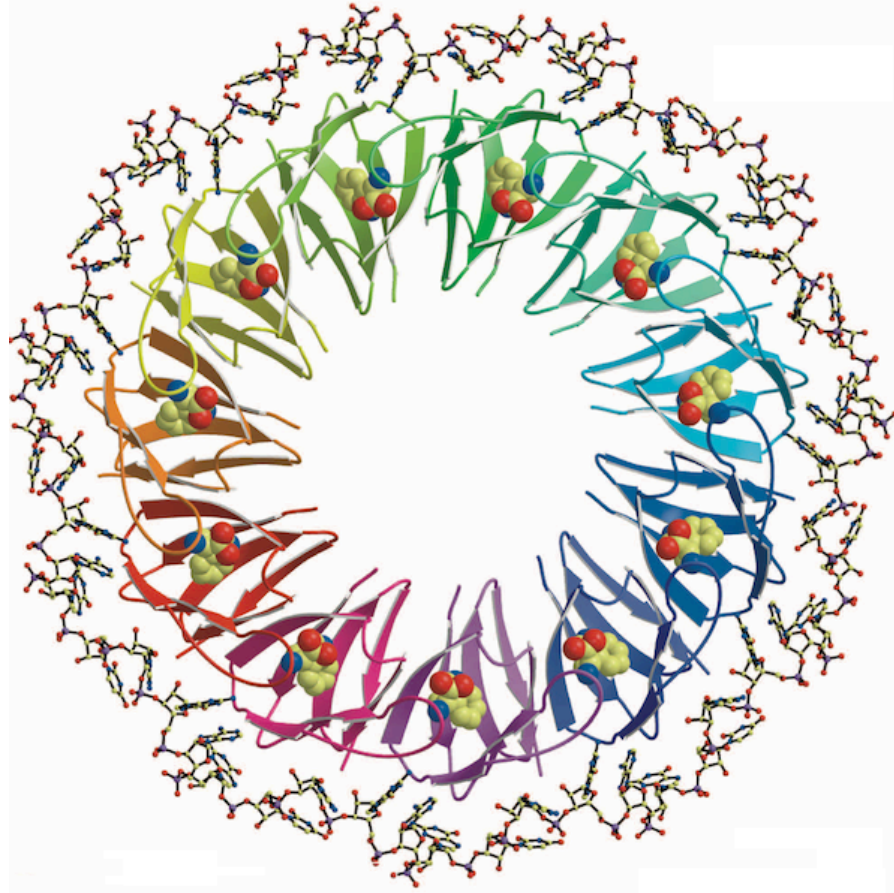


# PROKARYOTLARDA GEN İFADESİNİN DÜZENLENMESİ



# Gen ifadesi nasıl kontrol edilir?

- ❑ Genlerin açılıp kapanabildiğini ifade eden görüşleri destekleyen kuvvetli kanıtlar bulunmaktadır.
- ❑ Örneğin, *E. coli* proteinlerinin ayrıntılı olarak incelenmesi;
- ❑ Genomun şifrelediği yaklaşık 4000 kadar polipeptid zincirinin derişimlerinin oldukça değişkenlik gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

# Gen ifadesi nasıl kontrol edilir?

- ❑ Prokaryot gen ürünlerinin büyük bir kısmı hücrede sürekli olarak bazal seviyede (birkaç kopya) bulunmasına rağmen, gerektiğinde miktarları olağanüstü artabilir.
- ❑ Genetik bilginin ifadesini kontrol eden temel kontrol mekanizmaları bulunmalıdır.

# Gen ifadesi nasıl kontrol edilir?

- ❑ Bakteriler pek çok nedenden ötürü genetik için çok faydalı araştırma organizmaları olmuşlardır.
  - ❑ Birincisi, son derece kısa üreme döngüleri vardır.
  - ❑ İkincisi, genetik bakımdan özgün olan mutant bakteri suşlarının izole edilebildiği ve bağımsız olarak araştırılabildiği 'saf kùltürler' oluşturulabilir.

# Gen ifadesi nasıl kontrol edilir?

- ❑ Bakteriler ayrıca, çevre koşullarındaki değişikliklere cevap olarak ortaya çıkan genetik transkripsiyonun uyarılmasının (indüksiyonunun) incelendiği çalışmalarda da kullanılır.
- ❑ Bakterilerde bulunan, transkripsiyon sonrası (post-transkripsiyonel) regülasyonun varlığı da unutulmamalıdır.

## Prokaryotlar çevre koşullarına cevap veren etkin genetik mekanizmalara sahiptir

- ❑ Bakteriler yalnızca çevre koşullarındaki değişikliklere cevap vermezler.
- ❑ Aynı zamanda, çeşitli normal hücresel olaylardaki (replikasyon, rekombinasyon, DNA hasarı tamiri) ve hücre bölünmesi ve gelişimindeki gen aktivitelerini de regüle ederler.



## Fakültatif ve konstitütif enzimler

- ❑ Hücrede, çevrenin kimyasal koşullarına bakılmaksızın sürekli olarak sentezlenen enzimler ise konstitütif enzimler olarak adlandırılır.
- ❑ Daha sonraki araştırmalar, bunun tersi olarak belirli bir molekülün varlığı ile genetik ifadenin baskılandığı başka bir sistemin bulunduğunu göstermiştir.
- ❑ Örneğin, bakteri hücreleri triptofan amino asitini sentezleyebilir.



## Prokaryotlar çevre koşullarına cevap veren etkin genetik mekanizmalara sahiptir

- ❑ Triptofanın, uygun biyosentetik enzimlerin üretimi için gerekli olan mRNA'nın tanskripsiyonunda baskılayıcı rol oynadığı bir mekanizma gelişmiştir.
- ❑ Triptofanın ifadesini yöneten sistem baskılanabilir sistem olarak tanımlanır.
- ❑ Uyarılabilen ya da baskılanabilen regülasyon, negatif ya da pozitif kontrol altında bulunabilir.

## Prokaryotlar çevre koşullarına cevap veren etkin genetik mekanizmalara sahiptir

- ❑ Negatif kontrol: Bir çeşit regülatör molekül tarafından engellenmediği sürece genetik ifade gerçekleşebilir.
- ❑ Pozitif kontrol: Sadece regülatör molekül, RNA sentezini doğrudan uyarırsa transkripsiyon gerçekleşir.

## Prokaryotlar evre koşullarına cevap veren etkin genetik mekanizmalara sahiptir

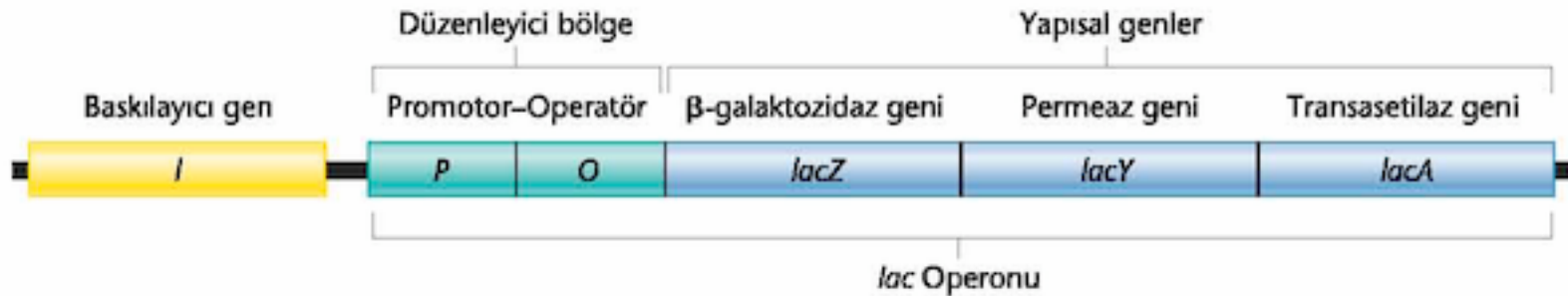
- Laktoz metabolizması ile ilgili birçok genetik ve biyokimyasal veriler elde edilmiştir.
- Bu çalışmalarla, laktoz metabolizmasından sorumlu gen aktivitesinin, laktoz varken uyarıldığını gösteren kanıtlar sağlanmıştır.

# Laktoz metabolizması

- ❑ Laktozun varlığında, laktoz metabolizmasında yer alan enzimlerin miktarı, hücre başına birkaç molekülden binlerce moleküle kadar hızla artmaktadır.
- ❑ Bu durumda, laktoz metabolizmasından sorumlu enzimler uyarılabilen (indüklenebilen) enzimlerdir.
- ❑ Burada laktoz, uyarıcı (indükleyici) olarak yer almaktadır.

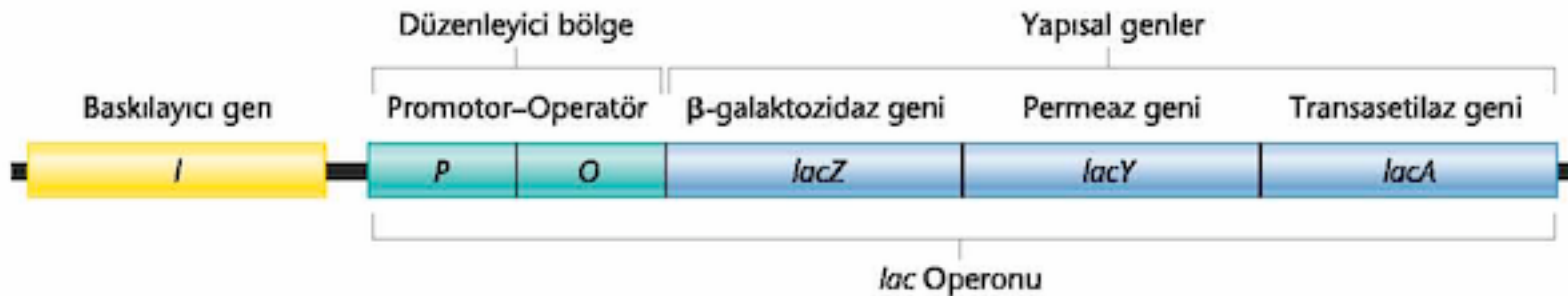
# cis-acting (aynı-etkili) bölge

- ❑ Prokaryotlarda, birbiri ile ilişkili işlevleri olan enzimleri şifreleyen genler (örneğin, laktoz metabolizması ile ilgili genler) kümeler halinde organize olma eğilimindedir.
- ❑ Tek bir regülatör (düzenleyici) birimin koordineli genetik kontrolü altındadır.



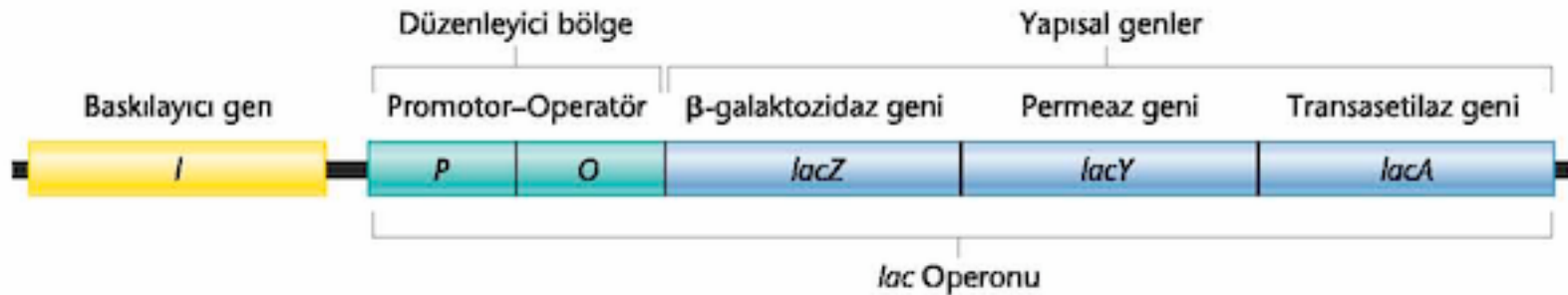
# cis-acting (aynı-etkili) bölge

- ❑ Bu düzenleyici bölge, genellikle kontrol ettiği gen kümesinin yukarı kısmındadır.
- ❑ Bu bölge cis-acting (aynı-etkili) bölge olarak tanımlanır.
- ❑ Bu bölgedeki etkileşimler, gen kümesinin transkripsiyonunu kontrol eden moleküllerin buraya bağlanmasıyla olur.
- ❑ Bağlanan moleküller ise trans-acting (karşı-etkili) elementler olarak adlandırılır.



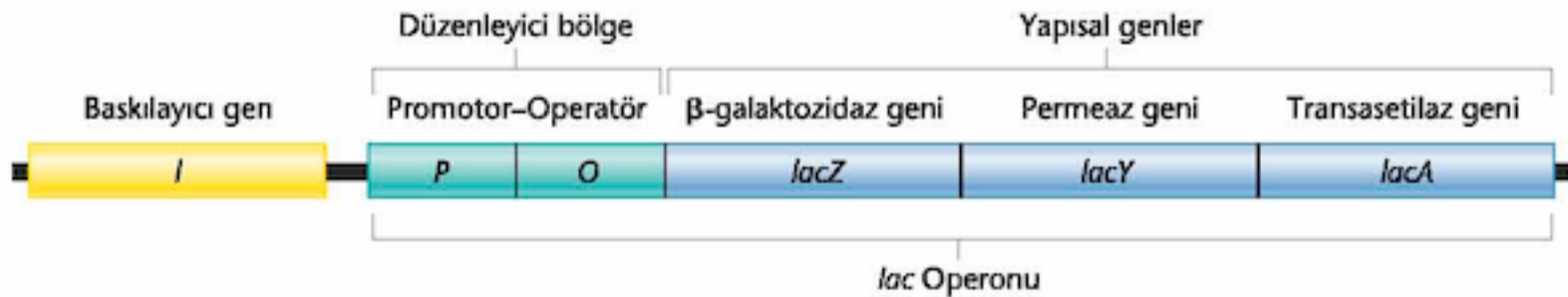
# Lac operonu: Uyarılabilen operon

- Gen kümesinin bir parçası olan düzenleyici bir genin ve düzenleyici bir bölgenin varlığının keşfedilmesi,
- Gen ifadesinin nasıl kontrol edildiğinin anlaşılmasında son derece önemli olmuştur.



# Lac operonu: Uyarılabilen operon

- ❑ Laktoz metabolizması, kümedeki üç yapısal genin işlevine bağlıdır.
- ❑ Üç yapısal gen ve bitişindeki regülatör bölge laktoz ya da lac operonunu oluşturmaktadır.





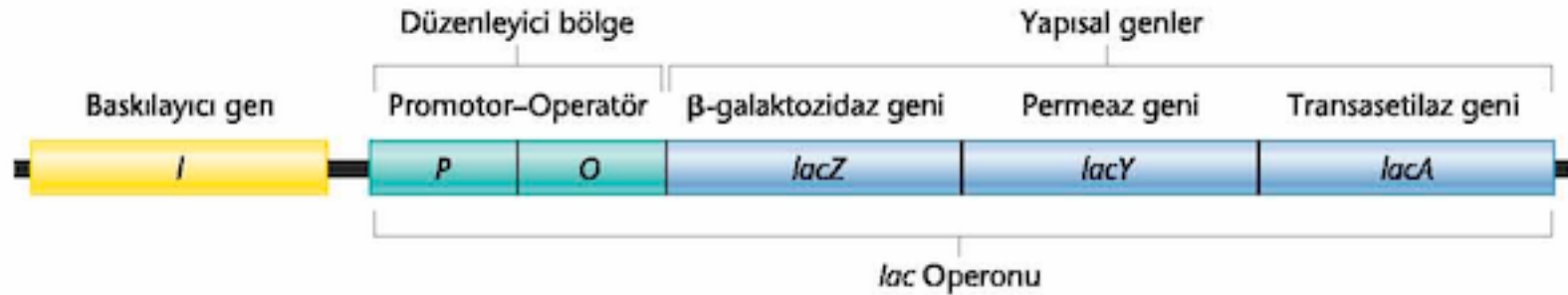
# Lac operonunun yapısal genleri

- Enzimlerin primer yapısını şifreleyen genlere yapısal genler denir.
- Lac operonunda üç tane yapısal gen vardır.
  - Lac Z: Öncelikli görevi disakkarit laktozu, monosakkaritleri olan glukoz ve galaktoza çeviren  $\beta$ -galaktozidaz enzimini şifreler.
  - Lac Y: Laktozun hücre içine alınmasını kolaylaştıran permeaz enzimini belirler.
  - Lac A: Transasetilaz enzimini şifreler.



# Lac operonunun yapısal genleri

- Bu enzimin fizyolojik rolü tam açık olmamakla birlikte, hücrede laktozun sindirilmesiyle ortaya çıkan toksik yan ürünlerin uzaklaştırılmasıyla ilgili olabilir.

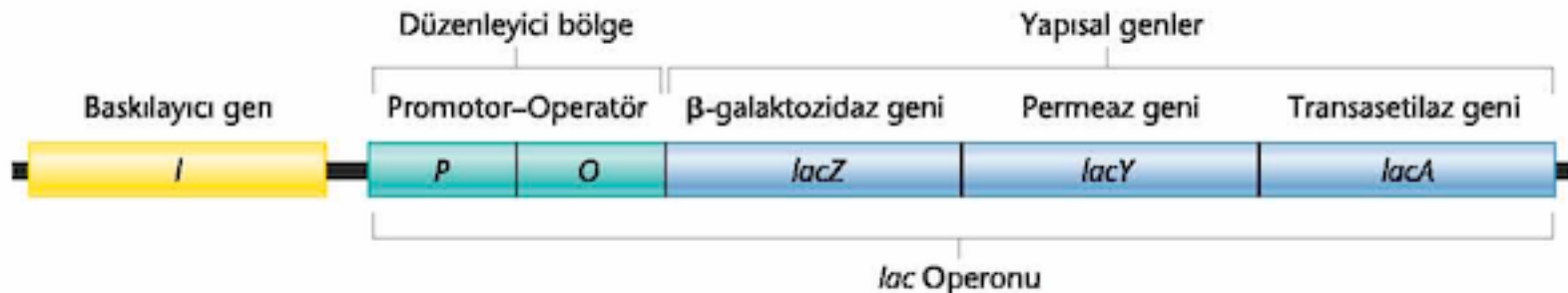


# Lac operonunun yapısal genleri

- Araştırmacılar bu üç enzimi kodlayan genlerle ilgili çalışma yapmak için,
- Enzimlerden birinin ya da diğerrinin işlevini ortadan kaldıran çeşitli mutasyonları taşıyan mutantlar izole etmişlerdir.

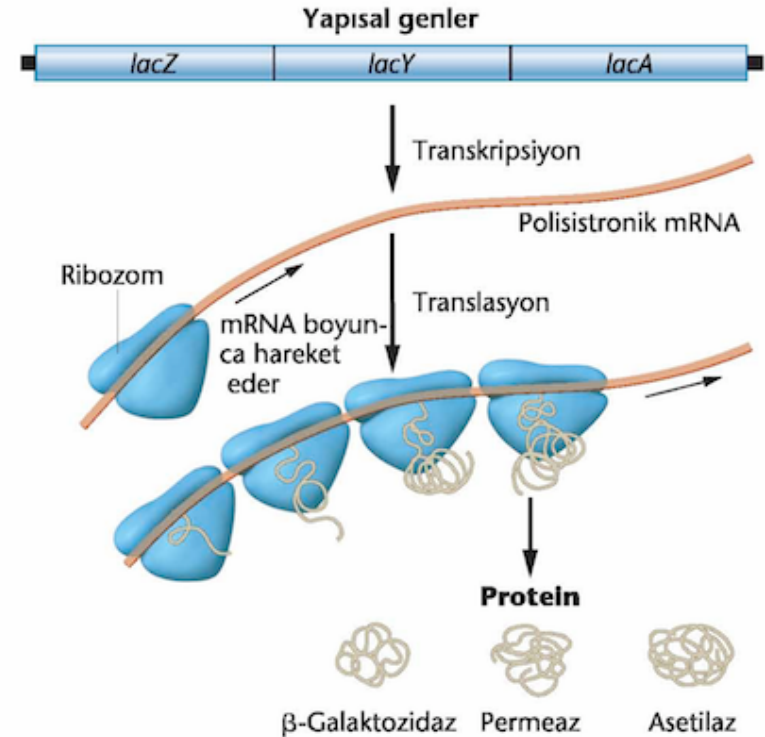
# Lac operonunun yapısal genleri

- ❑ Aktif  $\beta$ -galaktozidaz ya da permeaz sentezleyemeyen mutant hücreler (sırasıyla, Lac Z<sup>-</sup> ya da Lac Y<sup>-</sup>), laktozu enerji kaynağı olarak kullanamazlar.
- ❑ Transasetilaz geninde de mutasyonlar bulunmuştur.
- ❑ Lederberg'in yaptığı haritalama çalışmaları sonucunda, üç genin hepsinin birbirleri ile yakın bağlantılı olduğu ve Z-Y-A düzeninde bitişik oldukları saptanmıştır.



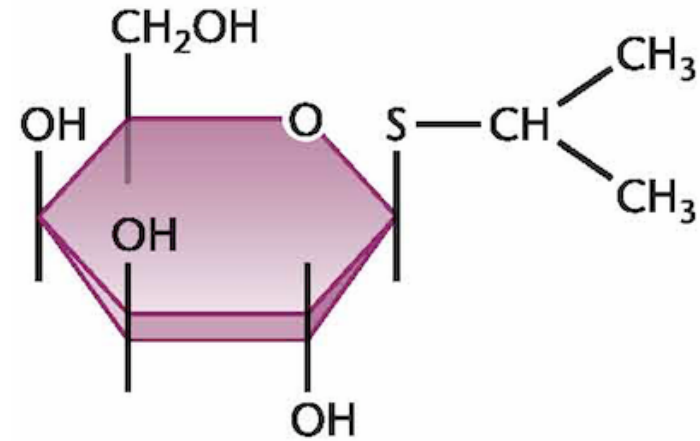
# Lac operonunun yapısal genleri

- ❑ Yapısal genler hakkında başka bir gözlem daha yapılmıştır.
- ❑ Bu üç genin tek bir birim halinde transkripsiyona uğrayarak bir polisistronik mRNA oluşturdukları saptanmıştır.
- ❑ Üç gen ürününün translasyonu tek bir haberci molekülden (tek bir mRNA'dan) yapıldığı için, bu üç genin regülasyonu da birlikte yapılmaktadır.



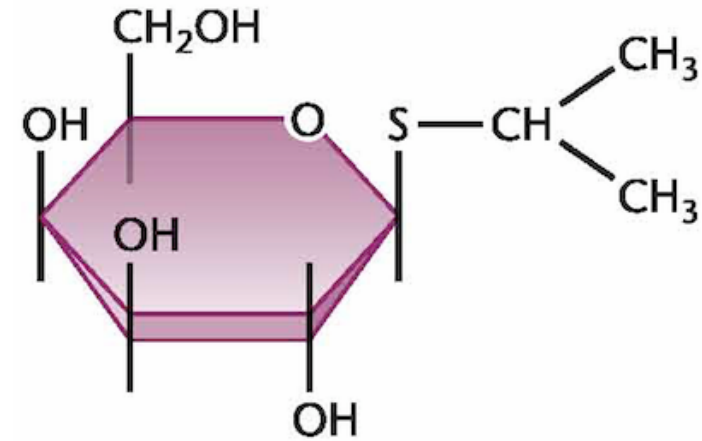
# Regülatör mutasyonların bulunuşu

- ❑ Laktoz, yapısal genleri nasıl aktive etmekte ve ilgili enzimlerin sentezini nasıl uyarmaktadır?
- ❑ Bu sorunun cevabının bir kısmı sahte uyarıcılar olarak adlandırılan ve laktozun yapısına benzer kimyasal moleküllerin (analogları) bulunması ve bunlarla yürütülen çalışmalardan elde edilmiştir.

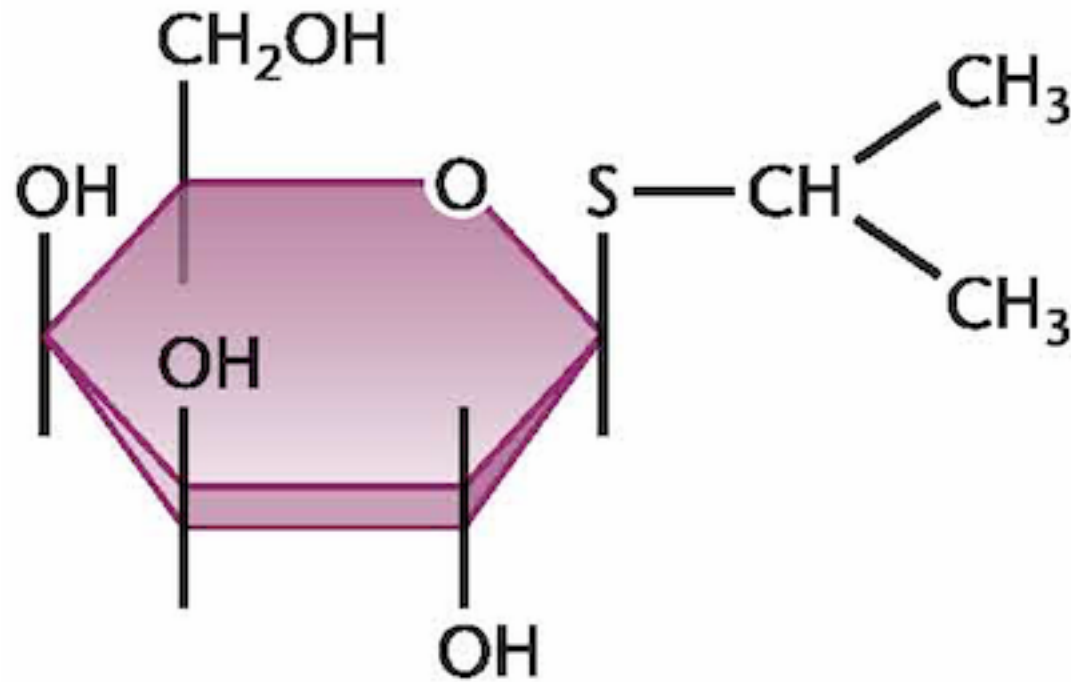


# Regülatör mutasyonların bulunuşu

- ❑ Sahte uyarıcılar, doğal uyarıcılar gibi davranırlar.
- ❑ Ancak, sentezlenecek olan enzimlerin substratları değildirler.
- ❑ O halde, laktozun uyarılmadaki rolü nedir?
- ❑ Bu sorunun cevabını almak için konstitütif mutanlar denilen diğer bir sınıf mutasyonun çalışılması gerekmiştir.



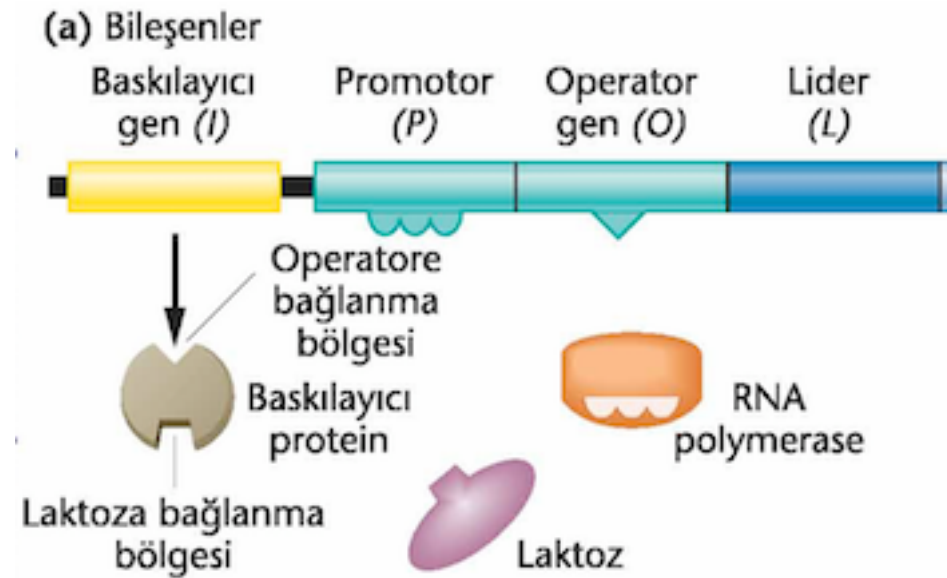
# Sahte indükleyici ajan: İzopropiltiyogalaktozit (IPTG)





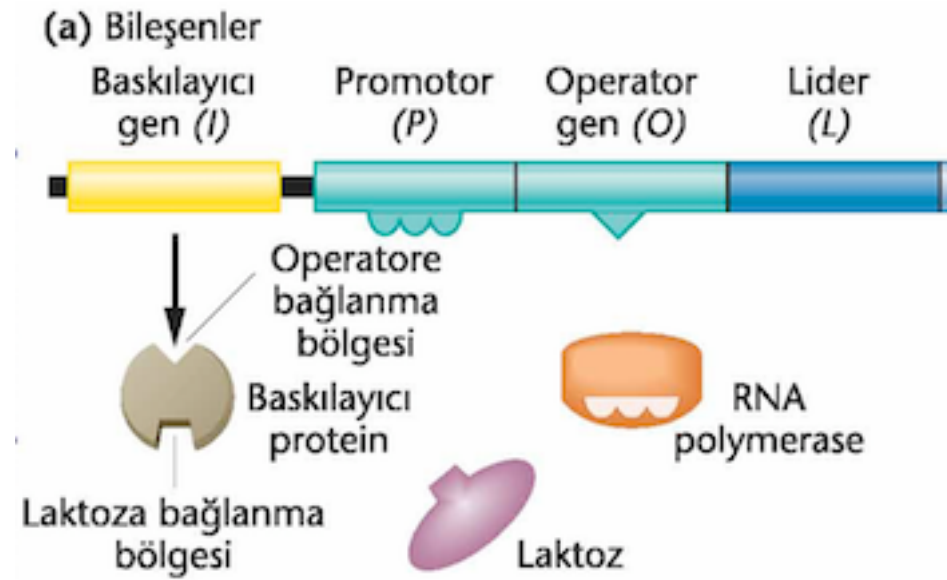
# Regülatör mutasyonların bulunuşu

- ❑ Bu tip mutasyonlarda, laktoz ortamda olsa da olmasa da enzimler sentezlenir.
- ❑ Bu tip ilk konstitütif mutasyon olan lac I<sup>-</sup> haritalandığında, DNA'da yapısal genlere yakın, ancak farklı bölgede bulunduğu saptanmıştır.
- ❑ Lac I geni baskılayıcı gen olarak adlandırılır.



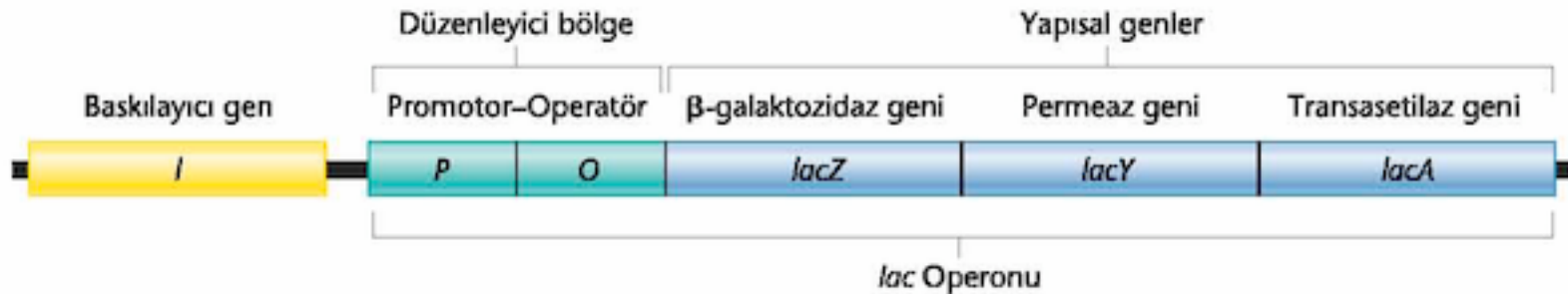
# Regülatör mutasyonların bulunuşu

- ❑ Benzer etkileri oluşturan ikinci tip konstitütif mutasyonlar yapısal genlerin hemen yanındaki bölgede bulunmuşur.
- ❑ Bu sınıftaki mutasyonlara Lac O<sup>c</sup> adı verilmektedir.



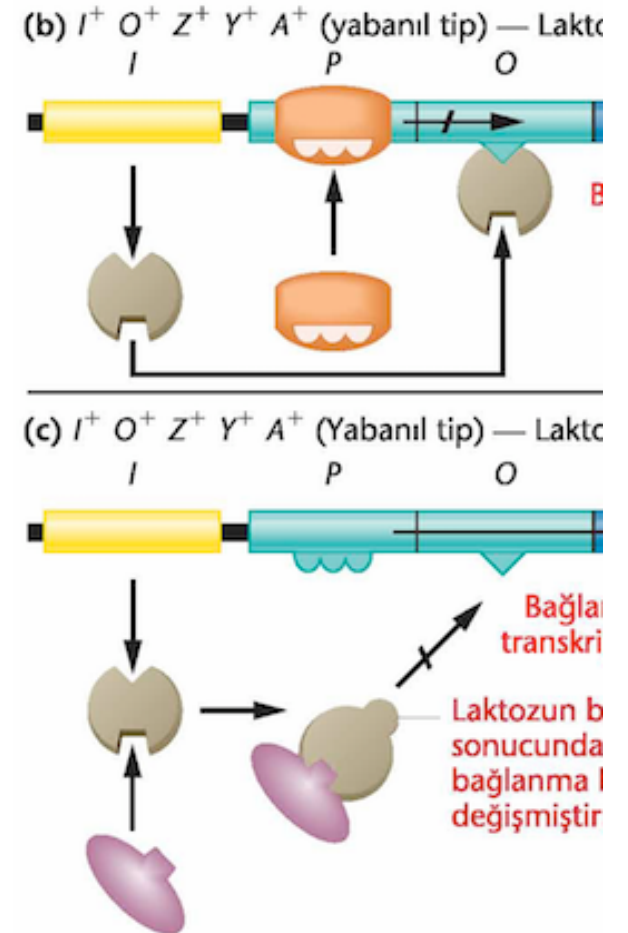
# Operon modeli: Negatif kontrol

- 1960'larda, Jacob ve Monod, negatif kontrol gösteren ve bir gen grubunun tek bir birim halinde, birlikte regüle ve ifade edildiği bir operon modeli önermişlerdir.
- Lac operonunda Z,Y,A yapısal genleri ve bunların hemen yanında operatör bölge denilen DNA dizileri yer alır.



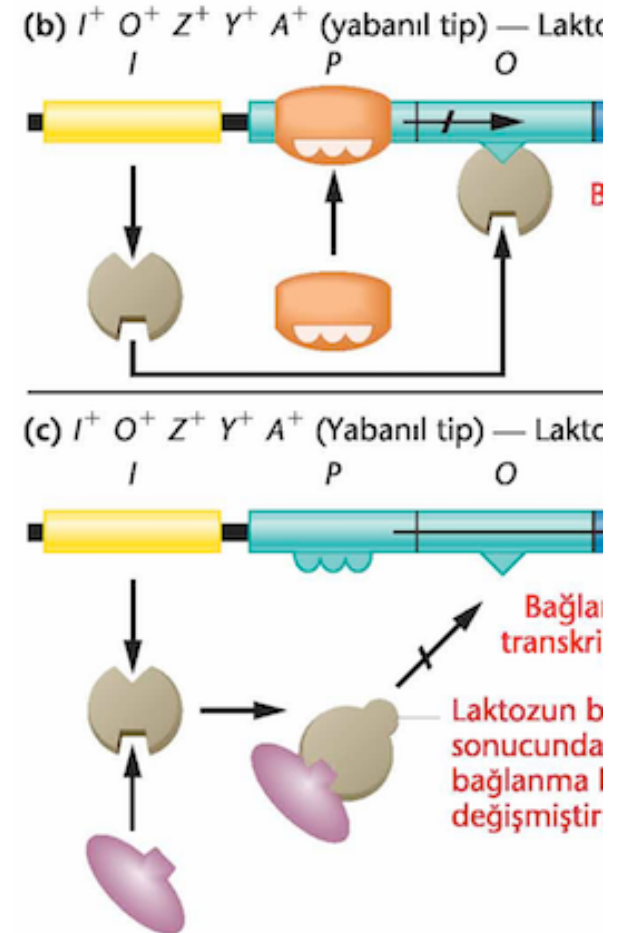
# Operon modeli: Negatif kontrol

- ❑ Jacob ve Monod'a göre, Lac I geni bir baskılayıcı molekül oluşturarak yapısal genlerin transkripsiyonunu regüle etmektedir.
- ❑ Bu molekül baskılayıcı allosterik bir moleküldür.
- ❑ Bunun anlamı şudur:
- ❑ Molekül, başka bir moleküle tersinir olarak bağlanır ve hem üç boyutlu yapısı konformasyonal değişikliğe uğrar hem de kimyasal aktivitesi değişir.



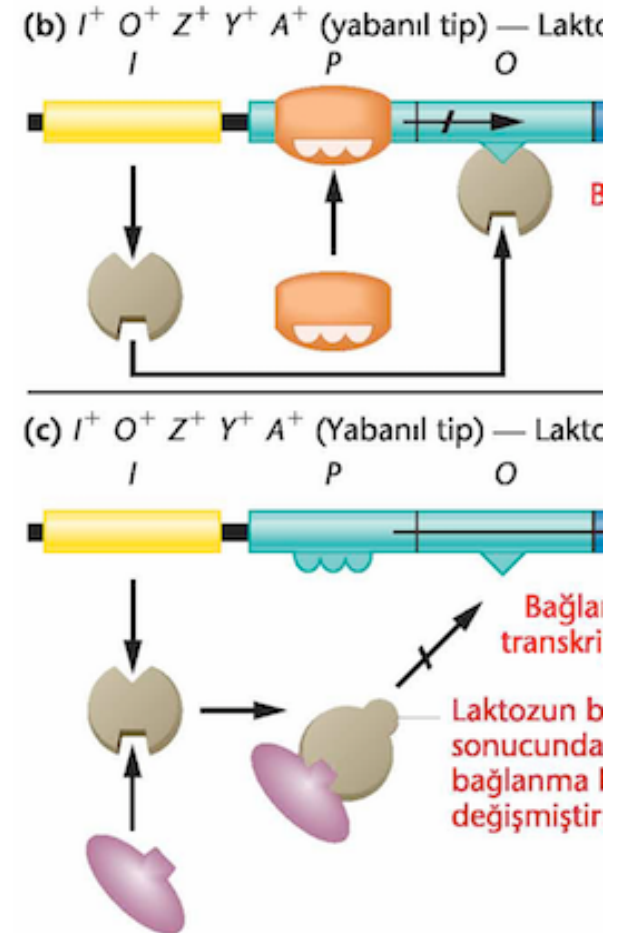
# Operon modeli: Negatif kontrol

- Jacob ve Monod'a göre, baskılayıcı normal olarak operatör bölgesinin DNA dizisiyle ilişki kurmaktadır.
- Bu durumda, RNA polimerazın işlevi engellenir.
- Yapısal genlerin transkripsiyonu etkin bir biçimde baskılanır.
- Ancak, ortamda laktoz varsa, bu şeker baskılayıcıya bağlanır ve baskılayıcı allosterik konformasyonel değişikliğe uğrar.



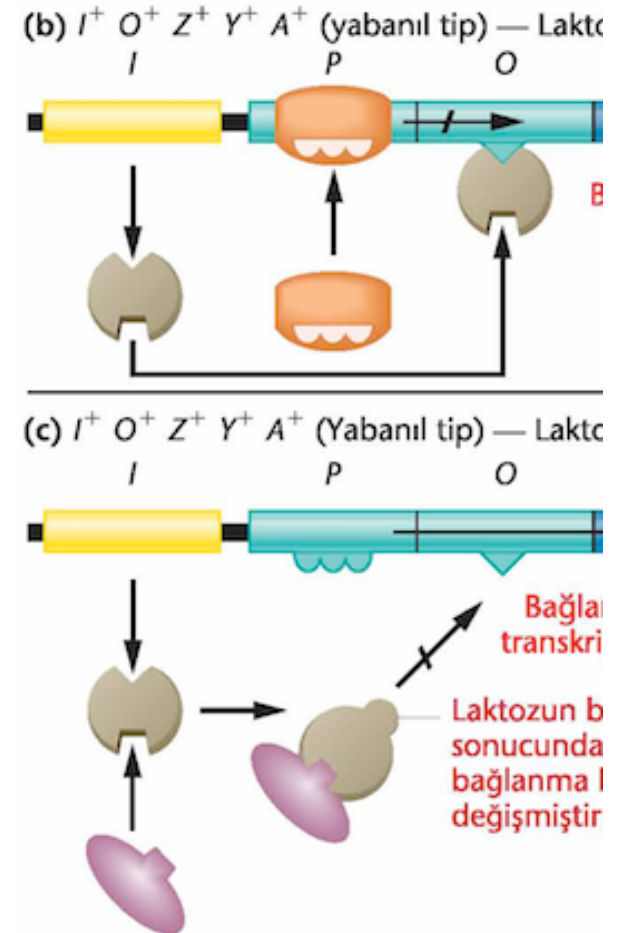
# Operon modeli: Negatif kontrol

- ❑ Bu değişiklik sonucu baskılayıcının bağlanma bölgesi değiştiği için, baskılayıcı, operatör DNA'ya bağlanamaz.
- ❑ Baskılayıcı-operatör ilişkisi kurulamayınca, RNA polimeraz yapısal genlerin transkripsiyonunu gerçekleştirir.
- ❑ Laktoz metabolizması için gerekli olan enzimler sentezlenir.



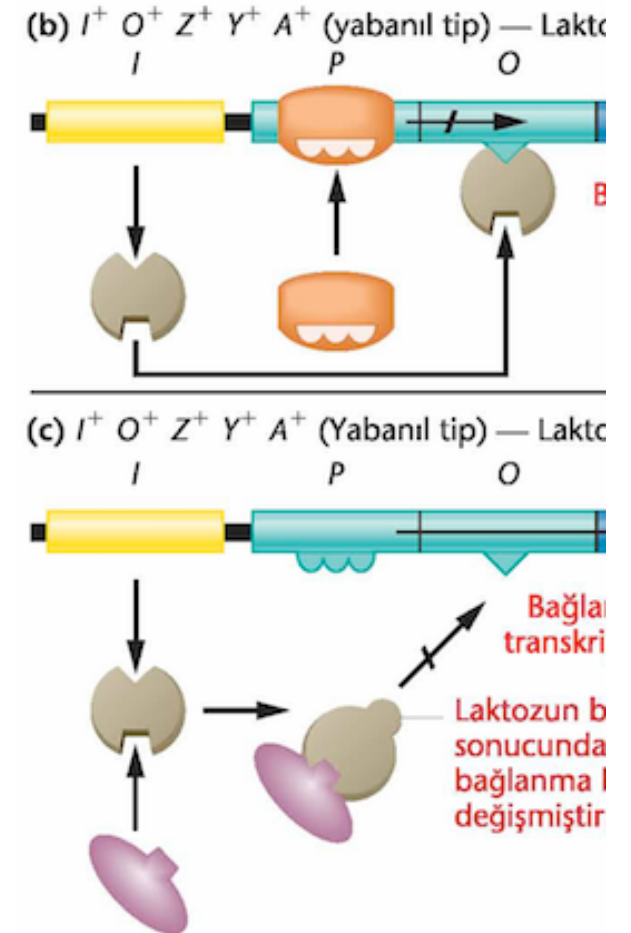
# Operon modeli: Negatif kontrol

- Transkripsiyon, yalnızca, baskılayıcının operatör bölgeye bağlanamadığı zaman gerçekleştiği için, regülasyonun negatif kontrol altında olduğu söylenir.
- Laktoz olmadığında, laktozu metabolize edecek enzimlere gerek yoktur.
- Dolayısıyla sentezleri baskılanır.



# Operon modeli: Negatif kontrol

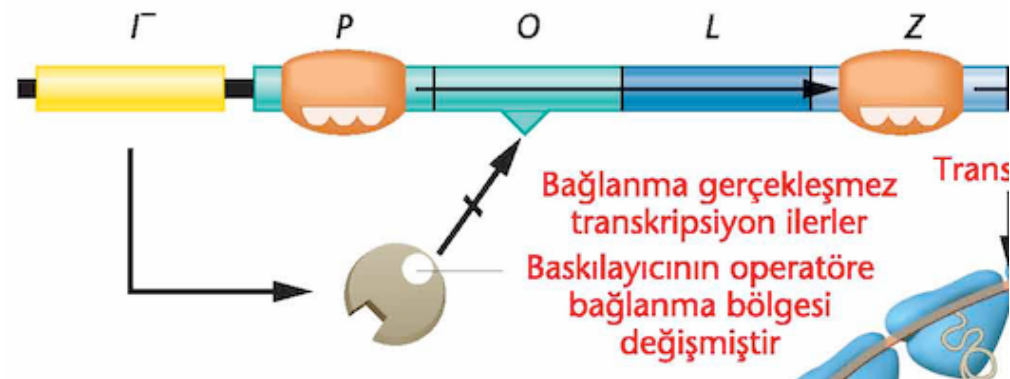
- Ortamda laktoz varken, laktoz baskılayıcıya bağlanarak, genlerin ifadesini dolaylı olarak aktive eder.
- Laktozun tümü aktive olduğunda ortamda baskılayıcıya bağlanacak laktoz kalmaz.
- Baskılayıcı operatör DNA'ya bağlanmak üzere serbest kalır ve transkripsiyon baskılanır.





# Operon modeli: Negatif kontrol

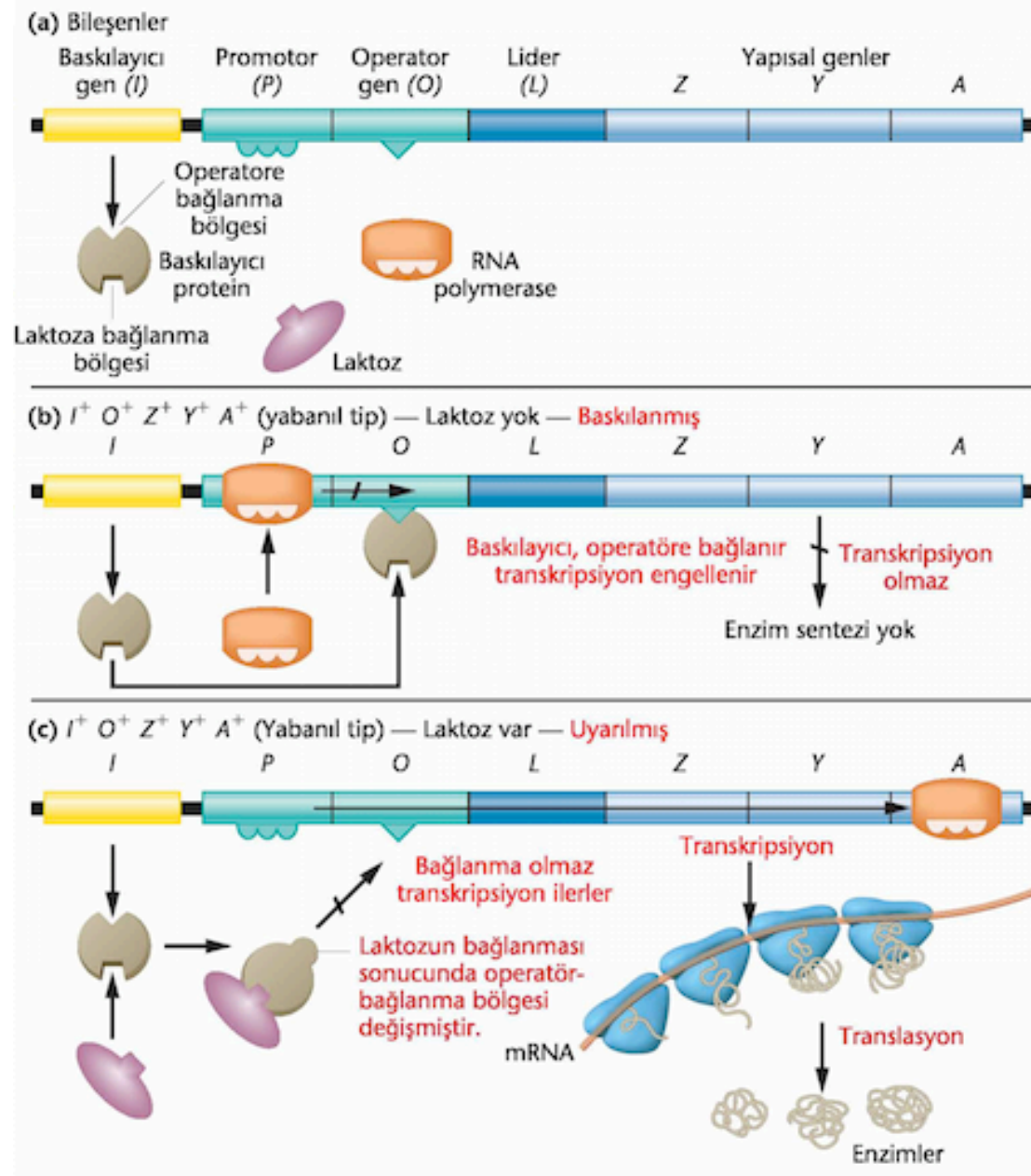
- ❑ Hem  $I^-$  hem de  $O^c$  konstitütif mutasyonları bu moleküler ilişkileri bozarak yapısal genlerin sürekli transkripsiyonuna neden olur.
- ❑  $I^-$  mutantında, baskılayıcı protein biçim değiştirmiştir ve operatör bölgeye bağlanamaz.
- ❑ Böylece yapısal genler devamlı olarak açık kalır.



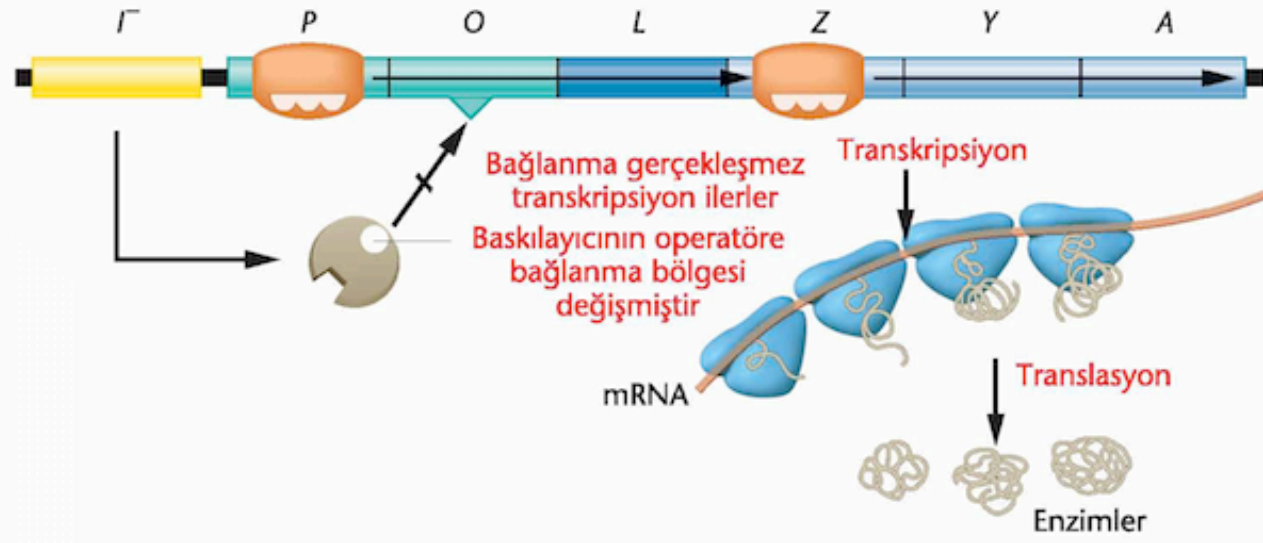
# Operon modeli: Negatif kontrol

- ❑ O<sup>c</sup> mutantında, operatör DNA'nın nükleotid dizisinde değişiklik bulunur.
- ❑ Normal baskılayıcı molekül operatöre bağlanamaz.
- ❑ Sonuç her iki durumda da aynıdır:
- ❑ Yapısal genler sürekli transkripsiyona uğrarlar.

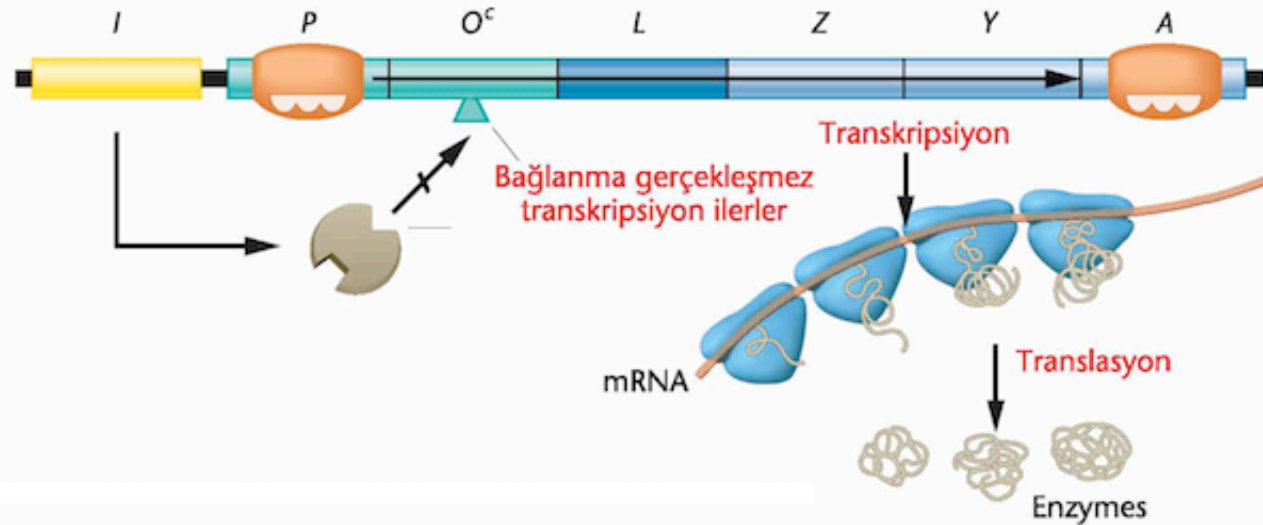




(a)  $I^- O^+ Z^+ Y^+ A^+$  (mutant baskılayıcı geni) — Laktoz yok — **Konstitütif**

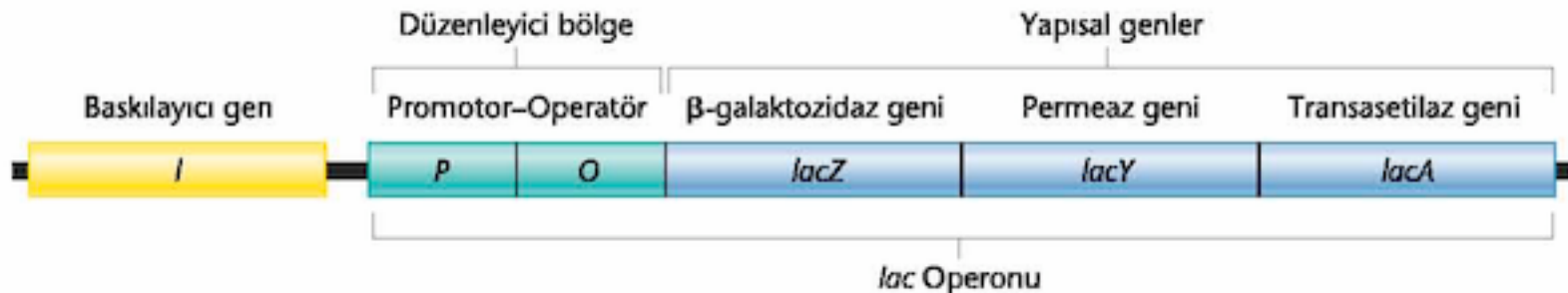


(b)  $I^+ O^c Z^+ Y^+ A^+$  (mutant operatör geni) — Laktoz yok — **Konstitütif**



# Operon modelinin genetik kanıtı

- Operon modeli, doğruluğunun kanıtlanması için test edilebilen üç ana varsayım bulunmaktadır.
  - I geni, yayılabilen hücresel bir ürünü oluşturur.
  - O bölgesi, regülasyona katılır, ancak bir ürün oluşturmaz.
  - Transkripsiyonu regüle edebilmek için O bölgesi, yapısal genlerin hemen bitişğinde yer almalıdır.



# Operon modelinin genetik kanıtı

- ❑ Bu varsayımları, özellikle de karşı-etkili (trans-acting) regülatör elementlerle ilgili olanları, doğrulamak için kısmi diploid bakteriler oluşturulmuştur.
- ❑ Örneğin, bir F plazmidi kromozomal genleri içerebilir.
- ❑ Bu durumda plazmit, F' şeklinde gösterilir.

# Operon modelinin genetik kanıtı

- ❑ F<sup>+</sup> hücreye böyle bir plazmit katıldığında, hücre kendi kromozomunun yanı sıra plazmitte bulunan bir ya da daha fazla ilave gene de sahip olur.
- ❑ Bu durumda, bu ilave genler için diploid olan ve merozigot adı verilen bir konak hücre meydana getirilmiş olur.

# Operon modelinin genetik kanıtı

- ❑ Bu tip plazmitler kullanılarak;
  - ❑ I<sup>+</sup> geni, genotipi I<sup>-</sup> olan bir konak hücreye
  - ❑ Ya da O<sup>+</sup> bölgesi, genotipi O<sup>c</sup> olan bir konak hücreye sokulabilir.
  
- ❑ I<sup>-</sup> hücreye bu şekilde bir plazmit yardımıyla I<sup>+</sup> geni aktarıldığında, uyarılabilirlik tekrar sağlanmaktadır.



# Operon modelinin genetik kanıtı

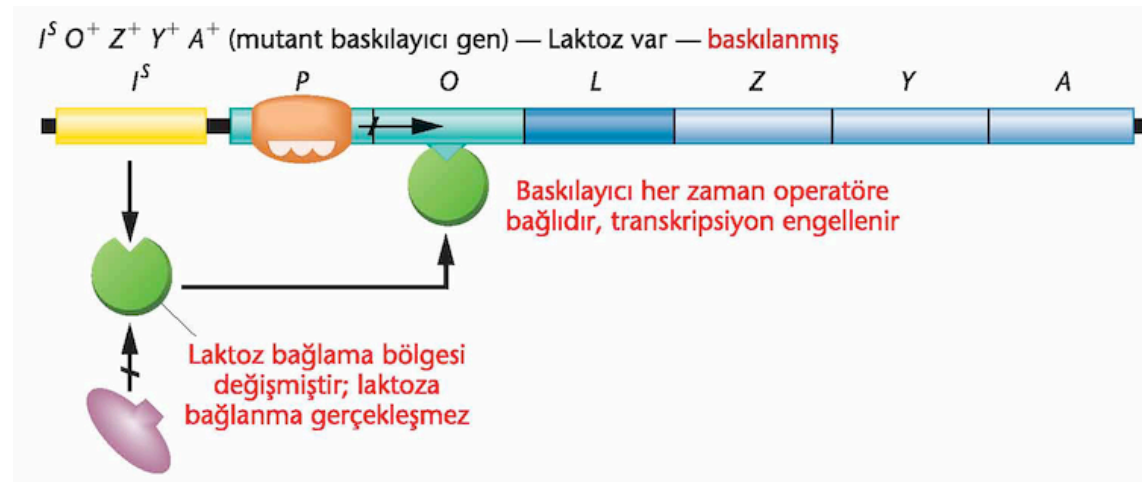
- ❑ Çünkü, trans-acting faktör olan normal yabancı tip bir baskılayıcı molekül, aktarılan I<sup>+</sup> geninden sentezlenmeye başlar.
- ❑ O<sup>+</sup> bölgesi, O<sup>c</sup> hücreye aynı şekilde aktarıldığında konstitütif enzim üretimi üzerinde bir etkisi olmamaktadır.
- ❑ Çünkü, kontrolün gerçekleşmesi için O<sup>+</sup> geninin yapısal genlerin hemen yanında olması gerekmektedir.

# Operon modelinin genetik kanıtı

- ❑ Yani, O<sup>+</sup> cis-acting regülatördür.
- ❑ Operon modelinin bir diğer öngörüsü de, I genindeki belirli mutasyonların, I<sup>-</sup> nin tersi bir etki gösterdiğidir.
- ❑ Bu durumda, baskılayıcı molekül operatör bölgeye bağlanamadığı için konstitütif olan sentezin yerine,
- ❑ Uyarıcı ajan olan laktoza bağlanamayan mutant represör molekülün oluşması söz konusudur.

# Operon modelinin genetik kanıtı

- ❑ Sonuçta, baskılayıcı molekül daima operatör dizisine bağlı kalmakta ve yapısal genler kalıcı olarak baskılanmaktadır ( $I^S$  mutasyonu-süper represyon).
- ❑ Eğer böyle bir durum söz konusu ise, ilave bir  $I^+$  geninin baskılamaya üzerinde çok az etkisi görülür ya da hiçbir etkisi görülmez.



**TABLO 16.1**

**ÇEŞİTLİ *E. COLI* GENOTİPLERİNDE  
LAKTOZLU VE LAKTOZSUZ  
ORTAMDA GEN  
AKTİVİTELERİNİN (+ YA DA -)  
KARŞILAŞTIRILMASI**

Genotip	$\beta$ -Galaktozidaz Aktivitesinin Durumu	
	Laktoz Var	Laktoz Yok
$I^+O^+Z^+$	+	-
A. $I^+O^+Z^-$	-	-
$I^-O^+Z^+$	+	+
$I^+O^cZ^+$	+	+
B. $I^-O^+Z^+/F'I^+$	+	-
$I^+O^cZ^+/F'O^+$	+	+
C. $I^+O^+Z^+/F'I^-$	+	-
$I^+O^+Z^+/F'O^c$	+	-
D. $I^sO^+Z^+$	-	-
$I^sO^+Z^+/F'I^+$	-	-

Not: B'den D'ye kadar verilen genotiplerin çoğu kısmi diploidtir ve F faktörü artı ilave genler (F') içermektedir.

## Lac operonunun pozitif kontrolü: Katalitik aktivatör protein (CAP)

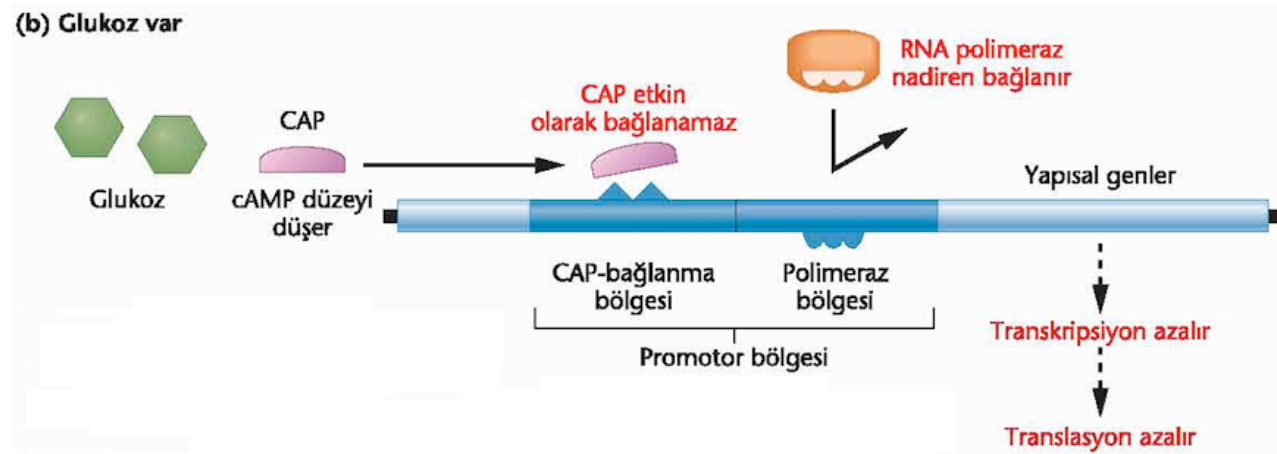
- ❑  $\beta$ -galaktozidaz' in rolü; laktozu, glukoz ve galaktoz bileşenlerine parçalamaktır.
- ❑ Daha sonra galaktoz, hücrede kullanılmak üzere glukoza dönüştürülür.
- ❑ Hücre kendisini bol miktarda hem laktoz hem de glukoz içeren bir ortamda bulursa ne olur?

## Lac operonunun pozitif kontrolü: Katalitik aktivatör protein (CAP)

- ❑ Hücrenin  $\beta$  - galaktozidaz üretmek için laktoz tarafından 'indüklenmesi' enerjinin rasyonel kullanılması bakımından uygun değildir.
- ❑ Çünkü hücrenin ihtiyacı olan glukoz zaten ortamdadır.

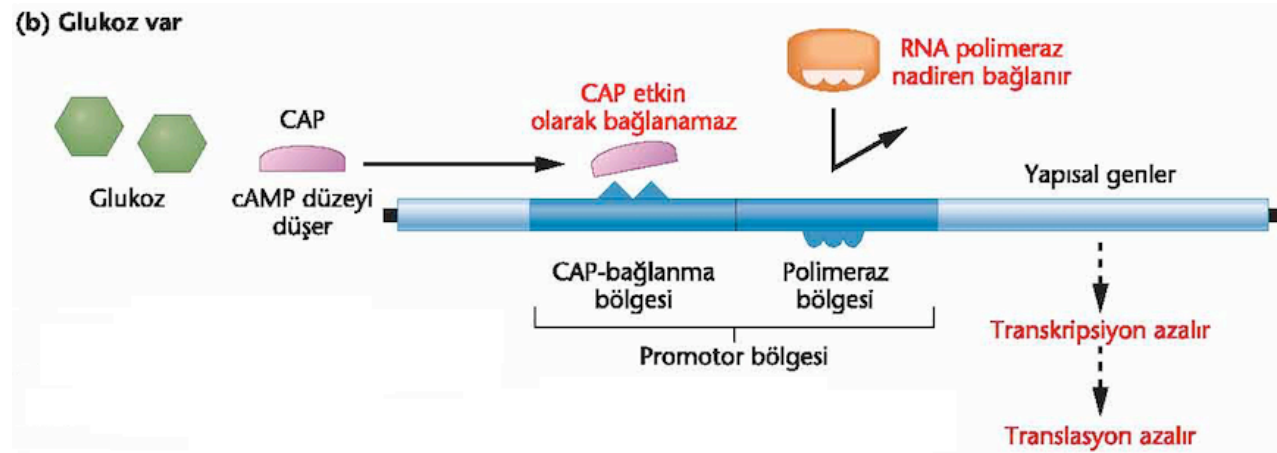
# Lac operonunun pozitif kontrolü: Katalitik aktivatör protein (CAP)

- ❑ Böyle bir koşulda, katabolit-aktivatör protein (CAP) olarak adlandırılan başka bir moleküler bileşen işe karışmaktadır.
- ❑ CAP, ortamda glukoz varken lac operonunun ifadesini baskılar.
- ❑ Katabolit represyon (baskılama) olarak adlandırılan bu inhibisyon, laktoz varlığında bile glukozun metabolize edilebileceğini göstermektedir.



# Lac operonunun pozitif kontrolü: Katalitik aktivatör protein (CAP)

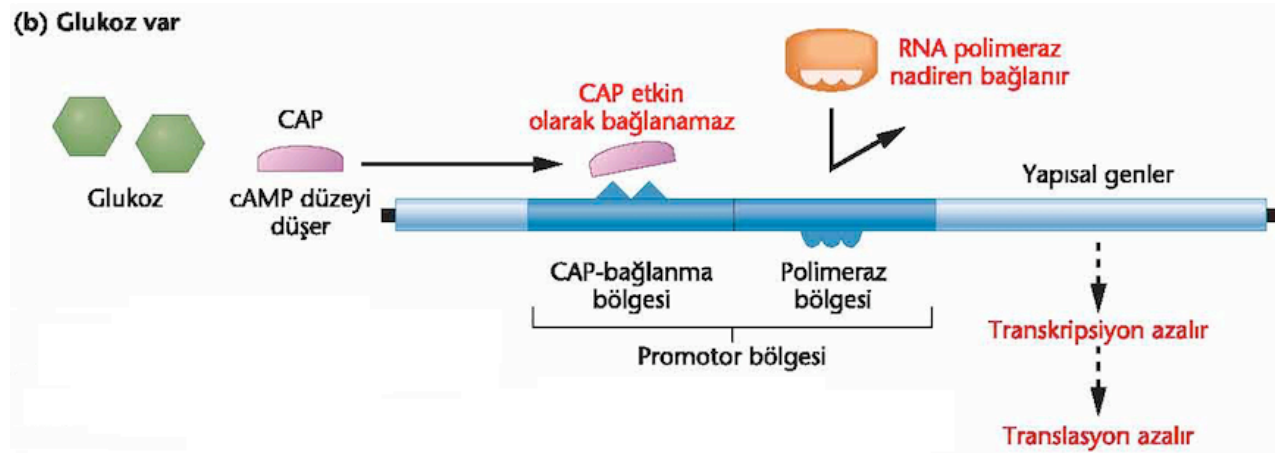
- ❑ Glukoz varlığında, ortamda laktoz olsa bile lac operonu aktive olmamaktadır.
- ❑ Hücre enerji kaynağı olarak glukozu tercih etmektedir.





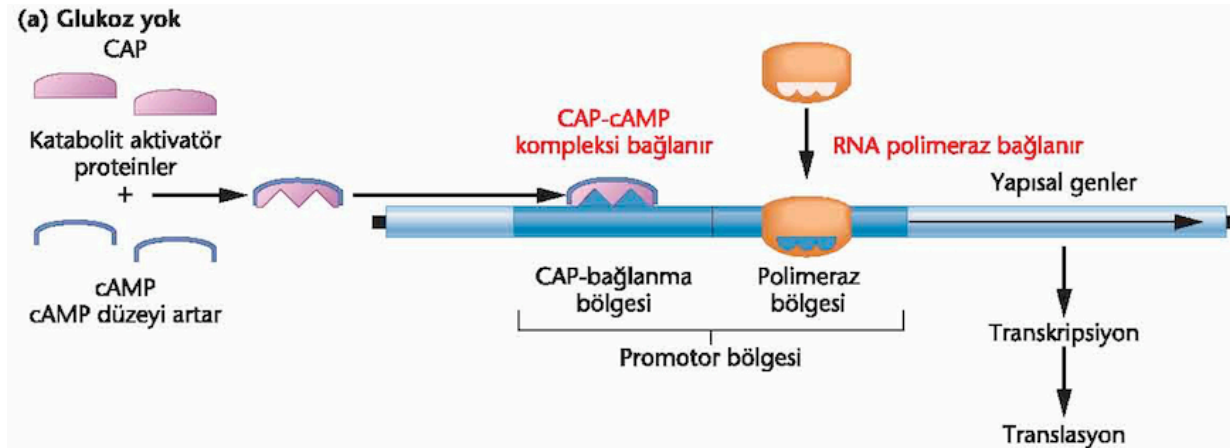
# CAP'ın regülasyondaki rolü

- ❑ Uyarıcıya CAP-cAMP kompleksi bağlandığında, lac operonu aktive olur.
- ❑ RNA polimeraz tarafından yapısal genlerin transkripsiyonu gerçekleştirilir.
- ❑ Transkripsiyonun başlaması için, RNA polimerazın promotor bölgenin nükleotid dizilerine bağlanması gerekir.



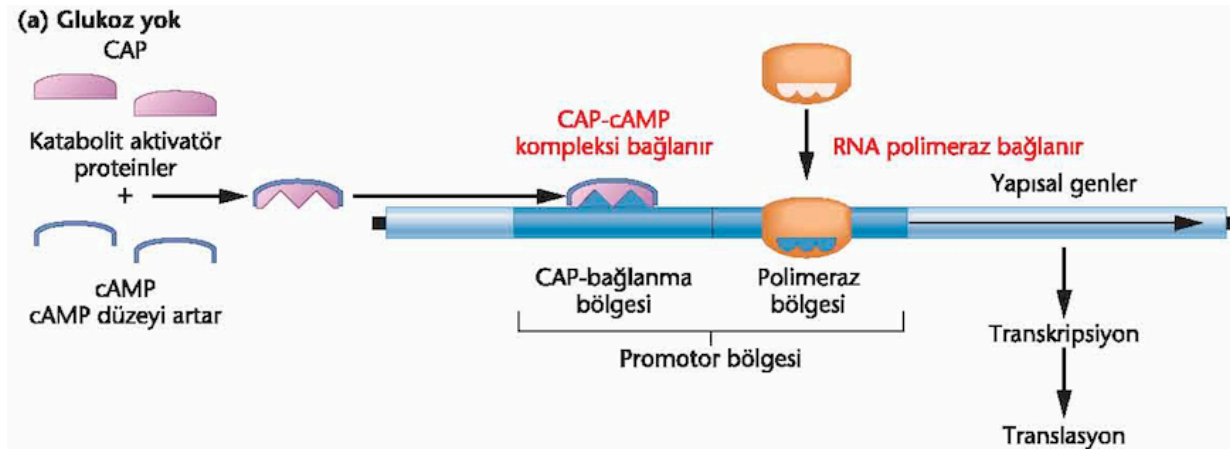
# CAP'ın regülasyondaki rolü

- CAP'ın ortamda bulunması, polimerazın promotora bağlanmasını kolaylaştırır.
- Ortamda glukoz yokken ve uyarılabilen koşullarda, CAP molekülü CAP bölgesine bağlanarak RNA polimerazın promotora bağlanmasını,
- Dolayısıyla da transkripsiyonu kolaylaştırmakta ve pozitif kontrol etkisi göstermektedir.

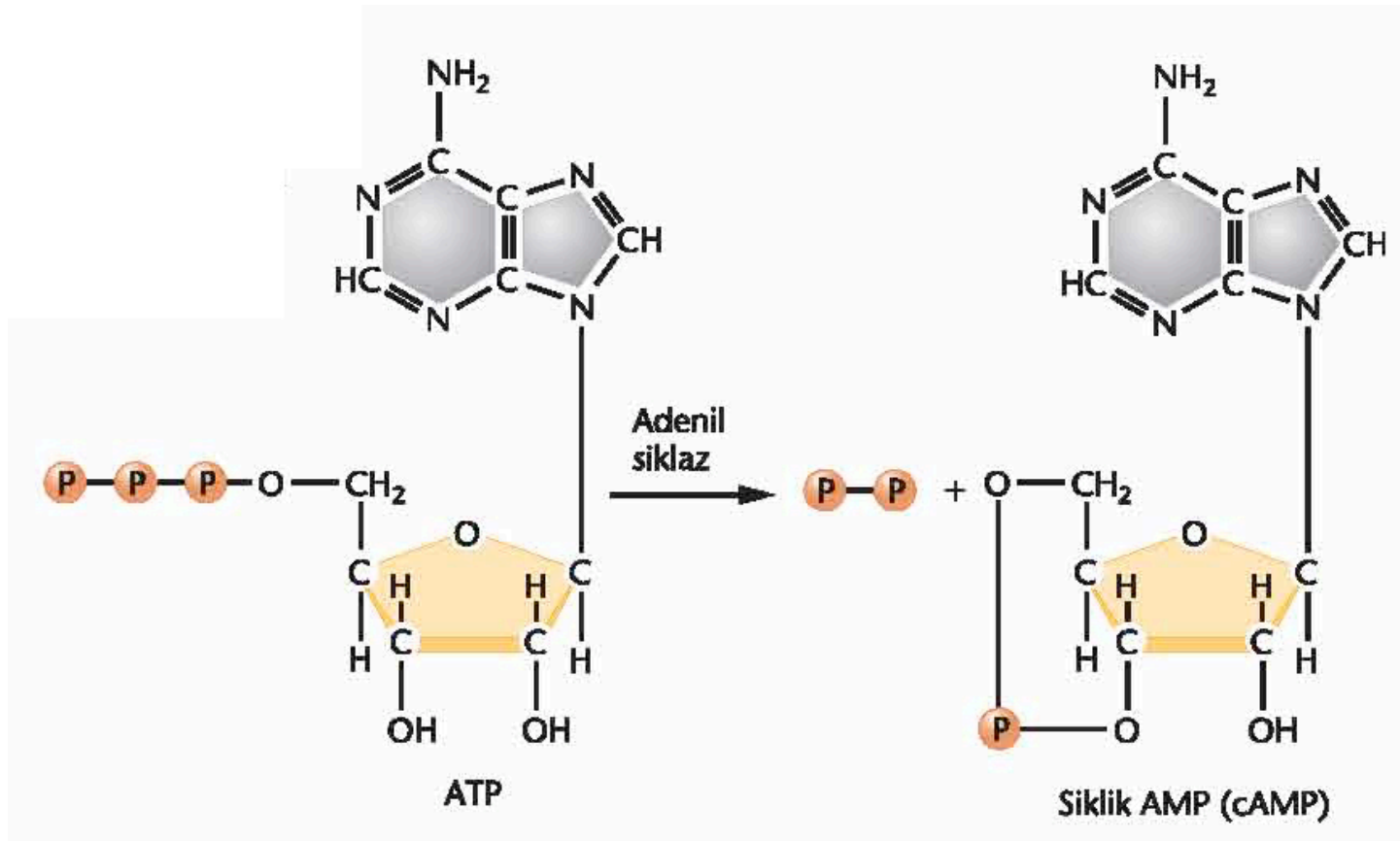


# CAP'ın regülasyondaki rolü

- ❑ CAP'ın CAP bölgesine bağlanması, cAMP'ye (siklin adenzin mono fosfat) bağlıdır.
- ❑ Promotora bağlanabilmek için CAP'ın cAMP ile kompleks oluşturması gerekir.
- ❑ cAMP düzeyi ise adenil siklaz enzim aktivitesine bağlıdır.
- ❑ Bu enzim, ATP'nin cAMP'ye dönüşümünü katalize etmektedir.

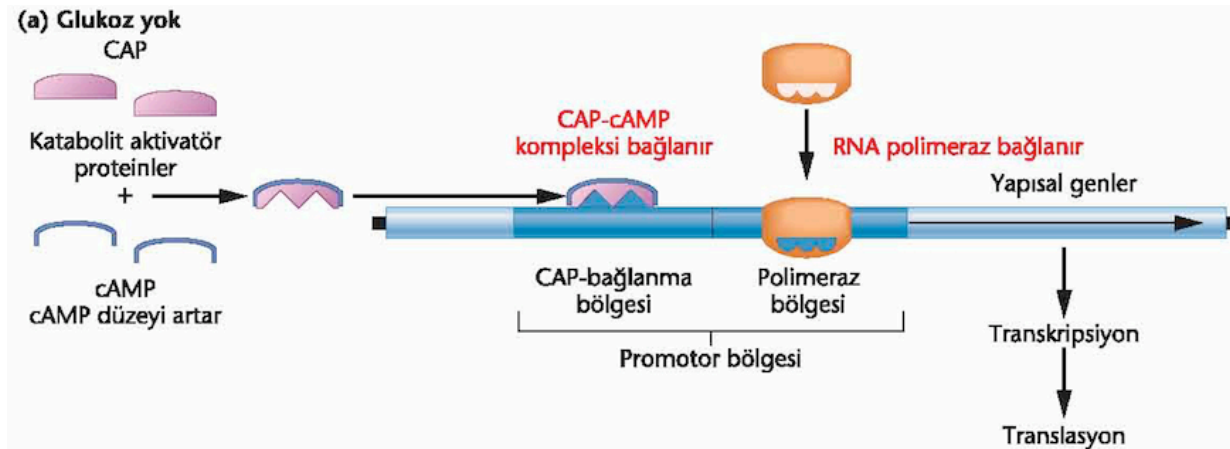


# Adenilat siklaz tarafından ATP'den cAMP oluşumu



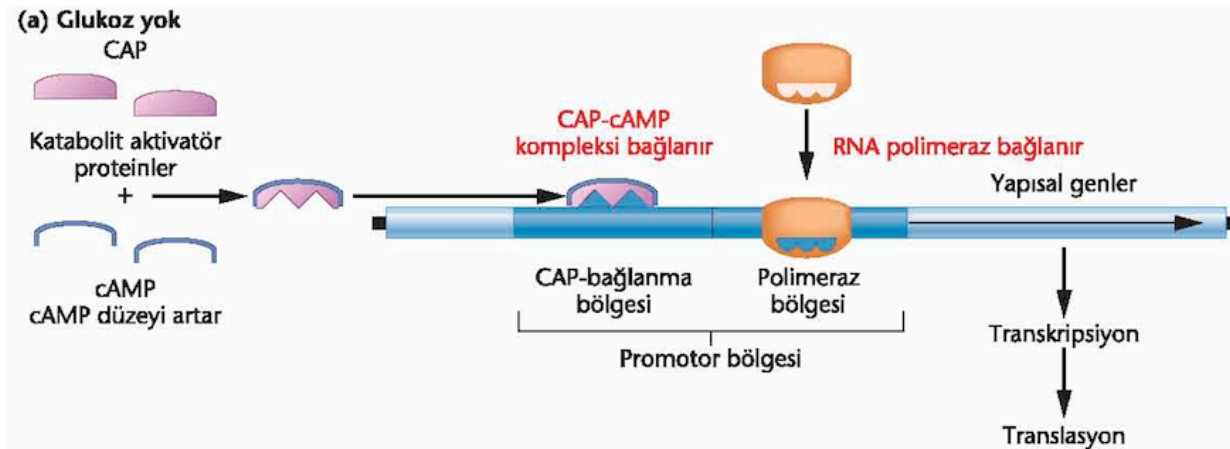
# CAP'ın regülasyondaki rolü

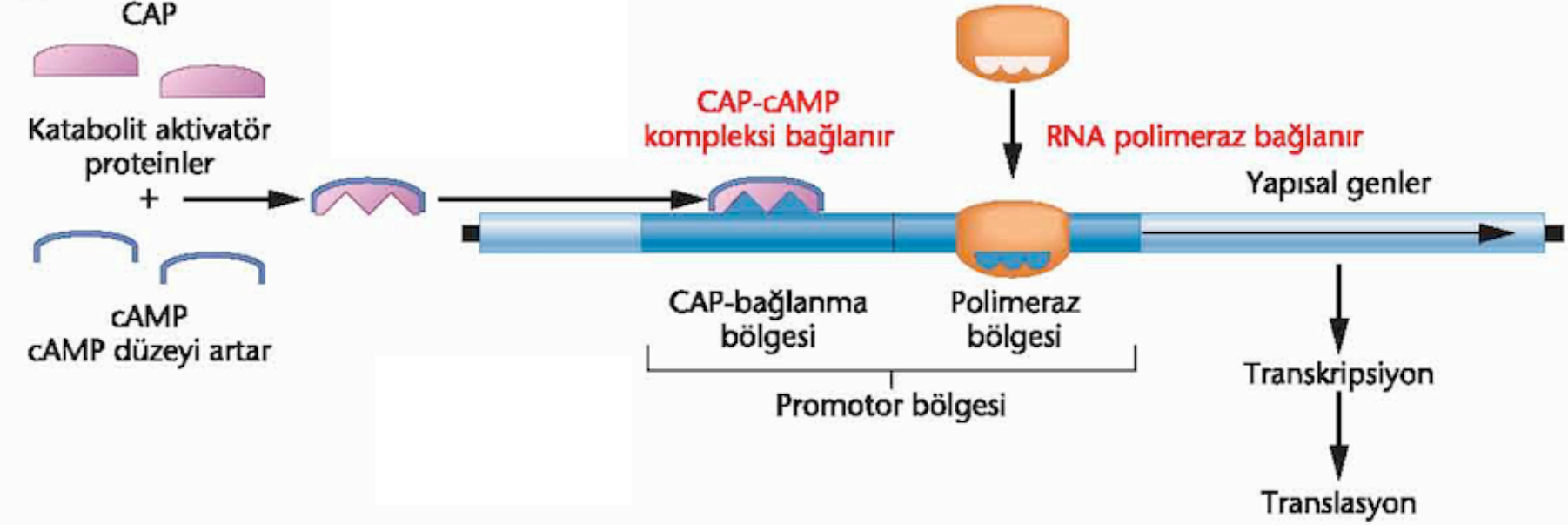
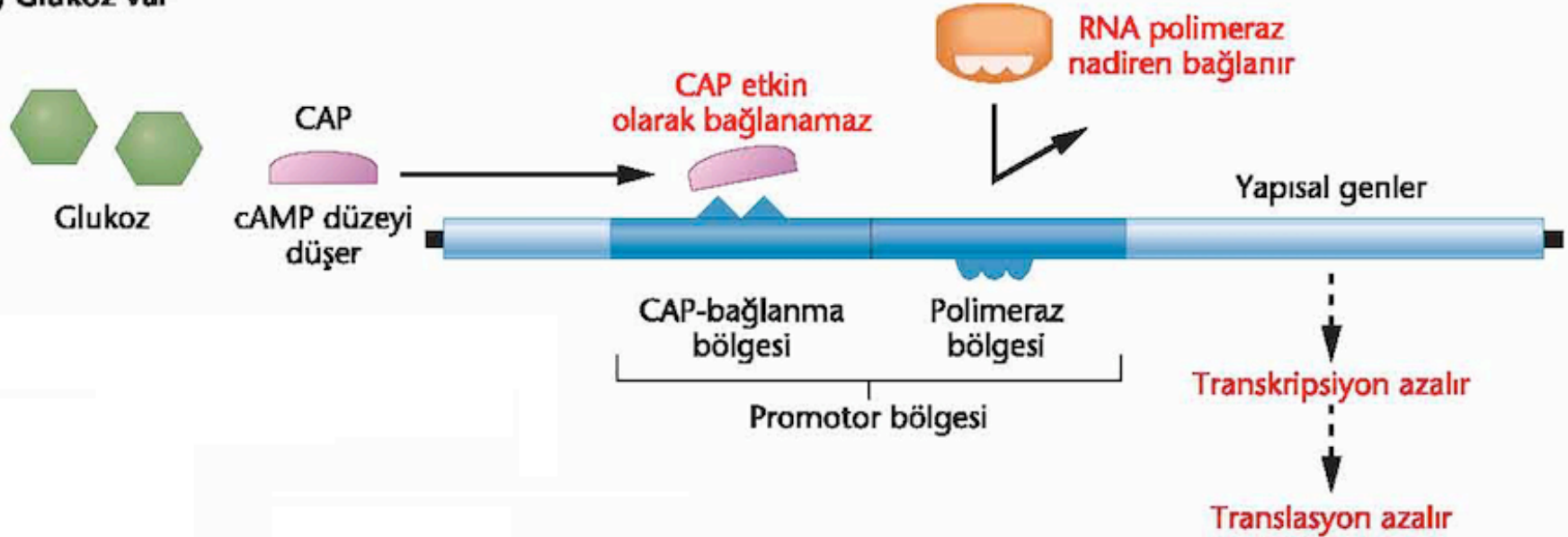
- ❑ Glukoz, adenin siklaz aktivitesini inhibe ederek hücredeki cAMP seviyesini düşürür.
- ❑ Bu durumda CAP, lac operonun transkripsiyonun pozitif kontrolü için gerekli olan CAP-cAMP kompleksini oluşturamaz.
- ❑ cAMP-CAP kompleksi DNA'ya bağlandığında,
- ❑ DNA'nın bükülerek yeni bir konformasyon almasını sağlamaktadır.



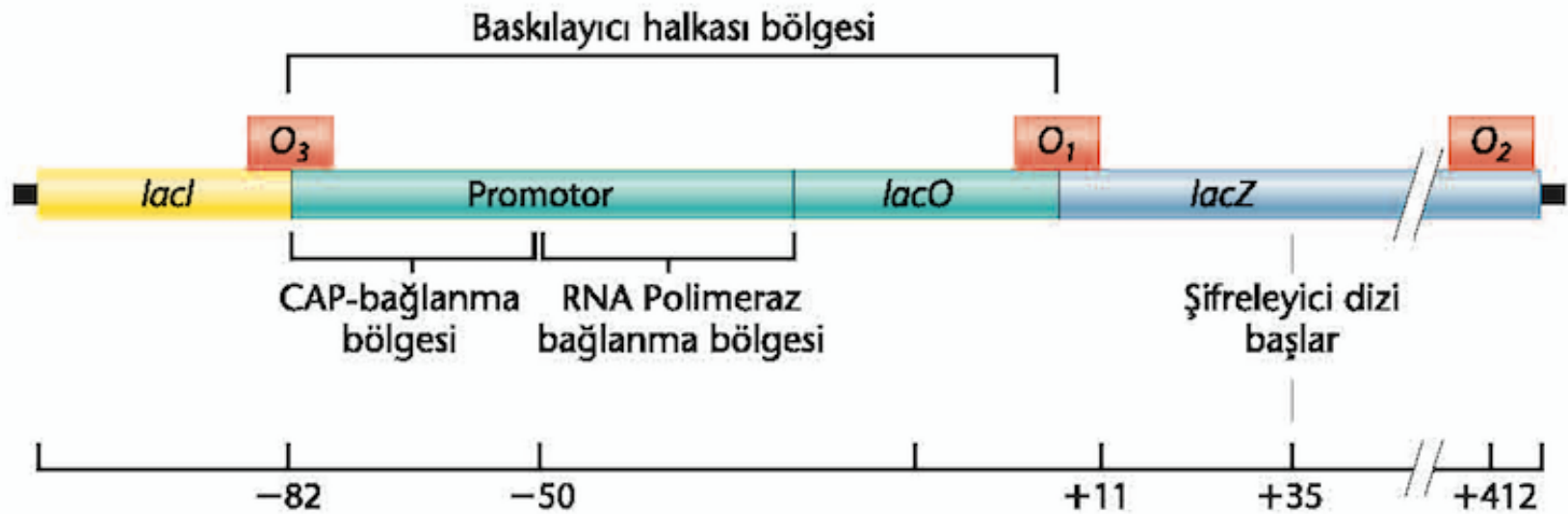
# CAP'ın regülasyondaki rolü

- ❑ cAMP-CAP ya da RNA polimeraz, tek başlarına, lac promotor DNA'sına etkin bir biçimde bağlanamaz.
- ❑ Her iki molekülün de birbirine güçlü bir ilgisi yoktur.
- ❑ Ancak, lac promotor DNA'sının varlığında, bu iki molekül bir arada bulunursa, çok sıkı bağlı bir kompleks oluştururlar.
- ❑ Biyokimyada bu tip ilişkiye kooperatif bağlanma denir.

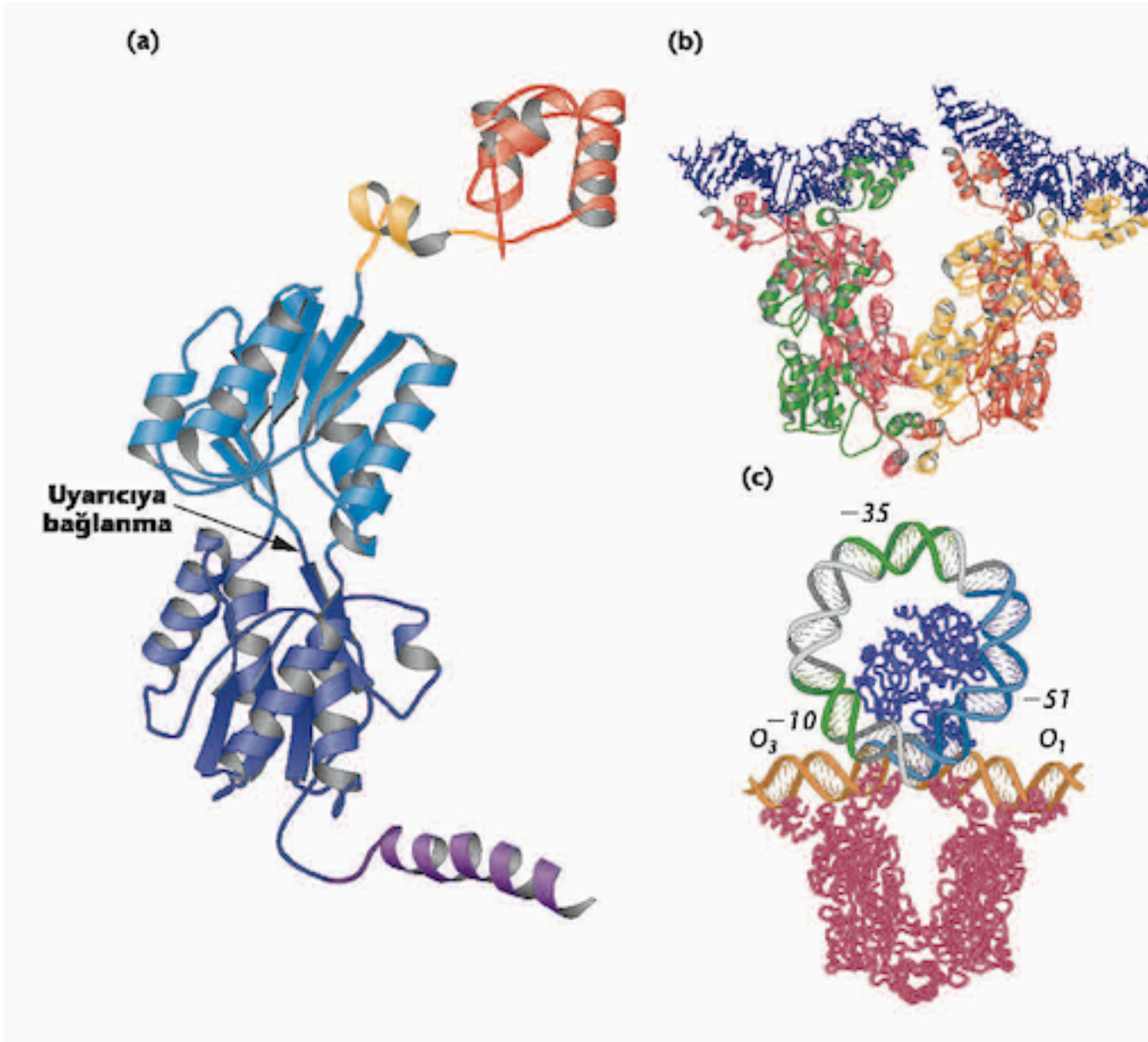


**(a) Glukoz yok****(b) Glukoz var**

# Operon modelinin doğrulanması: Kristal yapı incelemesi







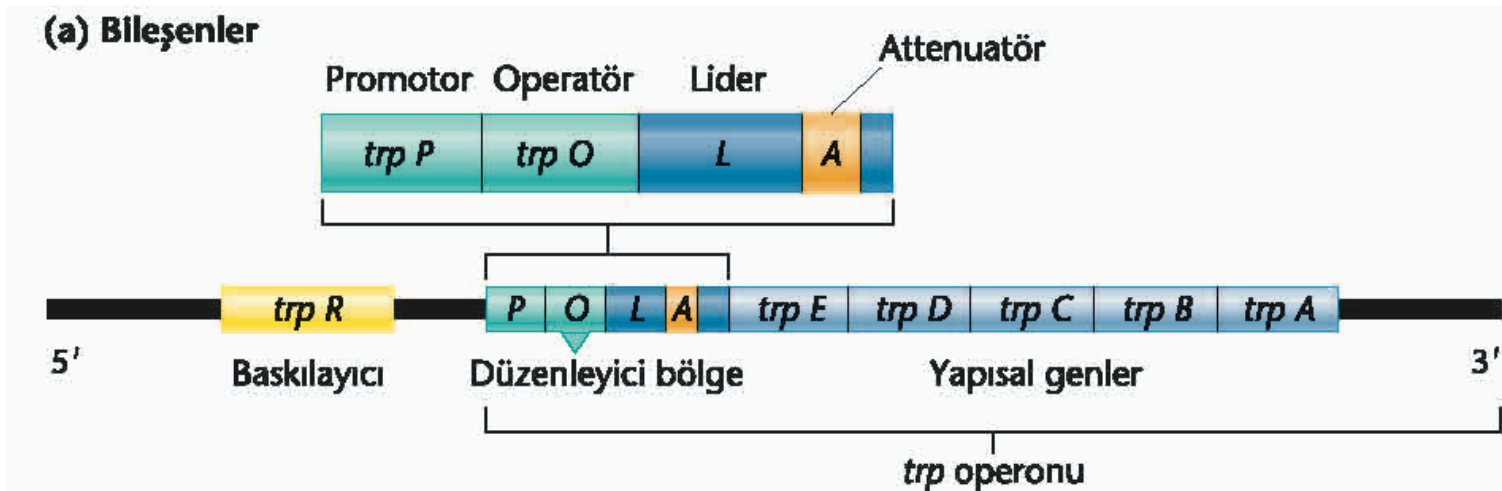
**ŞEKİL 16-11** Kristal yapı analizi sonucu ortaya çıkarılan *lac* baskılayıcı molekülü ve onun DNA'daki operatör bölgeye bağlanma modelleri. (a) Baskılayıcı monomeri. Uyarıcı molekülün bağlandığı nokta ok ile gösterilmektedir. Kırmızı kısım DNA bağlanma bölgesidir. (b) Operatör DNA'nın (mavi) 21 baz çiftlik bölgesine bağlanmış baskılayıcı dimeri. (c) *lac* DNA'ya bağlanmış baskılayıcı ve CAP (koyu mavi). Operatör bölgeleri  $O_1$  ve  $O_3$ 'e bağlanma, promotor DNA'da 93 baz çiftlik bir baskılama ilmiği oluşturmaktadır.

## Triptofan (trp) operonu: Baskılanabilen operon

- ❑ Yabancıl tip *E. coli*, amino asitlerin biyosentezi için gerekli olan enzimleri ve diğer temel makromolekülleri üretebilmektedir.
- ❑ Çalışmalarını triptofan amino asidi ve triptofan sentetaz enzimi üzerine yoğunlaştıran Monod,
- ❑ Üreme ortamında yeterli miktarda triptofan varken, triptofan sentezinden sorumlu enzimlerin sentezlenmediğini gözlemlemiştir.

# Triptofan (trp) operonu: Baskılanabilen operon

- Daha sonraki araştırmalar, *E. coli* kromozomunda yana yana bulunan beş tane genin şifrelediği bir dizi enzimin triptofan sentezinde rol aldığını göstermiştir.
- Bu genler operonun bir parçasıdır.

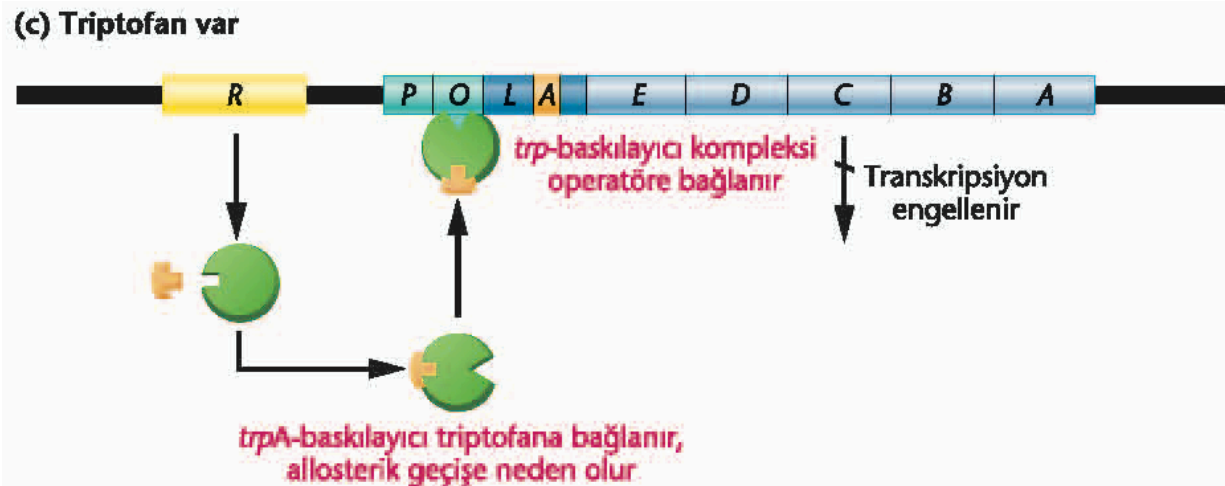


# Baskılama mekanizması

- ❑ Jacob ve Monod bu mekanizmayı şu şekilde açıklamıştır:
- ❑ Normalde inaktif olan baskılayıcı tek başına operonun operatör bölgesine bağlanamaz.
- ❑ Ancak, baskılayıcı triptofana da bağlanabilen allosterik bir moleküldür.

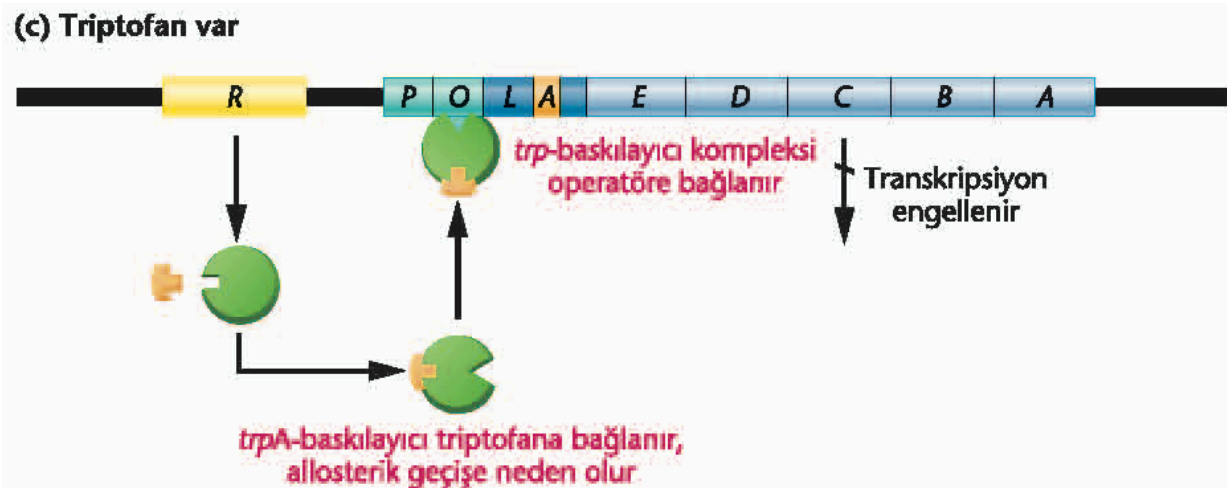
# Baskılama mekanizması

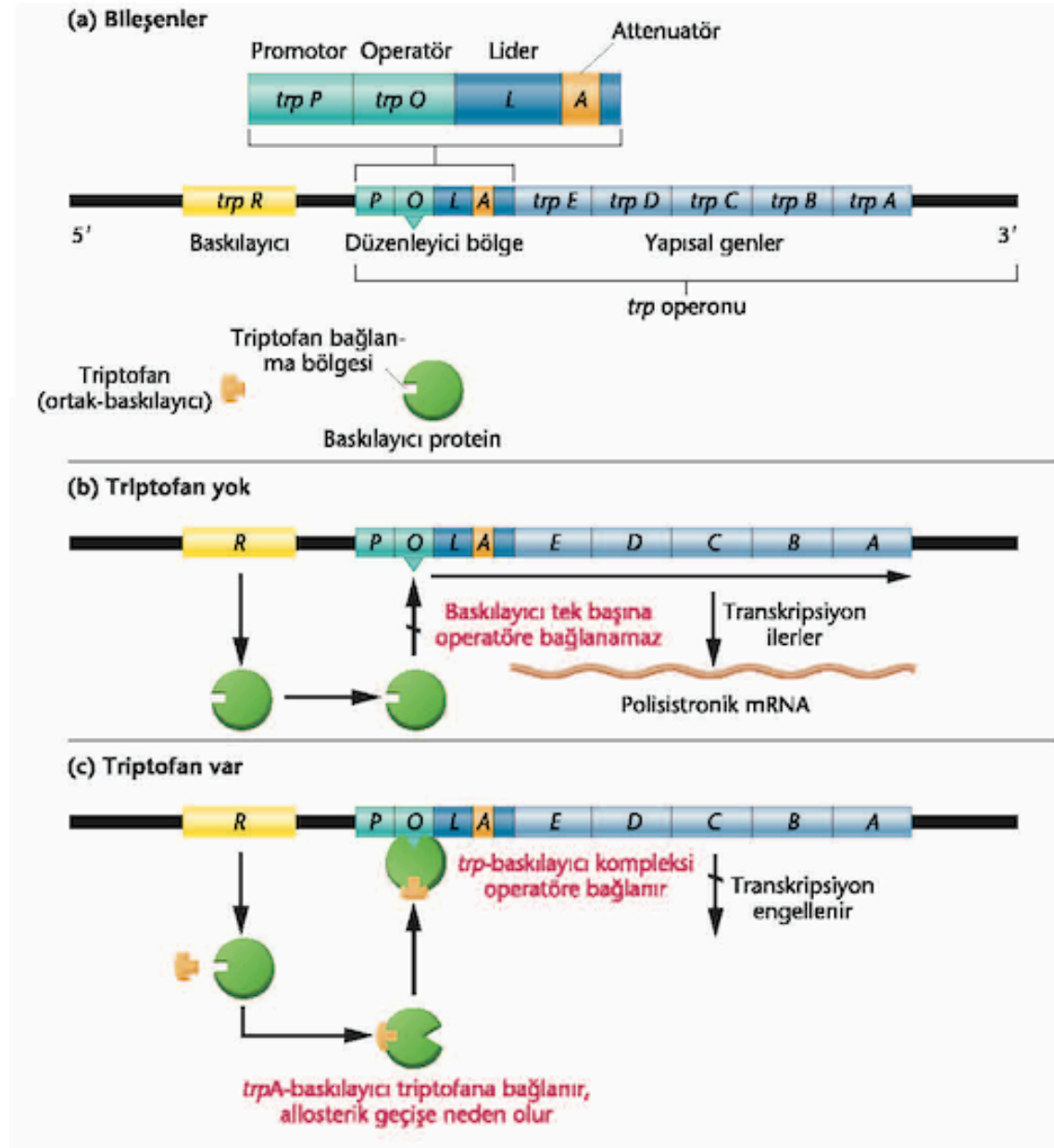
- Ortamda triptofan bulunuyorsa;
- Triptofan baskılayıcıya bağlanır.
- Oluşan kompleks yeni bir konformasyon alarak operatöre bağlanır.
- Transkripsiyonu baskılar.



# Baskılama mekanizması

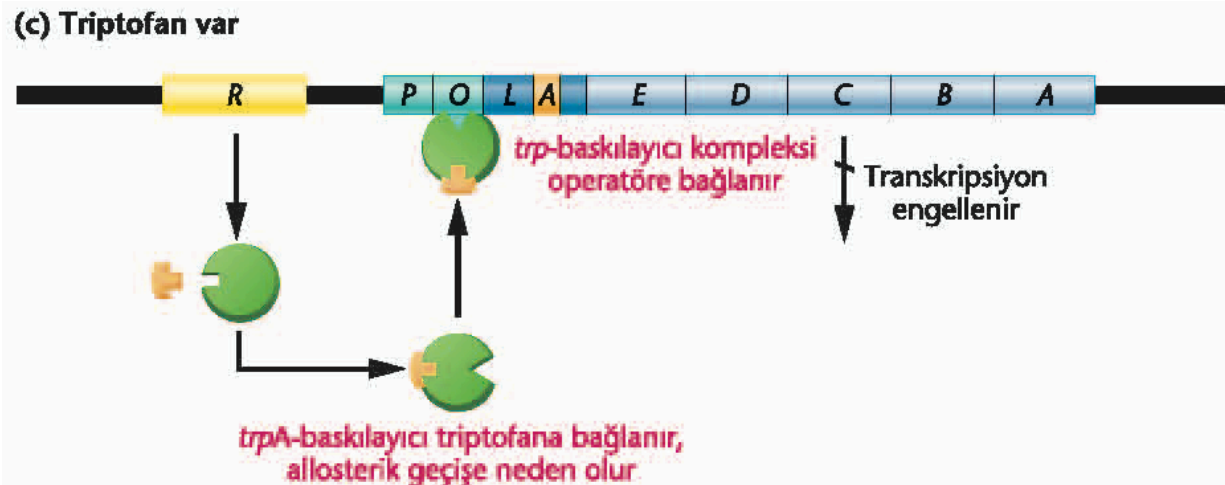
- Böylece, anabolik yolun son ürünü olan triptofan ortamda bulunuyorsa, sistem baskılanır.
- Triptofan sentezinden sorumlu olan enzimler üretilmez.





# Baskılama mekanizması

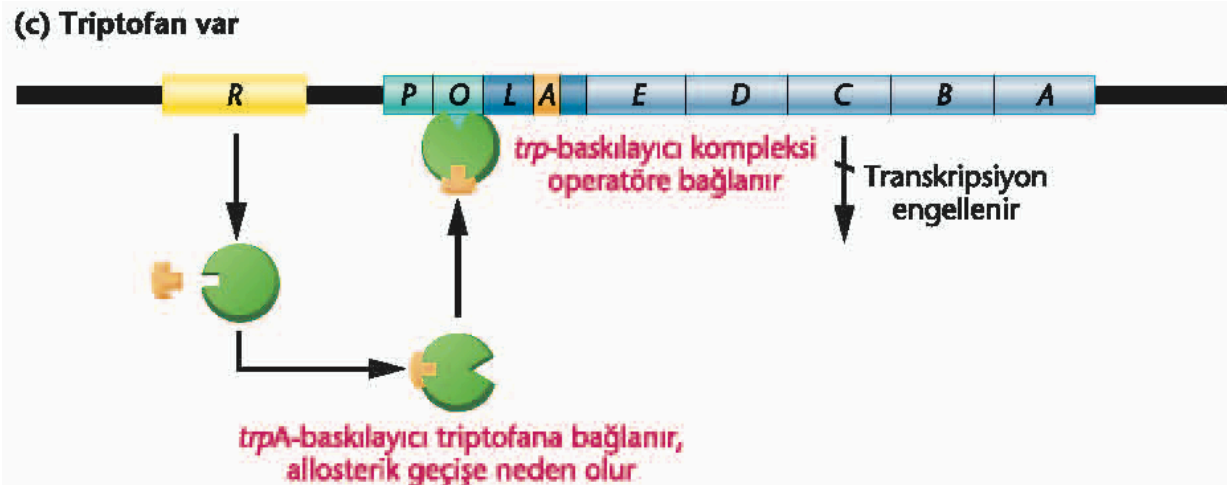
- ❑ Regülatör kompleksi operonun transkripsiyonunu engellediğinden, bu baskılanabilen sistem negatif kontrol altındadır.
- ❑ Baskılama mekanizmasında triptofan da katıldığı için, bu denetleme modelinde triptofana ko-represör (ortak-baskılayıcı) adı verilir.





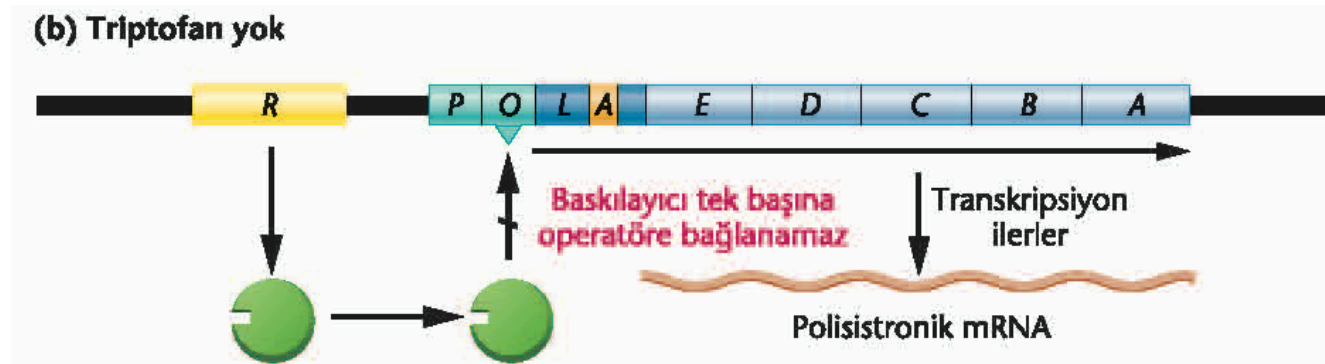
# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

- Yanofsky, yüksek triptofan derişiminde, transkripsiyonun başlamasını takiben yaklaşık 140 nükleotid sentezlendikten sonra mRNA dizisinin sonlandığını bulmuştur.
- Bu işlem operonun genetik ifadesini etkin bir şekilde azalttığının göstergesi olarak 'attenuasyon' (güç kaybı, zayıflaması) olarak adlandırılmıştır.



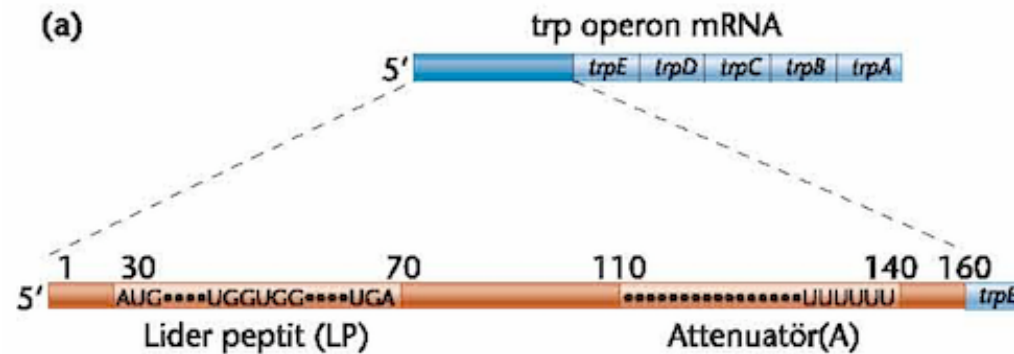
# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

- Ortamda triptofan yoksa ya da çok düşük derişimde bulunuyorsa, transkripsiyon başlatılır ve hemen sonlandırılmaz.
- Transkripsiyon, lider dizinin ilerisinde yer alan trpE ile başlayan yapısal genleri şifreleyen DNA dizisi boyunca devam eder.



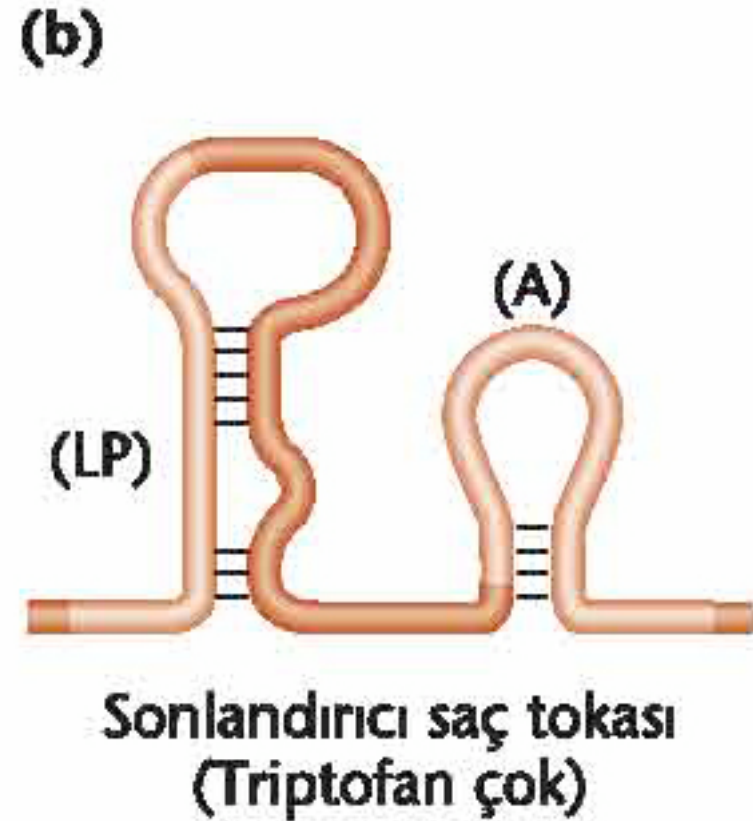
# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

- ❑ Lider dizide, 115-140 nükleotidlik bir bölgede yer alan çeşitli delesyon tipindeki mutasyonların incelenmesi ile attenuasyonda rol alan bölge belirlenmiştir.
- ❑ Burada oluşan mutasyonlar attenuasyonu ortadan kaldırmaktadır.
- ❑ Bu bölgeye 'attenuatör' adı verilmiştir.



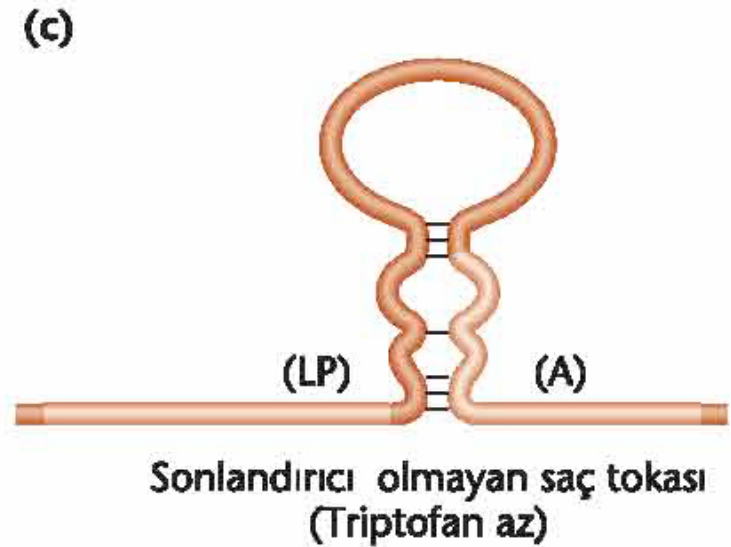
# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

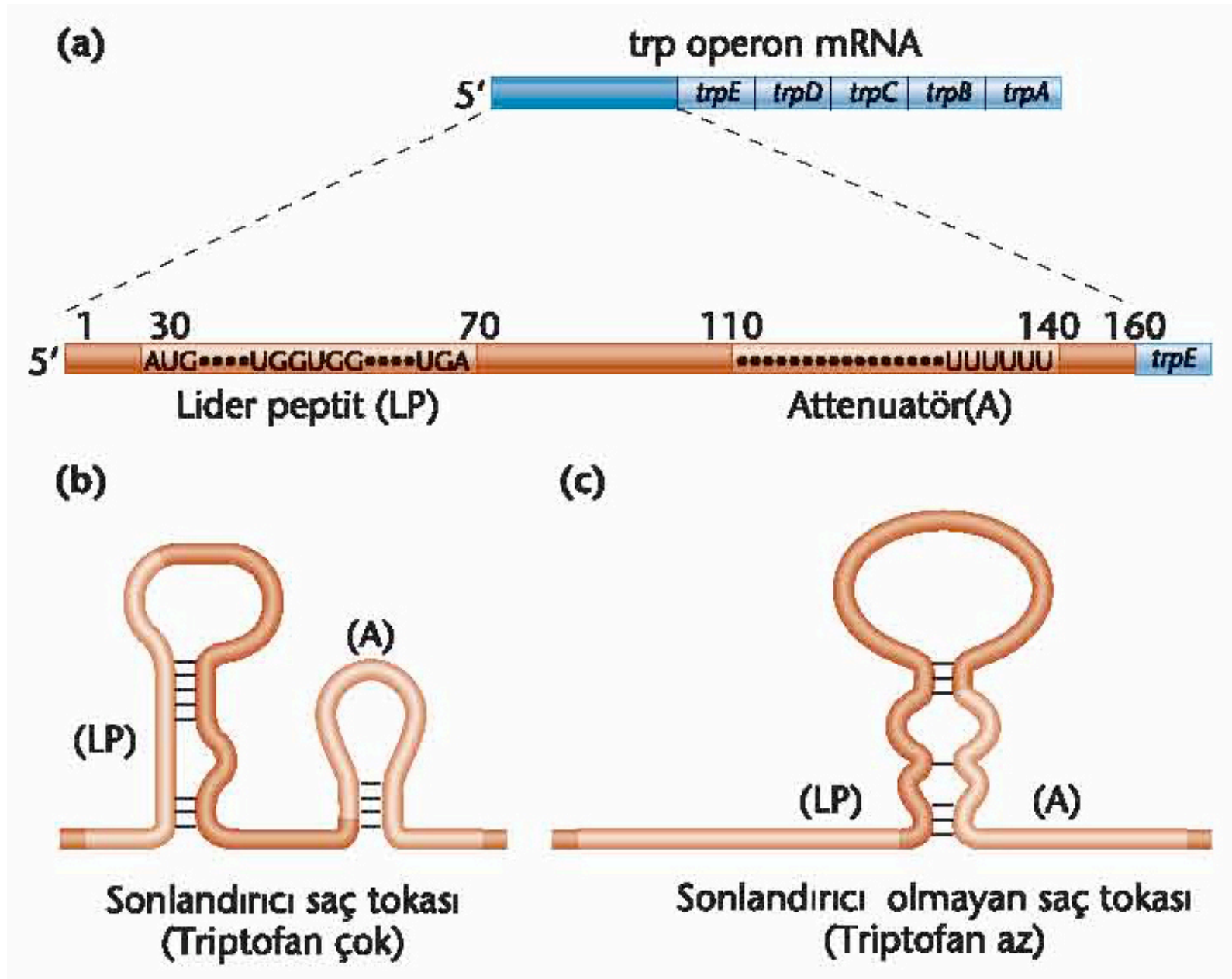
- Transkripsiyona uğrayan ilk DNA dizisi, 'saç tokaları' adı verilen, karşılıklı iki özel ilmik şeklinde katlanma potansiyeline sahip bir mRNA'nın ortaya çıkmasını sağlar.
- Fazla miktarda triptofan varlığında oluşan saç tokası sonlandırıcı (terminatör) yapı gibi davranır.



# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

- Transkripsiyon hemen her zaman erken sonlanır.
- Diğer taraftan, triptofan azsa, sonlandırıcı olmayan (anti-terminatör) saç tokası adı verilen diğer bir yapı oluşturur.





# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

- Attenuasyon, *E. coli*'de, amino asit biyosentezi için gerekli olan enzimleri kontrol eden diğer bakteriyel operonlar için de geçerli olan ortak bir mekanizma olarak görünmektedir.
- Triptofandan başka, threonin, histidin, lösin ve fenilalanin metabolizması ile ilgili operonların lider dizilerinde de attenuatörlerin varlığı gösterilmiştir.

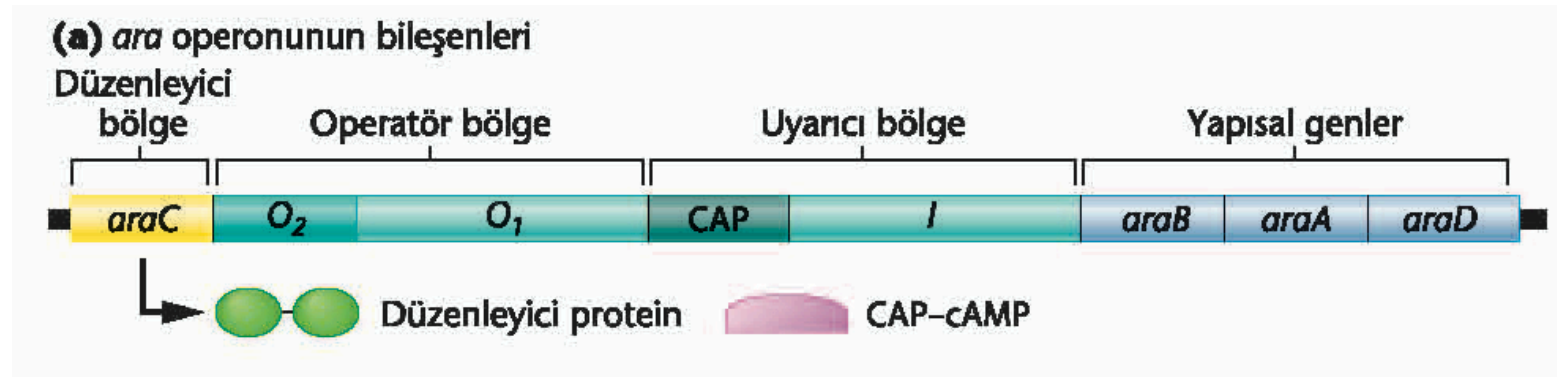
# Attenüasyon, operonun kontrolünde önemlidir

- Attenuasyon zaman ve yer açısından prokaryotlara özgüdür.
- Ökaryotlarda transkripsiyon çekirdekte, translasyon ise sitoplazmada meydana geldiği için böyle bir mekanizma olanaksızdır.



# ara operonu

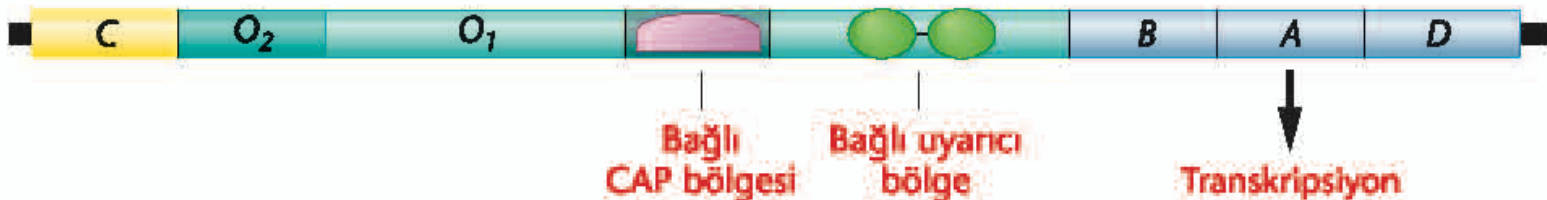
- *E. coli*'de arabinoz (ara) operonunun kendine özgü bir özelliği vardır.
- Çünkü, aynı regülatör protein hem pozitif hem de negatif kontrol yapabilme özelliğine sahiptir.



# ara operonu

- Dolayısıyla, bu protein, gen ifadesini ya uyarır ya da baskılar.
- Operonun aktif ya da inaktif olması:
  - Arabinoz şekerinin metabolizmasında, üç yapısal genin şifrelediği (ara B,A ve D) enzimler rol alır.
  - Sistem, sadece I bölgesine AraC bağlı olduğu zaman uyarılır.

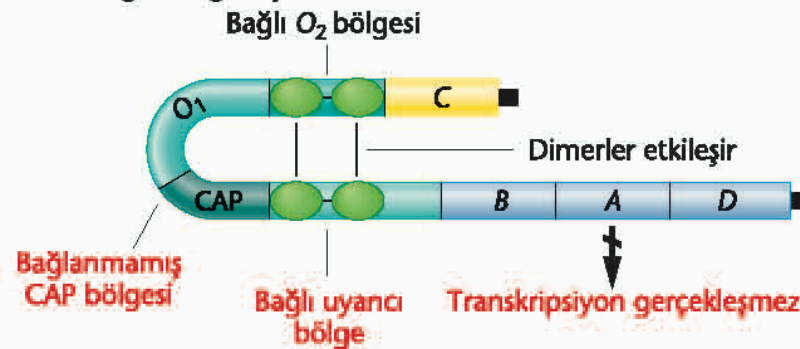
## (b) Arabinoz var; operon uyarılır-Pozitif regülasyon



# ara operonu

- Uyarılma için hem arabinoz hem de cAMP birlikte bulunmalıdır.
- Ortamda arabinoz ve cAMP bulunmadığında AraC proteine hem I hem de O<sub>2</sub> bölgesine bağlanır.
- O<sub>2</sub> bölgesi, I bölgesinin 200 nükleotid yukarısında bulunur.

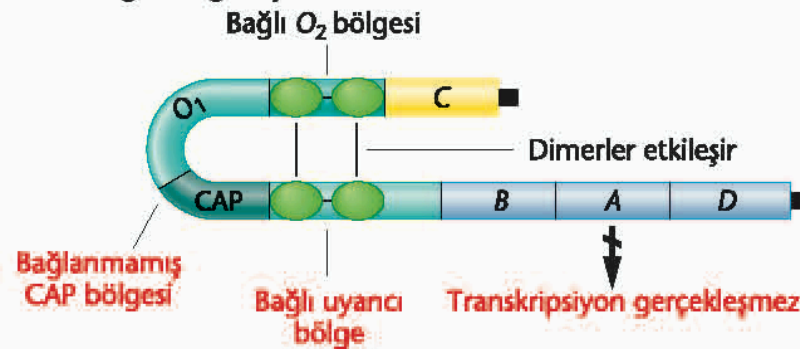
(c) Arabinoz yok, operon baskılanır - Negatif regülasyon



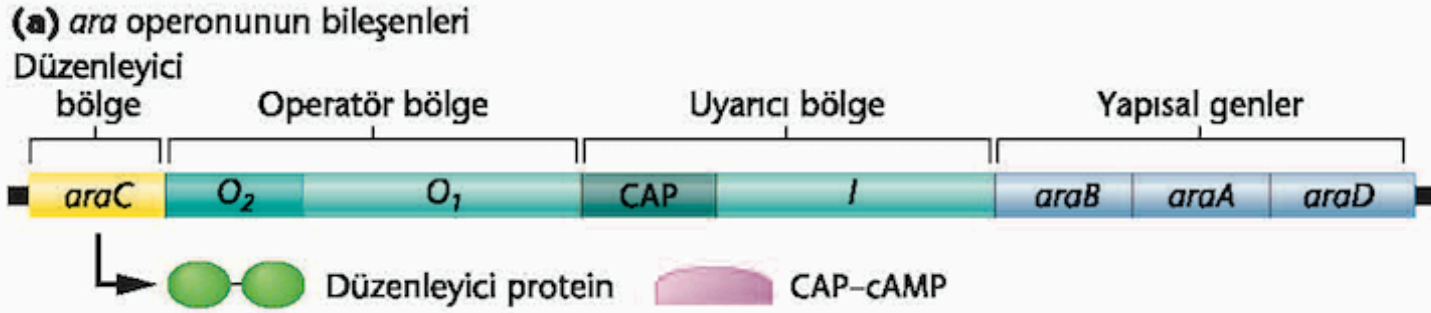
# ara operonu

- AraC iki regülatör bölgeye dimer olarak bağlanır.
- İki bölgede bağlı durumdayken bu iki dimer birbiri ile ilişki kurarak baskılanmaya neden olan ilmik yapısının oluşumunu sağlar.

(c) Arabinoz yok, operon baskılanır - Negatif regülasyon



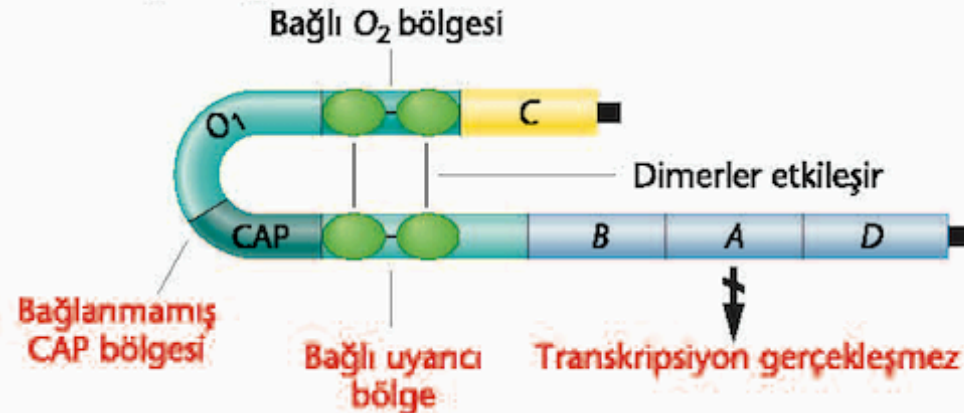
- ❑ ara operonu ile ilgili bu bulgular, birbirleri ile ilgili gen gruplarının regülasyonunun ne kadar karmaşık bir işlem olduğunu göstermektedir.
- ❑ Regülatör mekanizmalarının gelişmesi, bakteriyel sistemlere, çeşitli doğal çevrelere uyum sağlamada evrimsel avantaj kazandırmıştır.



**(b) Arabinoz var; operon uyarılır-Pozitif regülasyon**



**(c) Arabinoz yok, operon baskılanır - Negatif regülasyon**



# TEŐEKKÜR

Bu sunumun hazırlanmasındaki katkılarından dolayı aŐađıda isimleri verilen örencilerime teŐekkür ederim.

FATMA GÜNDOĞAN

DENİZ BABACAN