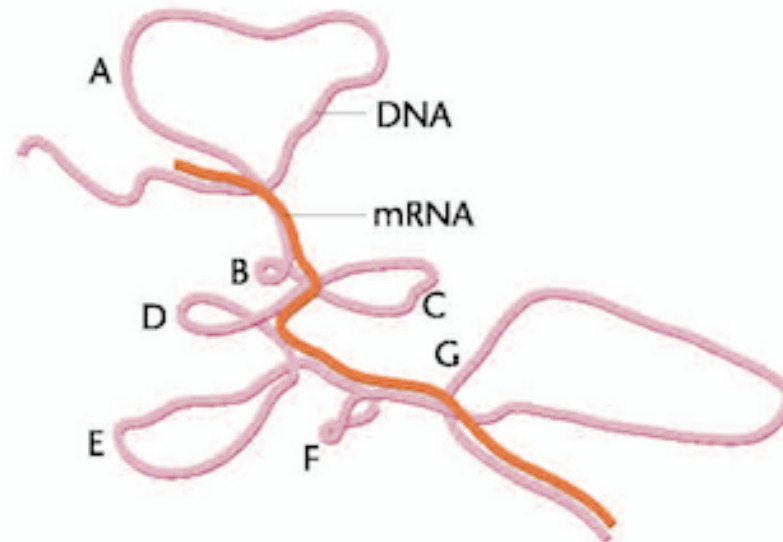
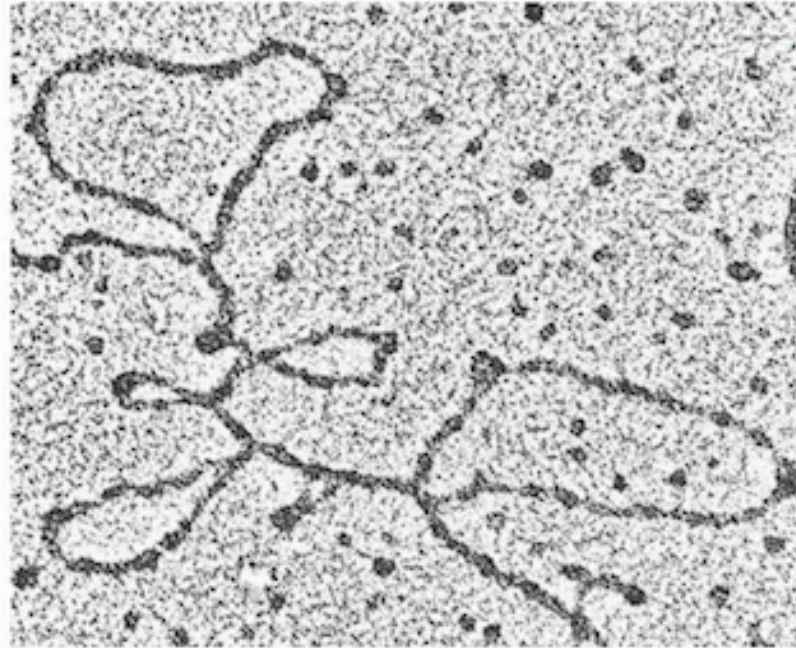
- Araştırmacılar, ökaryotik genlerde amino asitlere dönüştürülmeyen dahili (internal) bazı nükleotid dizilerinin varlığını kanıtlamışlardır.
- Bu diziler, ilkin RNA transkriptinde bulunmakta, ancak, mRNA'nın translasyonundan önce yapıdan uzaklaştırılmaktadır.
- Bu tip nükleotit parçalarına araya giren diziler denir ve yapısında bu dizileri içeren genler de parçalı (split) genler olarak bilinir.

Ökaryotik genler kesintilidir

- Son halini almış olgun mRNA ürününde bulunmayan bu diziler intronlar olarak adlandırılır.
- mRNA'da kalan ve ifade edilen DNA dizilerine ise ekzon denir.

'Splicing' (kes-çıkarma)

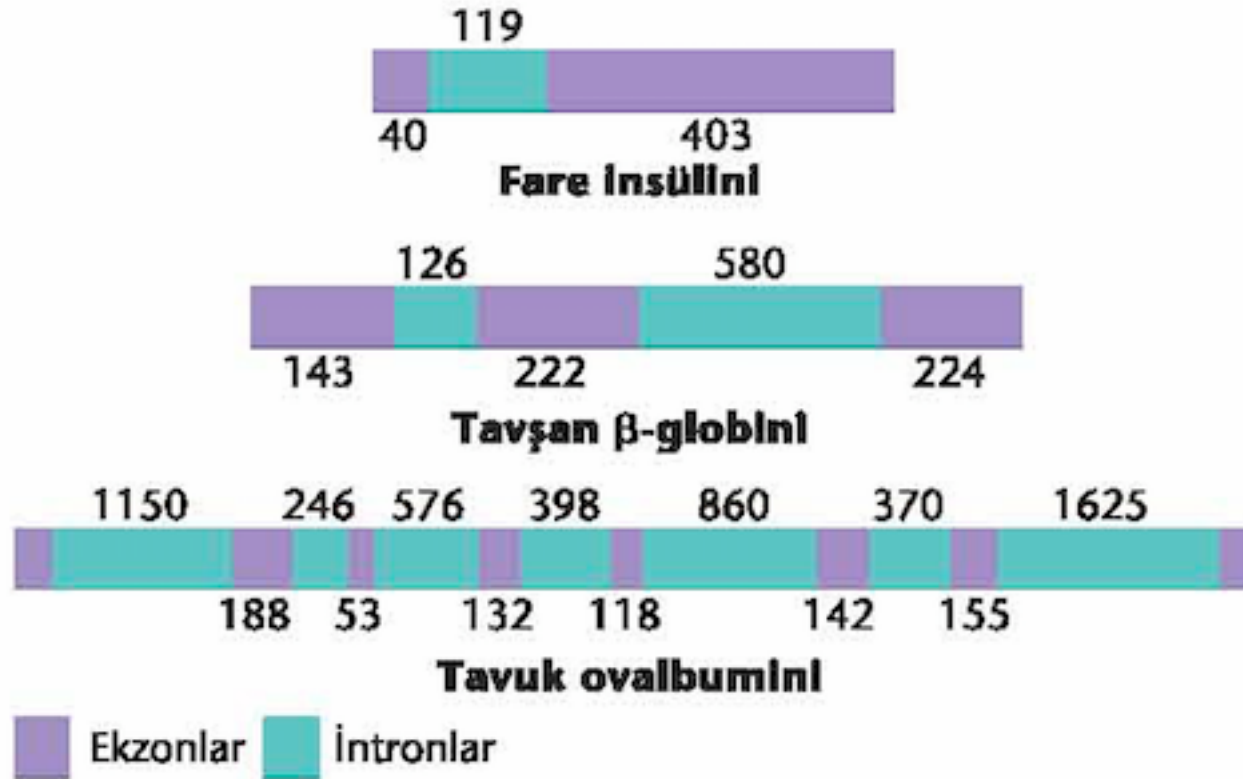
- Splicing terimi, kesip çıkarma işlemiyle intronlardaki ribonükleotid dizilerinin uzaklaştırılması ve ekzonların birleştirilmesi anlamına gelmektedir.
- Bu güne kadar ökaryotik genlerin çoğunun intron içerdiği gösterilmiştir.
- İlk intronlar, fare ve tavşan beta-globin genlerinde tanımlanmıştır.



'Splicing' (kes-çıkır)

- Tüm memelilerin incelenen beta-globin genlerinde benzer intronlar bulunmuştur.
- Intron içermeyen çok az ökaryotik gen vardır.

'Splicing' (kes-çıkıkar)



'Splicing' (kes-çıkarma)

- Olgun mRNA'da hata olmaması için, kesip-çıkarma ve birleştirmenin olağanüstü doğrulukta gerçekleşmesi gerekir.
- Bilinen en uzun insan geni olan distrofin geninin %1'den daha az bir kısmı mRNA'da kalır.

İstisnalar !!!

- Histon ve interferon genlerinde intron bulunmaz.

TABLO 13.8

**BAZI İNSAN GENLERİNİN,
GEN UZUNLUĞU İLE mRNA
UZUNLUĞUNUN VE İNTRON
SAYILARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

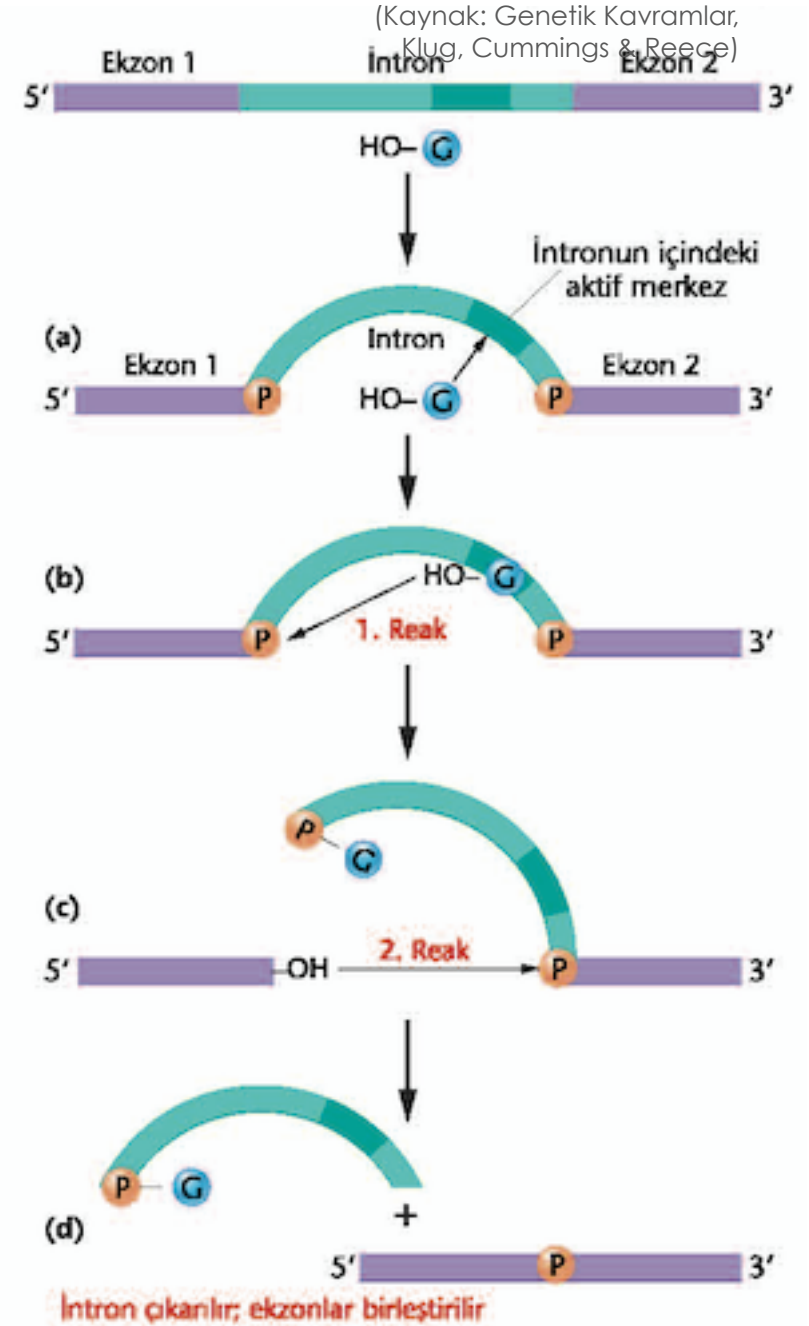
Gen	Gen Uzun. (Kb)	mRNA Uzun. (Kb)	Intron Sayısı
İnsülin	1.7	0.4	2
Kollajen [<i>pro-α-2(1)</i>]	38.0	5.0	50
Albümin	25.0	2.1	14
Fenilalanin hidrosilaz	90.0	2.4	12
Distrofin	2000.0	17.0	50

Splicing mekanizmaları: Otokatalitik RNA'lar

- Bazı RNA'ların intronlarının çıkarılmaları için ayrı bir bileşen gerekmemektedir.
- Bu şaşırtıcı buluş Thomas Cech ve arkadaşları tarafından silli protozoa *Tetrahymena* ile yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır.

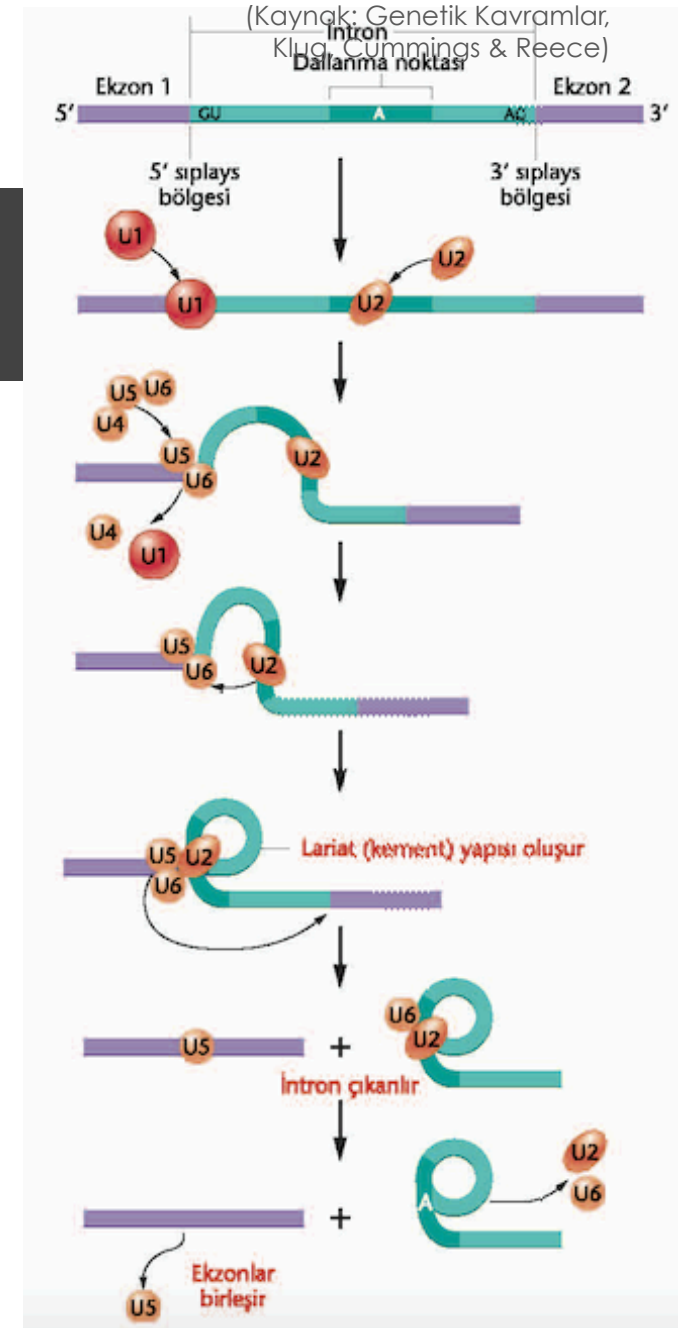
Splicing mekanizmaları: Otokatalitik RNA'lar

- Kendi kes-çıkar işlemlerini yapabilen bu RNA'lar otokatalitik özelliğe sahiptirler ve ribozimler olarak adlandırılırlar.



Splicosome

- İntronlarda bulunan konsensus diziler, kes-çıkar işlemi için gerekli olan molekülleri bu bölgelere çekerler.
- Splicosome olarak adlandırılan bu kompleks maya ve memeli hücre özütlerinde tanımlanmıştır.



RNA'nın düzeltilmesi (RNA editing)

- 1980'lerin sonralarına doğru, RNA'nın transkripsiyon sonrası işlenmesinin ilginç ve beklenmedik şekli bulunmuştur.
- RNA editing olarak adlandırılan bu süreçte, öncül mRNA'nın nükleotit dizisi, translasyondan önce değişikliğe uğramaktadır.

RNA'nın düzeltilmesi (RNA editing)

- Çalışmalar, başlıca iki tip RNA editing üzerinde yoğunlaşmıştır:
 - Substitüsyon: Mevcut RNA bazları ile başka RNA bazlarının yer değiştirilmesi.
 - İnsersiyon/Delesyon: Nükleotid ekleme çıkarma.
- Substitüsyon şeklinde RNA editing, mitokondri ve kloroplast RNA'larında çok yaygındır.

RNA'nın düzeltilmesi (RNA editing)

- *Physarum polycephalum*, mitokondri mRNA'larında hem substitüsyon hem de insersiyon/delesyon düzeltme işlemleri uygulanır.
- Afrika uyku hastalığına neden olan *Trypanosoma* paraziti ve yakın türler, mitokondriyel RNA'larında insersiyon/delesyon mekanizmasını yaygın olarak kullanırlar.

RNA'nın düzeltilmesi (APO B)

- Substitüsyon şeklinde düzeltmenin en iyi çalışıldığı örnekler, memelilerde çekirdekte sentezlenen mRNA transkriptleridir.
- Apolipoprotein B'nin (APO B) tek bir gen tarafından şifrelenen uzun ve kısa formları bulunur.

RNA'nın düzeltilmesi (APO B)

- İnsan bağırsak hücrelerindeki APO B mRNA'sının düzeltme işleminde, tek bir C-U değişikliği glutamini kodlayan CAA kodonunu UAA (dur) kodonuna dönüştürür.
- Polipeptidin, genomik olarak şifrelenen uzunluğunun yaklaşık yarısında sonlanmasında neden olur.

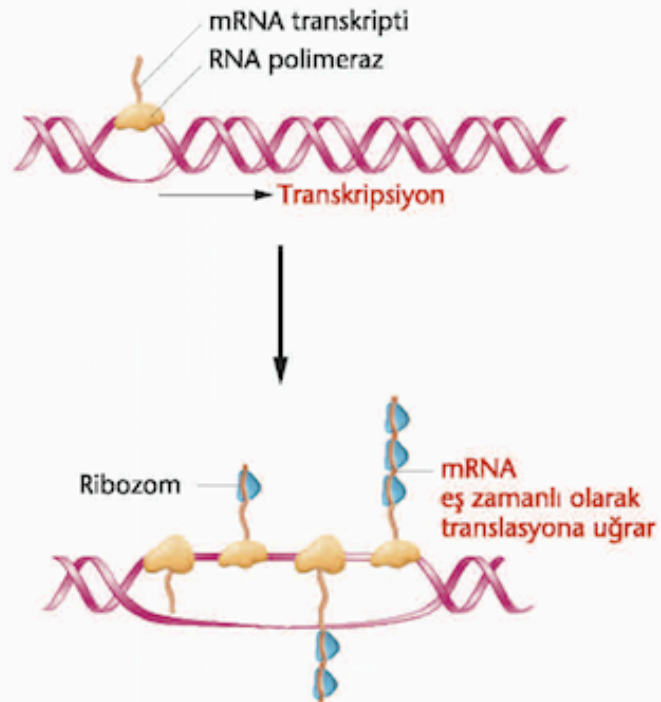
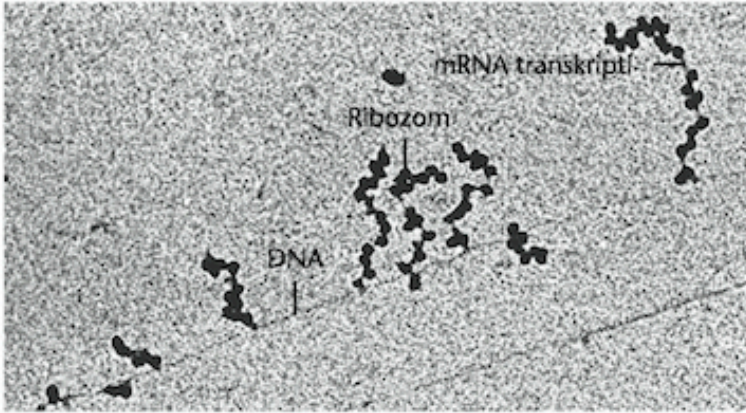
RNA'nın düzeltilmesi (glutamat reseptör kanalları)

- Memeli beyin dokusundaki glutamat reseptör kanallarını oluşturan alt birimlerinin sentezi de, RNA düzeltme işleminden etkilenmektedir.
- Öncül mRNA'lardaki adenozim (A), translasyondan önce inozin şeklinde düzeltilir.

Transkripsiyon elektron mikroskopu ile görüntülenmiştir

Sonraki slayta bakınız !

(a) *E. coli*



(b) *Notophthalmus viridescens*

