

Mikrobiyal Düzenleyici Sistemler

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Mikrobiyoloji

Bölüm 6

Mikroorganizmaların Çevresini Algılama Yetisi

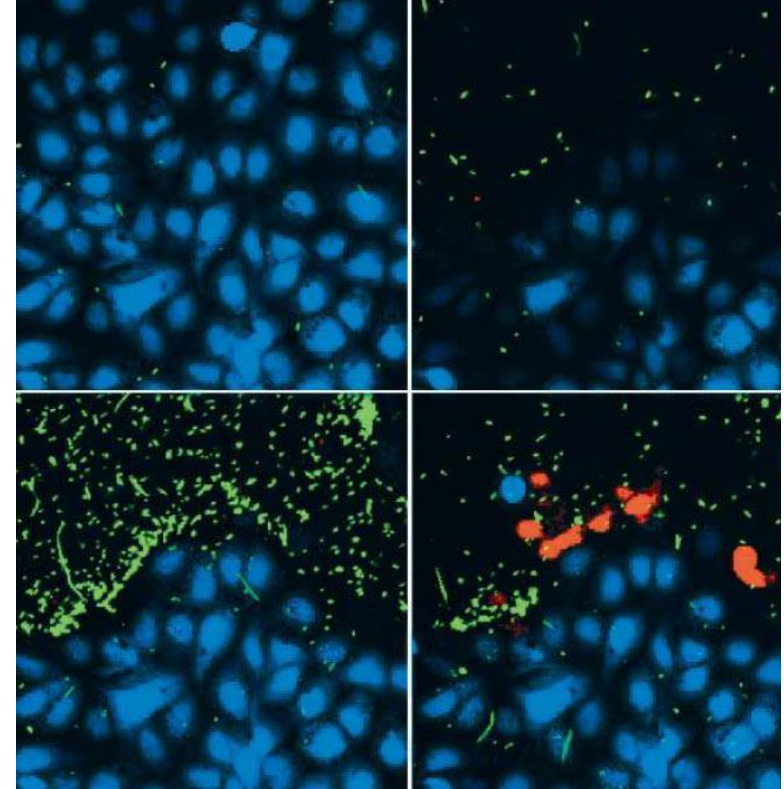
- Tek hücreli olmalarına rağmen mikroorganizmalar çevrelerindeki sinyalleri algılayarak uygun tepkiler verebilen canlılardır.
- Hareketli bakteriler, kemotaksi adı verilen süreçle besinlere yönelip zararlı maddelerden uzaklaşabilir.
- Hücrenin dışına anten gibi uzanan özel kemoreseptörler, şekerler ve amino asitler gibi çekicileri ya da toksinler gibi iticileri algılar.
- Bu moleküllerin reseptörlere bağlanması, hücrenin kamçı motoruna sinyal göndererek bakterinin yönünü belirler.

Kemotaksinin Enfeksiyon Sürecindeki Rolü

- Kemotaksi, mikroorganizmaların sadece besin arayışında değil, patojenlerde enfeksiyon sürecinde de kritik bir rol oynar.
- Fırsatçı patojen *Pseudomonas aeruginosa*, 25'ten fazla moleküle kemotaksi ile yanıt verebilir ve kistik fibrozis hastalığında önemli belirtilere neden olur.
- Kistik fibrozis hastalarında akciğerlerdeki mukus temizlenemez ve bu yoğun yapı bakterilere zengin bir besin kaynağı sağlar.
- Araştırmalar, *P. aeruginosa*'nın hasarlı akciğer dokularından salınan amino asitleri algılayarak bu bölgelere yöneldiğini göstermiştir.

P. aeruginosa'nın Besin Avı

- Yandaki görüntülerde, canlı insan epitel hücreleri (mavi) ile bakterilerin (yeşil) hasarlı bölgeye doğru yöneldiği süreç izlenmektedir.
- Hasar öncesinde ve epitel tabakası çizildikten iki dakika sonra bakterilerin neredeyse hiç bulunmadığı görülür.
- Hasardan beş dakika sonra bakterilerin hasarlı hücrelere doğru hızla göç ederek salınan besinleri tükettiği gözlenir.
- Zamanla bazı epitel hücreleri ölür (kırmızı) ve bakteriler daha fazla besin bulmak için diğer canlı hücrelere yönelmeye devam eder.

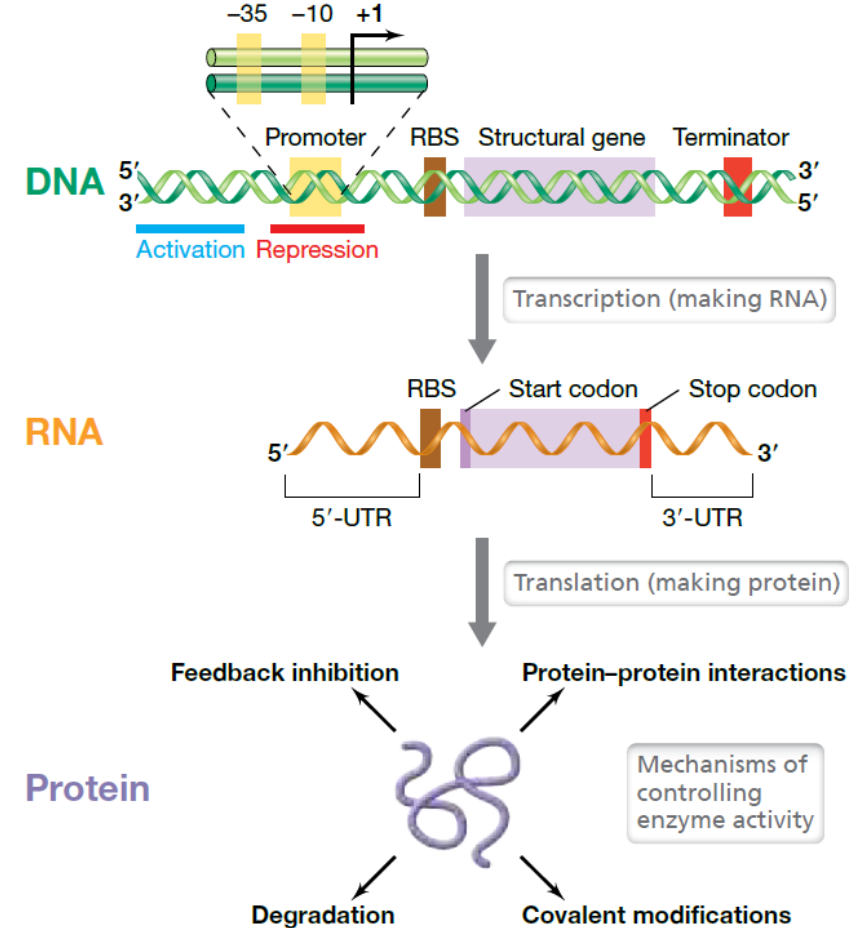


Bakteriyel Düzenleme Hızının Etkileyiciliği

- Tüm bu olayların yarım saat içinde gerçekleşebilmesi, bakteri hücreesindeki düzenleyici süreçlerin olağanüstü hızını gösterir.
- Yönlendirilmiş hareket, çok aşamalı bir düzenleyici mekanizma gerektirir ve bu süreç oldukça uyumlu şekilde yürür.
- Hücreler, metabolik tepkimelerini verimli yönetebilmek için protein ve diğer makromoleküllerin miktarını ve etkinliğini düzenlemek zorundadır.
- Bu düzenleme, bakterilerin mevcut kaynaklardan en yüksek verimi almalarını sağlayarak canlılığın sürdürülmesine katkı verir.

Protein Düzenlemenin Temel Yaklaşımları

- Hücreler protein işlevini iki ana yolla kontrol eder: birincisi proteinin miktarını, ikincisi ise var olan proteinin etkinliğini düzenlemek.
- Bir proteinin miktarı, transkripsiyon aşamasında üretilen mRNA miktarıyla ya da translasyon aşamasında mRNA'nın transle edilip edilmemesiyle belirlenir.
- Bu süreçlerin tümü gen ifadesi olarak adlandırılır ve hücrel tepkilerin temelini oluşturur.
- Protein sentezinden sonra gerçekleşen post-translasyonel düzenleme, bazı proteinlerin aktivitesini daha da hassas biçimde kontrol eder.



DNA'ya Bağlanan Proteinlerin Rolü

- Bakteri ve Archaea'da düzenlemenin en önemli basamaklarından biri transkripsiyonun kontrolüdür.
- Bir genin okunabilmesi için RNA polimerazın DNA'daki uygun promotörü tanınması gerekir.
- Bu süreçte küçük moleküller düzenlemede yer alabilir ancak genellikle bunu doğrudan değil, düzenleyici proteinleri etkileyerek yaparlar.
- Düzenleyici proteinlerin DNA'ya bağlanması, transkripsiyonun açılıp kapanmasını sağlayarak gen ifadesini belirler.

Protein–Nükleik Asit Etkileşimleri

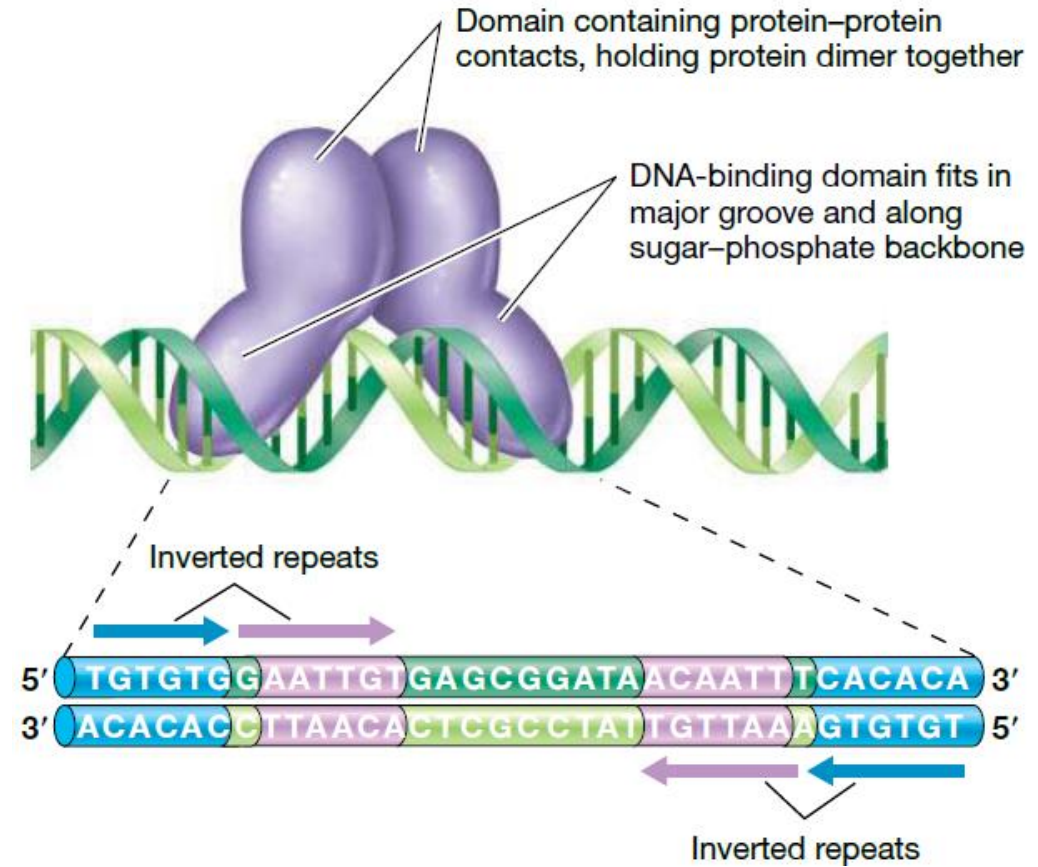
- Proteinlerin nükleik asitlerle kurduğu etkileşimler replikasyon, transkripsiyon ve translasyon süreçlerinin merkezinde yer alır.
- DNA ile etkileşimler özgül veya özgül olmayan şekilde gerçekleşebilir ve çoğu DNA bağlayan protein DNA'ya diziye özgül bağlanır.
- DNA'nın büyük oluğu (major groove) proteinlerle etkileşime girebilmek için elverişli bir yapıya sahiptir.

Ters Tekrarlar ve Düzenleyici Protein Bağlanması

- Ters tekrarlar, düzenleyici proteinlerin DNA'ya özgül biçimde bağlandıkları bölgeler olarak sıkça kullanılır.
- Bu bağlanma sırasında DNA'nın sap-ilmek yapıları oluşturması gerekmez.
- Düzenleyici proteinlerin çoğu homodimer yapıda olup, her alt birim DNA'nın majör oluğunda belirli bir bölgeye bağlanır.

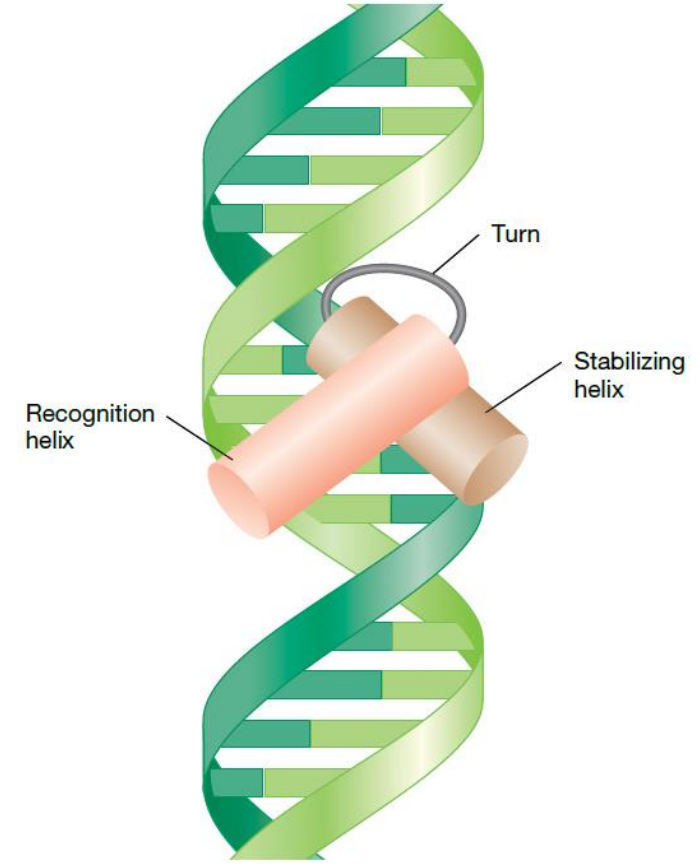
Dimerik Proteinlerin DNA'ya Bağlanması

- Homodimerik DNA-bağlayıcı proteinlerde her alt birim, ters tekrarın bir yarısına bağlanarak iki DNA zincirini birden tutar.
- Bu yapı sayesinde protein dimeri, hedef diziyi yüksek özgüllükle tanıyabilir.
- Yandaki figür, bir protein dimerinin ters tekrar bölgelerine nasıl bağlandığını ayrıntılı biçimde göstermektedir.
- Bu bağlanma, hücredeki gen düzenleme mekanizmalarının temel adımlarından birini oluşturur.



DNA'ya Bağlanan Proteinlerin Genel Yapısı

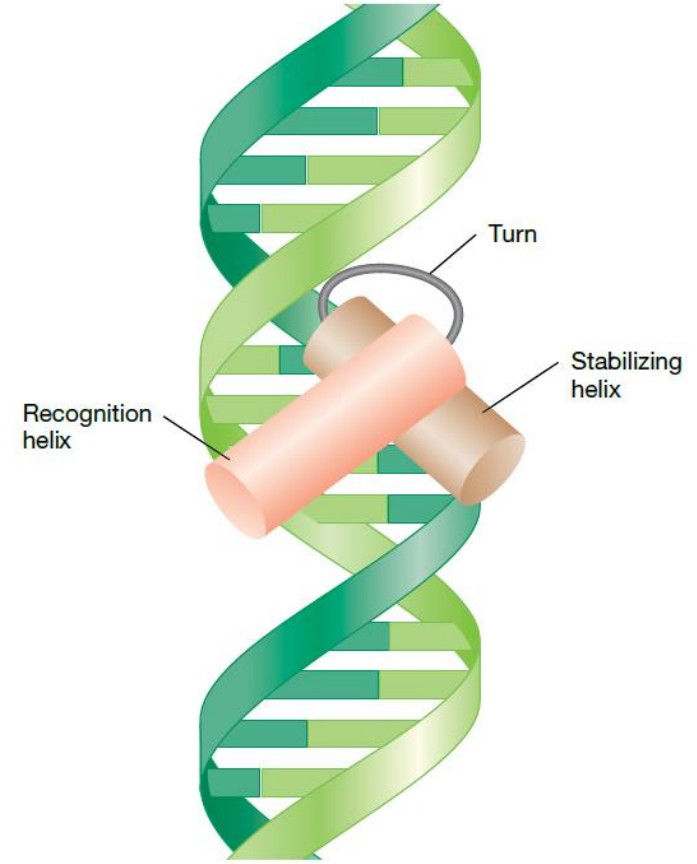
- DNA'ya bağlanan proteinler, Bacteria, Archaea ve ökaryotlarda yaygın olarak çeşitli yapısal protein bölgeleri taşır.
- Bu bölgelerin en tanınmıőı heliks-dönüş-heliks yapısıdır.
- Heliks-dönüş-heliks, kısa bir dönüş bölgesiyle birbirine bağlanan iki alfa-heliks segmentinden oluşur.
- İlk heliks DNA'yı tanıyan “tanıma heliksi”, ikinci heliks ise onu hidrofobik etkileşimlerle stabilize eden “stabilizasyon heliksdir.”



(a)

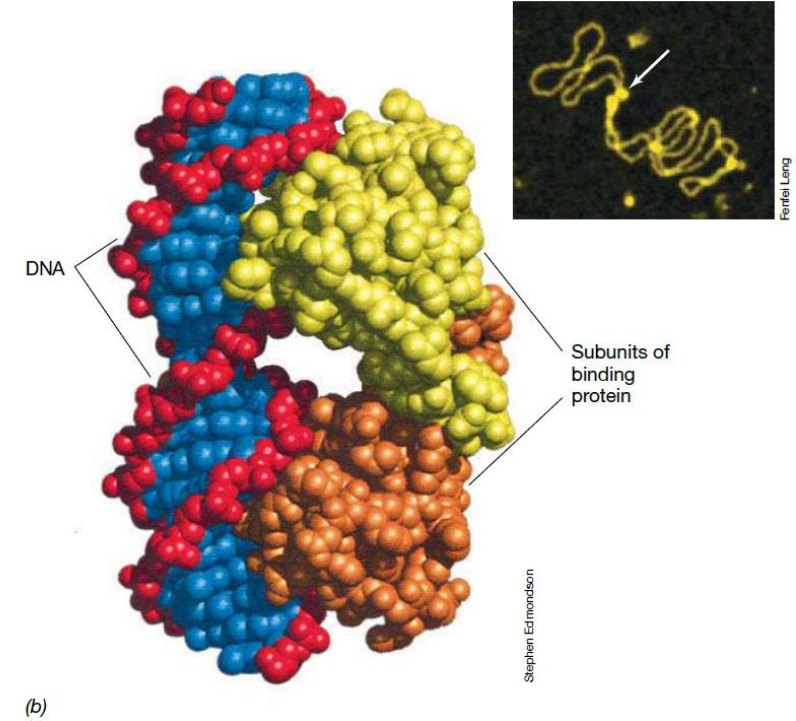
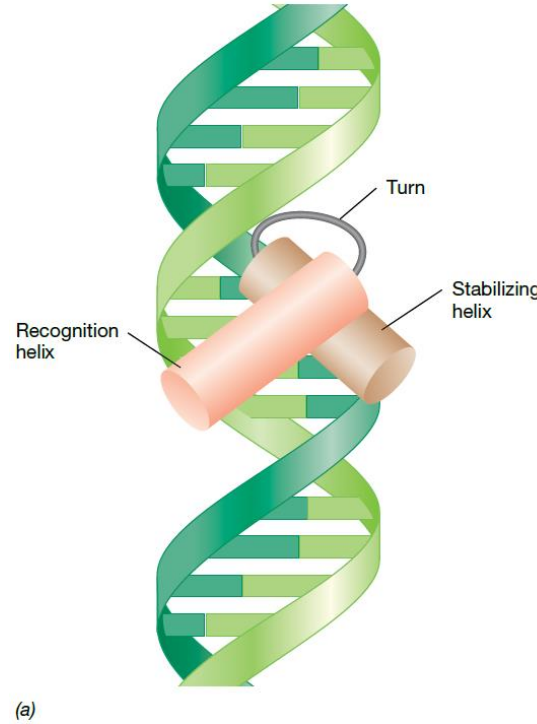
Heliks-Dönüş-Heliks Yapısının İşlevsel Özellikleri

- Heliksleri bağlayan dönüş bölgesi tipik olarak üç amino asitten oluşur ve ilk amino asit çoğu zaman glisin'dir.
- Tanıma heliksi, DNA'daki baz çiftlerinin kimyasal gruplarıyla hidrojen bağları ve van der Waals etkileşimleri kurarak özgül dizileri tanır.
- Bu yapı birçok DNA-bağlayıcı proteinde tekrar eden bir motif olarak bulunur.
- Bu tanıma mekanizması, proteinlerin belirli diziler üzerinde seçici bağlanmasını sağlar.



Prokaryotlarda Heliks-Dönüş-Heliks Motifinin Örnekleri

- Çok sayıda bakteriyel DNA-bağlayıcı protein heliks-dönüş-heliks yapısı taşır.
- Bunlara *E. coli* lac ve trp baskılayıcı proteinleri dahildir.
- Bakteriyofaj lambda baskılayıcı proteini de bu yapıya sahip proteinlerden biridir (Figür b).
- *E. coli*'de transkripsiyonu düzenleyen 250'den fazla proteinde bu motifin bulunduğu bilinmektedir.



DNA'ya Bağlanan Diğer Yaygın Protein Bölgeleri

- Çinko parmak, adından da anlaşılacağı üzere bir çinko iyonuna bağlanan ve özellikle ökaryotik düzenleyici proteinlerde yaygın bir yapıdır.
- Lösin fermuarı (leucine zipper), düzenli aralıklarla yerleşmiş lösinler içerir ve iki tanıma heliksinin doğru konumda tutulmasını sağlar.
- Bu yapılar, DNA'ya özgül bağlanmayı destekleyen ek motiflerdir.
- Böylece proteinler transkripsiyon düzenlemesinde farklı yapısal stratejiler kullanabilir.

Proteinlerin DNA'ya Bağlanması Sonuçları

- Bir protein DNA üzerinde belirli bir bölgeye bağlandığında farklı sonuçlar ortaya çıkabilir.
- Bazı DNA-bağlayıcı proteinler transkripsiyon gibi spesifik bir reaksiyonu katalize eden enzimlerdir.
- Diğer durumlarda bağlanma, transkripsiyonu engeller ve bu durum negatif düzenleme olarak adlandırılır.
- Bazı proteinler ise bağlanarak transkripsiyonu aktifleştirir ve bu pozitif düzenlemedir.

Transkripsiyonun Kontrol Edilmesinin Önemi

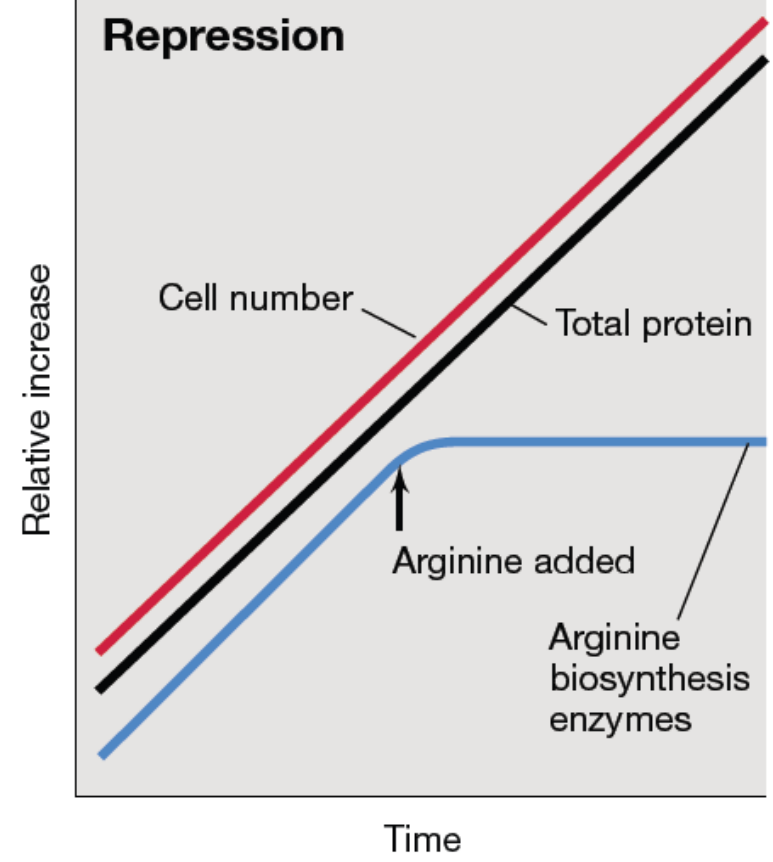
- Transkripsiyon, biyolojik bilginin akışındaki ilk aşamadır ve gen ifadesi çoğunlukla bu basamakta kontrol edilir.
- Bir gen daha sık transkribe edilirse, hücrede o gene ait daha fazla mRNA ve daha fazla protein bulunur.
- Represyon ve indüksiyon, transkripsiyon düzeyindeki en temel düzenleme türleridir.
- Bu bölümde özellikle negatif kontrol mekanizmaları ele alınacaktır.

Enzim Baskılanması (Represyon) Mekanizması

- Bazı enzimler, ürün ortamda yeterli miktarda bulunduğunda sentezlenmez; buna enzim baskılanması denir.
- Örneğin *E. coli*, arjinin sentezi için gerekli enzimleri yalnızca ortamda arjinin olmadığı zaman üretir.
- Arjinin fazlalığı, bu enzimlerin sentezini azaltır ve gereksiz enerji harcanmasını önler.
- Bu mekanizma bakterilerde amino asit ve nükleotid öncüllerinin sentezini kontrol etmek için yaygındır.

Enzim Baskılanmasının Deneysel Gösterimi

- Yanda görüldüğü üzere, arjinin içermeyen bir ortamda büyüyen kültüre arjinin eklendiğinde büyüme hızı değişmez.
- Ancak arjinin sentez enzimlerinin üretimi anında durur.
- Bu etki oldukça özgüdür; hücredeki diğer enzimlerin sentezi aynı hızda devam eder.
- Baskılanan enzimler, hücresel proteinlerin çok küçük bir kısmını oluşturur.

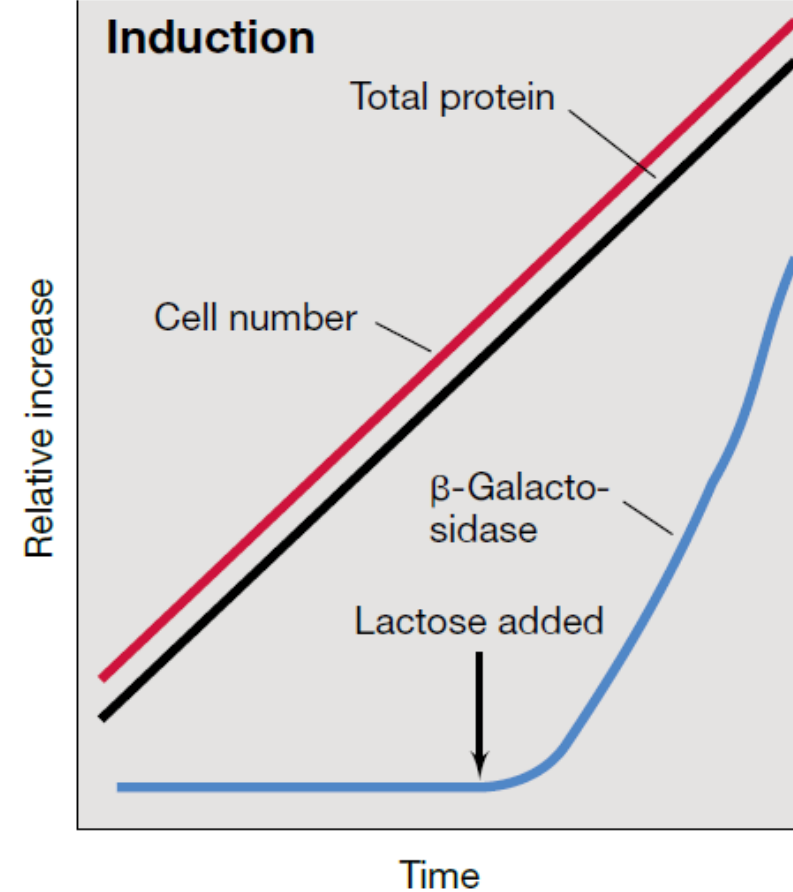


Enzim İndüksiyonu (Induction) Mekanizması

- Enzim indüksiyonu, bir enzimin yalnızca substratı mevcut olduğunda üretilmesidir.
- Baskılanma genelde biyosentetik enzimleri etkilerken, indüksiyon çoğunlukla katabolik enzimleri etkiler.
- *E. coli*'nin laktozu kullanabilmesi için lac operonundaki enzimler yalnızca laktoz bulunduğunda sentezlenir.
- Bu mekanizma, gereksiz enzim sentezini önleyerek enerji tasarrufu sağlar.

Lac Operonunda İndüksiyonun Gösterimi

- Yandaki figür, laktoz eklendiğinde β -galaktosidaz enziminin hızla indüklenmesini göstermektedir.
- Laktoz bulunmadığında enzim üretilmez, ancak laktoz eklendiğinde sentez hemen başlar.
- Lac operonundaki üç gen aynı anda indüklenir ve ilgili enzimlerin üretilmesini sağlar.
- Bu senkronize indüksiyon, bakterinin yalnızca ihtiyaç duyduğu enzimleri üretmesine olanak tanır.



İndükleyiciler ve Ko-represörlerin Temel Rolü

- Enzim sentezini artıran maddeler indükleyici, azaltan maddeler ise ko-represör olarak adlandırılır; bu küçük moleküller genel olarak efektör olarak bilinir.
- İndükleyiciler ve ko-represörler her zaman ilgili enzimin substratı veya ürünü olmak zorunda değildir.
- Bazı yapısal analoglar substrat olmasalar bile indükleyici ya da baskılayıcı olarak görev yapabilir.
- Örneğin IPTG, β -galaktosidaz tarafından parçalanamamasına rağmen bu enzimin güçlü bir indükleyicisidir.

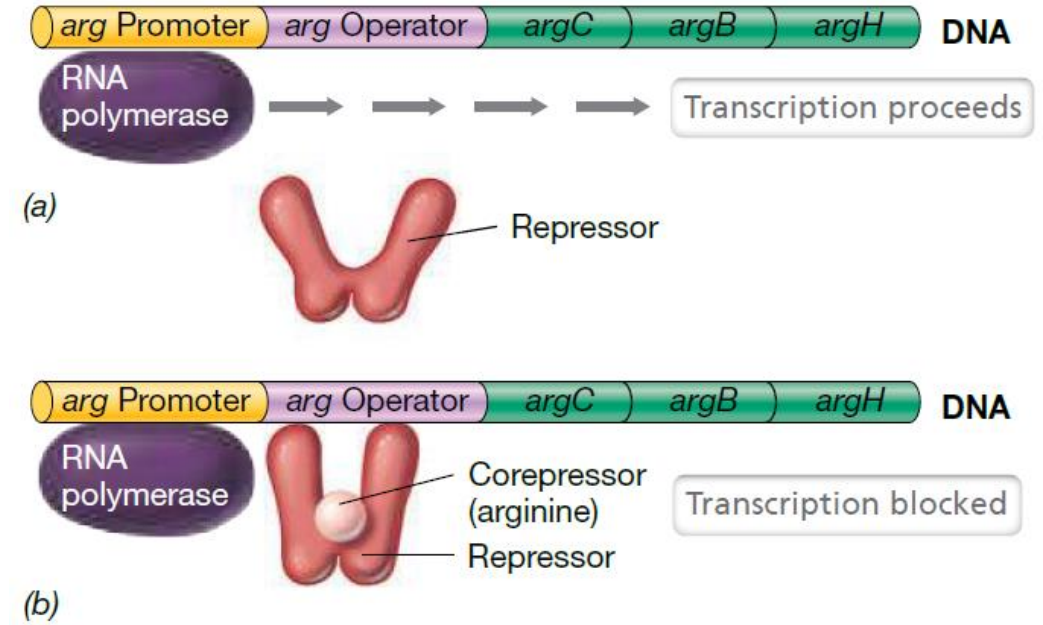


Doğal İndükleyiciler ve Allolaktoz Örneği

- Doğada indükleyicilerin ve ko-represörlerin çoğu hücre içinde bulunan normal metabolitlerdir.
- *E. coli* üzerinde yapılan detaylı çalışmalar, β -galaktosidazın gerçek indükleyicisinin laktoz değil, ondan oluşan allolaktoz olduğunu göstermektedir.
- Allolaktoz, hücrede laktozdan türetilen doğal bir izomerdir.
- Bu bulgu, indükleyicilerin her zaman dışarıdan gelen veya doğrudan substrat olan moleküller olmadığını ortaya koyar.

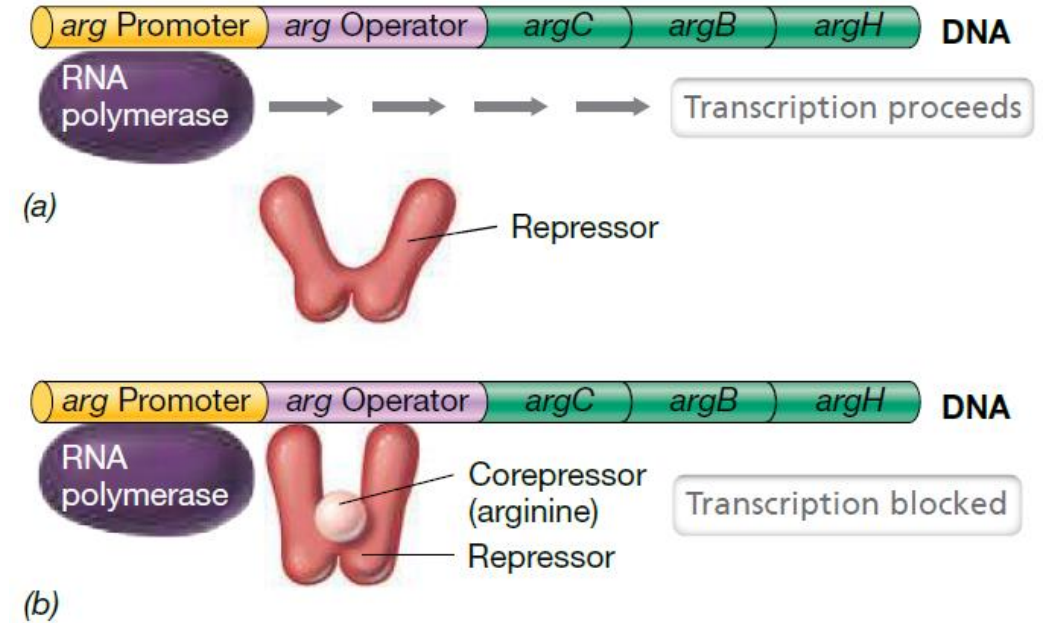
Represör ve İndüksiyonun Temel Mekanizması

- İndükleyiciler ve ko-represörler, doğrudan DNA'yı değil, belirli DNA-bağlayıcı proteinleri etkileyerek transkripsiyonu düzenler.
- Baskılanabilir enzimlere örnek olarak arjinin operonu verilebilir.
- Hücre arjinine ihtiyaç duyduğunda arjinin genlerinin transkripsiyonu gerçekleşir (Figür a).
- Arginin fazlaysa, bu molekül ko-represör görevi görerek baskılama sürecini başlatır (Figür b).



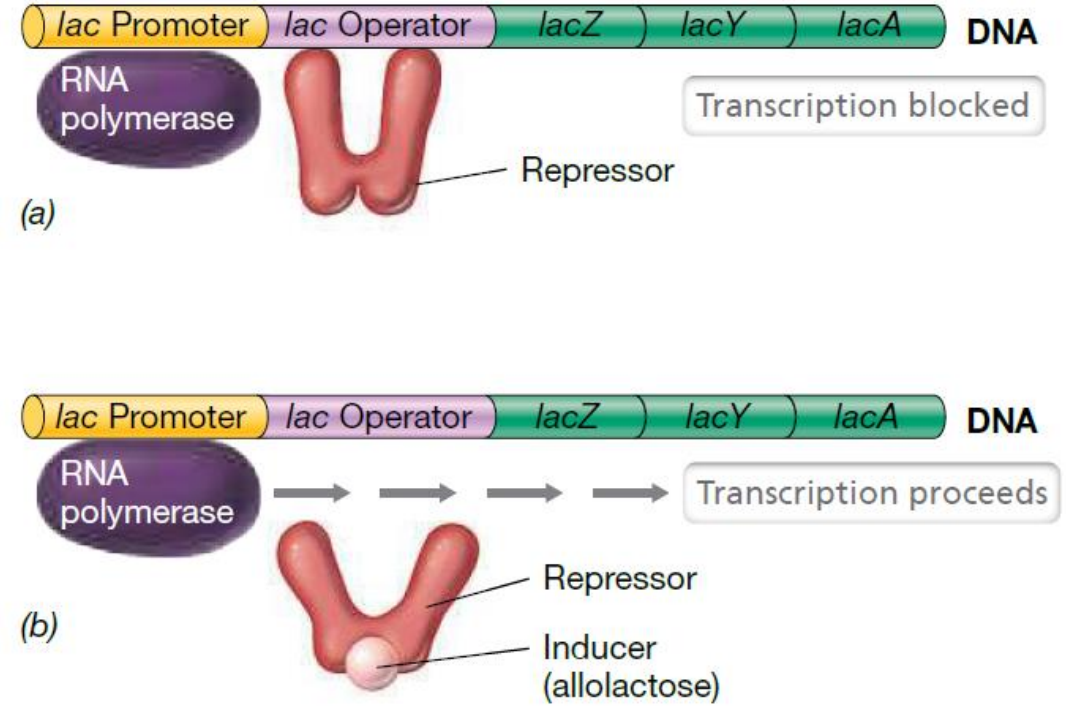
Arjinin Operonunda Ko-represyonun İşleyişi

- Arjinin, hücredeki özel bir baskılayıcı proteine bağlanarak proteinin yapısal şeklini değiştirir; bu protein allosteriktir.
- Efektör bağlandığında aktifleşen baskılayıcı, promotöre yakın bir DNA bölgesi olan operatöre bağlanır.
- Operatöre bağlanmış baskılayıcı, RNA polimerazın DNA'ya tutunmasını veya ilerlemesini engelleyerek transkripsiyonu durdurur.
- Eğer mRNA polisitronik yapıdaysa, bu mRNA'nın kodladığı tüm polipeptitlerin sentezi baskılanmış olur.



İndüksiyonun Represör Üzerinden Kontrolü

- Bazı indüklenebilir sistemlerde baskılayıcı protein, indükleyici yokluğunda aktif olup transkripsiyonu tamamen durdurur.
- İndükleyici molekül eklendiğinde baskılayıcıya bağlanır ve onu inaktive eder.
- Baskılayıcı inaktive olduğunda engel ortadan kalkar ve transkripsiyon yeniden başlayabilir.
- Bu süreç, indüklenebilir genlerin çevresel sinyallere hızlı yanıt vermesini sağlar.



Negatif Kontrolün Ortak Özellikleri

- Tüm baskılayıcı temelli düzenleme sistemleri, belirli efektör moleküllerin kontrolündeki baskılayıcıların mRNA sentezini durdurmasına dayanır.
- Bu nedenle baskılayıcıyla gerçekleşen düzenleme genel olarak negatif kontrol olarak adlandırılır.
- Genler bir anahtar gibi tamamen “açık” veya “kapalı” değildir; kontrol miktarsaldır ve düzey değişkenlik gösterebilir.
- “Tam baskılama” halinde bile düşük seviyede bazal transkripsiyonun sürdüğü bilinmektedir.

Pozitif Kontrole Giriş

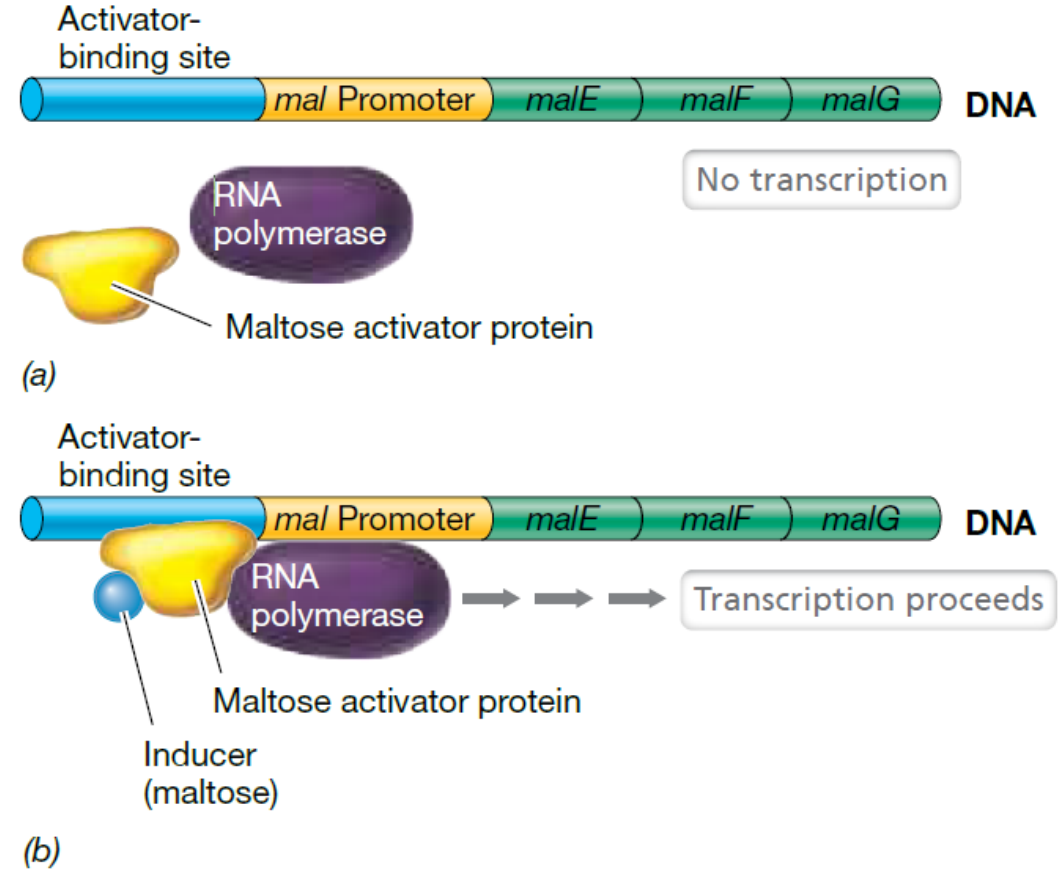
- Negatif kontrolde baskılayıcı proteinin etkisiyle mRNA sentezi engellenirken, pozitif kontrolde bir aktivatör proteini transkripsiyonu başlatmaya yardımcı olur.
- Pozitif kontrol, RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasını kolaylaştıran aktivatör proteinlere dayanır.
- Maltoz katabolizması, pozitif kontrolün önemli örneklerinden biridir.
- Bu yaklaşım, bazı genlerin ancak aktivatör yardımıyla ifade edilebildiğini gösterir.

E. coli'de Maltoz Katabolizması

- *E. coli*'de maltozun parçalanmasından sorumlu enzimler yalnızca ortama maltoz eklendiğinde sentezlenir.
- β -galaktosidaz için görülen indüksiyon örüntüsüne benzer bir süreç izlenir ancak burada düzenleme negatif değil, pozitif kontroldür.
- Transkripsiyonun başlaması, aktivatör proteinin DNA'ya bağlanmasına bağlıdır.
- Bu bağlanma gerçekleşmeden ilgili enzimlerin sentezi başlamaz.

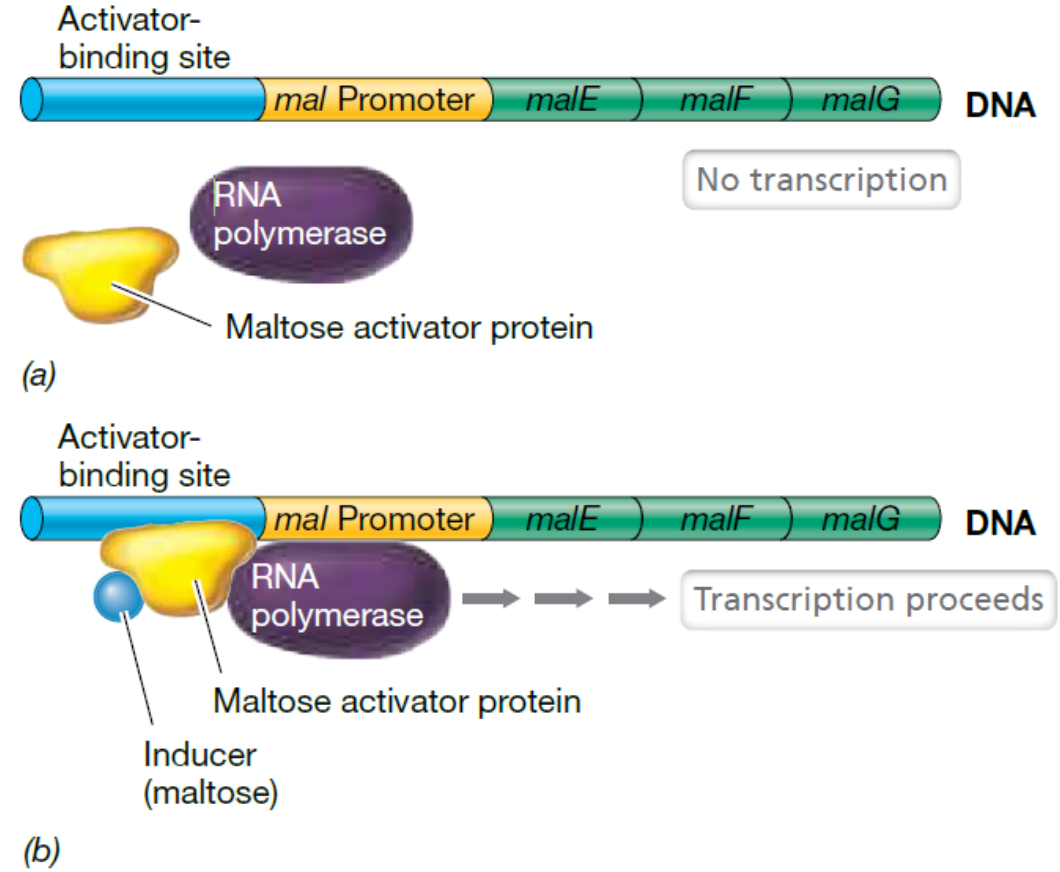
Maltoz Aktivasyonunun Mekanizması

- Maltoz aktivatör proteini DNA'ya bağlanmadan önce maltoz ile birleşmelidir; maltoz bu sistemin indükleyicisidir.
- Aktivatör proteini maltoza bağlandıktan sonra DNA'daki özel bölgeye yerleşir ve RNA polimerazın transkripsiyonu başlatmasını sağlar.
- Aktivatör proteinleri de tıpkı baskılayıcılar gibi DNA'daki belirli kimyasal grupları hedefleyerek bağlanır.
- Ancak bu bölgeye operatör değil, aktivatör-bağlanma bölgesi adı verilir.



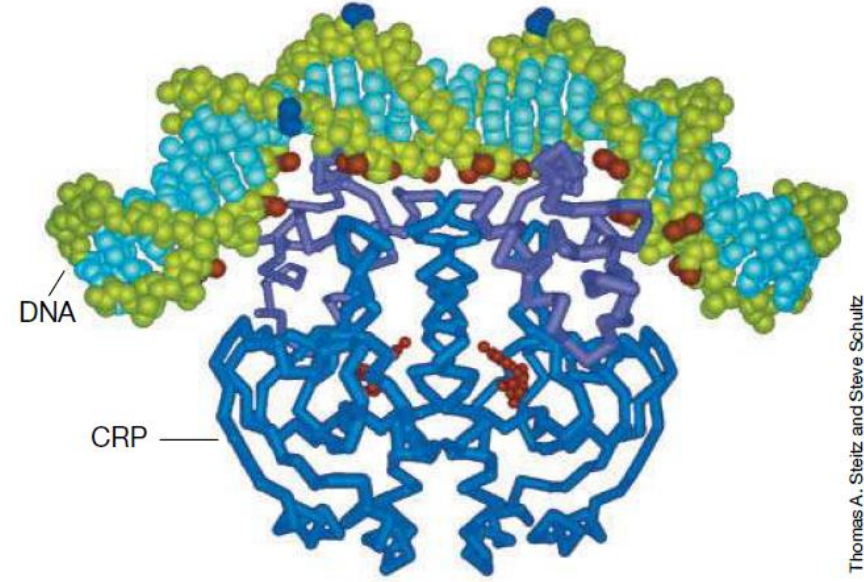
Aktivasyonun Operon Üzerindeki Etkisi

- Aktivatör-bağlanma bölgesi operonun düzenlediği genlerin ekspresyonunu mümkün kılar.
- Bu bölge farklı adlandırılrsa da, kontrol ettiği genler yine bir operon olarak değerlendirilir.
- Aktivasyon gerçekleştiğinde RNA polimerazın DNA üzerindeki hareketi kolaylaşır ve transkripsiyon başlatılır.
- Böylece, maltoz varlığı hücrede ilgili katabolik enzimlerin hızlı şekilde sentezlenmesini sağlar.



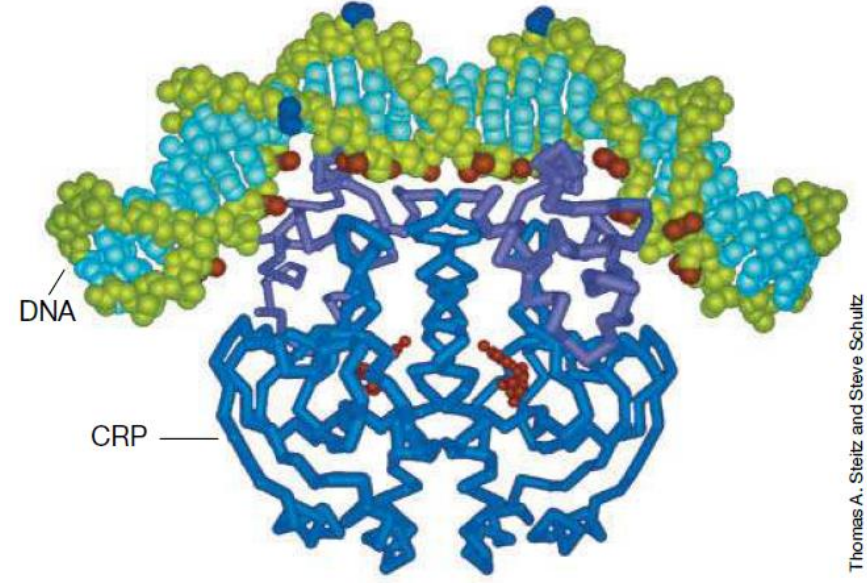
Aktivatör Proteinlerin Görevine Genel Bakış

- Pozitif kontrol altındaki operonların promotör dizileri RNA polimerazı zayıf bağladığı için bu promotörler konsensüs dizisine düşük benzerlik gösterir.
- Bu nedenle, doğru sigma faktörü bulunsa bile RNA polimerazın promotöre bağlanması güçleşir.
- Aktivatör proteinin temel görevi, RNA polimerazın promotörü tanımasına ve transkripsiyona başlamasına yardımcı olmaktır.
- Aktivatör proteinler bu işlevi, DNA yapısını bükerek gerçekleştirebilir ve bu mekanizma yandaki figürde gösterilmiştir.



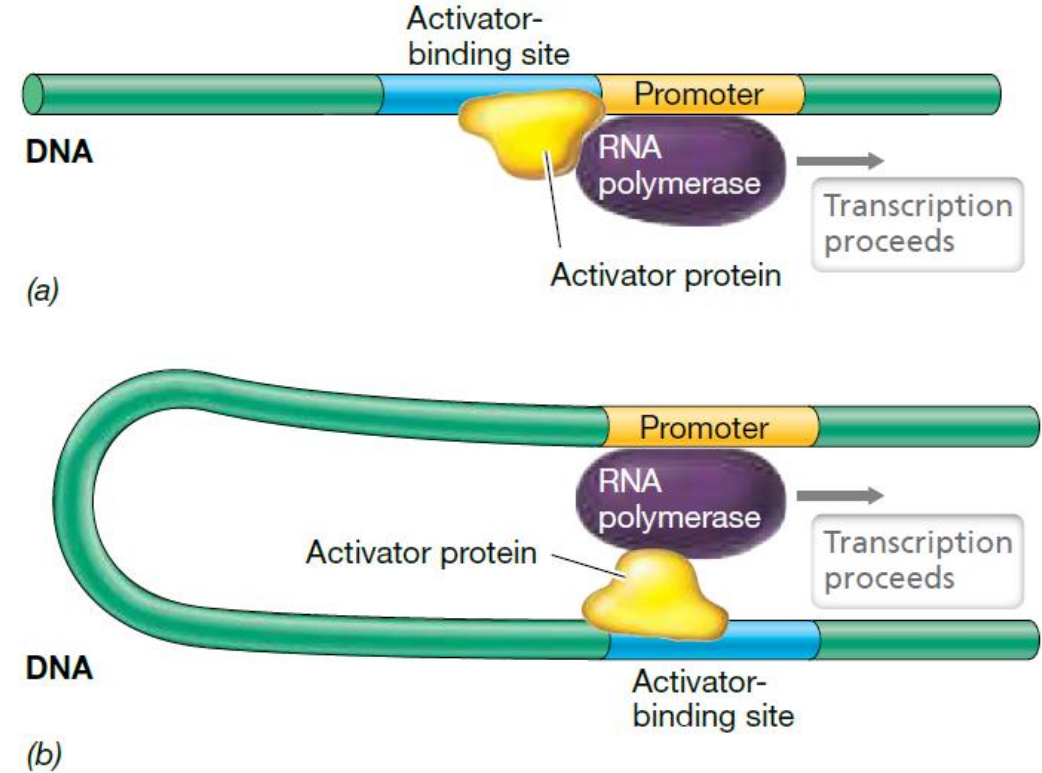
Aktivatör Proteinlerin Etki Mekanizmaları

- Aktivatör protein, DNA'yı bükerek RNA polimerazın promotör bölgedeki gerekli nükleotidlerle temas kurmasını sağlayabilir.
- Aktivatör protein ayrıca RNA polimerazla doğrudan etkileşime girerek transkripsiyonu başlatabilir.



Aktivatör Proteinlerin Etki Mekanizmaları

- Bu doğrudan etkileşim, aktivatör bağlanma bölgesi promotöre yakın olduğunda gerçekleşebilir (Figür a).
- Aktivatör bölgesi promotörden yüzlerce baz çifti uzakta olduğunda ise DNA'nın kıvrılmasıyla gerekli temas sağlanır (Figür b).

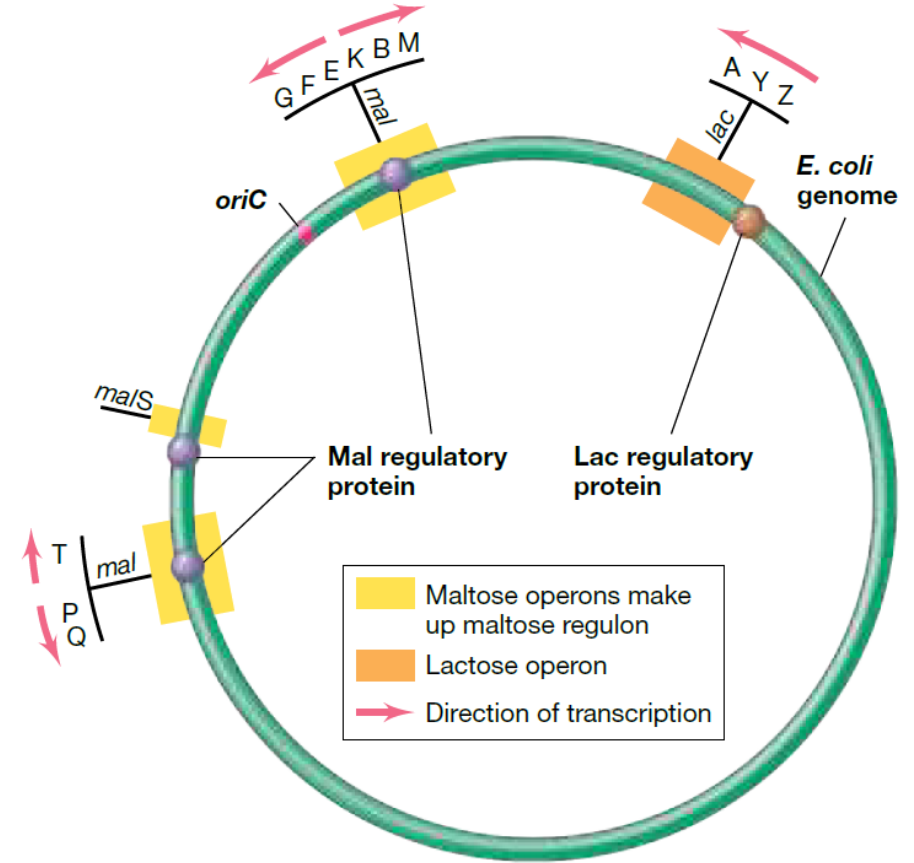


Operonlarda Çoklu Kontrol Sistemleri

- *E. coli*'de birçok genin promotörü pozitif kontrol altındadır ve yine birçok gen negatif kontrol ile düzenlenir.
- Bazı operonların ise birden fazla kontrol tipi bulunur ve hatta birden fazla promotöre sahip olabilirler.
- Bu nedenle, operonların düzenlenmesi çoğu zaman tek bir mekanizma ile açıklanamayacak kadar karmaşıktır.
- Bakteri ve Archaea operonlarında çoklu kontrol öğeleri yaygın olduğundan, düzenleme çoğu zaman geniş bir etkileşim ağı gerektirir.

Operonlar ve Regülonlar Arasındaki Fark

- *E. coli*'de maltoz kullanımını sağlayan genler kromozom üzerinde birden fazla operona yayılmış durumdadır.
- Bu operonların her birinde maltoz aktivatör proteininin bağlanabileceği aktivatör bağlanma bölgeleri bulunur.
- Dolayısıyla maltoz aktivatör proteini, birden fazla operonun transkripsiyonunu aynı anda kontrol eder.
- Birden fazla operon tek bir düzenleyici protein tarafından kontrol edildiğinde bu operonlar bir regülon oluşturur.



Negatif Kontrolde Regülonlar

- Negatif kontrol altında düzenlenen operonlar için de regülon örnekleri vardır.
- Arjinin biyosentezinden sorumlu enzimler, arjinin baskılayıcı proteinin kontrol ettiği arjinin regülonu içinde yer alır.
- Regülon kontrolünde DNA'ya bağlanan düzenleyici protein yalnızca kontrol ettiği operonlarda bağlanma gösterir.
- Aktivatör ya da represör olarak çalışsa da bu protein, kontrol etmediği operonları etkilemez.

Global Kontrol Sistemlerine Giriş

- Mikroorganizmalar çevredeki değişimlere yanıt vermek için çoğu zaman birbirinden farklı birçok geni aynı anda düzenlemek zorundadır.
- Ortam sinyallerine yanıt olarak çok sayıda genin transkripsiyonunu yöneten bu mekanizmalara global kontrol sistemleri denir.
- Hem lac operonu hem de maltoz regülону, kendi yerel kontrollerine ek olarak global kontrol mekanizmalarına da yanıt verir.
- Global kontrolü anlamak için lac operonuna geri dönelim ve hücrelerin birden fazla şekerle karşılaştığında nasıl davrandığı inceleyelim.

Katabolit Baskılanmasının Temel Mantığı

- *E. coli* çok çeşitli şekerleri kullanabilir ancak birden fazla şeker mevcut olduğunda her zaman önce glukozu tüketir.
- Çünkü *E. coli* glukoz üzerinde diğer karbon kaynaklarına göre daha hızlı büyür.
- Glukoz varken diğer şekerlerin kullanımını sağlayan enzimlerin sentezlenmesi hücre için gereksiz bir enerji kaybıdır.
- Birden fazla karbon kaynağı olduğunda bu kaynakların kullanım sırasını düzenleyen mekanizma katabolit baskılanmasıdır.



Glukozun Diğer Şekerleri Baskılaması

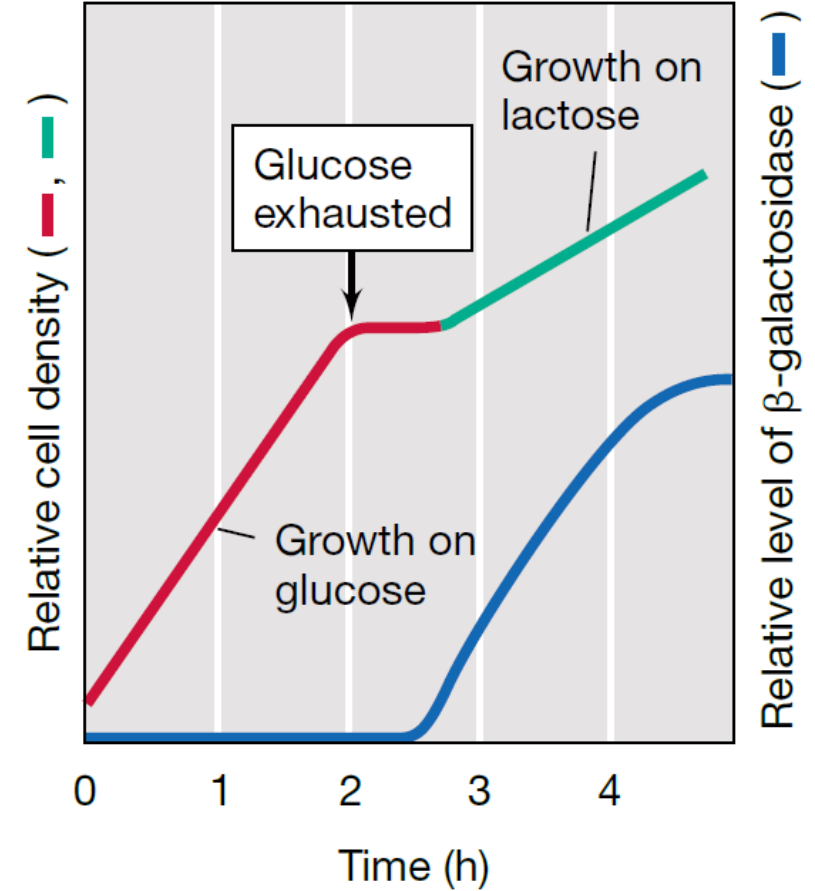
- *E. coli* glukoz içeren bir ortamda büyüdüğünde, laktoz veya maltoz gibi diğer karbon kaynaklarını parçalayan enzimlerin sentezi baskılanır.
- Bu durum, tercih edilen karbon kaynağının diğer metabolik yolların indüklenmesini engellemesi anlamına gelir.
- Katabolit baskılanması ilk kez glukoz ile ilişkili bulunduğu için bazen “glukoz etkisi” olarak adlandırılır.
- Ancak önemli olan glukozun kendisi değil, mevcut en iyi enerji kaynağının diğer yolları baskılamasıdır.

Neden Katabolit Baskılanması Global Bir Kontroldür?

- Glukoz mevcut olduğu sürece *E. coli*'deki çok sayıda katabolik operonun ekspresyonu baskılanır.
- Laktoz, maltoz ve birçok başka şekerin kullanım yolları bu baskılamadan etkilenir.
- Ayrıca kamçı (flagella) sentez genleri de baskılanır, çünkü hücre iyi bir enerji kaynağına sahipken besin aramak için hareket etmeye gerek duymaz.
- Bu nedenle katabolit baskılanması, hücrede geniş kapsamlı bir düzenleme sağlar ve global kontrol sistemi olarak değerlendirilir.

Dioksik Büyüme: İki Aşamalı Gelişim

- Katabolit baskılanması sonucunda “dioksik büyüme” adı verilen iki aşamalı bir büyüme eğrisi ortaya çıkabilir.
- İki enerji kaynağı varsa hücreler önce daha iyi olan kaynakla büyür.
- Bu kaynak tükendiğinde kısa bir duraklama olur, ardından ikinci enerji kaynağı kullanılmaya başlar.
- Bu iki evreli büyüme modeli yanda gösterilmiştir.



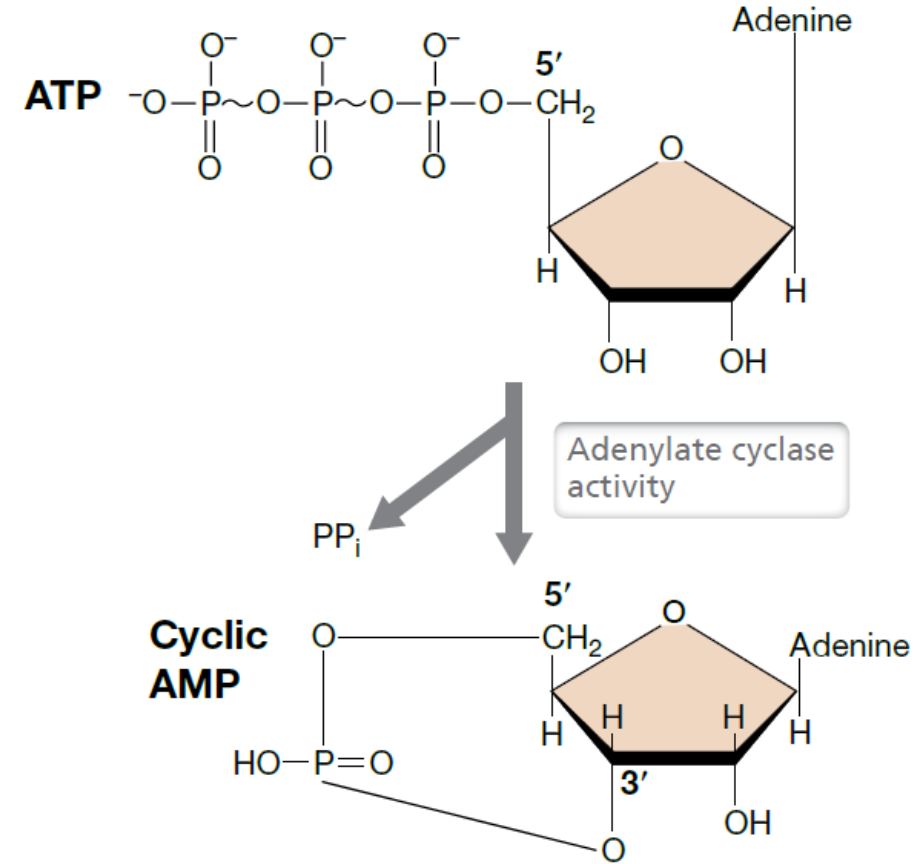
Lac Operonunun Katabolit Baskılanması Altındaki Davranışı

- Lak operonu, β -galaktosidaz gibi laktoz kullanımını sağlayan proteinleri kodlar ve laktozun varlığında indüklenir.
- Ancak glukoz bulunduğu sürece katabolit baskılanması nedeniyle lac operonu ekspresyon göstermez.
- Glukoz tükendiğinde baskılama ortadan kalkar ve lac operonu hızla ifade edilmeye başlar.
- Bu sürecin hemen ardından hücreler laktozu kullanarak büyümeye devam eder.



Katabolit Represyonu ve CRP'nin Rolü

- Katabolit represyonu, adının aksine pozitif kontrol mekanizmasıyla çalışan bir düzenleme biçimidir.
- Bu mekanizmada görev alan aktivatör protein siklik AMP reseptör proteini olarak adlandırılır (CRP).
- Katabolit-repressible bir enzimi kodlayan bir gen ancak CRP promotöre bağlandığında ifade edilir.
- CRP'nin DNA'ya bağlanabilmesi için önce siklik AMP ile etkileşmesi gerekir.

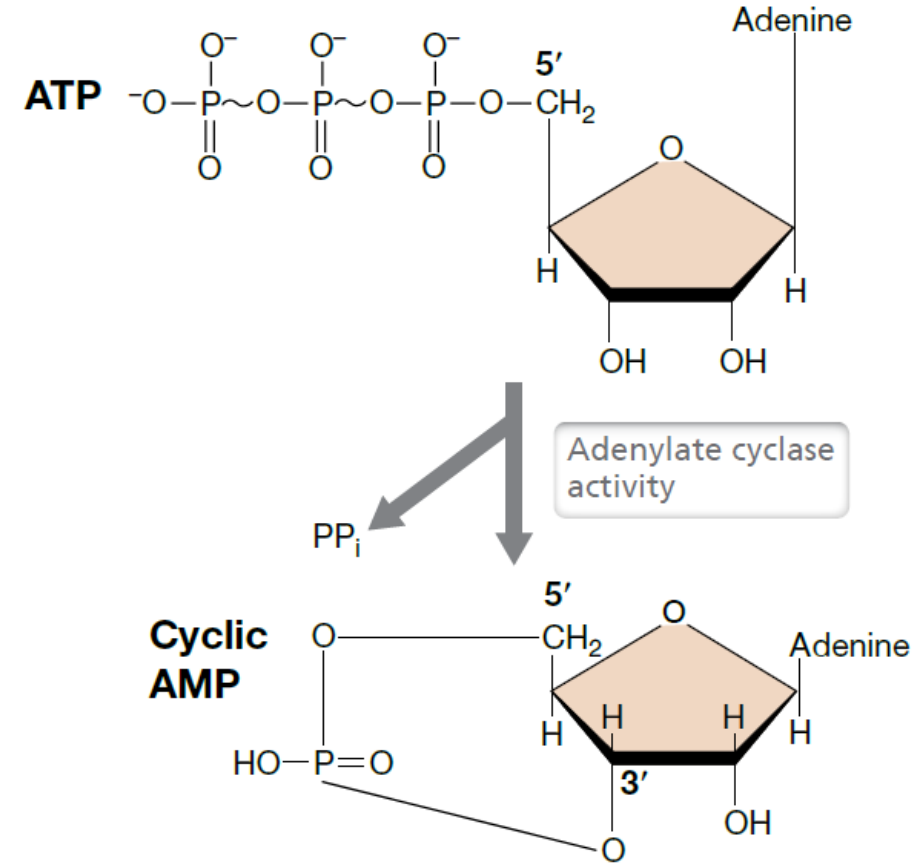


CRP'nin Yapısal ve İşlevsel Özellikleri

- CRP allosterik bir proteindir ve DNA'ya yalnızca cAMP bağlandıktan sonra bağlanabilir.
- Birçok DNA bağlayıcı proteinde olduğu gibi CRP de DNA'ya dimer formunda bağlanır.
- CRP-promotör etkileşmesi RNA polimerazın promotörü tanımasını ve bağlanmasını sağlar.
- Bu etkileşim olmadan ilgili genlerin transkripsiyonu gerçekleşmez.

Siklik AMP ve Diğer Düzenleyici Nükleotidler

- Siklik AMP hem prokaryot hem de ökaryot hücrelerde pek çok metabolik kontrol sisteminde görev alan bir düzenleyici nükleotiddir.
- Bu molekül nükleik asit türevi olduğu için düzenleyici nükleotidler arasında yer alır.
- Siklik GMP, siklik di-GMP ve ppGpp diğer önemli düzenleyici nükleotidlerdir.
- Siklik AMP, ATP'den adenilat siklaz enzimi tarafından sentezlenir.



Glikozun Siklik AMP Üzerindeki Baskılayıcı Etkisi

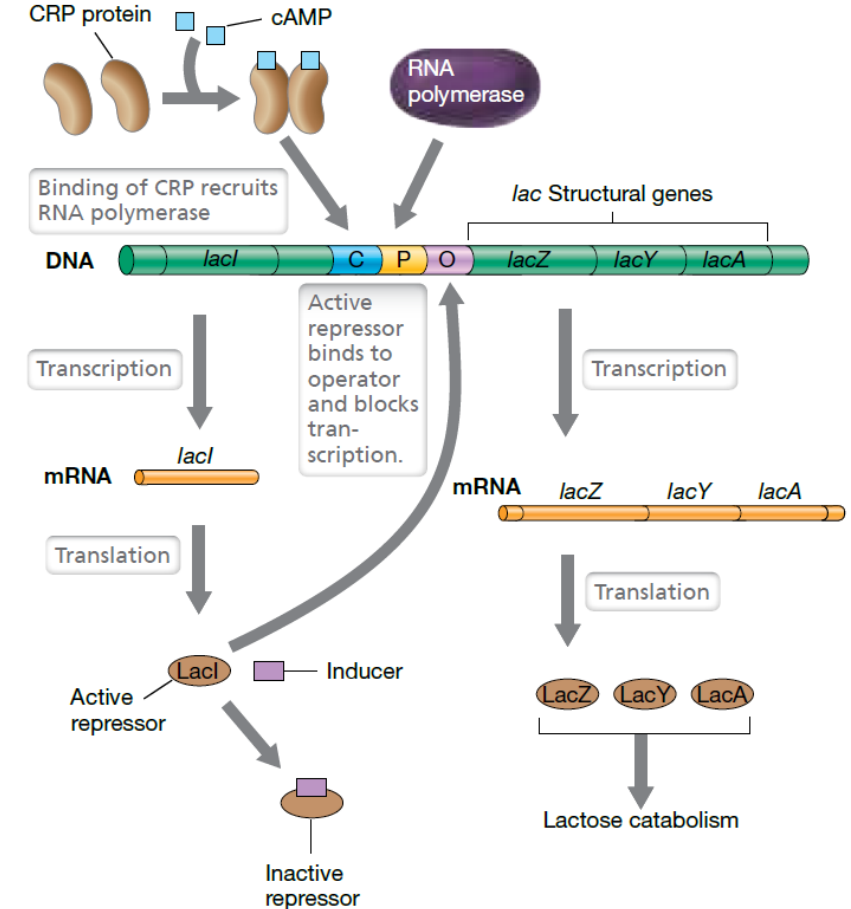
- Glikoz varlığı siklik AMP sentezini baskılar ve hücre dışına taşınmasını teşvik eder.
- Glikoz hücreye girdiğinde hücre içi siklik AMP düzeyi düşer.
- Siklik AMP düzeyi düşük olduğunda CRP DNA'ya bağlanamaz.
- CRP bağlanamayınca RNA polimeraz da promotöre bağlanamaz ve katabolit represyonuna tabi operonlar transkribe edilmez.

Katabolit Represyonunun Gerçek Nedeni

- Katabolit represyonu glikoz gibi daha iyi bir enerji kaynağının varlığıyla tetiklenen dolaylı bir sonuçtur.
- Doğrudan baskılamayı yaratan mekanizma hücredeki düşük siklik AMP seviyesidir.
- Düşük siklik AMP düzeyi CRP'nin DNA'ya bağlanmasını engeller.
- Böylece ilgili operonların transkripsiyonu durur.

Lac Operonunda Katabolit Represyonu

- Lac operonunun düzenleyici bölgesi yanda gösterilmiştir.
- lac genlerinin transkripsiyonu için önce siklik AMP seviyesinin CRP'nin bağlanabileceği kadar yüksek olması gerekir.
- Ayrıca ortamda laktoz bulunmalı ve LacI represörü operatöre bağlanarak transkripsiyonu engellememelidir.
- Bu iki koşul sağlanırsa hücre glikozun bulunmadığını ve laktozun mevcut olduğunu algılar ve lac operonu aktifleşir.



Archaea'da Transkripsiyonun Kontrolü

- RNA polimerazın etkinliği iki ana stratejiyle düzenlenebilir.
- Bakterilerde yaygın olan strateji represör ya da aktivatör gibi DNA bağlayıcı proteinlerle düzenlemedir.
- Ökaryotlarda yaygın strateji ise pek çok transkripsiyon faktörünün RNA polimeraz ile eşgüdümlü çalışmasıdır.
- Archaea'da transkripsiyonun mekanizması Eukarya'ya benzese de düzenleme biçimi Bakterilere daha yakındır.

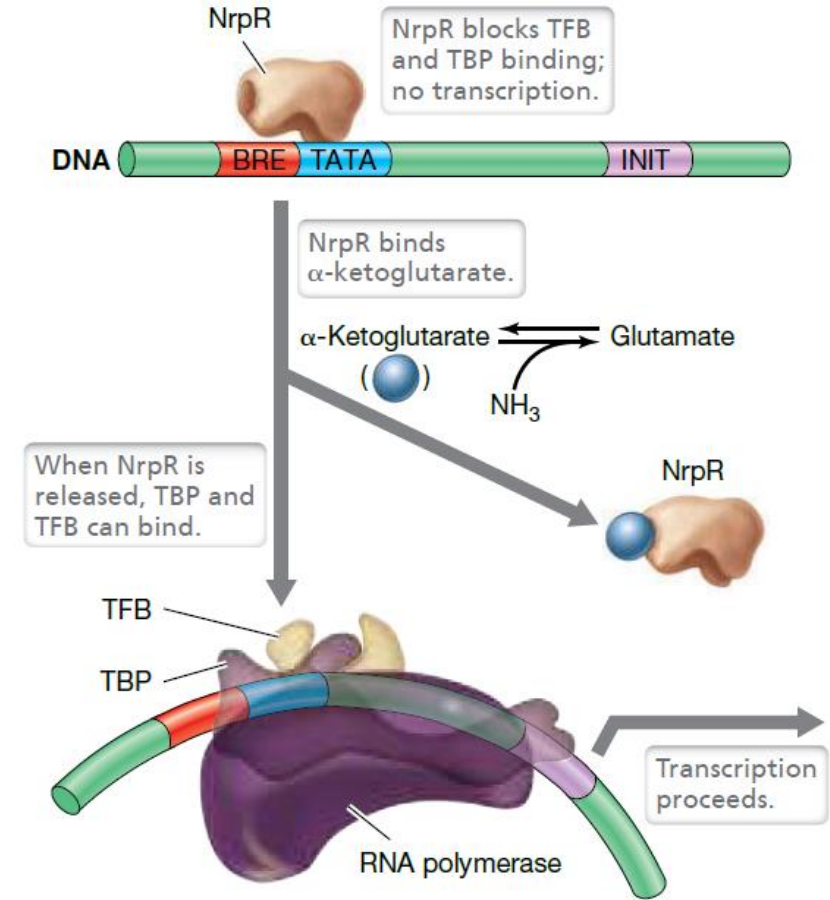


Archaea'da Represör ve Aktivatör Proteinler

- Archaea'da hem represör hem aktivatör proteinlerin bulunduğu bilinmektedir.
- Archaeal represörler ya RNA polimerazın bağlanmasını ya da TBP (TATA-binding protein) ve TFB'nin (transcription factor B) promotöre bağlanmasını engeller.
- TBP ve TFB proteinleri Archaea'da RNA polimerazın promotöre bağlanması için zorunludur.
- Bazı aktivatör proteinler ise TBP'nin promotöre alınmasını sağlayarak transkripsiyonu kolaylaştırır.

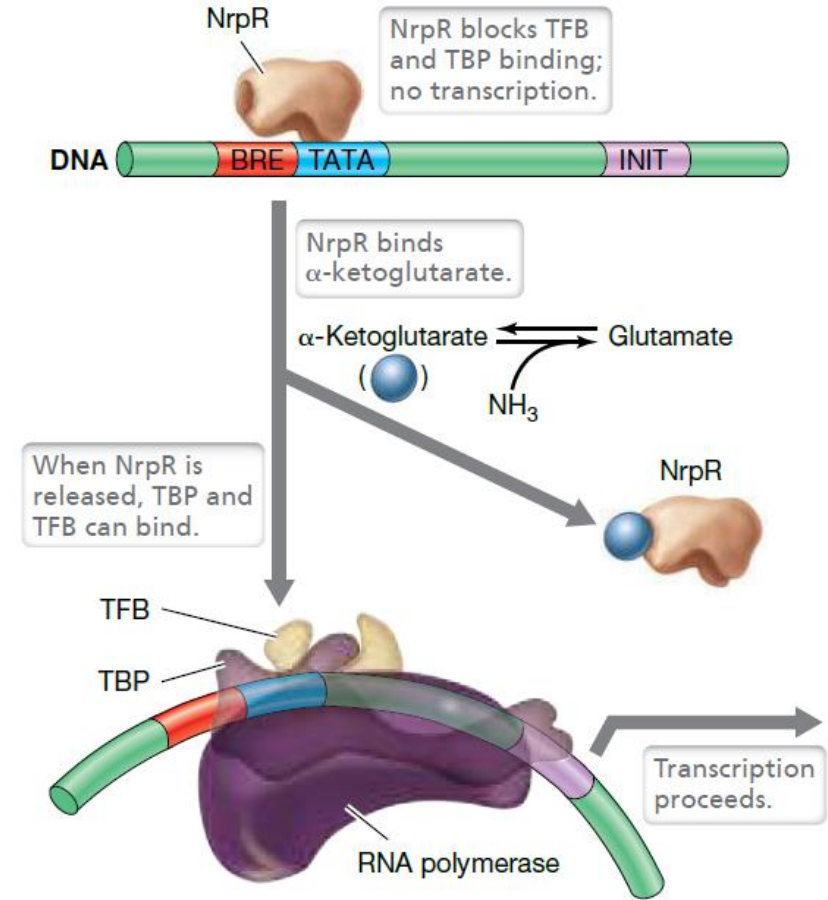
Archaea'da Azot Asimilasyonunun Kontrolü

- NrpR, *Methanococcus maripaludis*'te azot asimilasyonu ile ilgili genleri baskılayan bir represör örneğidir.
- Bu represör nitrojen fiksasyonu ve glutamin sentezi gibi süreçleri kodlayan genleri baskılar.
- Hücrede organik azot yeterliyse NrpR bu genlerin transkripsiyonunu engeller.
- Azot sınırlı hale geldiğinde hücrede α -ketoglutarat düzeyi yükselir.



α -Ketoglutaratın Sinyal Etkisi ve NrpR'nin İnaktivasyonu

- Yükselen α -ketoglutarat seviyesi amonyağın sınırlı olduğunu hücreye bildirir.
- Bu durum nitrojen fiksasyonu veya glutamin sentetaz gibi yüksek afiniteye sahip yolların aktive edilmesi gerektiğini gösterir.
- α -Ketoglutarat NrpR'ye bağlanarak bir indükleyici gibi davranır.
- Bu bağlanma NrpR'nin promotöre olan afinitesini azaltır ve ilgili genlerin transkripsiyonu serbest kalır.



NrpR ve LacI Benzerliđi

- NrpR'nin yüksek α -ketoglutarat düzeylerinde DNA'ya bağlanma yeteneğini kaybetmesi LacI'ın indükleyiciyle etkileşim sonrası operatörden ayrılmasına benzer.
- Bu benzerlik bakteri ve Archaea'daki düzenleyici proteinlerin çalışma mantıklarının ortak noktalarını gösterir.
- Her iki protein de belirli bir metabolik sinyal ile inaktive olur.
- Bu mekanizma hücrenin çevresel koşullara hızla uyum sağlamasını mümkün kılar.

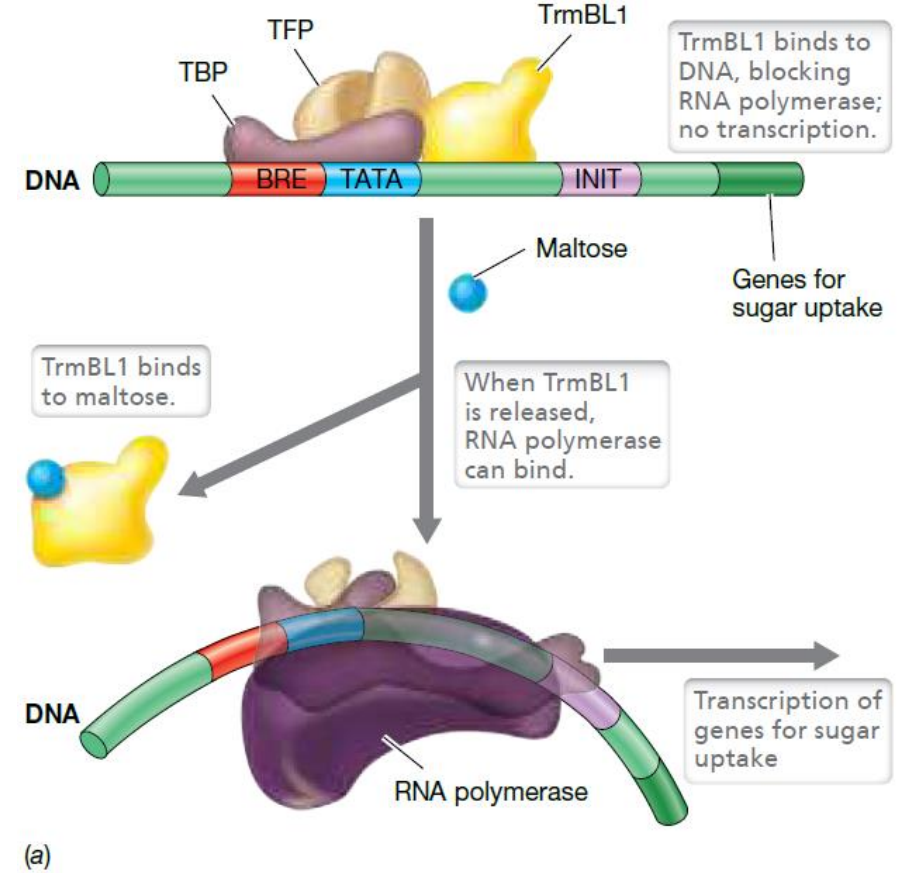
Archaea Düzenleyicilerinde Çift İşlevlilik

- Bazı Archaea düzenleyicileri hem baskılayıcı hem de aktive edici olarak işlev görebilir ve TrmB ailesi buna önemli bir örnektir.
- TrmB ailesi 250'den fazla protein içeren geniş bir gruptur ve üyeleri çoğunlukla şeker metabolizmasını düzenler.
- Aynı protein farklı bağlanma bölgelerine göre aktivatör, baskılayıcı veya her ikisi olarak görev alabilir.
- Özellikle *Pyrococcus furiosus* türünde TrmBL1, hem bazı şeker taşıyıcılarının genlerini baskılar hem de glukoneogenez genlerini aktive eder.



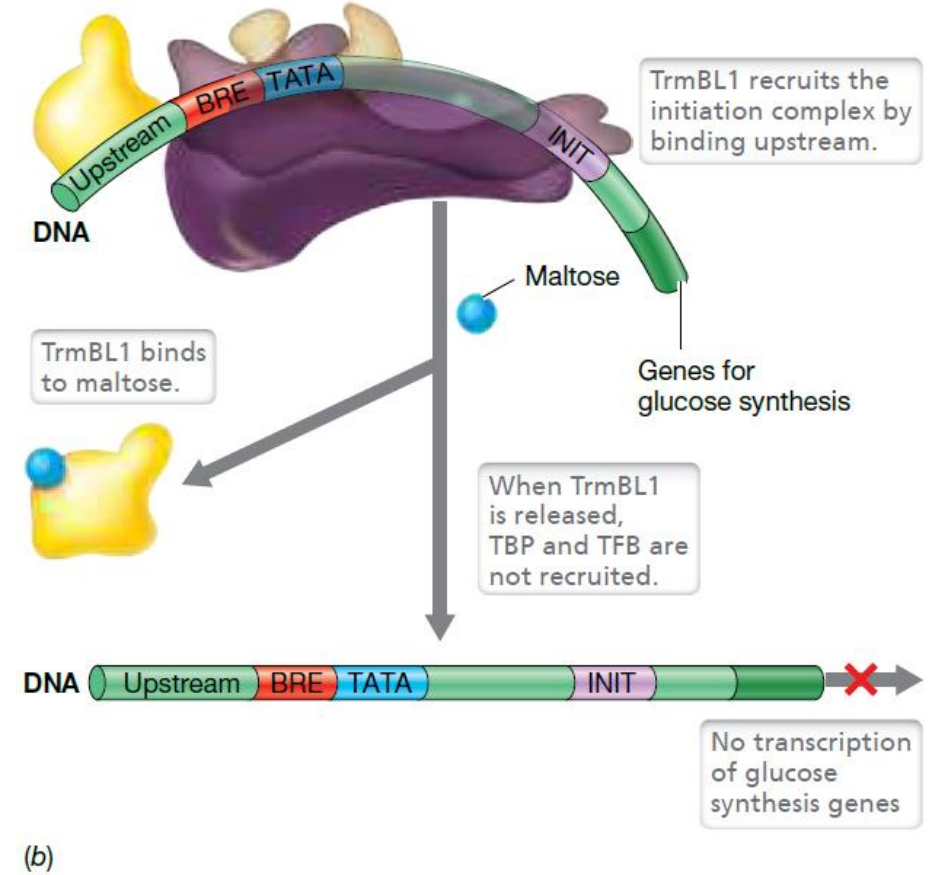
TrmBL1'in Baskılayıcı Olarak Rolü

- TrmBL1, malto-dekstrin ve maltoz/trehaloz alım genlerinin BRE/TATA bölgelerinin hemen aşağısındaki özel bir DNA dizisine bağlanır.
- Bu bağlanma RNA polimerazın promotöre erişmesini engelleyerek gen ifadesini durdurur.
- Hücrede maltoz, maltotrioz veya fruktoz bulunursa bu moleküller TrmBL1'e bağlanarak onun DNA'ya tutunmasını engeller.
- TrmBL1 DNA'dan ayrıldığında RNA polimeraz promotöre bağlanabilir ve taşıyıcı genlerin baskılanması ortadan kalkar.



TrmBL1'in Aktivasyon Görevi

- TrmBL1, glukoz senteziyle ilişkili genlerin bulunduğu farklı bir DNA dizisine bağlandığında aktivatör görevi görür.
- Bu bölge, baskılayıcı rolündeki bağlanma bölgesinin aksine, BRE/TATA dizilerinin yukarısında yer alır.
- TrmBL1'in burada bulunması TBP, TFB ve RNA polimerazın bir araya gelmesini kolaylaştırarak transkripsiyonu başlatır.
- Ancak baskılayıcı roldeki gibi, ortamda maltoz, maltotrioz veya fruktoz varsa TrmBL1 DNA'ya bağlanamaz ve aktivasyon gerçekleşmez.



TrmBL1'in Çift Rolünün Enerji Tasarrufu Açısından Mantığı

- Bu çift yönlü kontrol, hücrenin gereksiz enerji harcamasını önlemek için önemli bir mekanizmadır.
- Glukoneogenez yolu enerji açısından maliyetlidir, bu nedenle hücre başka şekerler mevcutken bu yolu aktif tutmaz.
- Alternatif şekerler glikolize katılabildiği için glukoz sentezinin gereksiz yere çalışması engellenmiş olur.
- Böylece TrmBL1, hücrenin enerji kullanımını çevresel koşullara göre optimize eder.

SurR: Hem Aktivatör Hem Baskılayıcı Olan Bir Diğer Archaea Regülatörü

- *P. furiosus* türünde bulunan SurR proteini, bağlandığı bölgenin konumuna göre genleri aktive eder veya baskılar.
- SurR, hücrenin fermantasyondan (H_2 üretimi) sülfür indirgenmesine (H_2S üretimi) geçişini düzenler.
- S^0 bulunmadığında SurR, hidrojenaz sentezi için gerekli genleri aktive eder.
- Aynı zamanda sülfür metabolizmasına katılan genlerin ifadesini baskılar.

SurR'nin S^0 Varlığında Davranışı

- Ortamda elemental kükürt (S^0) bulunduğunda SurR artık DNA'ya bağlanamaz.
- Bu durum bir efektör bağlanmasından değil, SurR içerisindeki sistein kalıntılarının oksidasyonundan kaynaklanır.
- Oksidasyon SurR'yi DNA'dan uzaklaştırır ve sülfür metabolizmasıyla ilgili genlerin ifadesi başlar.
- Aynı anda hidrojenaz genlerinin ifadesi durdurulur, böylece hücre fermantasyon yerine S^0 indirgenmesini kullanır.

Hücrelerin Çevresel Değişimleri Algılaması

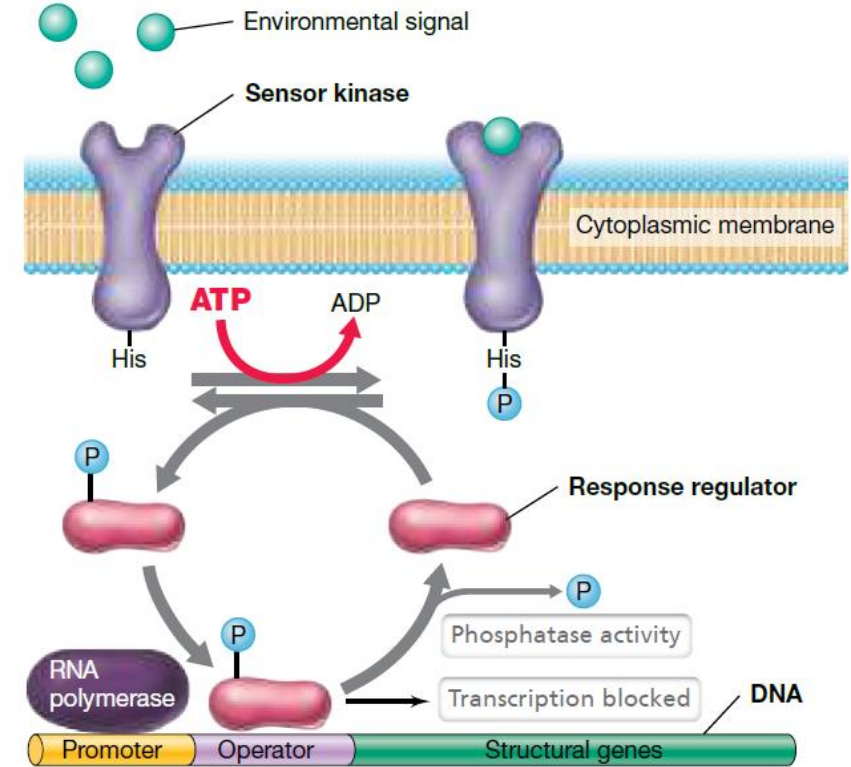
- Prokaryot hücreler sıcaklık, pH, oksijen ve besin miktarı gibi birçok çevresel değişikliği takip ederek metabolizmalarını düzenler.
- Bu düzenleme, çevreden gelen sinyallerin algılanması ve hücre içi hedeflere iletilmesiyle gerçekleşir.
- Bazı sinyaller doğrudan hücre içine giren küçük moleküllerdir ve efektör gibi davranırlar.
- Ancak birçok durumda sinyal önce hücre yüzeyindeki bir algılama sistemince alınır ve içeriye aktarılır; bu sürece sinyal iletimi denir.

İki Bileşenli Düzenleyici Sistemlerin Temeli

- Birçok sinyal iletim sistemi iki bileşenden oluşur ve bu yüzden “iki bileşenli düzenleyici sistem” olarak adlandırılır.
- Bu sistemlerin ilk kısmı genellikle zar üzerinde bulunan bir sensör kinazdır.
- İkinci kısım ise sitoplazmada yer alan bir yanıt düzenleyici proteindir.
- Bu iki protein birlikte çevresel sinyalleri algılar ve uygun gen yanıtlarını oluşturur.

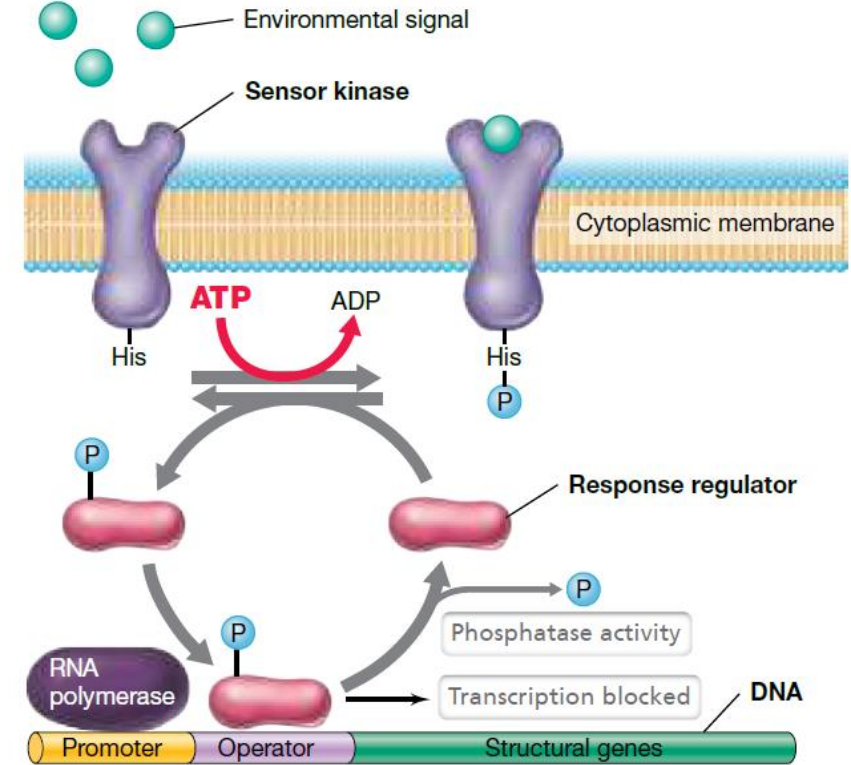
Sensör Kinazların Çalışma Mekanizması

- Kinazlar ATP'den aldıkları fosfatı belirli moleküllere aktarabilen enzimlerdir.
- Sensör kinaz, çevresel sinyali algıladığında kendi üzerindeki histidin kalıntısını fosforile eder; buna otofosforilasyon denir.
- Ardından bu fosfat molekülü yanıt düzenleyicisine aktarılır.
- Yanıt düzenleyicisi genellikle DNA'ya bağlanarak pozitif veya negatif düzenleme yapar; yanda gösterilen örnekte fosforile yanıt düzenleyici baskılayıcı olarak görev yapmaktadır.



İki Bileşenli Sistemlerde Döngünün Resetlenmesi

- Düzenleyici döngünün sağlıklı çalışabilmesi için sistemin kendini sıfırlaması gerekir; bu geri bildirim döngüsü fosfataz ile sağlanır.
- Fosfataz, yanıt düzenleyicisinden fosfatı uzaklaştırarak onu tekrar aktif olmayan hâline döndürür.
- Bu işlem genellikle düzenleyicinin kendisi tarafından yapılır, bazı durumlarda ayrı bir protein gerekir.
- Fosforilasyon durduğunda fosfataz yavaş ama sürekli çalışarak sistemi yeni bir çevresel sinyale hazır hale getirir.



İki Bileşenli Sistemlere Genel Bakış

- İki bileşenli sistemler, pek çok bakteride çok sayıda genin düzenlenmesinde rol oynar.
- Bu sistemler Archaea'da ve yüksek organizmaların paraziti olan bazı bakterilerde ya yoktur ya da son derece nadirdir.

E. coli'de İki Bileşenli Sistemlerin Çeşitliliği

- *E. coli*'de yaklaşık 50 farklı iki bileşenli sistem bulunur ve bazıları aşağıdaki tabloda listelenmiştir.
- Çevredeki ozmolarite, dış zar porin proteinleri olan OmpC ve OmpF'in düzeylerini kontrol eder.
- OmpC ve OmpF, gram-negatif bakterilerin dış zarından metabolit geçişini sağlayan porinlerdir.

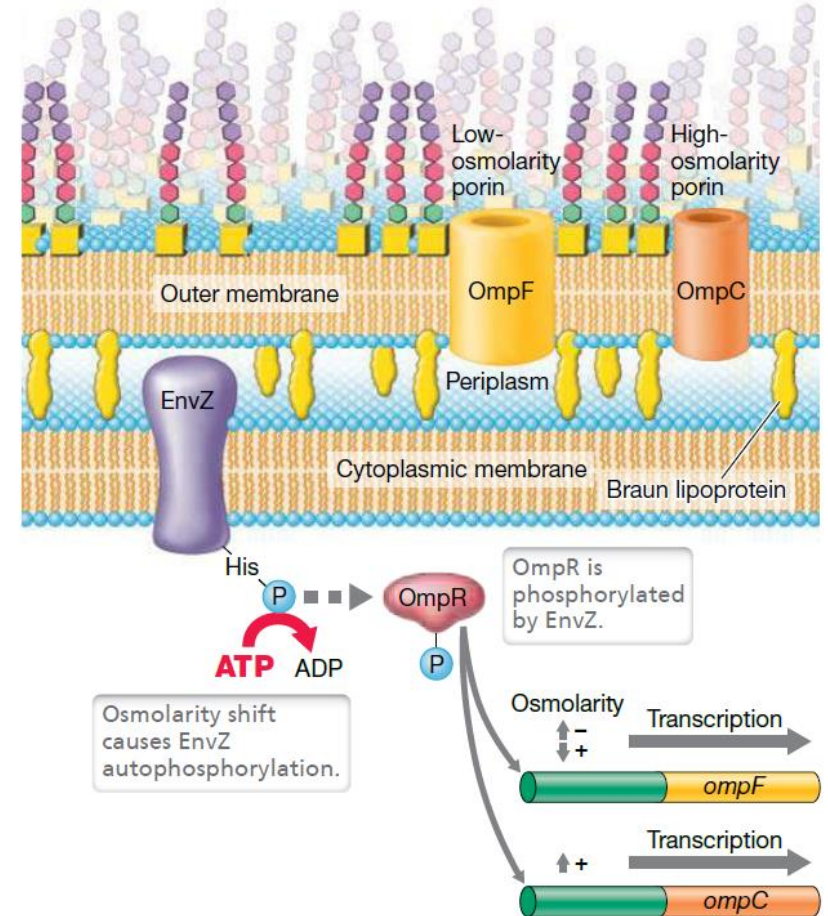
Examples of two-component systems that regulate transcription in <i>Escherichia coli</i>				
System	Environmental signal	Sensor kinase	Response regulator	Primary activity of response regulator ^a
Arc system	Oxygen	ArcB	ArcA	Repressor/activator
Nitrate and nitrite respiration (Nar)	Nitrate and nitrite	NarX	NarL	Activator/repressor
		NarQ	NarP	Activator/repressor
Nitrogen utilization (Ntr)	Shortage of organic nitrogen	NRII (= GlnL)	NRI (= GlnG)	Activator of promoters requiring RpoN/ σ^{54}
Pho regulon	Inorganic phosphate	PhoR	PhoB	Activator/repressor
Porin regulation	Osmotic pressure	EnvZ	OmpR	Activator/repressor

^aNote that many response regulator proteins act as both activators and repressors depending on the genes being regulated. Although ArcA can function as either an activator or a repressor, it functions as a repressor on most operons that it regulates.



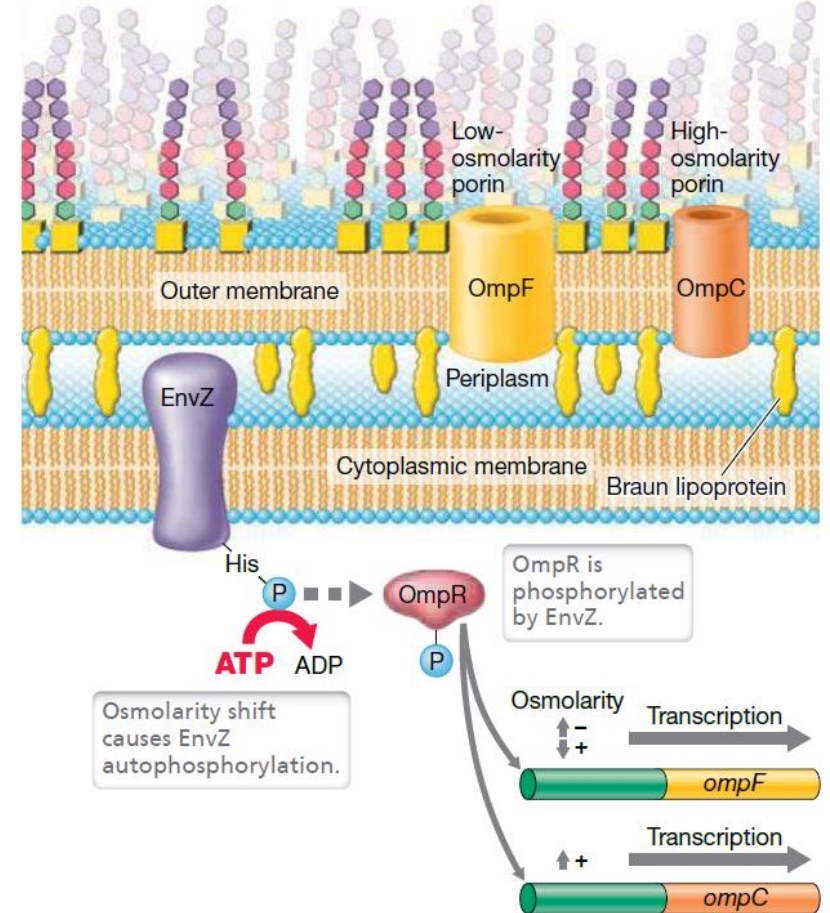
Ozmolariteye Bağlı Porin Değişimi

- Ozmotik basınç düşük olduğunda, daha geniş bir pora sahip olan OmpF sentezi artar.
- Ozmotik basınç yüksek olduğunda ise daha dar bir pora sahip OmpC daha çok üretilir.
- Bu düzenleme, hücrenin dış ortamdaki değişimlere hızlı ve kontrollü adaptasyonunu sağlar.



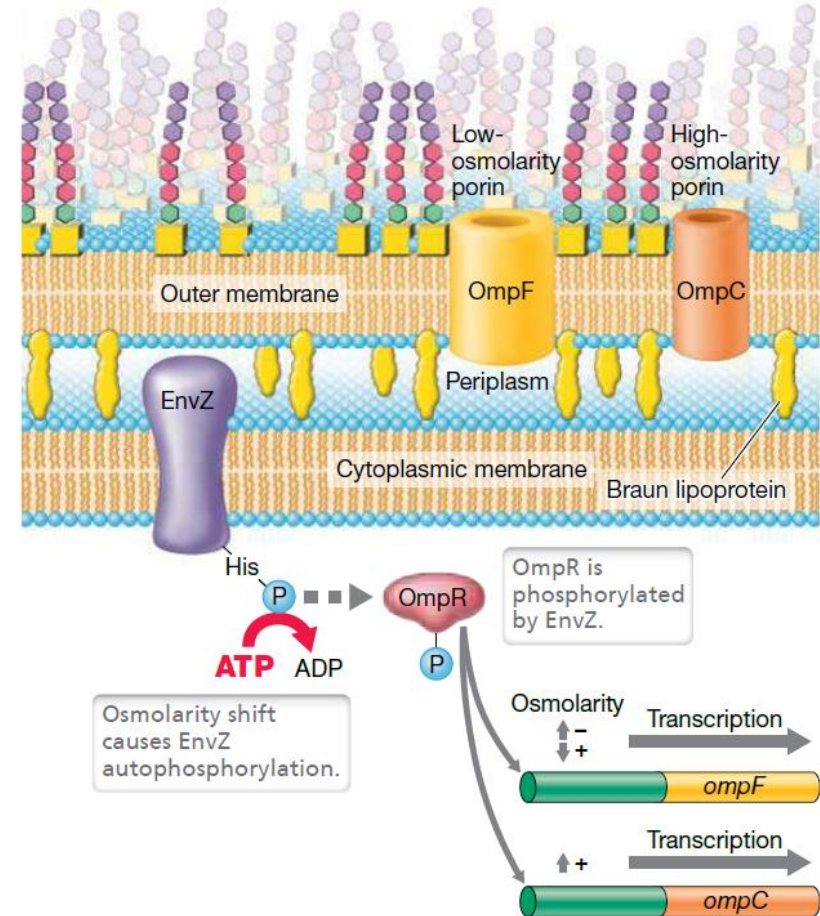
EnvZ/OmpR Sistemi: Sensör ve Düzenleyici

- EnvZ, sitoplazmik membranda yer alan bir histidin kinazdır ve ozmotik basınç değişikliklerini algılar.
- Çevresel değişim olduğunda EnvZ otokatalitik olarak fosforillenir ve fosfat grubunu OmpR'ye aktarır.
- Bu iki bileşenli sistem, hücrenin hızlı yanıt vermesi için sensör ve yanıt düzenleyicisinin koordineli çalışmasına dayanır.



OmpR-P ile Gen İfadesinin Düzenlenmesi

- Düşük ozmotik basınçta fosforillenmiş OmpR (OmpR-P), ompF geninin transkripsiyonunu aktive eder.
- Yüksek ozmotik basınçta OmpR-P, ompF transkripsiyonunu baskılar ve ompC transkripsiyonunu aktive eder.
- ompF ifadesi ayrıca düzenleyici RNA tarafından da kontrol edilir.



Çoklu Düzenleyicili İki Bileşenli Sistemler

- Bazı sinyal iletim sistemleri birden fazla düzenleyici elemana sahiptir ve aktiviteleri karmaşık bir yapıya dönüşebilir.
- Azot asimilasyonunu düzenleyen Ntr sistemi bunun tipik bir örneğidir.
- Bu tür sistemlerde sensör kinazlar, yanıt düzenleyiciler ve ek düzenleyici proteinler çok katmanlı bir kontrol mekanizması oluşturur.

Ntr Sisteminde NRI ve NRII'nin Rolü

- Ntr sisteminin yanıt düzenleyicisi, bir aktivatör olan nitrojen regülatör I (NRI) proteinidir.
- NRI, RNA polimerazın alternatif sigma faktörü $\sigma 54$ (RpoN) tarafından tanınan promotörlerden transkripsiyonu başlatır.
- Sensör kinaz nitrojen regülatör II (NRII) hem kinaz hem fosfataz olarak çalışır ve bu çift fonksiyon sistemin esnekliğini artırır.

PII'nin UMP ile Düzenlenmesi

- NRII'nin aktivitesi, PII adlı bir protein tarafından kontrol edilir.
- PII proteininin UMP eklenmiş veya çıkarılmış hâlde bulunması NRII'nin hangi modda çalışacağını belirler.
- Azot kıtlığı sırasında PII'ye UMP eklenir ve bu kompleks, NRII'nin kinaz aktivitesini destekleyerek NRI'nin fosforillenmesine yol açar.

Nar Sistemi: Birden Fazla Sensör ve Düzenleyici

- Nar sistemi nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) kullanımını düzenleyen bir başka örnektir.
- Bu sistemde iki farklı sensör kinaz ve iki farklı yanıt düzenleyici bulunur.
- Bu yapı, anaerobik solunum için alternatif elektron alıcılarının kullanımını mümkün kılar.

Nar Sistemi ve FNR ile Hiyerarşik Kontrol

- Nar sisteminin düzenlediği tüm genler, ayrıca FNR adlı bir protein tarafından da kontrol edilir.
- FNR, anaerobik solunumla ilişkili genlerin global düzenleyicisidir.
- Bu tür hiyerarşik ve ardışık düzenleme mekanizmaları, hücresel metabolizmanın merkezî sistemlerinde sık görülür.

Ökaryotlarda Benzerlikler ve Farklılıklar

- Bakteriyel iki bileşenli sistemlere benzer mekanizmalar bazı mikrobiyal ökaryotlarda, örneğin *Saccharomyces cerevisiae*'da bulunur.
- Benzer sistemler bitkilerde de mevcuttur.
- Ancak ökaryotik sinyal iletimi çoğunlukla serin, treonin ve tirozin kalıntılarının fosforillenmesine dayanır; bu durum bakteriyel histidin fosforilasyonundan farklıdır.

Kemotaksi: Hücresel Hareketin Düzenlenmesi

- Hareketli bakteriler ve Archaea hücreleri, besin kıtlığı veya toksin birikimi gibi zorluklara yanıt olarak çekicilere yönelip iticilerden uzaklaşabilir.
- Bu davranışa kemotaksi denir ve detayları Bölüm 2’de açıklanmıştı.

Zaman İçinde Değişimi Algılama

- Prokaryot hücreler çok küçük oldukları için kimyasalın uzamsal konsantrasyon farklarını algılayamaz.
- Bunun yerine kimyasalın zaman içindeki değişimini algırlarlar.
- Bu yetenek, hücrelerin ortamda daha uygun koşullara yönelmesini sağlar.

Kemotakside İki Bileşenli Sistem Kullanımı

- Bakterilerde kemotaksi, modifiye edilmiş bir iki bileşenli sistem üzerinden düzenlenir.
- Bu sistem, çekici veya itici maddelerdeki zamansal değişimleri algılar.
- Bu süreçte iki bileşenli sistem, transkripsiyon kontrolü yerine flagellumun yönünü belirleyen mevcut proteinlerin aktivitesini ayarlar.

Kemotaksinin Genel Sinyal Mantığı

- Kemotaksi, hücrenin çekici veya itici maddeleri zaman içinde algılayabilmesini sağlayan çok aşamalı bir protein sinyal yoluna dayanır.
- Hücre zarında bulunan methyl-accepting chemotaxis proteins (MCPs), bu kimyasal sinyalleri algılayan temel proteinlerdir.
- MCP'ler kendileri bir sensör kinaz değildir; sinyali sitoplazmadaki sensör kinazlara aktararak düzenleyici süreci başlatır.
- *E. coli*'deki Tar adlı MCP, aspartat ve maltozu çekici; kobalt ve nikeli itici olarak algılar ve bu sinyali ilgili sitoplazmik proteinlere iletir.

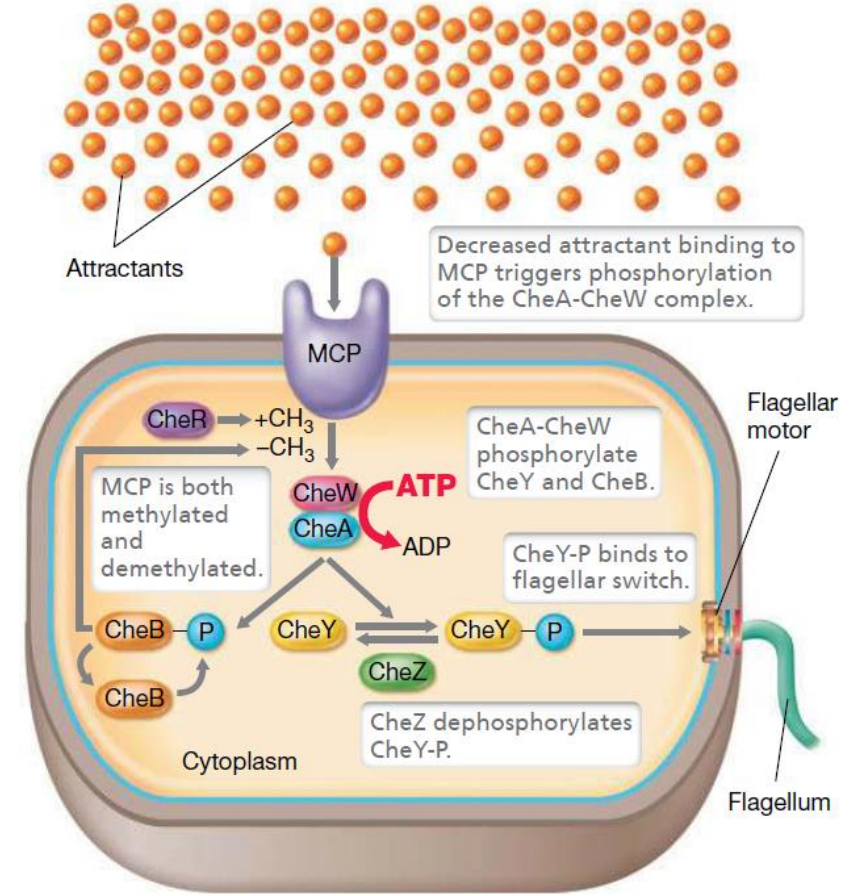


MCP'lerin Sinyal Alma ve Aktarma Biçimi

- MCP'ler çekici veya itici maddeyi doğrudan ya da periplazmik bağlanma proteinleri aracılığıyla algılar.
- Bu bağlanma olayı, sitoplazmik proteinlerle etkileşimi başlatır ve en sonunda flagellanın dönüş şeklini değiştiren düzenleyici sisteme ulaşır.
- Sinyal algılandıktan sonra olaylar zinciri flagellanın yön değiştirerek hücre hareketi düzenlemesine yol açar.
- Böylece hücre, çevresindeki kimyasal gradyanları izleyip uygun yönde hareket eder.

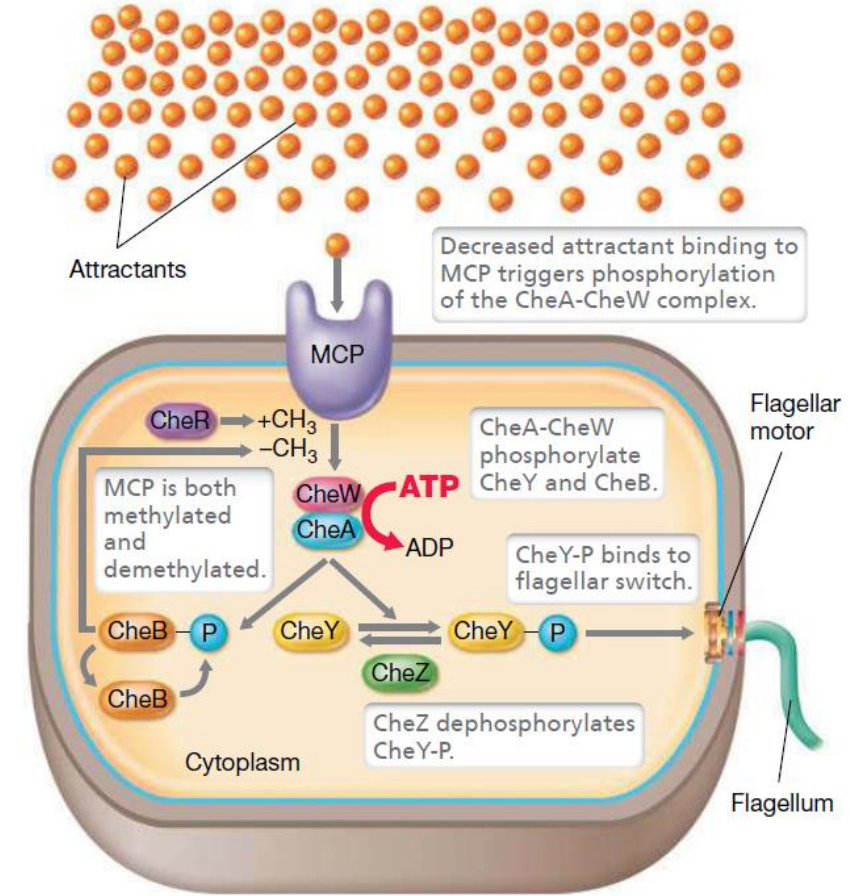
Kemoreseptör Kümesi ve CheA–CheW Etkileşimi

- *E. coli*'de binlerce MCP bir araya gelerek büyük kemoreseptör kümelerini oluşturur.
- Bu kümeler, sinyal iletiminde kritik rol oynayan sitoplazmik CheA ve CheW proteinleri ile doğrudan temas halindedir.
- CheA, kemotaksi için görev yapan sensör kinazdır ve CheW, MCP değişikliğinin CheA'ya aktarılmasını kolaylaştırır.
- MCP'ye kimyasal bağlandığında reseptörün şekli değişir ve CheA'nın otokatalitik fosforilasyonu başlar.



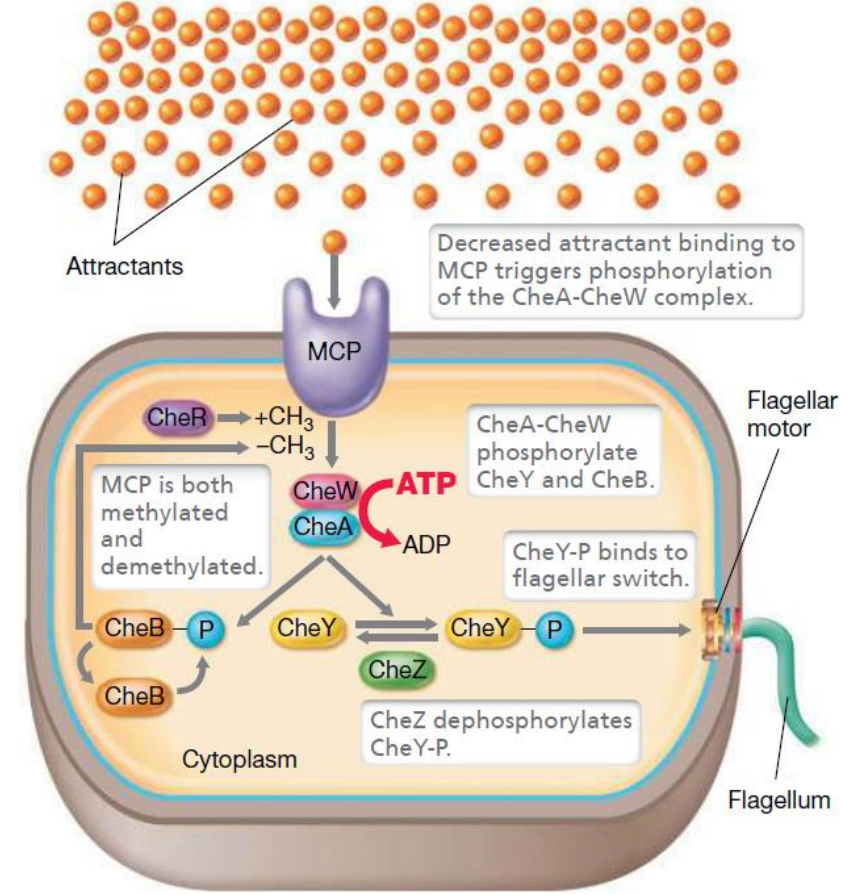
CheA'nın Fosforilasyonu ve Sinyalin Yayılması

- CheA, MCP uyarısı ile CheA-P formuna dönüşür; bu fosforilasyonun hızı çekici ve itici yoğunluğuna bağlı olarak değişir.
- Çekici artışında CheA'nın fosforilasyon hızı azalır, çekici azalması ya da itici artışında fosforilasyon hızlanır.
- CheA-P, fosfat grubunu CheY'ye aktararak CheY-P oluşmasına neden olur; CheY kemotaksinin temel yanıt düzenleyicisidir.
- Ayrıca CheA-P, ileride adaptasyon sürecinde rol oynayacak CheB'yi de fosforile edebilir.



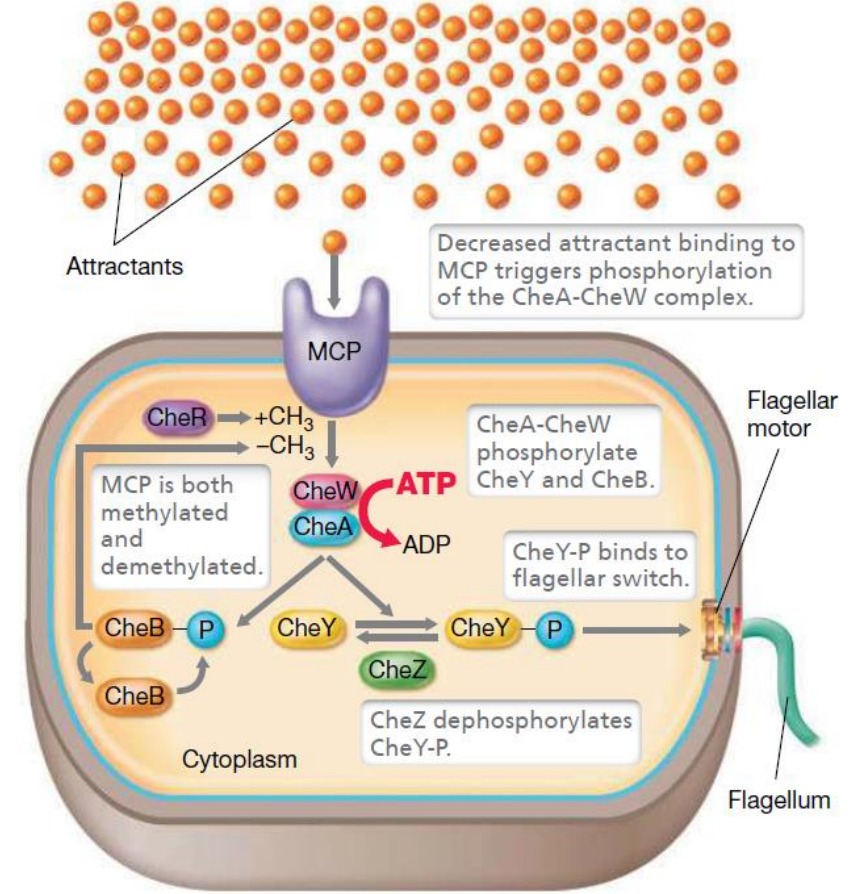
Flagella Dönüş Yönünün Kontrolü

- CheY, flagellanın dönüş yönünü belirleyen merkez proteindir.
- CheY fosforile olduğunda flagella motoruna bağlanır ve flagellanın saat yönünde dönmesine yol açar; hücre bu durumda “tumble” (durup yön değiştirme) hareketi yapar.
- CheY fosforile değilse motora bağlanamaz ve flagella saat yönünün tersine döner; hücre “run” (ileri doğru düzgün yüzme) şeklinde düzgün yüzer.
- CheZ ise CheY’yi defosforile ederek yeniden “run” hareketinin oluşmasını sağlar.



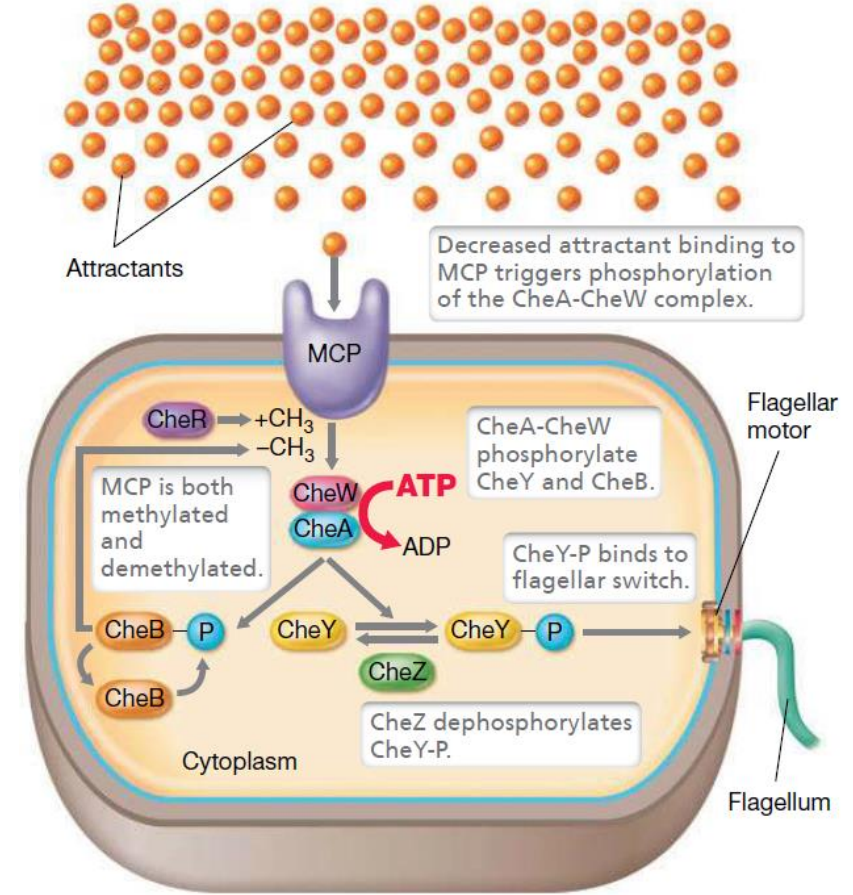
Çekici ve İtici Değişimlerine Hücresel Yanıt

- Çekicinin azalması ya da iticinin artması, CheY-P seviyesini yükselterek hücrede daha fazla “tumble” davranışı oluşturur.
- Çekiciye doğru yüzüldüğünde CheY-P düzeyi düşer ve hücre daha az yön değiştirir, daha uzun süre “run” hareketi yapar.
- Bu dinamik yapı, bakterinin kimyasal gradyanları etkin biçimde takip etmesini sağlar.
- Hücre böylece en uygun yönü seçerek çevresindeki ortamda daha verimli ilerler.



Adaptasyonun Temel Mantığı

- Hücre, aldığı sinyale yanıt verdikten sonra sistemi sıfırlamak zorundadır; bu süreç adaptasyon olarak adlandırılır.
- Adaptasyon sırasında bir geri bildirim döngüsü çalışır ve bu döngü CheB proteini üzerinden gerçekleştirilir.
- MCP'ler metillenebilir ve metilasyon dereceleri reseptörün çekici veya itici maddelere duyarlılığını belirler.
- Bu metilasyon–demetilasyon döngüsü CheR (metilasyon) ve CheB-P (demetilasyon) tarafından düzenlenir.



MCP Metilasyon Düzeyinin Davranışa Etkisi

- Tam metillenmiş MCP'ler çekicilere yanıt vermez ama iticilere daha duyarlıdır; tam tersine, metilsiz MCP'ler çekicilere hassas ama iticilere duyarsızdır.
- Eğer çekici düzeyi yüksek ve sabitse CheA'nın fosforilasyon hızı düşük olur; CheY ve CheB fosforile olmaz ve hücre düzgün şekilde yüzer.
- Bu süreçte MCP metilasyonu artar; metilasyon tam seviyeye ulaştığında reseptör çekiciyi artık algılayamaz ve hücre yeniden “tumble” hareketine döner.
- CheB fosforile olduğunda MCP'leri demetile eder ve sistem bir sonraki sinyale yanıt verecek şekilde yeniden ayarlanır.



Adaptasyonun Dinamik Döngüsü

- Çekici sabit kaldığında hücre sürekli yüzmez; hareket ancak çekicinin daha yüksek seviyelerine doğru tekrar bir artış olduğunda devam eder.
- İtici için ise süreç ters işler; tam metillenmiş MCP'ler artan itici gradyanını güçlü şekilde algılar ve “tumble” sinyalini başlatır.
- Hücre böylece rastgele bir yöne hareket ederken MCP'ler yavaşça demetile edilir ve sistem değişime tekrar duyarlı hale gelir.
- Bu mekanizma sayesinde bakteri ortamındaki küçük kimyasal değişimleri hassas biçimde takip edebilir.

Kemotaksi Dışı Diğer “Taksi” Türleri

- Kemotaksiye ek olarak fototaksi (ışığa yönelim) ve aerotaksi (oksijene yönelim) gibi farklı hareket biçimleri bulunur.
- Bu sistemlerde MCP yerine ışık algılayan protein ya da oksijen düzeyini izleyen redoks proteinleri görev yapar.
- Ancak sinyal, yine Che proteinleri üzerinden flagella kontrol sistemine aktarılır; temel düzenleyici yol ortaktır.
- Böylece farklı çevresel sinyaller hücrenin aynı flagellar kontrol mekanizmasına bağlanarak enerji ve düzenleme açısından tasarruf sağlar.

Hücresel Yoğunluğun Algılanması: Quorum Sensing Nedir?

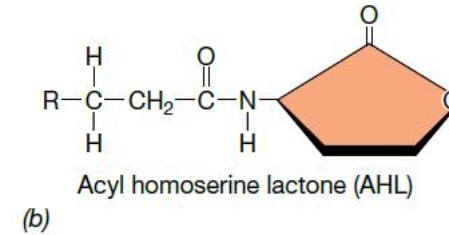
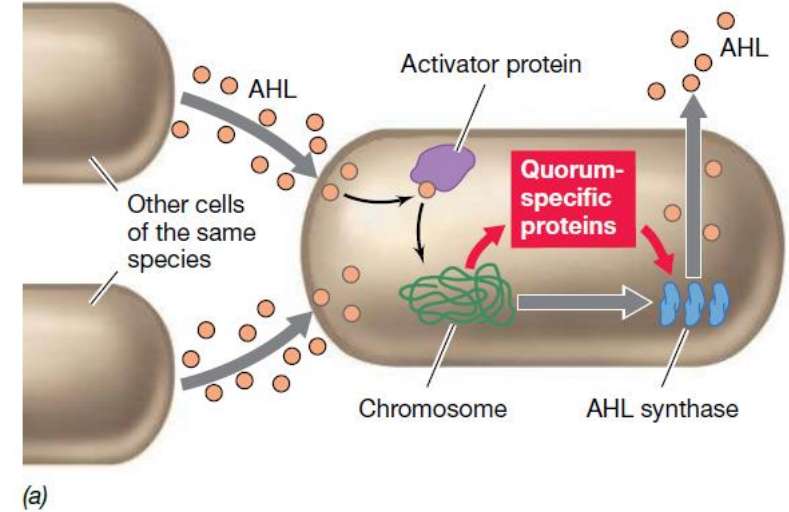
- Bazı bakteriler çevrelerinde kendi türlerinden bulunan diğer hücrelerin varlığına yanıt verir ve bu yanıt çoğu zaman hücre yoğunluğuna bağlı olarak çalışan bir düzenleme sistemi şeklinde ortaya çıkar.
- Bu olguya “quorum sensing” adı verilir ve burada “quorum” kelimesi “yeterli sayıya ulaşma” anlamında kullanılır.
- Quorum sensing mekanizmaları, Bacteria’da yaygın olduğu gibi bazı Archaea türlerinde de tespit edilmiştir.

Neden Quorum Sensing? (Mekanizmanın Genel Amacı)

- Quorum sensing, hücre popülasyon yoğunluğunun algılanmasını sağlayan temel bir düzenleme mekanizmasıdır.
- Birçok bakteri, belirli bir hücresel yoğunluk sağlanmadan etkili olamayacak aktiviteleri başlatmadan önce yeterli sayıya ulaşıldığından emin olmak için bu sistemi kullanır.
- Örneğin, toksin üreten patojen bakterilerde tek bir hücrenin toksin üretmesi etkisizdir; ancak çok sayıda hücrenin koordineli toksin salınımı hastalık oluşturabilir.

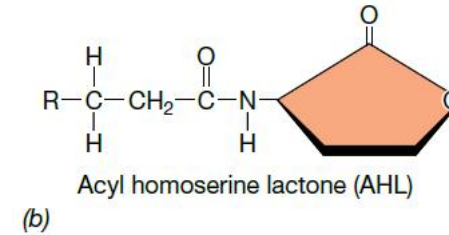
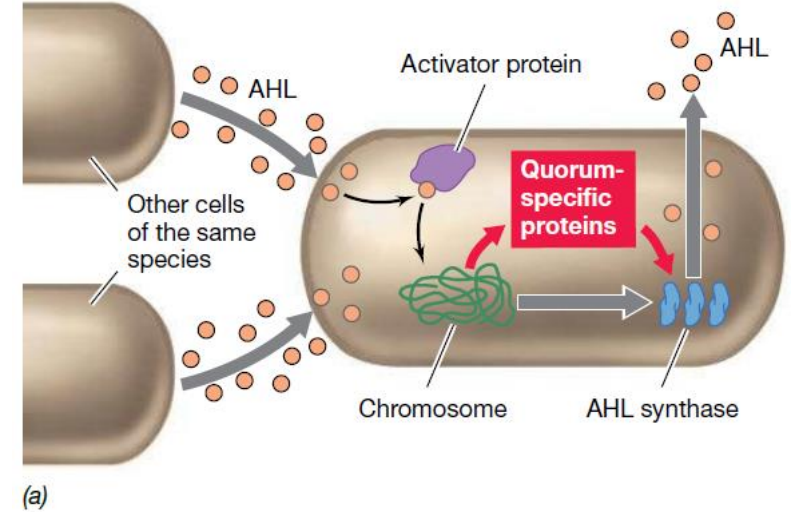
Otomatik Uyarıcı Moleküller: Autoinducer Üretimi

- Quorum sensing kullanan her tür, “autoinducer” adı verilen özgül bir sinyal molekülü sentezler ve bu molekül hücre zarından serbestçe geçebilir.
- Autoinducer, ancak çok sayıda hücrenin aynı molekülü üretmesi durumunda hücre içinde yüksek yoğunluğa ulaşarak sinyal oluşturabilir.
- Sitoplazmada autoinducer, özgül bir transkripsiyon aktivatörüne veya iki bileşenli bir sistemin sensör kinazına bağlanarak belirli genlerin transkripsiyonunu başlatır (Figür a).



Autoinducer Çeşitliliği

- İlk tanımlanan autoinducer sınıfı olan AHL'ler (açıl homoserin laktonlar), özellikle birçok gram-negatif bakteride bulunur (Figür b).
- Gram-negatif bakterilerin çoğu ayrıca AI-2 adı verilen döngüsel furan türevi bir autoinducer üretir.
- Gram-pozitif bakteriler ise genellikle kısa peptit yapılı autoinducer'ları kullanır.



Biyolüminesans ve Quorum Sensing: *Aliivibrio fischeri*

- Quorum sensing olgusu, biyolüminesansın düzenlendiği mekanizmanın anlaşılmasıyla keşfedilmiştir.
- Örneğin deniz bakterisi *Aliivibrio fischeri* ışık yayabilir ve bu ışık “lusiferaz” enzimi tarafından üretilir; bu süreç lux operonları tarafından kontrol edilir.
- Lux operonları, ancak *A. fischeri*'ye özgü AHL molekülü (N-3-oxohexanoyl homoserin lakton) yeterli yoğunluğa ulaştığında aktifleşir; bu AHL, luxI geninin ürünü tarafından sentezlenir.
- *A. fischeri*'nin biyolüminesans kolonileri yandaki figürde gösterilmiştir.



Timothy C. Johnston

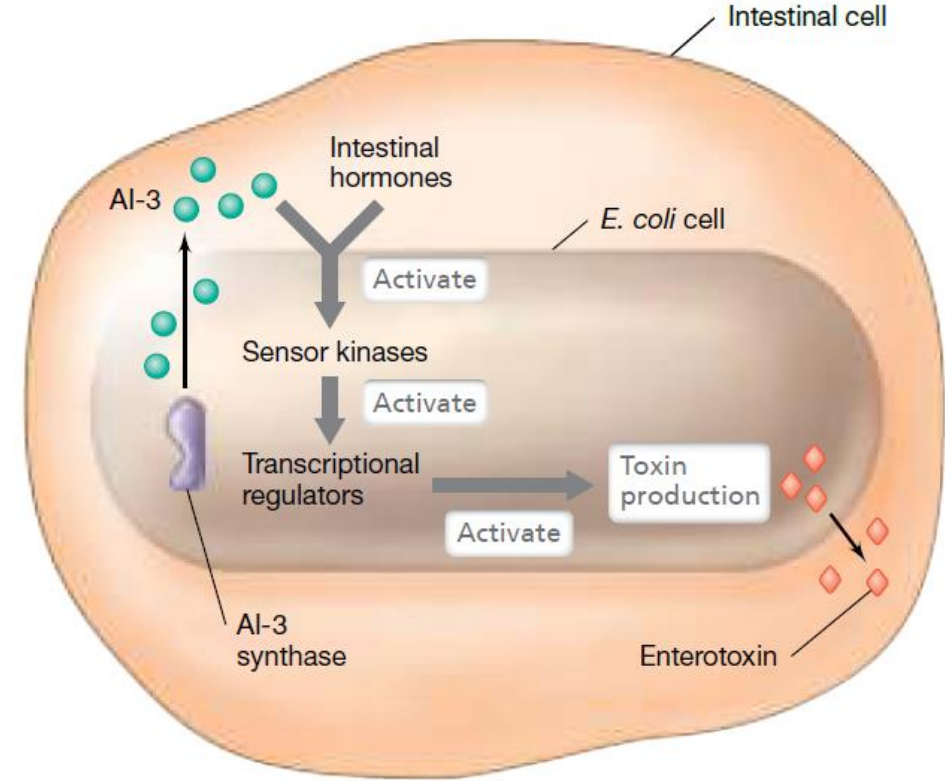
Ökaryotlarda Quorum Sensing

- Biyoluminesans bakterilerde olduğu gibi bazı mikrobiyal ökaryotlarda da quorum sensing gerçekleşir.
- *Saccharomyces cerevisiae* özel aromatik alkoller üretir ve bu autoinducer'lar maya hücrelerinin tek hücreli formdan filamentöz forma geçişini kontrol eder.
- *Candida* türlerinde ise uzun zincirli alkol farnesol, budding (tomurcuklanan) maya formundan hifal (hif) forma geçişi engelleyerek dimorfik yapının düzenlenmesini sağlar.



Virölans Genlerinin Kontrolü: *E. coli* Örneği

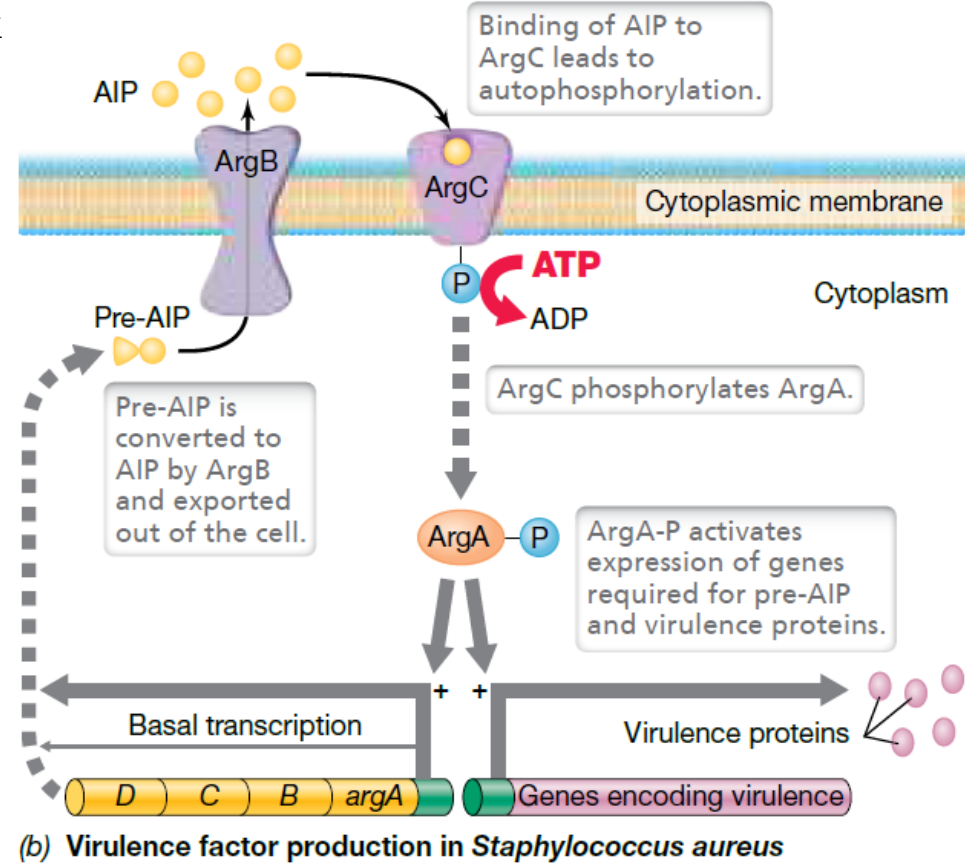
- Bazı patojen bakterilerde virölans genleri quorum sensing ile kontrol edilir; örneğin Shiga toksini üreten *E. coli* O157:H7, AI-3 adlı bir AHL üretir.
- Bağırsakta *E. coli* yoğunluğu arttıkça bakteriler AI-3 üretirken, konak hücreleri de epinefrin ve norepinefrin salgılar.
- Bu üç sinyal molekülü, *E. coli*'nin membranındaki iki sensör kinaza bağlanarak iki transkripsiyon aktivatörünün fosforilasyonu ve aktivasyonunu sağlar.
- Aktive olan bu proteinler, hareketliliği sağlayan genleri, toksin salgılayan genleri ve bağırsak mukozasında lezyon oluşturan proteinleri kodlayan genleri açığa çıkarır.



(a) Virulence factor production in Shiga toxin-producing *Escherichia coli*

Gram-pozitif Bir Örnek: *Staphylococcus aureus*

- *Staphylococcus aureus*'un patogenezinde konak hücrelerini zedeleyen veya bağışıklık sistemini etkileyen küçük peptitlerin üretimi önemli rol oynar.
- Bu virülans faktörlerini kodlayan genler, AIP adı verilen küçük bir peptit autoinducer'in kontrolündedir; AIP, argD geninin ürünüdür.
- ArgB proteini pre-AIP'yi aktifleştirip dış ortama salgılar; artan hücre yoğunluğuyla birlikte AIP düzeyi yükselir.
- Membrana bağlı sensör kinaz ArgC, AIP'ye bağlanınca otofosforilasyon gerçekleşir ve fosfat ArgA'ya aktarılır; ArgA-P ise argABCD genlerinin transkripsiyonunu ve çeşitli virülans proteinlerinin üretimini artırır.



Quorum Sensing'in Engellenmesi

- Bazı ökaryotlar bakteriyel quorum sensing'i hedef alan moleküller üretir ve bunların çoğu halojen içeren furanon türevleridir.
- Bu bileşikler, AHL veya AI-2 yapısını taklit ederek quorum sensing'e dayalı bakteriyel davranışları bozar.
- Bu nedenle quorum sensing bozucuları, bakteri biyofilmlerinin dağılmasını ve virülans genlerinin baskılanmasını hedefleyen potansiyel ilaç adayları olarak görülmektedir.

Stringent (Sıkı) Yanıt

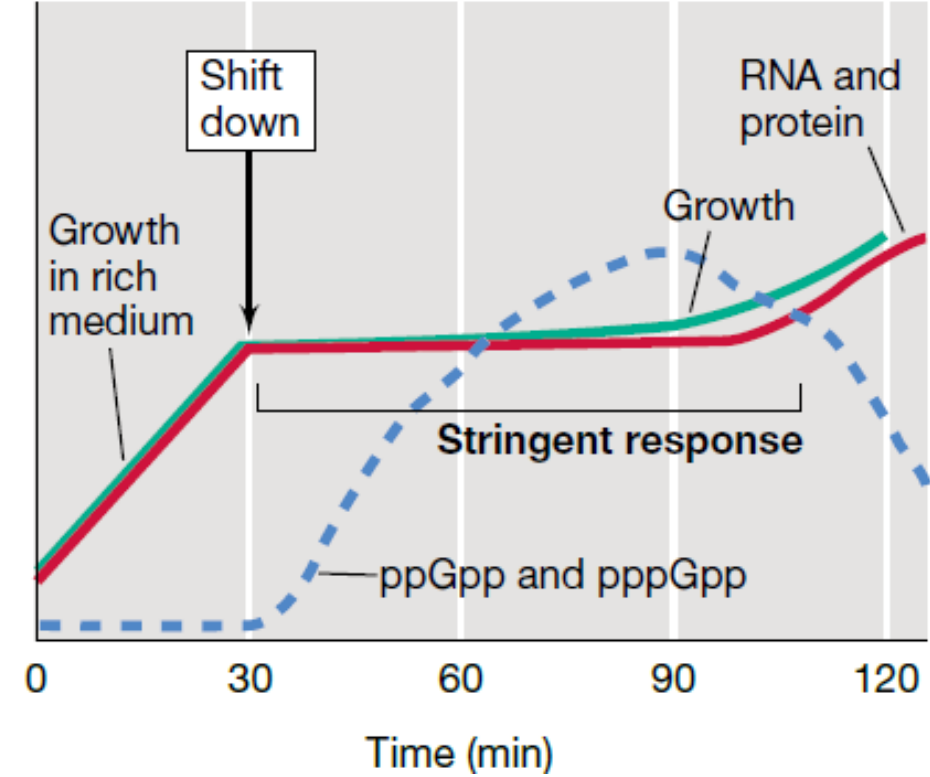
- Stringent (sıkı) yanıt, bakterilerin besin kıtlığı, çevresel stresler ve antibiyotiklere maruz kalma gibi durumlarda kullandığı evrensel bir düzenleyici mekanizma olarak tanımlanır.
- Bu yanıtın tetiklenmesi, makromolekül sentezinin durmasına ve hücrenin hayatta kalmasını artıran stres adaptasyon yollarının aktive olmasına yol açar.
- Mekanizmanın büyük bölümü *E. coli* kullanılarak çözülmüştür ve ilk olarak amino asit açlığı bağlamında incelenmiştir.

Stringent (Sıkı) Yanıtın Mekanizması

- Doğadaki mikroorganizmalar hızla değişen besin düzeyleriyle karşılaşabilir; bu durum laboratuvarlarda “shift down” veya “shift up” deneyleriyle kolaylıkla modellenabilir.
- Özellikle amino asit veya enerji yetersizliği, gen ekspresyonunu yeniden düzenleyen güçlü tetikleyicilerdir.

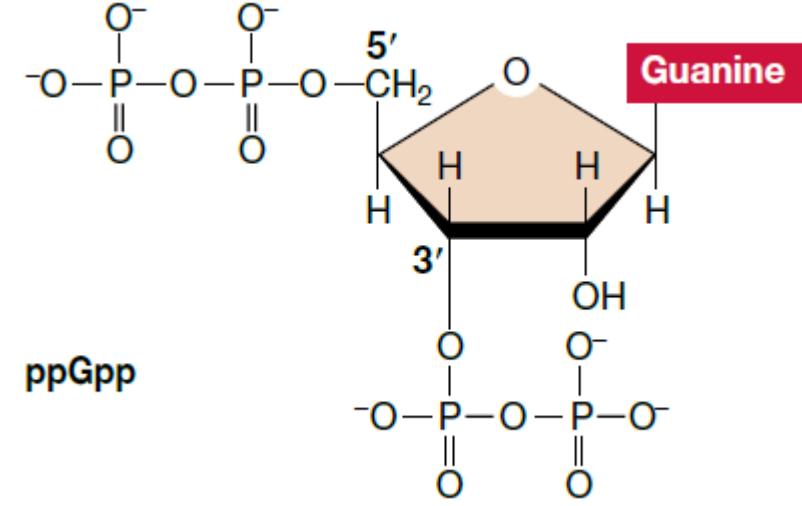
Amino Asit Kısıtlanması ile Ortaya Çıkan Değişiklikler

- Zengin bir besiyerinden tek karbon kaynaklı tanımlı bir ortama geçildiğinde, rRNA ve tRNA sentezi neredeyse anında durur ve yeni ribozom üretimi gerçekleşmez.
- Protein ve DNA sentezi azalırken, yeni amino asitlerin biyosentezi aktive olur.
- Bir süre sonra rRNA sentezi yeniden başlar ancak hücrenin yavaşlayan büyüme hızına uygun yeni bir seviyede devam eder.
- Bu düzenleme, katabolit baskılanması gibi bir global kontrol mekanizması olan stringent (sıkı) yanıtı oluşturur.



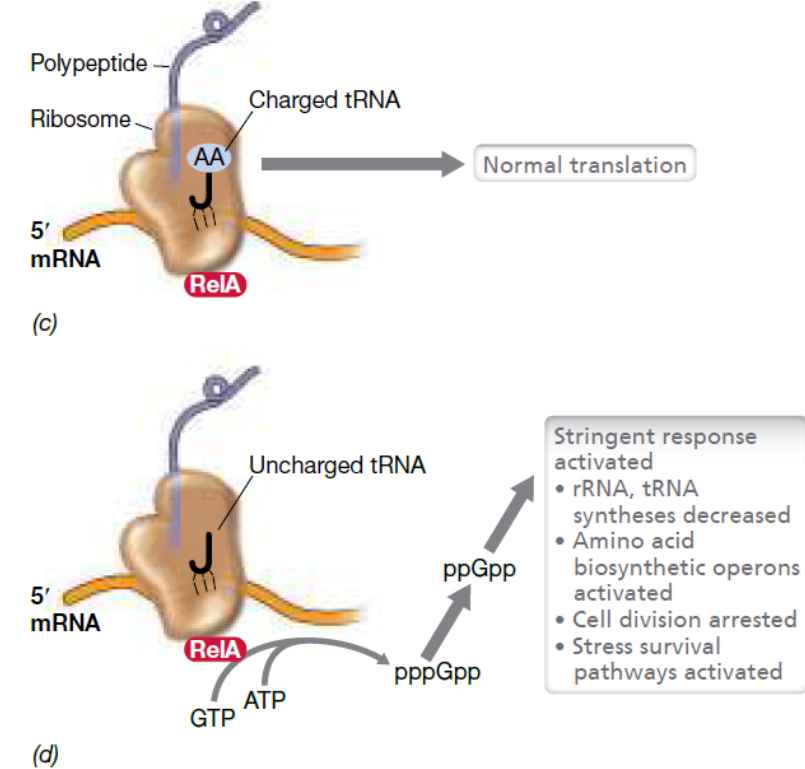
Alarmonlar: (p)ppGpp'in Rolü

- Stringent (sıkı) yanıt, ppGpp ve (p)ppGpp adlı iki nükleotidin [toplu yazımla (p)ppGpp] hızla birikmesiyle tetiklenir.
- Bu nükleotidler “alarmon” olarak adlandırılır ve amino asit açlığı ile stres koşullarında *E. coli* hücrelerinde hızlıca artar.



RelA'nın Görevi ve Ribozomal Sinyal

- Alarmonlar, ATP'den fosfat ekleyerek (p)ppGpp sentezleyen RelA isimli protein tarafından üretilir.
- RelA, ribozomun 50S alt birimine bağlıdır ve amino asit sınırlandırılmasında ribozomdan gelen sinyalle aktive olur.
- Amino asit açlığında, yüklenmiş tRNA miktarı azalır ve ribozom, yanlışlıkla yüklenmemiş tRNA'yı kabul ederse duraklar; bu olay RelA'nın (p)ppGpp üretimini tetikler (Figür d).
- (p)ppGpp, Gpp proteini tarafından ppGpp'ye dönüştürülerek ağırlıklı ürün ppGpp olur.



(p)ppGpp'in Global Düzenleyici Etkileri

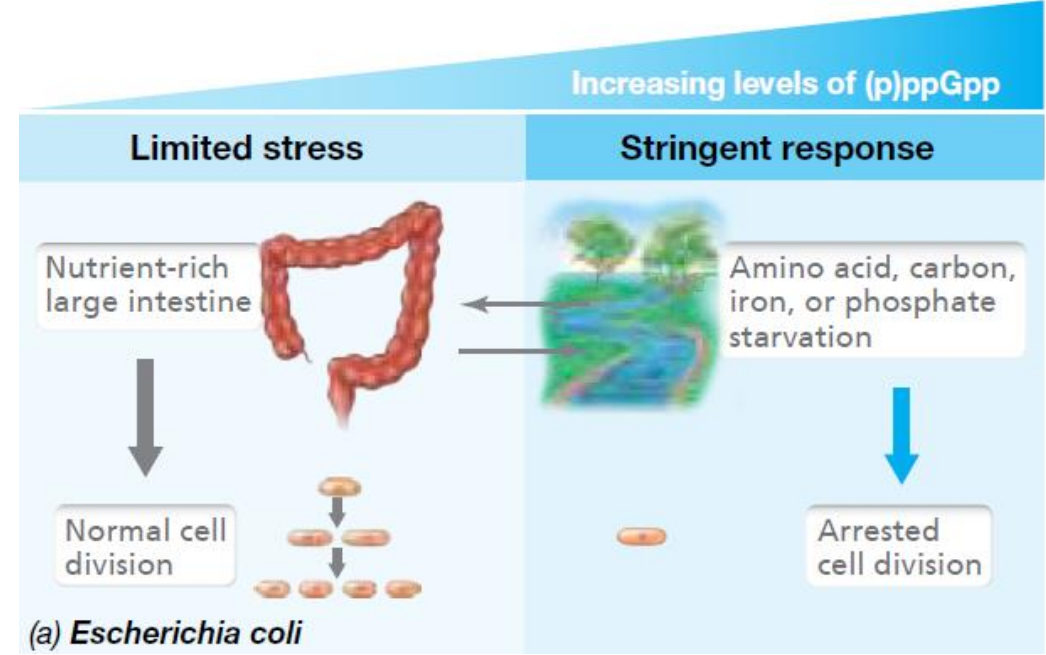
- (p)ppGpp, RNA polimeraza bağlanarak rRNA ve tRNA genlerinin transkripsiyonunu güçlü şekilde baskılar.
- Gram-pozitif bakterilerde alarmonlar, transkripsiyonun başlatıcı ribonükleotidleriyle etkileşerek benzer bir baskılama yapar.
- Hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakterilerde stres yanıt yolları ve bazı amino asitlerin biyosentetik operonları aktive edilir.
- *E. coli*'de ayrıca DNA sentezi, hücre bölünmesi ve zar bileşenlerinin (örneğin membran lipidleri) sentezi yavaşlatılır.

SpoT'un Rolü

- SpoT, (p)ppGpp'yi hem sentezleyebilen hem de parçalayabilen ikinci bir proteindir.
- Çoğu koşulda SpoT, alarmonların parçalanmasından sorumludur ancak bazı streslerde veya besin yetersizliği algılandığında sentez yönünde çalışır.
- Böylece stringent (sıkı) yanıt yalnızca amino asit öncüllerinin eksikliğinden değil, aynı zamanda biyosentez için enerji yetersizliğinden de kaynaklanabilir.

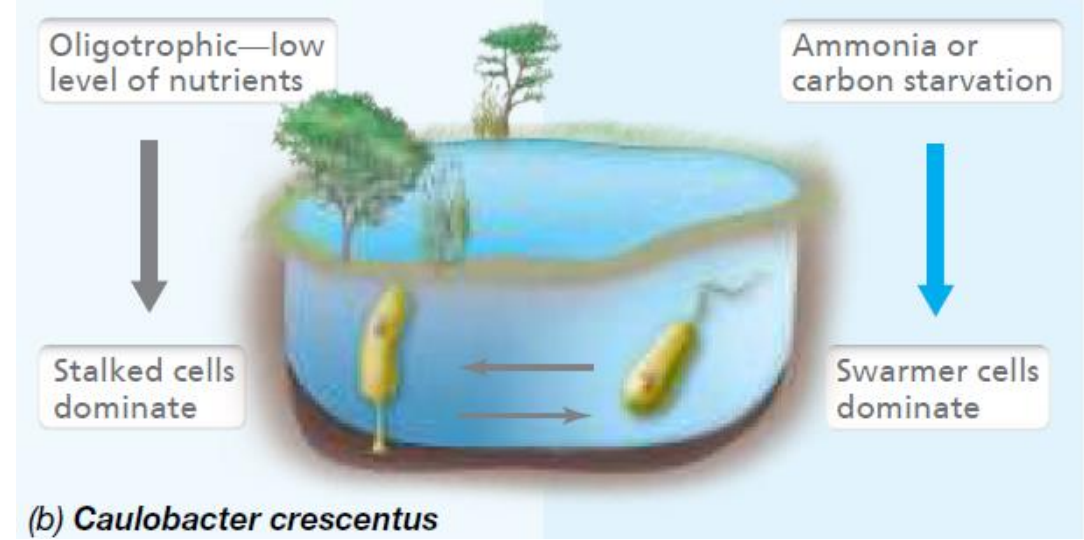
Ekolojik Bağlamda Stringent (Sıkı) Yanıt

- Stringent (sıkı) yanıt, hücrenin metabolik durumunu çevre koşullarıyla uyumlu hâle getiren küresel bir mekanizmadır.
- *E. coli*, bağırsaktan dış ortama çıktığında besin azalmasına bağlı olarak ppGpp sentezini artırır ve stringent (sıkı) yanıt başlar.



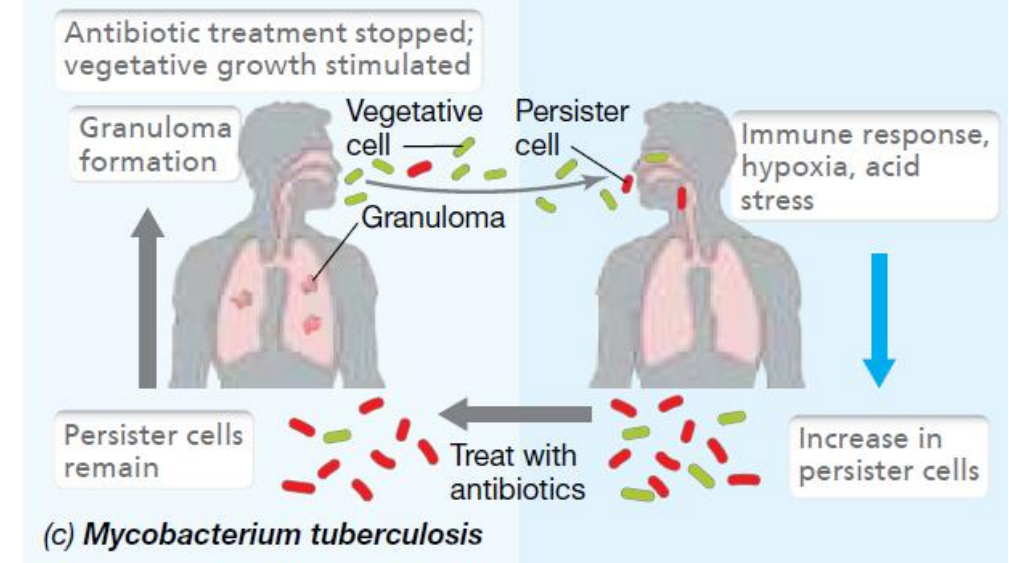
Caulobacter'de Stringent (Sıkı) Yanıt: Farklı Bir Tetikleyici

- Oligotrofik sularda yaşayan *Caulobacter*, amino asit açlığı yerine karbon ve amonyak sınırlanmasıyla stringent (sıkı) yanıtı başlatır.
- *Caulobacter*, saplı (stalked) ve hareketli (swarmer) olmak üzere iki hücre tipi oluşturabilir.
- ppGpp üretimi, swarmer hücre sayısının artmasına yol açar; bu hücreler hareket ederek daha besinli bir ortama ulaşma olasılıklarını artırır.



Mycobacterium tuberculosis ve Kalıcılık (Persistence)

- *Mycobacterium tuberculosis*'te stringent (sıkı) yanıt, hipoksik ve fosfatça sınırlı akciğer ortamında tetiklenir.
- Bu durum, bakterilerin bir kısmının persister (kalıcı) hücrelere dönüşmesine yol açar.
- Persister hücreler antibiyotiklere dirençlidir ve granulomalarda uzun süre canlı kalabilir.
- Tedavi sonrası stres koşulları ortadan kalkınca, persister hücreler yeniden enfeksiyon yapabilen forma dönerek kronik tüberküloza neden olabilir.



Bakterilerde Küresel Düzenleyici Sistemler

- Katabolit baskılanması ve quorum sensing, bakterilerde küresel düzenleyici kontrolün temel örnekleridir.
- *E. coli* ve diğer pek çok Bakteri ile Archaea'da çeşitli küresel kontrol sistemleri bulunur.
- Bu sistemler birden fazla regulonu içeren çok sayıda geni aynı anda düzenler.
- Küresel kontrol ağlarında aktivatörler, baskılayıcılar, sinyal molekülleri, iki bileşenli sistemler, düzenleyici RNA'lar ve alternatif sigma faktörleri görev alır.

Bakterilerde İyi Çalışılmış Üç Küresel Yanıt

- Pho regulonu, ısı şoku yanıtı ve RpoS regulonu bakterilerde en iyi bilinen küresel yanıt örnekleridir.
- Pho regulonu hücrenin fosfat düzeylerine verdiği yanıtı metabolik ve biyosentetik süreçlerle ilişkilendirir.
- Isı şoku yanıtı tüm yaşam alanlarında görülür ve bakterilerde çoğunlukla alternatif sigma faktörleri tarafından kontrol edilir.
- RpoS, stres koşullarına genel bakteri yanıtının ana düzenleyicisidir ve 400'den fazla geni kontrol eder.

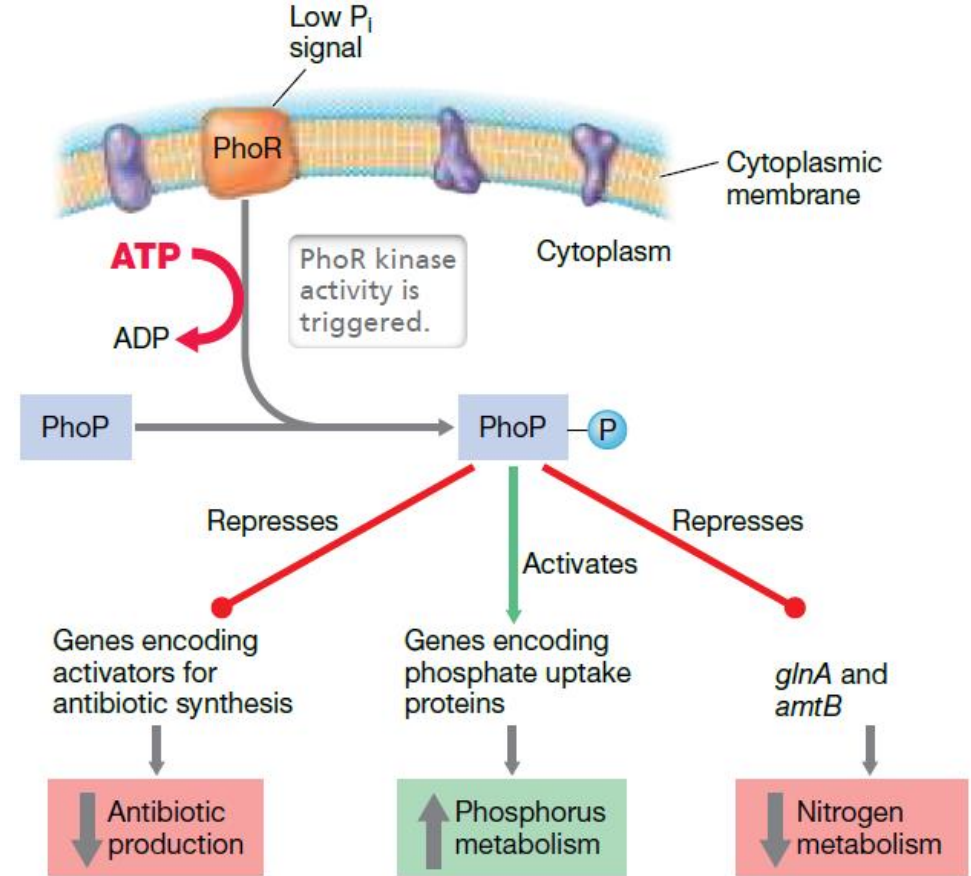


Pho Regulonunun Önemi

- Fosfor, DNA ve RNA sentezi ile enerji üretimi ve hücre içi sinyalleşme için temel bir elementtir.
- Doğada fosfor genellikle inorganik fosfat (P_i , PO_4^{3-}) halinde bulunur ve çoğu ortamda sınırlayıcı besindir.
- Bakteriler P_i sınırlanmasına uyum sağlamak için Pho regulonu gibi özel düzenleyici mekanizmalar geliştirmiştir.
- Pho regulonu, pozitif kontrolle çalışan iki bileşenli bir düzenleme sistemi içerir.

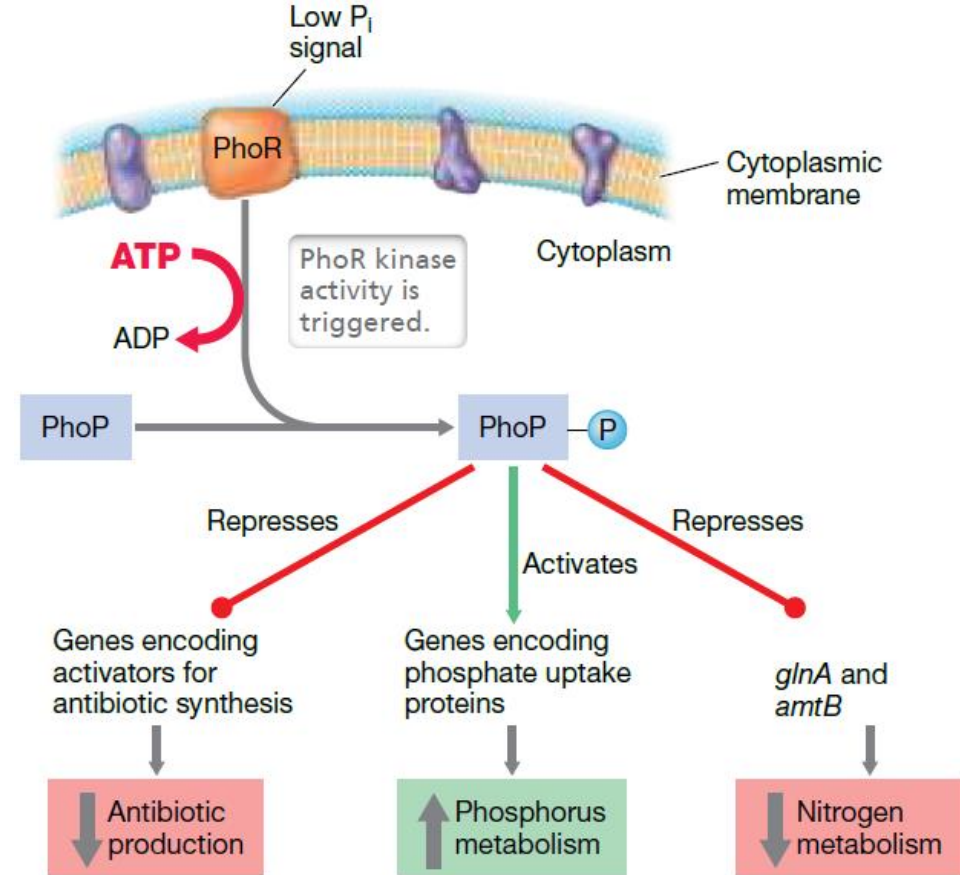
Streptomyces'te PhoR–PhoP Sistemi

- Bu sistem, zara bağlı bir histidin kinaz olan PhoR ve sitoplazmik transkripsiyon düzenleyicisi PhoP'ten oluşur.
- Düşük P_i seviyeleri PhoR'nin aktifleşmesini ve PhoP'nin fosforillenmesini tetikler.
- Fosforillenmiş PhoP (PhoP-P), genoma dağılmış Pho kutularına bağlanarak transkripsiyonun başlamasını sağlar.
- P_i fazlalığında PhoP'nin defosforilasyonu gerçekleşir ve P_i metabolizmasıyla ilişkili genlerin ifadesi azalır.



PhoP-P'nin Aktivasyon ve Baskılama Rolü

- Pho regulonu çoğu bakteride P_i sınırlanmasına yanıt mekanizmasıdır ancak aynı zamanda küresel kontrol örneği olarak kabul edilir.
- PhoP-P, bazı promotörlere sigma faktörü çağırmadan bağlanarak RNA polimerazı engeller ve bağlı genin ifadesini baskılar.
- Bu düzenleyici protein, şaşırtıcı biçimde aktive ettiğinden daha fazla geni baskılar.
- PhoP-P'nin düzenlediği genler arasında *glnA*, *amtB* gibi azot metabolizması ve antibiyotik senteziyle ilişkili genler de bulunur.



Pho Regulonunun Patojenlikteki Rolü

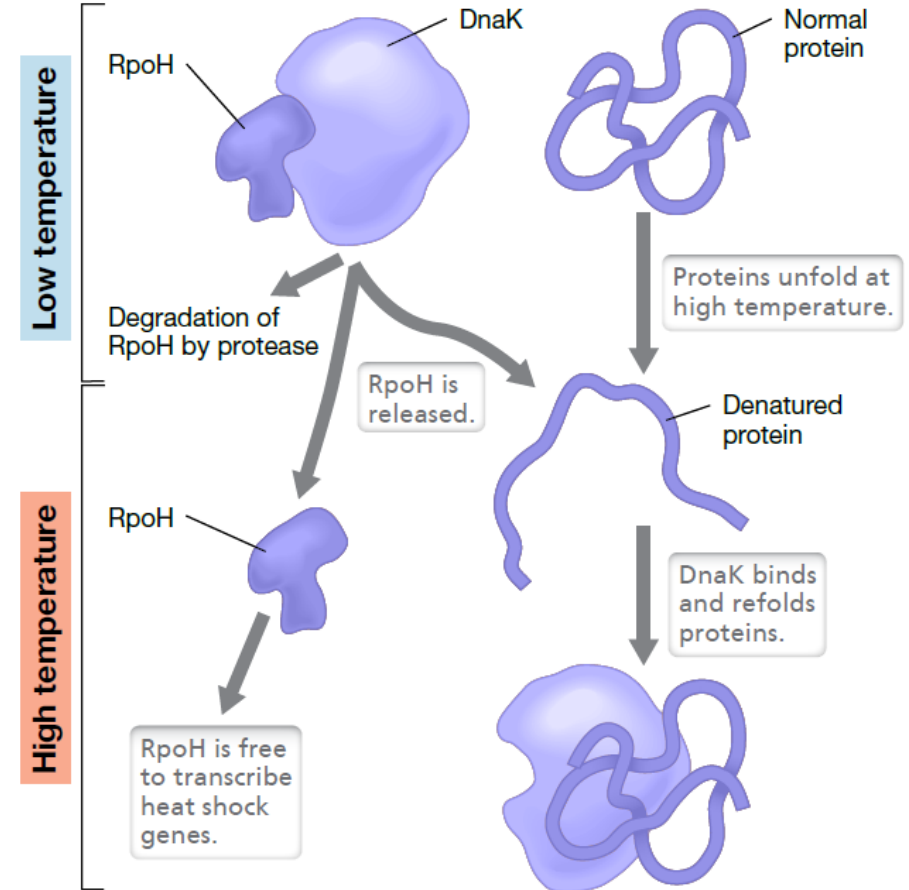
- Patojen bakteriler farklı enfeksiyon bölgelerinde hem Pi sınırlı hem de Pi açısından zengin ortamlarla karşılaşır.
- Bu nedenle Pho regülunu bazı patojenlerde biyofilm oluşumu gibi süreçlerin kontrolünde rol oynamaktadır.
- Pho regülunu ayrıca antimikrobiyal direnç, toksin üretimi ve asit direncinin düzenlenmesi ile ilişkilendirilmiştir.
- Bu özellikler *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas* türleri ve patojen *E. coli* gibi birçok mikroorganizma için önemlidir.

Isı Şoku Yanıtının Temel Mekanizması

- Çoğu protein ılımlı sıcaklık artışlarına dayanıklı olsa da bazıları yüksek sıcaklıklarda kolayca denatüre olur.
- Yanlış katlanmış proteinler proteazlar tarafından tanınır ve hızlı biçimde parçalanır.
- Isı stresi, hücrenin zarar görmüş proteinlerle başa çıkmasını sağlayan ısı şoku proteinlerinin sentezini tetikler.
- Bu proteinler yalnızca ısı ile değil, etanol gibi kimyasallar veya yüksek UV radyasyonu gibi diğer streslerle de uyarılır.

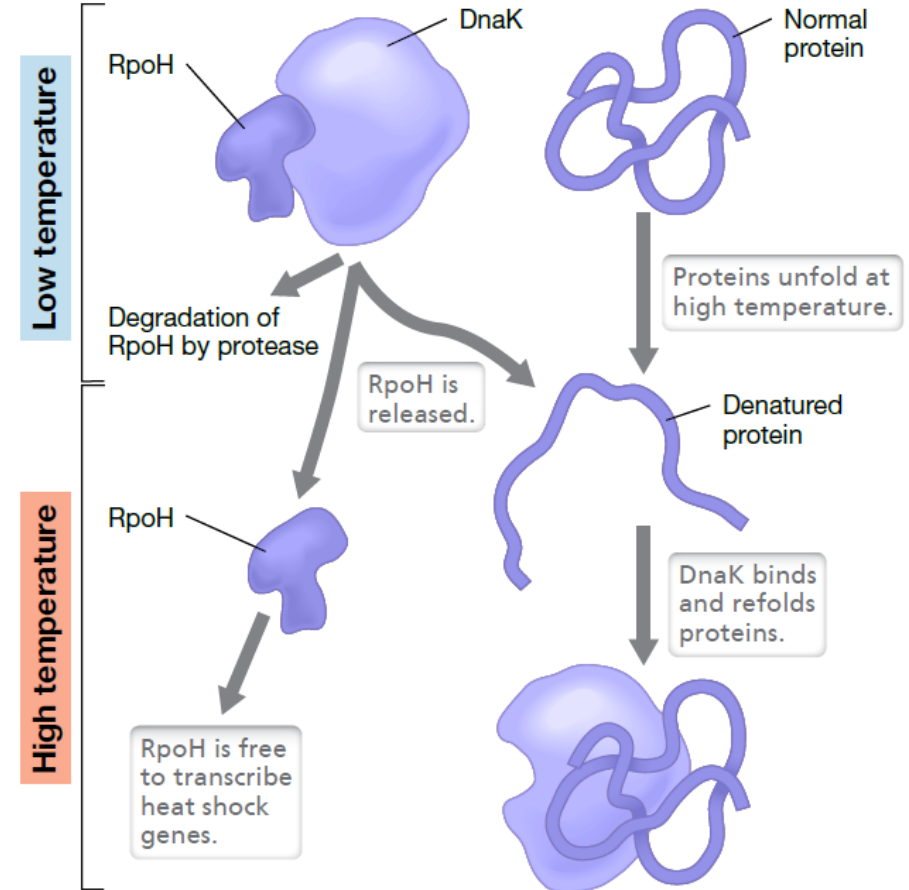
Isı Şoku Proteinlerinin Sınıfları

- Bakteri ve Archaea'da ısı şoku proteinlerinin üç temel sınıfı bulunur: Hsp70, Hsp60 ve Hsp10.
- *E. coli*'de Hsp70 ailesinin temsilcisi DnaK'tır ve yeni sentezlenen proteinlerin bir araya çökmesini önler.
- GroEL ve GroES, Hsp60 ve Hsp10 ailesinin üyeleridir ve yanlış katlanmış proteinlerin doğru şekilde yeniden katlanmasını sağlar.
- Diğer bir ısı şoku protein sınıfı, denatüre olmuş veya geri dönüşümsüz şekilde agregat yapmış proteinleri parçalayan proteazları içerir.



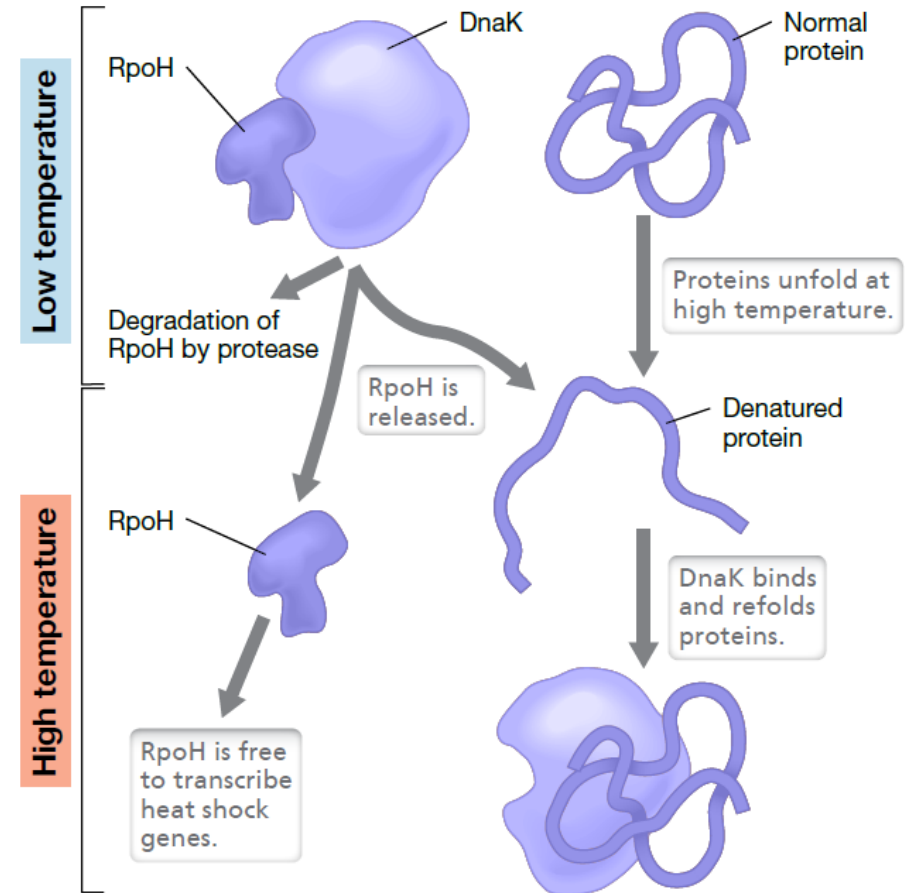
Isı Şoku Yanıtına Genel Bakış

- Bakterilerde ısı şoku yanıtı, alternatif sigma faktörü RpoH ($\sigma 32$) tarafından düzenlenir.
- RpoH, ısı şoku proteinlerinin sentezini kontrol eder ve normalde sentezinden kısa süre sonra hızla parçalanır.
- Hücre ısı şokuna maruz kaldığında RpoH'ın yıkımı baskılanır ve hücredeki miktarı artar.
- RpoH seviyesindeki bu artış, RpoH'ın tanıdığı promotörlere bağlı ısı şoku operonlarının transkripsiyonunu yükseltir.



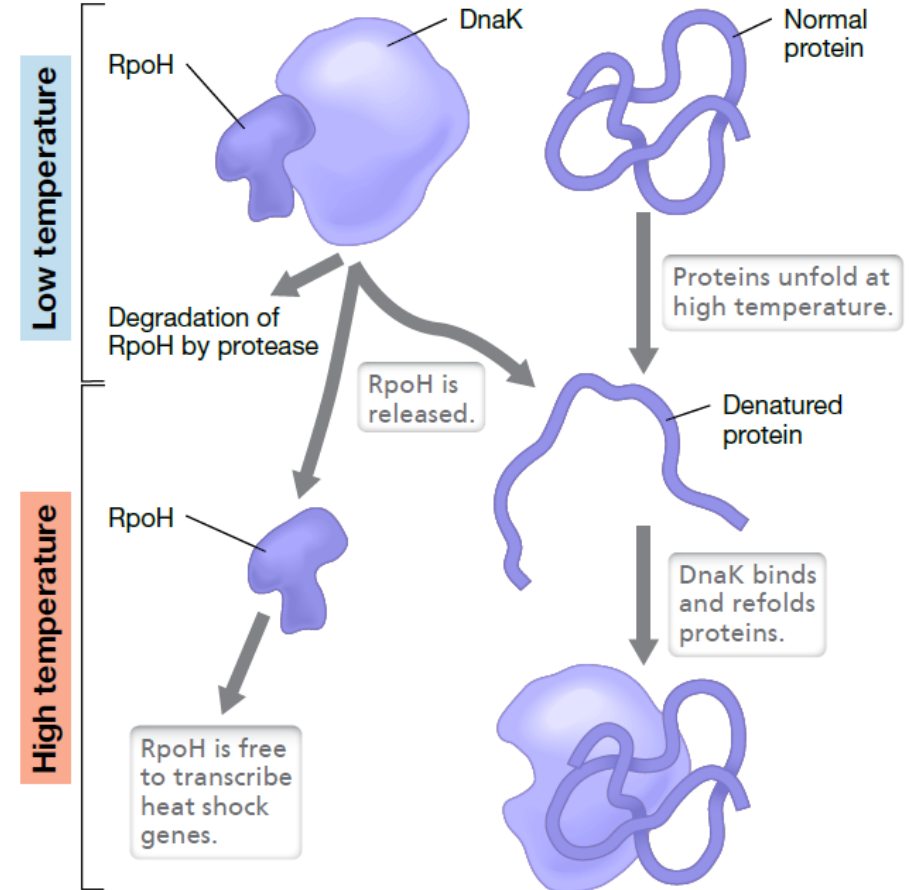
DnaK ve RpoH Etkileşimi: Isı Şokunun Moleküler Mantığı

- RpoH'ın yıkılma hızı, onu inaktive eden serbest DnaK miktarına bağlıdır.
- Normal koşullarda serbest DnaK fazladır ve RpoH seviyesi bu nedenle düşük kalır.
- Isı nedeniyle proteinler açılmaya başladığında, DnaK bunlara bağlandığından RpoH'ı inaktive edecek kadar serbest kalamaz.
- Böylece denatüre protein miktarı arttıkça serbest DnaK azalır, RpoH seviyesi yükselir ve ısı şoku genleri etkinleşir.



Isı Şokunun Sona Ermesi ve Hücresel Zaruret

- Ortam sıcaklığı normale döndüğünde DnaK yeniden RpoH'ı inaktive eder ve ısı şoku proteinlerinin sentezi azalır.
- Hücreler, bu proteinlere duyulan sürekli gereksinim nedeniyle optimal koşullarda bile düşük miktarda ısı şoku proteini bulundurur.
- Stres altında ısı şoku proteinlerinin hızla artması, fazla miktarda oluşan inaktif proteinlerin yeniden katlanması veya parçalanarak amino asit geri kazanımı için kritiktir.
- Aşırı ısı, kimyasal ya da fiziksel streslerde bu mekanizma hücrenin hayatta kalmasında temel rol oynar.



Archaea'larda Isı Şoku Yanıtı

- Archaea türlerinde de, optimum büyüme sıcaklıkları çok yüksek olsa bile, bir ısı şoku yanıtı bulunur.
- Birçok Archaea'da bakteriyel Hsp70'e benzer bir protein yer alır ve yapısal olarak gram-pozitif bakterilerdeki Hsp70'e benzerlik gösterir.
- Hsp70 aynı zamanda ökaryotlarda da bulunan evrensel bir strestir.
- Archaea'larda ayrıca bakterilerdeki stres proteinleriyle ilişkili olmayan farklı ısı şoku proteinleri de yer alır.

Genel Stres Yanıtı: RpoS'in Rolü

- Doğal ortamlarda mikroorganizmalar besin kısıtlı, aşırı pH ve oksidatif stres gibi çok yönlü streslerle karşılaşır.
- Gram-pozitif bazı türler sporlanmaya yönelirken, birçok gram-negatif bakteri genel stres yanıtı ile hücre yaşamını sürdürmeye çalışır.
- Bu yanıt, alternatif sigma faktörü RpoS (σ^S/σ^{38}) tarafından kontrol edilir.
- RpoS, özellikle logaritmik artıştan durağan faza geçişte yüksek düzeyde bulunur ve bu nedenle durağan faz sigma faktörü olarak bilinir.

RpoS'in Düzenlediği Geniş Gen Ağı

- RpoS'in kontrol ettiği gen dizisi 400'den fazla geni kapsar ve bunlar besin kısıtlı, DNA hasarına direnç, biyofilm oluşumu ve ozmotik/oksidatif/asidik stres yanıtlarında görev alır.
- RpoS, çevresel değişimleri algılayıp diğer düzenleyicilere sinyal aktararak geniş ölçekli bir kontrol sağlar.
- Örneğin *E. coli*'de RpoS tarafından tanınan genler arasında, *dinB* (DNA polimeraz IV) ve katalaz genleri bulunur.
- Bu genler, DNA onarımı ve reaktif oksijen türleriyle mücadele gibi temel stres süreçlerinde etkindir.

RpoS'in Çok Katmanlı Kontrolü

- RpoS'i düzenleyen mekanizmalar transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel düzeyde işler.
- ppGpp alarmonu, rpoS transkripsiyonunu artırarak RpoS'i stringent (sıkı) yanıt ile doğrudan bağlantılı hale getirir.
- Streste üretilen bazı küçük RNA'lar (sRNA) rpoS translasyonunu pozitif yönde düzenler.
- Stres olmayan koşullarda RpoS proteini kolayca yıkıma uğrar; bu durum genel stres yanıtının gerçekten ihtiyaç halinde devreye girmesini sağlar.

RNA Tabanlı Düzenlemenin Temelleri

- Şimdiye kadar düzenleyici süreçlerde proteinlerin sinyalleri algıladığı ve DNA'ya bağlandığı örnekler üzerinde durulmuştur.
- Ancak bazı durumlarda, RNA molekülleri de gen ekspresyonunu transkripsiyon veya translasyon düzeyinde düzenleyebilir.
- Proteine çevrilmeyen RNA'lar genel olarak non-coding RNA (ncRNA) olarak adlandırılır.
- ncRNA sınıfına rRNA, tRNA, sinyal tanıma partikülündeki RNA ve özellikle ökaryotlarda mRNA'nın işlenmesinde görev yapan küçük RNA'lar dahildir.



Küçük RNA'lar (sRNA) ve Gen Düzenlemesi

- Küçük RNA'lar (40–400 nükleotid) hem prokaryotlarda hem ökaryotlarda yaygın olarak bulunur ve gen ekspresyonunu düzenler.
- Örneğin *E. coli*'de çok sayıda sRNA, hücre fizyolojisinin farklı yönlerini çevresel ya da hücrel sinyallere yanıt olarak kontrol eder.
- Bu düzenleme, sRNA'nın diğer RNA'lara veya bazı durumlarda küçük moleküllere bağlanmasıyla gerçekleşir.
- Sonuçta, sRNA'lar hücre içi koşullara uygun bir gen ekspresyonu düzeni oluşturur.

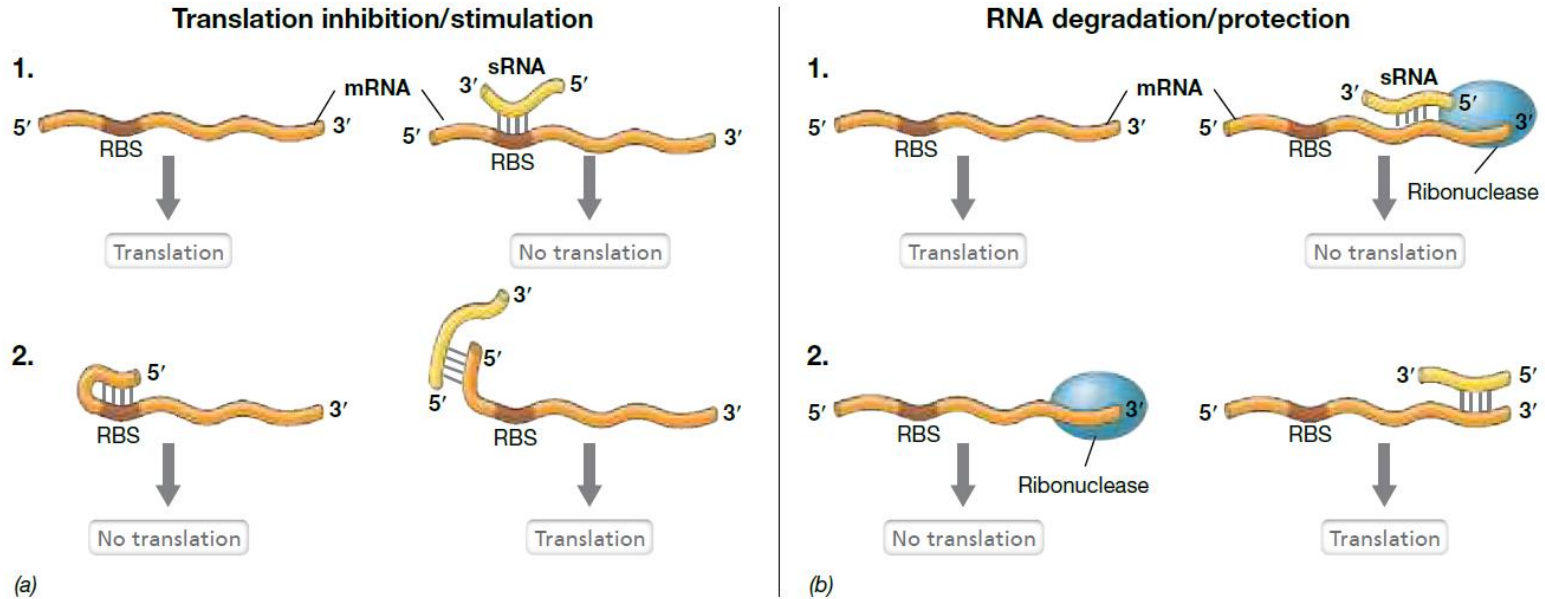


Düzenleyici RNA'lara Genel Bakış

- Küçük RNA'lar (sRNA'lar), çoğunlukla mRNA'larla baz eşleşmesi yaparak etkilerini gösterir.
- Bu bağlanma, hedef mRNA'da ikincil yapı (çift sarmal bölgeler) oluşturarak ribozomun bağlanmasını/ilerlemesini engeller ve translasyon hızını değiştirir.
- Böylece, ilgili mRNA zaten sentezlenmiş olsa bile, protein üretimi ek bir mekanizma ile kontrol altına alınır.

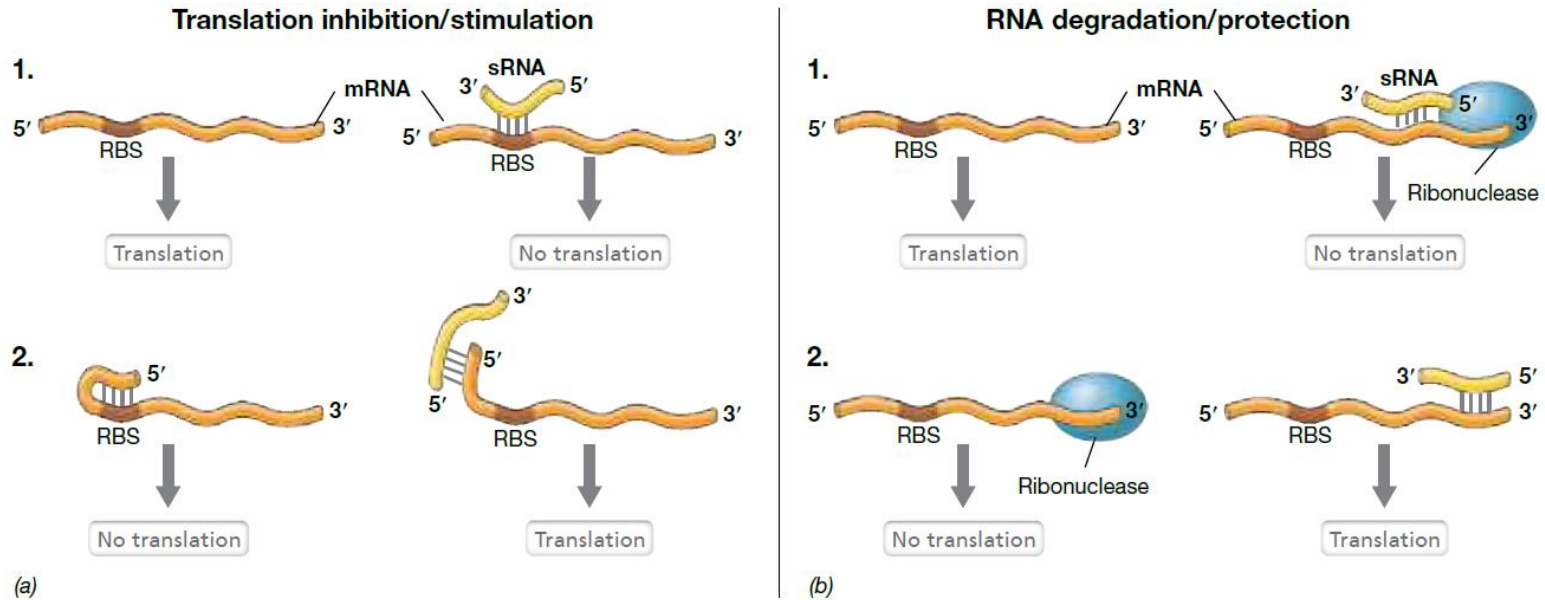
sRNA'ların Etki Mekanizmaları

- sRNA'lar, hedef mRNA'nın translasyonu dört farklı mekanizma ile değiştirir.
- Bazı sRNA'lar, mRNA'nın ikincil yapısını değiştirerek daha önce erişilebilir olan ribozom bağlanma bölgesini (RBS) kapatır ve protein sentezini azaltır.



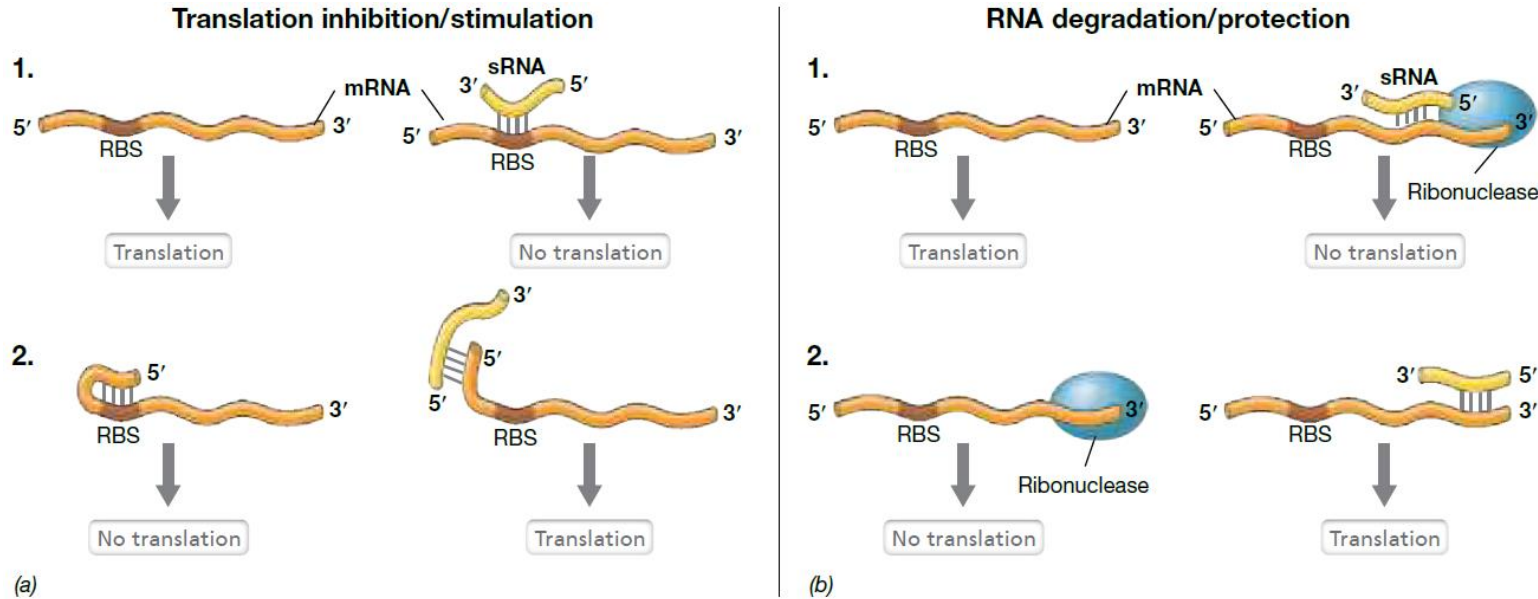
sRNA'ların Etki Mekanizmaları

- Diğer durumlarda ise tersi olur; sRNA, kapalı duran bir RBS'yi açarak ribozomun bağlanmasını kolaylaştırır ve protein üretimini artırır.



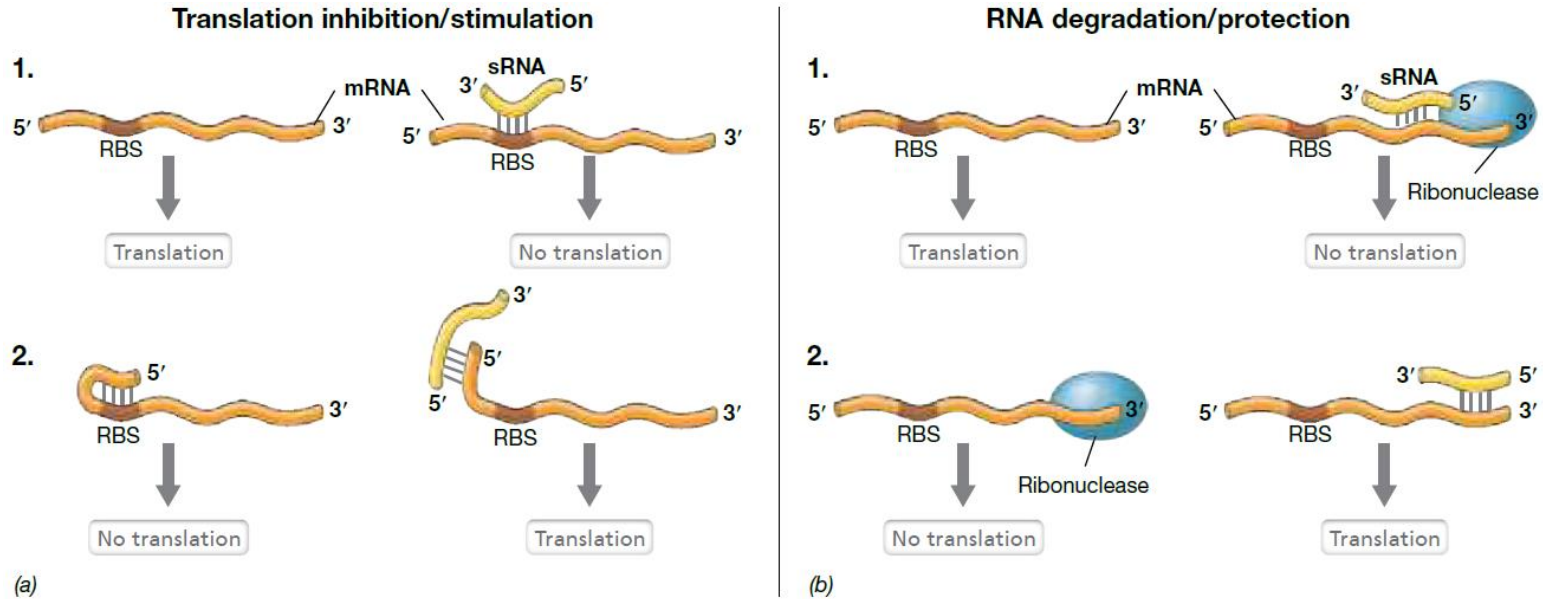
mRNA Kararlılığı Üzerindeki Etkiler

- sRNA–mRNA bağlanması, mRNA'nın ribonükleazlar tarafından yıkılma hızını artırabilir veya azaltabilir.
- Artan yıkım, mRNA'nın transle edilmesini engelleyerek yeni protein sentezini durdurur.



mRNA Kararlılığı Üzerindeki Etkiler

- Buna karşılık, mRNA'nın stabilitesinin artması, hücrede ilgili proteinin daha yüksek seviyelere ulaşmasını sağlar.

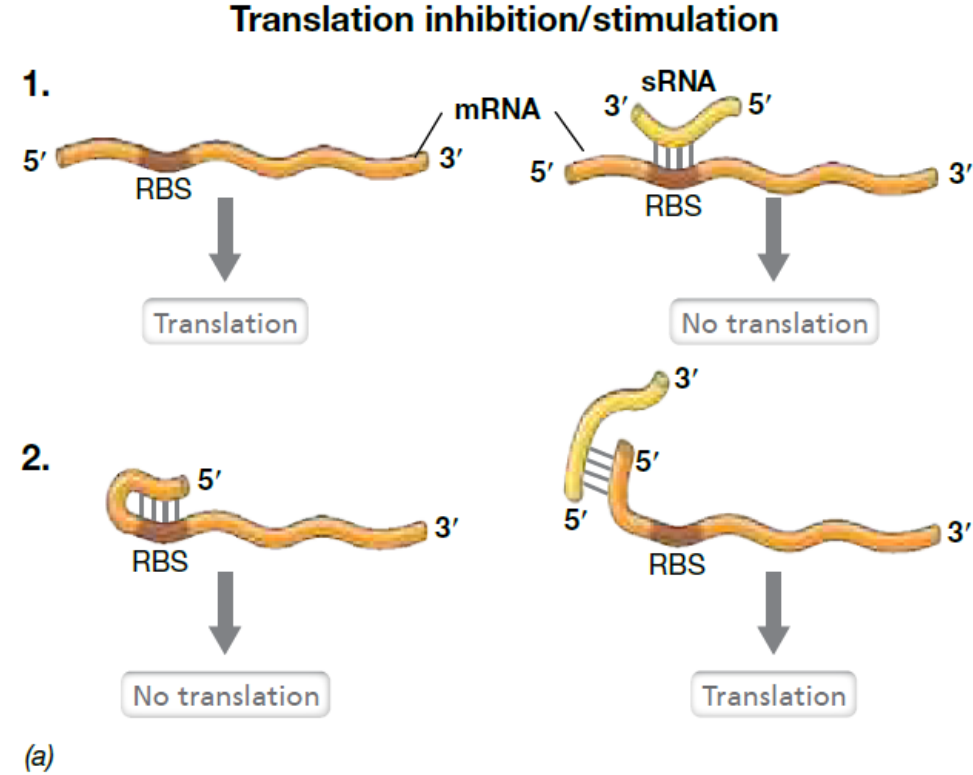


sRNA'ların Hücresel Süreçlerdeki Rolü

- sRNA'lar oksidatif stres, demir stresi, glukoz–fosfat stresi, quorum sensing, biyofilm oluşumu ve durağan faz gibi çok çeşitli süreçleri düzenler.
- Bu sRNA'ların transkripsiyonu, genellikle hedef genlerin kapatılması gereken koşullarda artar.
- Böylece hücre, çevresel değişimlere hızlı ve etkili yanıt verebilir.

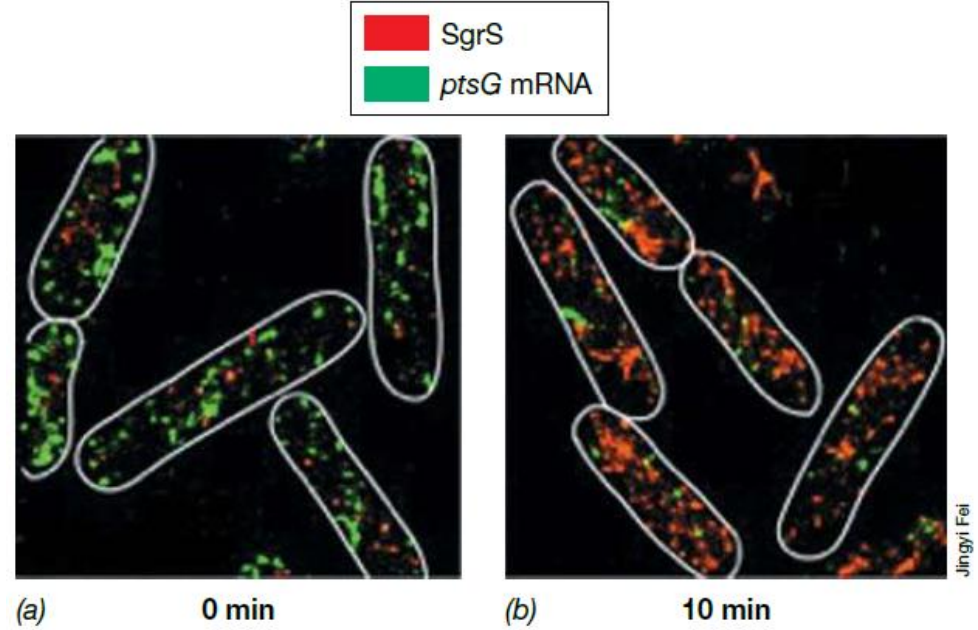
RyhB sRNA ve Demir Sınırlılığına Yanıt

- *E. coli*'de RyhB sRNA, büyüme için demirin sınırlı olduğu koşullarda sentezlenir.
- RyhB, demir metabolizmasında görevli veya demiri kofaktör olarak kullanan proteinleri kodlayan mRNA'ların RBS bölgelerine bağlanarak translasyonu engeller.
- RyhB–mRNA çiftleri ribonükleazlar, özellikle ribonükleaz E tarafından hızla yıkılır ve böylece hücre demir tasarrufu sağlar.



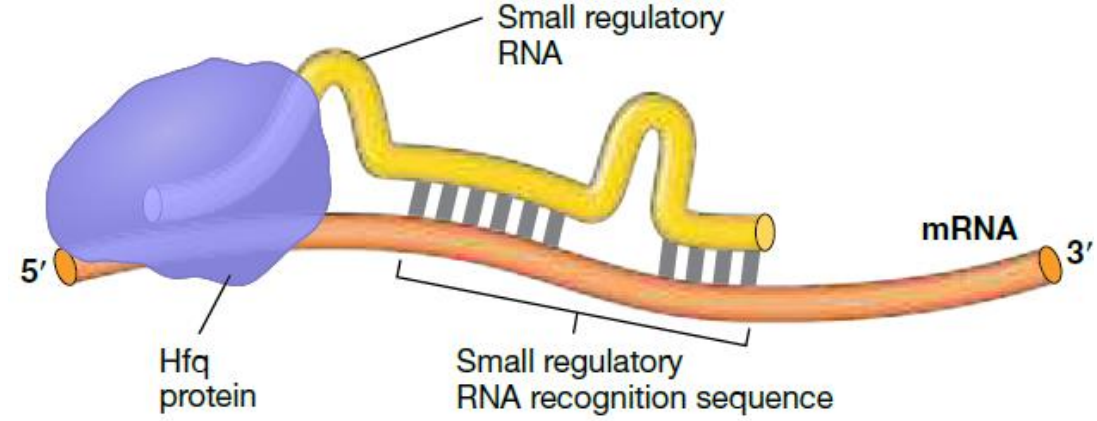
Glukoz–Fosfat Stresinde SgrS sRNA'nın Rolü

- SgrS sRNA, glukoz 6-fosfat birikimini önlemek üzere glukoz–fosfat stresinde ifade edilir.
- SgrS, glukoz taşıyıcısını kodlayan *ptsG* mRNA ile çift sarmal yaparak ribonükleaz E tarafından yıkımı başlatır.
- Böylece glukoz alımı azalır, glukoz 6-fosfat seviyesi düşer ve glikoliz yolu aktif kalabilir.



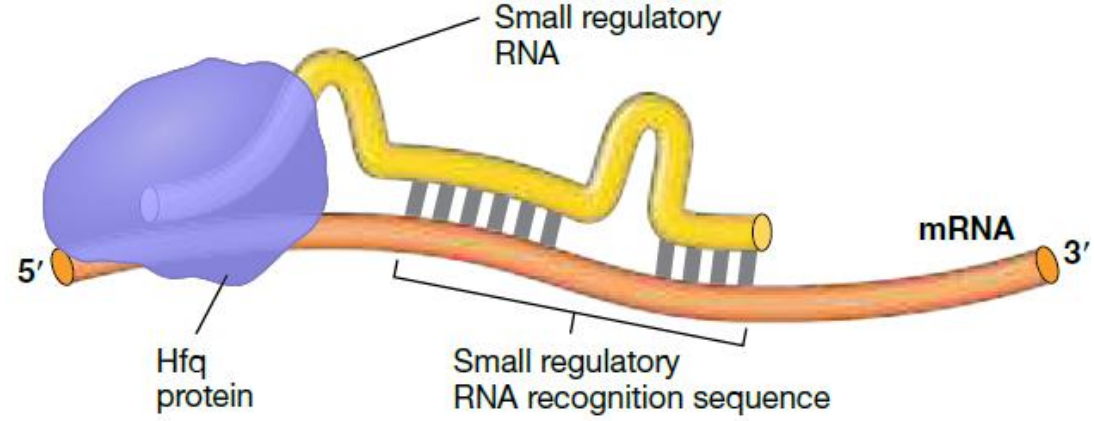
trans-sRNA'ların Özellikleri

- Birçok sRNA, hedef mRNA'larından uzakta bulunan intergenik bölgelerde kodlandığı için *trans*-sRNA olarak adlandırılır.
- Bu sRNA'lar, hedef mRNA ile genellikle yalnızca 5–11 nükleotitlik kısa bir bölgeden eşleşme yapar.
- Sınırlı tamamlayıcılık nedeniyle, bu eşleşmenin gerçekleşebilmesi çoğu zaman Hfq proteininin desteğine bağlıdır.



Hfq ve RNA Şaperonluğu

- Hfq proteini, hem sRNA'ya hem de hedef mRNA'ya bağlanarak ikisinin bir araya gelmesini kolaylaştırır.
- Hfq, yüzeylerinde RNA bağlanma bölgeleri bulunan hekzamerik halkalar oluşturur.
- Bu protein ve benzer işlevli diğerleri, sRNA'ların doğru yapıya ulaşmasına yardımcı oldukları için RNA şaperonları olarak adlandırılır.



sRNA'ların mRNA Dışı Hedefleri

- sRNA'lar her zaman mRNA'yı düzenlemez; bazıları DNA replikasyonunda görev alır.
- *E. coli*'de ColE1 plazmidinin replikasyonu, DNA sentezini başlatan bir sRNA ve bu süreci engelleyen antisens ortağı tarafından kontrol edilir.
- Ayrıca bazı sRNA'lar proteinlere bağlanarak onların aktivitesini modüle eder.

RNA'nın Beklenmedik Roller

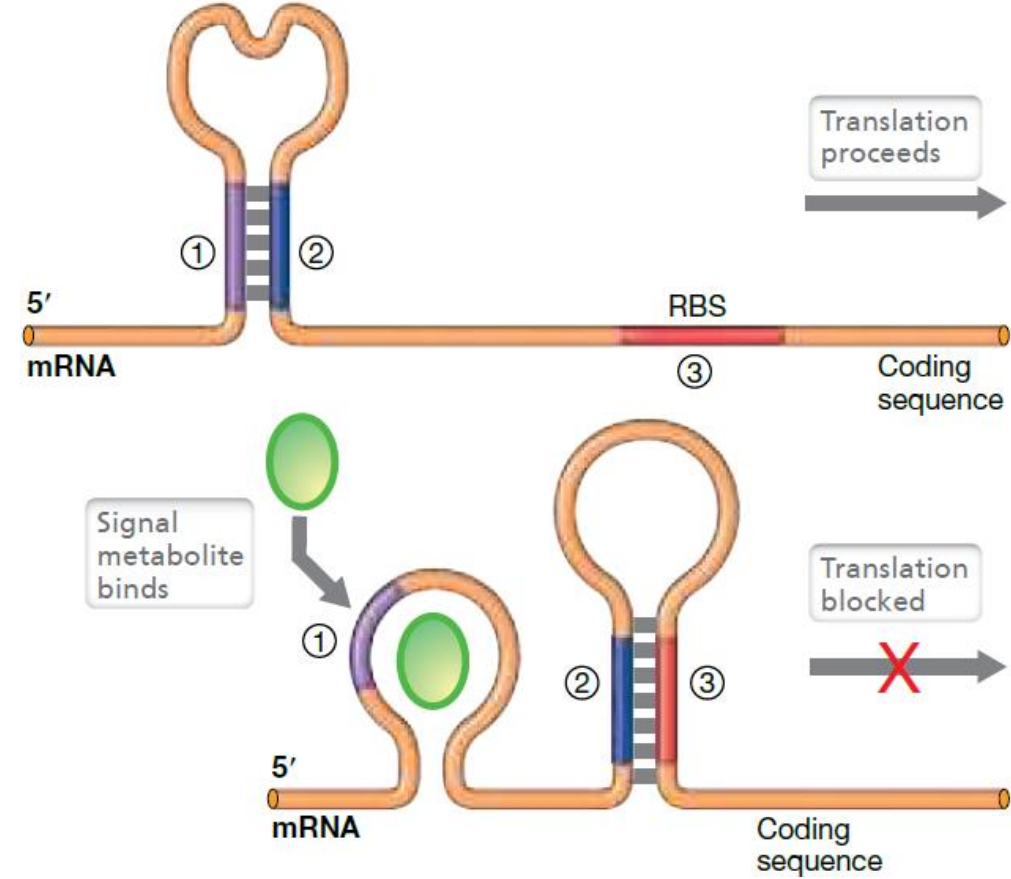
- RNA'nın proteinlere özgü olduğu düşünölen pek çok fonksiyonu yerine getirebildiği anlaşılmaktadır.
- RNA, küçük metabolitler gibi belirli molekülleri özel olarak tanıyıp bağlayabilmektedir.
- Bu bağlanma, baz eşleşmesinden ziyade RNA'nın özgün üç boyutlu yapısına dayanır.
- Katalitik RNA'lar ribozim, küçük metabolit bağlayarak gen ifadesini düzenleyen RNA'lar ise riboswitch olarak adlandırılır.

Riboswitch'lerin Genel Mekanizması

- Klasik negatif kontrol mekanizmasında metabolit bir represör proteine bağlanırken, riboswitch'lerde herhangi bir düzenleyici protein bulunmaz.
- Riboswitch'lerde metabolit doğrudan mRNA'ya bağlanarak kontrol sağlar.
- Bu nedenle çoğu riboswitch, transkripsiyon tamamlandıktan sonra mRNA'nın translasyonunu kontrol eder.
- Yani riboswitch'ler genellikle transkripsiyon sonrası etki gösterir.

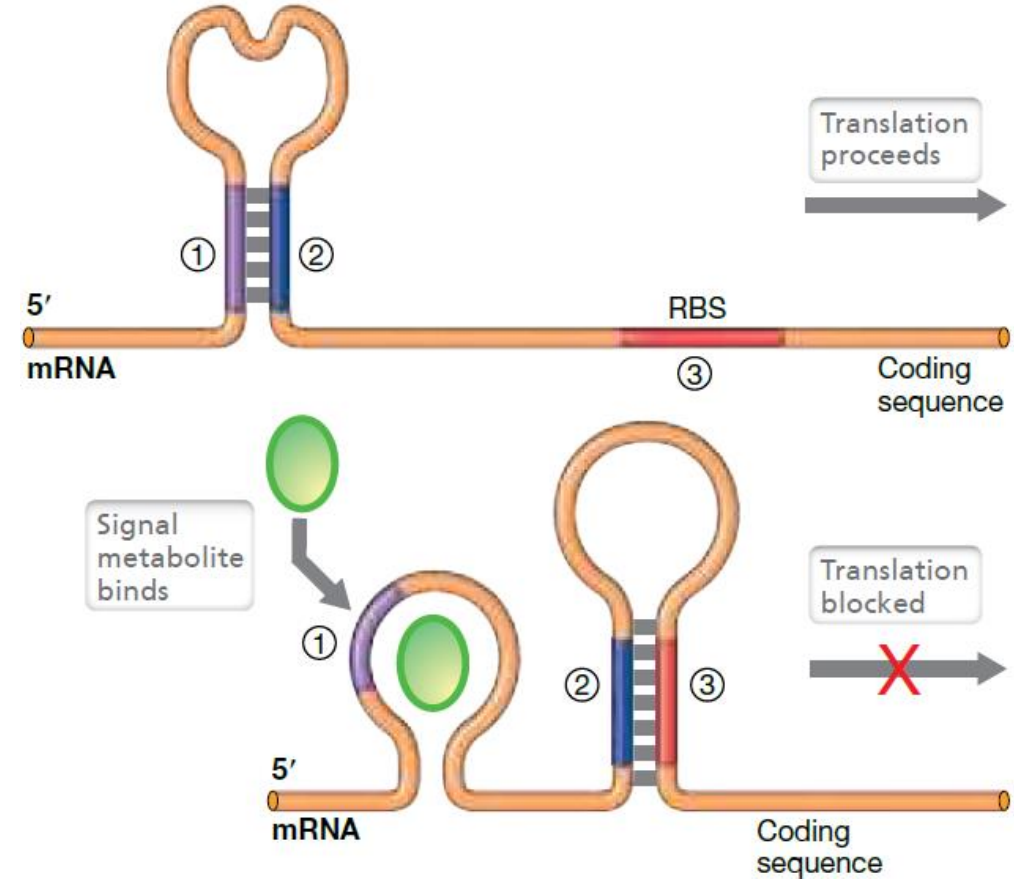
Riboswitch Yapısı ve “Anahtar” Bölge

- Riboswitch mRNA'larının kodlama bölgelerinin ön kısmında katlanarak metabolit tanıyan özel üç boyutlu yapılar oluşur.
- Bu tanıma bölgeleri, metabolite bağlı veya bağlı olmayan şekilde iki alternatif yapı arasında geçiş yapabilir.
- Yapılar arasındaki dönüşüm metabolitin varlığına göre gerçekleşir ve bu da mRNA'nın ifadesini belirler.
- Riboswitch'ler; bazı vitaminlerin, az sayıda amino asidin, bazı azotlu bazların ve peptidoglikan sentezi öncülünün biyosentezini kontrol eden enzimlerin üretimini düzenleyebilir.



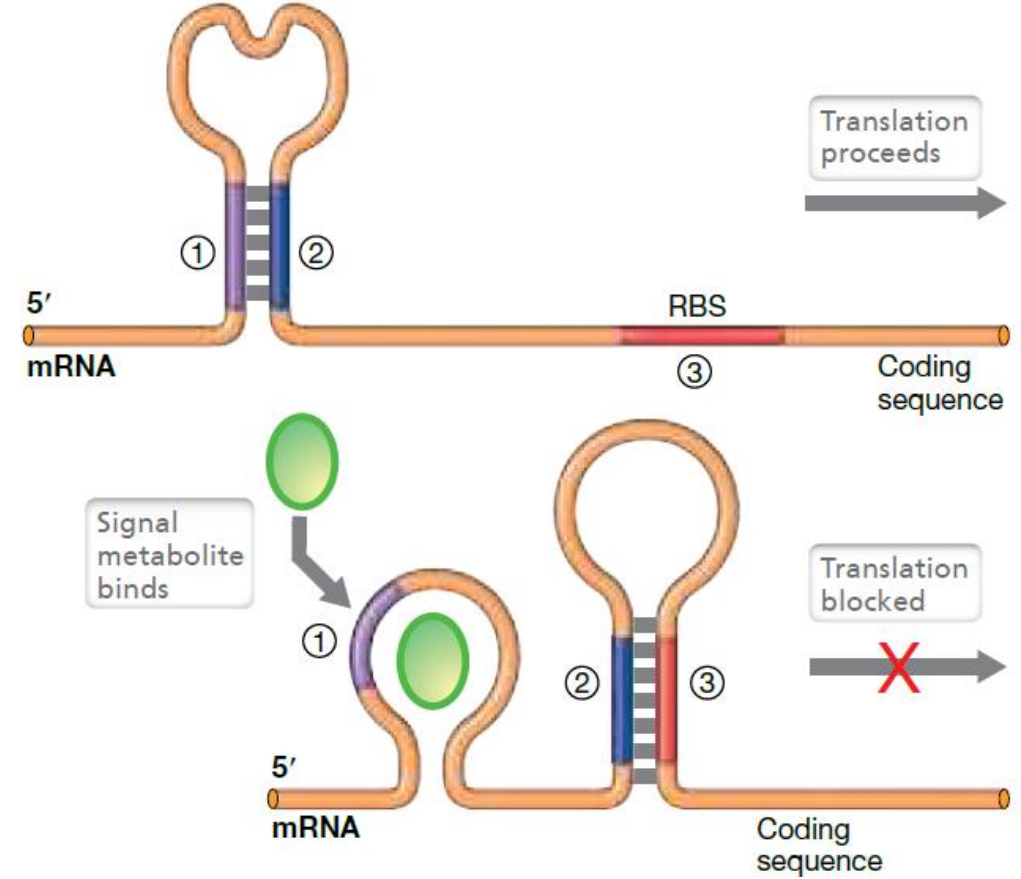
Metabolit Düzeyine Bağlı Kontrol

- Riboswitch'lerin tanıdığı metabolit genellikle o metabolitin biyosentez yolundaki ürünüdür.
- Örneğin, tiamin pirofosfatı bağlayan riboswitch, tiamin biyosentezine katılan enzimlerin kodlarını taşıyan mRNA'nın önünde yer alır.
- Hücrede tiamin pirofosfat yeterli olduğunda metabolit riboswitch'e bağlanır ve yeni yapı ribozom-bağlanma bölgesini kapatır.
- Bu durumda mRNA ribozoma bağlanamaz ve translasyon durur.



Düşük Metabolit Düzeyinde Etkinleşme

- Thiamin pirofosfatın hücre içi seviyesi düştüğünde metabolit riboswitch'ten ayrılabilir.
- Metabolitin ayrılmasıyla mRNA yeniden açılır ve ribozom-bağlanma bölgesi görünür hale gelir.
- Bu sayede mRNA ribozoma bağlanır ve translasyon gerçekleşir.
- Böylece riboswitch, metabolit düzeyine duyarlı geri bildirimle gen ifadesini düzenler.



Transkripsiyon Kontrolü Yapan Riboswitch'ler

- Bazı riboswitch'ler mRNA'nın bir parçası olmalarına rağmen transkripsiyonu kontrol eder.
- Bu mekanizma, attenüasyon sürecinde olduğu gibi riboswitch'in konformasyon değiştirmesine bağlıdır.
- Değişen yapı, taşıdığı mRNA'nın sentezinin erken durmasına yol açabilir.
- Böylece transkripsiyon başlamış olsa bile tamamlanmadan sonlandırılır.

Riboswitch'lerin Evrimsel Perspektifi

- Riboswitch'ler şimdiye kadar sadece bazı bakterilerde, birkaç bitki ve mantarda tanımlanmıştır.
- Genom çalışmaları, Archaea domaininde de bazı olası riboswitch'lerin varlığına işaret etmektedir.
- Bazı bilim insanları riboswitch'lerin “RNA dünyası” döneminden kalmış yapılar olabileceğini düşünmektedir.
- Bu dönemde riboswitch'ler, RNA yaşam formlarının diğer RNA'ların sentezini kontrol ettiği basit düzenleme mekanizmaları olabilir.

Riboswitch'lerin Günümüze Kalan Rolü

- Proteinlerin evrimiyle birlikte metabolik düzenleme neredeyse tamamen protein temelli hale gelmiştir.
- Bu nedenle riboswitch'ler, eski kontrol mekanizmalarının son kalıntıları olarak değerlendirilebilir.
- Yine de bugün riboswitch'ler, belirli metabolik süreçlerde hücresel kontrolün önemli bir parçası olmaya devam etmektedir.

Attenüasyon: Temel Tanım

- Attenüasyon, Bakterilerde (muhtemelen Archaea'da da) görülen bir transkripsiyon kontrol mekanizmasıdır.
- Bu mekanizmada mRNA sentezi başladıktan sonra ancak tamamlanmadan önce erken bir sonlanma gerçekleşir.
- Böylece başlatılan transkripsiyon sayısı değişmez, fakat tamamlanan transkript sayısı azalır.
- Attenüasyon ile kontrol, transkripsiyonun ilerleyen aşamalarında uygulanır.

Attenüasyon ve Alternatif Yapılar

- Attenüasyonda mRNA'nın ilk bölümü olan leader kısmı iki farklı yapıya katlanabilir.
- Bu yönüyle attenüasyon mekanizması riboswitch'lerin yapısına benzer.
- Yapılardan biri transkripsiyonun devam etmesine izin verirken diğeri erken sonlanmaya neden olur.
- Hangi yapının oluşacağı ribozomal olaylara veya bazı düzenleyici proteinlerin etkisine bağlıdır.

Triptofan Operonunda Attenüasyon

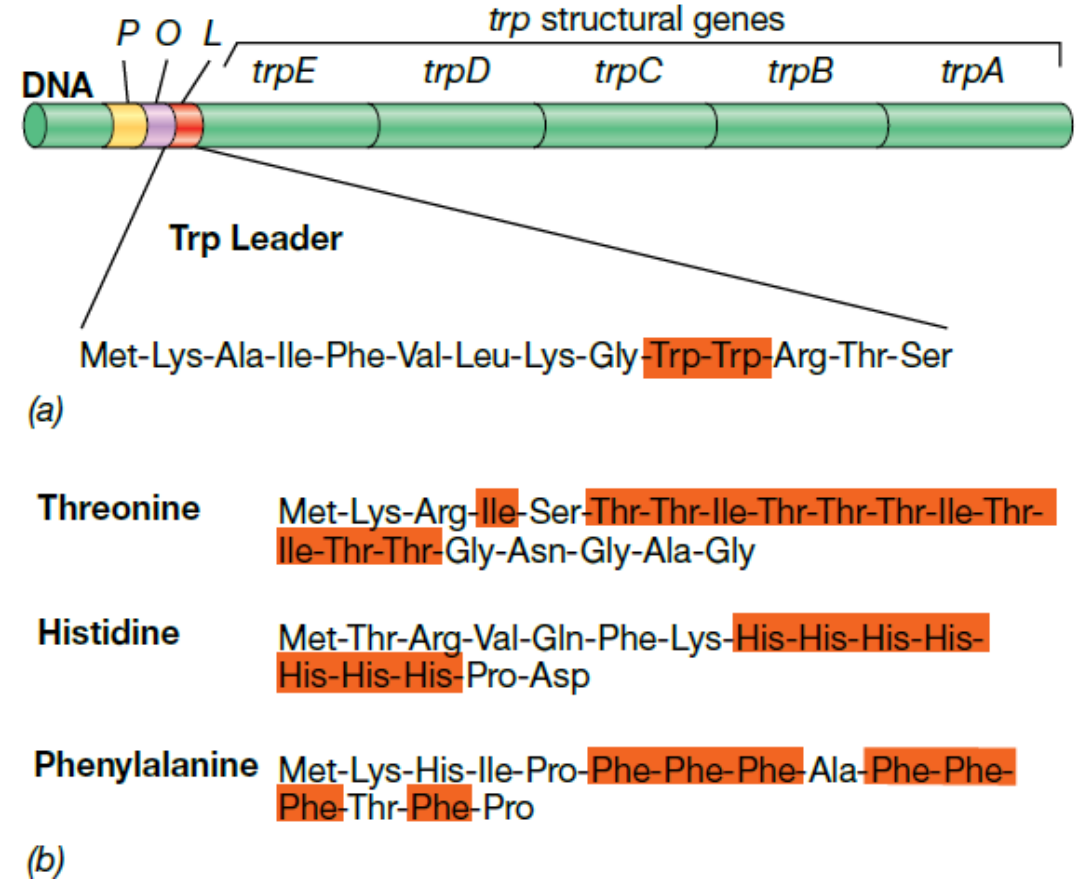
- Attenüasyonun en iyi bilinen örnekleri gram-negatif bakterilerde amino asit biyosentez yollarında görülür.
- İlk tanımlanan örnek, *E. coli*'deki triptofan operonudur.
- Bu mekanizmada mRNA'nın katlanma biçimi metabolit düzeyine göre değişir ve transkripsiyonun erken sonlanması sağlanabilir.
- Böylece hücre, amino asit seviyelerine göre operonun ifadesini hassas biçimde ayarlayabilir.

Attenüasyonun Evrensel Olmayan Yapısı

- Transkripsiyon ve translasyonun aynı anda gerçekleştiği prokaryotlarda attenüasyon mümkündür.
- Ancak ökaryotlarda bu iki süreç mekânsal olarak ayrı olduğundan attenüasyon görülmez.
- Bu durum, attenüasyonun prokaryotik hücre organizasyonuna özgü bir düzenleme biçimi olduğunu gösterir.

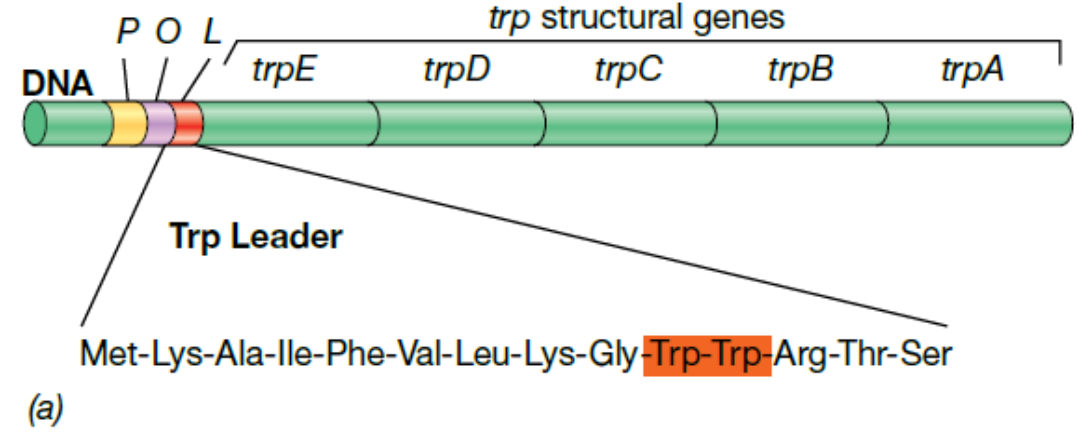
Triptofan Operonunun Genel Yapısı

- Triptofan operonu, triptofan biyosentez yolunda görev alan beş proteinin yapısal genlerini içerir ve operonun başında yer alan promotör, operatör ve düzenleyici dizilerle birlikte çalışır.
- Bu operon, pek çok operonda olduğu gibi birden fazla düzenlenme mekanizmasına sahiptir ve transkripsiyonu temel olarak negatif kontrol altındadır.



Triptofan Operonunun Genel Yapısı

- Operonda, kısa bir polipeptidi kodlayan ve lider peptit adı verilen bir ürün oluşturan özel bir 'leader sequence' bölgesi bulunur.
- Leader sequence, uç kısmına yakın tandem (art arda) triptofan kodonları içerir ve operonda bir attenüatör işlevi görür.

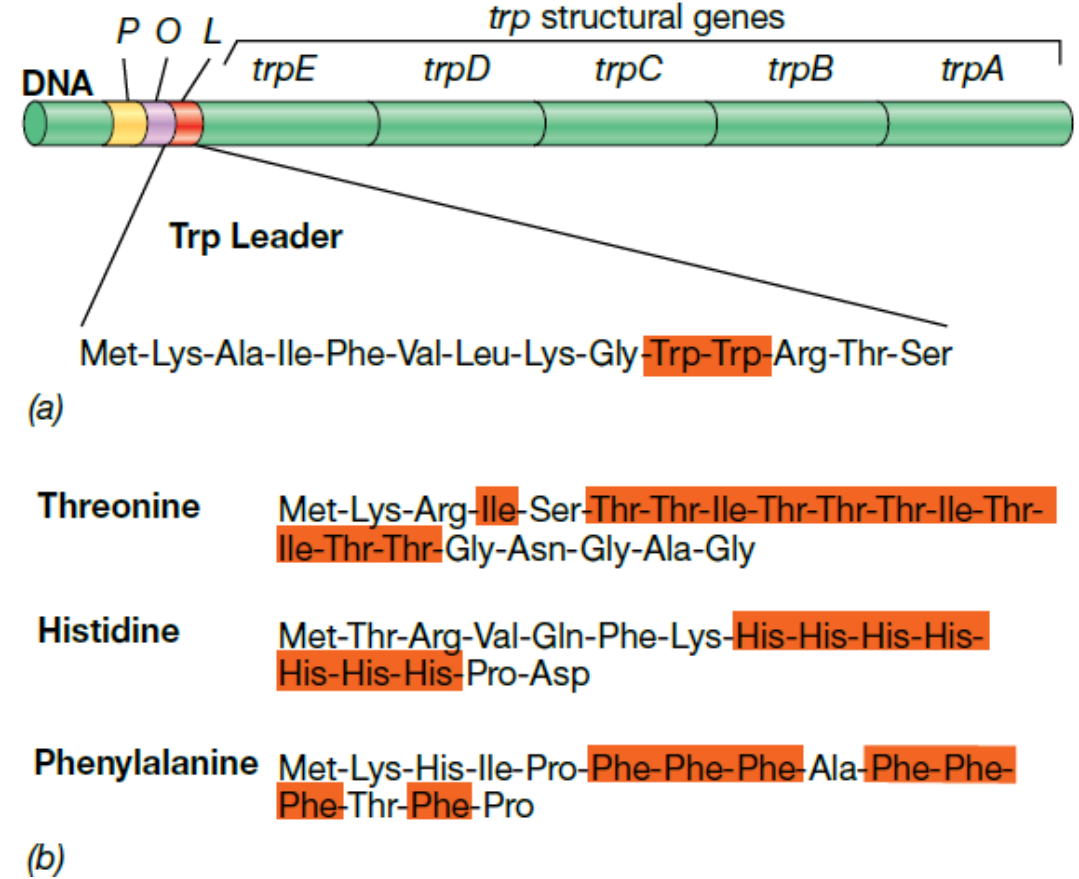


Threonine	Met-Lys-Arg-Ile-Ser-Thr-Thr-Ile-Thr-Thr-Thr-Ile-Thr-Ile-Thr-Thr-Gly-Asn-Gly-Ala-Gly
Histidine	Met-Thr-Arg-Val-Gln-Phe-Lys-His-His-His-His-His-His-His-Pro-Asp
Phenylalanine	Met-Lys-His-Ile-Pro-Phe-Phe-Phe-Ala-Phe-Phe-Phe-Thr-Phe-Pro

(b)

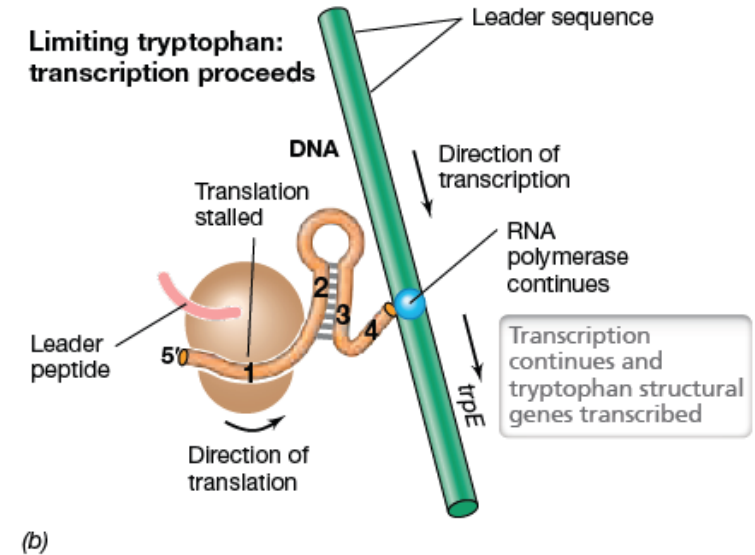
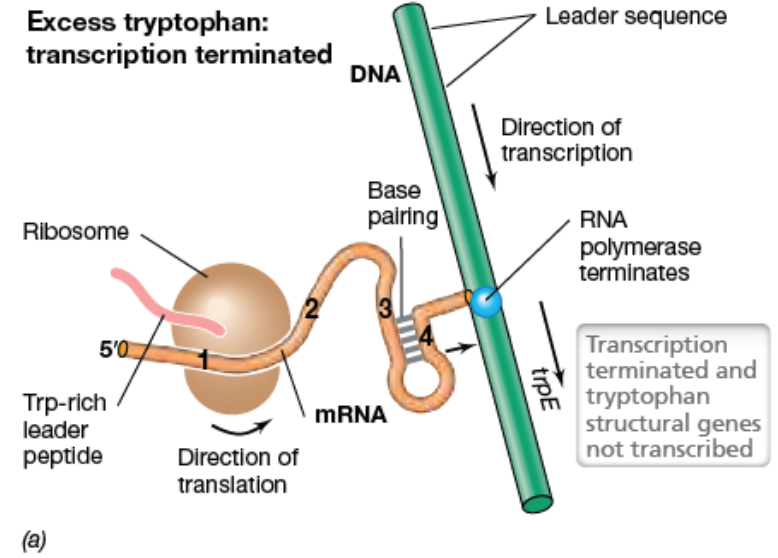
Attenüasyon Mekanizmasının Temel Mantığı

- Hücrede triptofan bol olduğunda, bol miktarda yüklü triptofan tRNA'sı bulunduğundan lider peptit sorunsuz şekilde sentezlenir.
- Lider peptidin sentezlenmesi, operondaki yapısal genlerin transkripsiyonunun sonlanmasına yol açar ve böylece trp operonunun geri kalanı ifade edilmez.
- Buna karşılık, triptofan az olduğunda triptofan bakımından zengin olan lider peptidin sentezi durur.
- Lider peptidin sentezinin durması, operonun tamamının transkribe edilmesine izin verir.



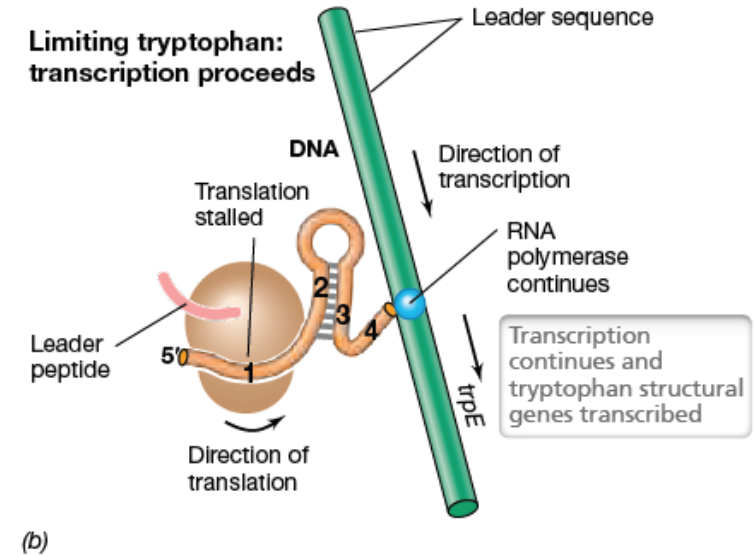
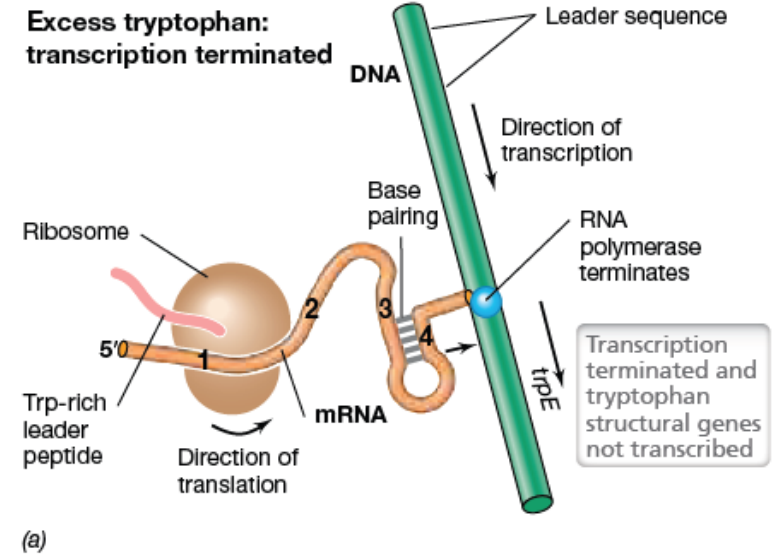
Attenüasyon Nasıl Çalışır? (Genel Prensipte)

- Prokaryotlarda transkripsiyon ve translasyon eşzamanlı yürüdüğü için, mRNA DNA'dan ayrılır ayrılmaz ribozom bağlanır ve translasyon başlar.
- Bu nedenle, aşağı yöndeki genlerin transkripsiyonu devam ederken aynı anda yukarı yönde bulunanların translasyonu sürmektedir.
- Attenüasyon, yeni oluşan mRNA'nın belli bir bölgesinin kendini katlayarak RNA polimerazın ilerlemesini durduran özel bir stem-loop yapısı oluşturmaya dayanır.
- Stem-loop oluşumu, birbirine komplementer olan iki kısa nükleotit dizisinin eşleşmesiyle gerçekleşir.



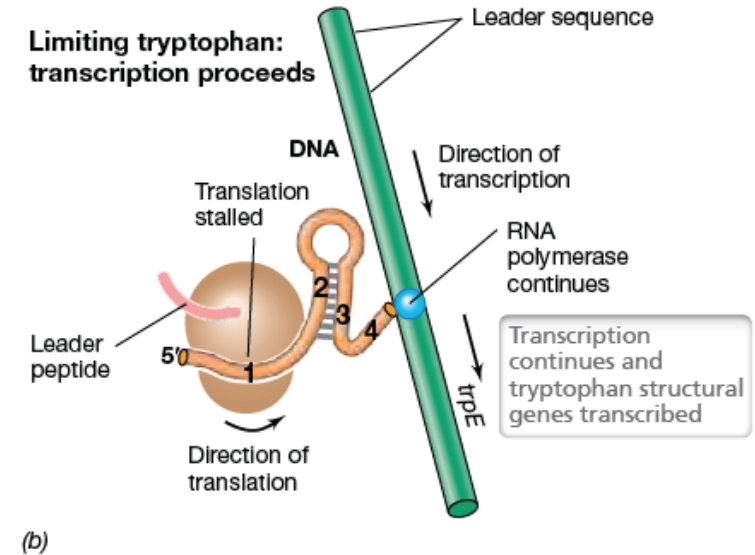
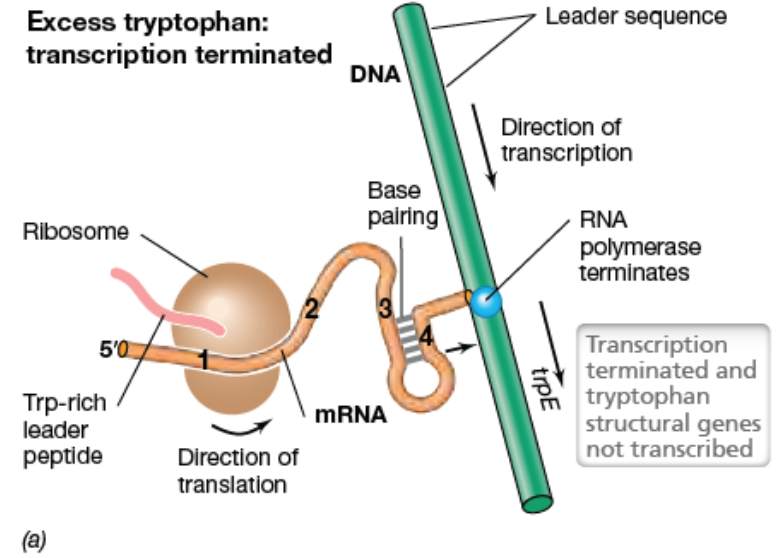
Triptofan Bol İken Oluşan Stem–Loop (Terminasyon)

- Triptofan bol olduğunda ribozom, lider diziyi çevirir ve lider stop kodonuna kadar sorunsuz ilerler.
- Lider dizinin geri kalanı, RNA polimerazı duraklatan bir stem–loop yapısına katlanır ve bu yapıyı urasilce zengin bir dizinin izlemesi transkripsiyonun sonlanmasına yol açar (Figür a).
- Bu terminatör stem–loop, operonun yapısal genlerine geçişi engeller.
- Böylece hücre, zaten yeterli miktarda triptofan varken gereksiz enzim üretmekten kaçınmış olur.



Triptofan Az İken Oluşan Alternatif Stem–Loop

- Triptofan sınırlı olduğunda ribozom, lider dizideki triptofan kodonlarından birinde duraklar; çünkü yeterli yüklü triptofan tRNA'sı yoktur.
- Ribozomun bu konumda takılı kalması, terminatör yapıdan farklı bir alternatif stem–loop oluşmasına izin verir (Figür b).
- Bu alternatif yapı, terminatör stem–loop'un (Figür a'daki 3 ve 4 numaralı bölgeler) oluşmasını engeller.
- Böylece RNA polimeraz terminasyon bölgesinin etkisinden kurtulur ve operonun yapısal genlerini transkribe etmeye devam eder.



Attenüasyonun Temel Sonucu

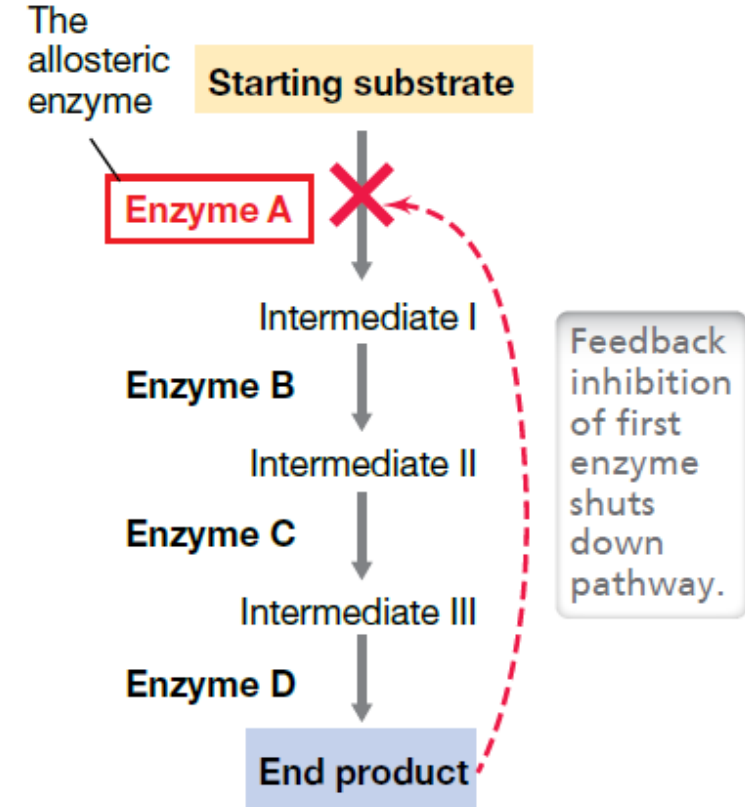
- Attenüasyon, transkripsiyon hızının doğrudan translasyon hızından etkilenmesi üzerine kuruludur.
- Ribozomun ilerleme ya da durma hızı, hangi stem-loop yapısının oluşacağını belirler.
- Böylece hücre, triptofanın mevcut seviyesine hızlı ve etkili bir şekilde yanıt verir.
- Bu mekanizma, gereksiz enzim sentezinin önüne geçerek enerji kaybını önler.

Protein ve Enzimlerin Düzenlenmesine Giriş

- Şimdiye kadar hücrenin bir proteinin miktarını artırma, azaltma veya tamamen ortadan kaldırma yollarını inceledik.
- Bu kısımda ise, hücrenin halihazırda bulunan enzimlerin aktivitesini nasıl kontrol ettiğine odaklanacağız.
- Bu kontrol, geri bildirim inhibisyonu ve post-translasyonel düzenleme gibi mekanizmalarla sağlanır.
- Böylece hücre, metabolik yolların akışını hızlıca ayarlayabilir.

Feedback Inhibition (Geri Bildirim İnhibisyonu) Nedir?

- Geri bildirim inhibisyonu, bir biyosentetik yolun son ürününün, aynı yolun erken bir basamağındaki enzimi geçici olarak inhibe etmesiyle gerçekleşir.
- İlk basamağın durması, ara ürünlerin oluşmasını engellediği için tüm yolak etkinliğini kaybeder.
- Bu inhibisyon geri dönüşümlüdür; son ürün azaldığında yolak yeniden çalışmaya başlar.
- Böylece hücre, gereksiz biyosentezi durdurarak kaynaklarını verimli kullanır.

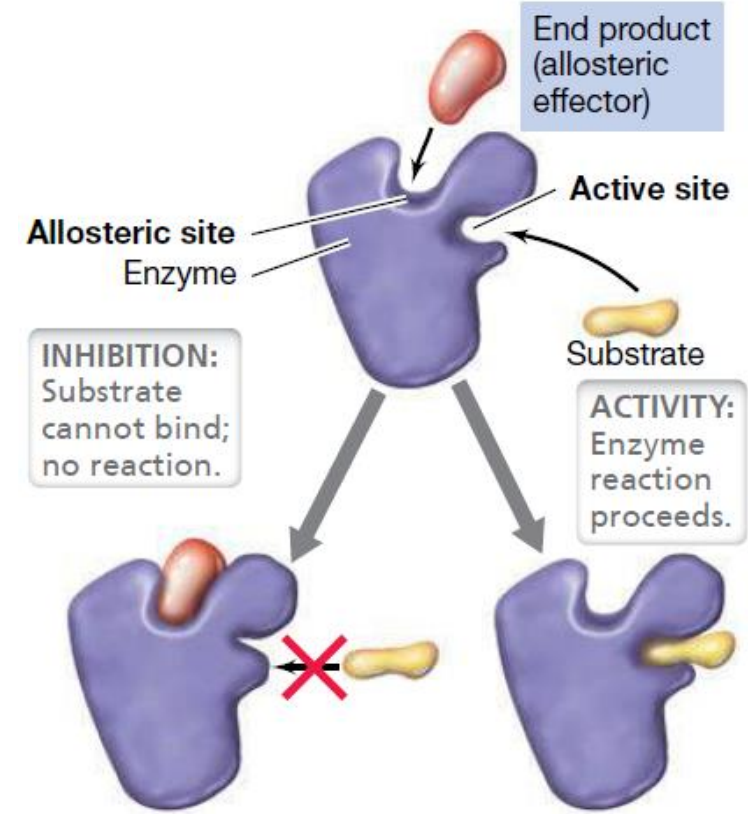


(a) Feedback inhibition



Allosterik Düzenlenme ve Enzim Aktivitesinin Kontrolü

- Bir yolun son ürünü, substrat ile ilgisi olmayan bir molekül olmasına rağmen enzimi inhibe edebilir.
- Bu durum, enzimin hem bir aktif bölgeye hem de son ürünün bağlandığı allosterik bölgeye sahip olmasından kaynaklanır.
- Son ürün fazlayken allosterik bölgeye bağlanır ve enzimin yapısı değiştiği için substrat artık aktif bölgeye bağlanamaz.
- Ürünün hücre içi miktarı azaldığında allosterik bağlanma sona erer ve enzim yeniden aktif hale döner.

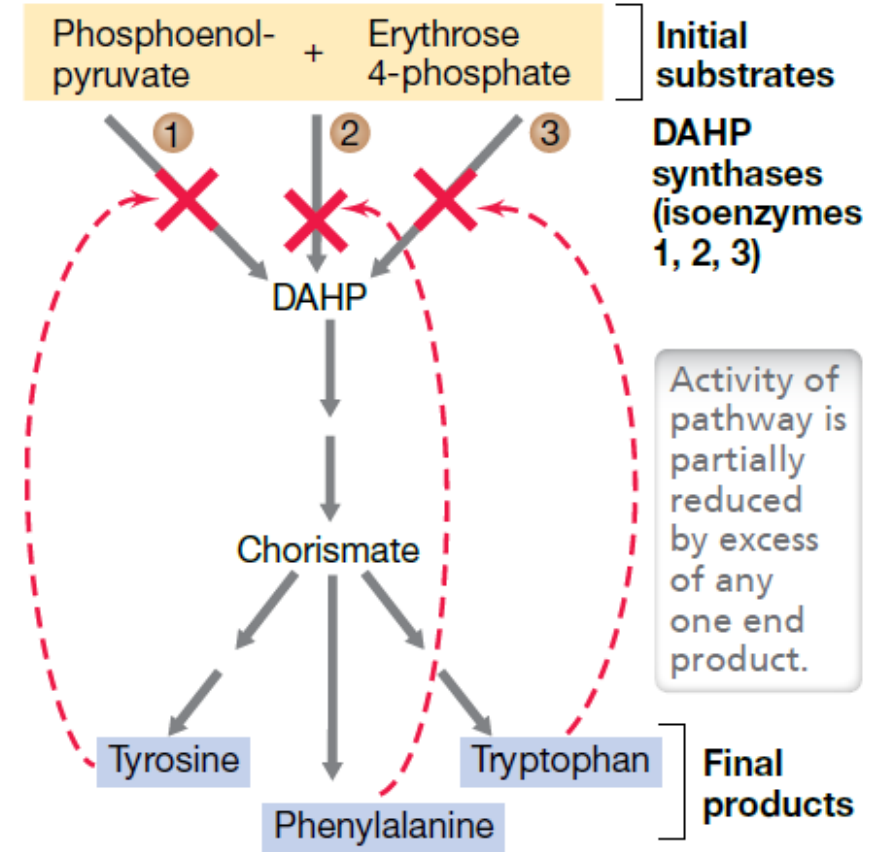


(b) Allosteric inhibition



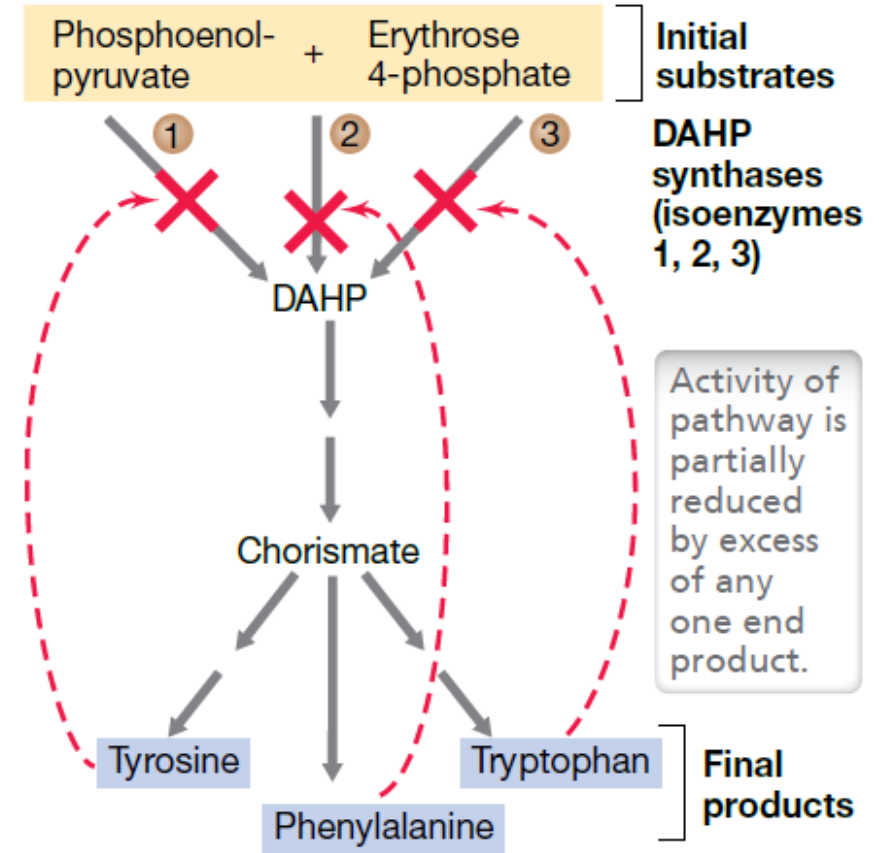
İzomer Enzimlerin Genel Özelliği

- İzomer enzimler aynı reaksiyonu katalizleyen fakat farklı şekilde düzenlenen proteinlerdir.
- Bu enzimler, özellikle geri besleme inhibisyonuyla kontrol edilen biyosentetik yollarda görev alır.
- Aromatik amino asitlerin sentezinde yer alan tirozin, triptofan ve fenilalanin için gereken enzimler buna örnektir.



DAHP Sentezinin Rolü

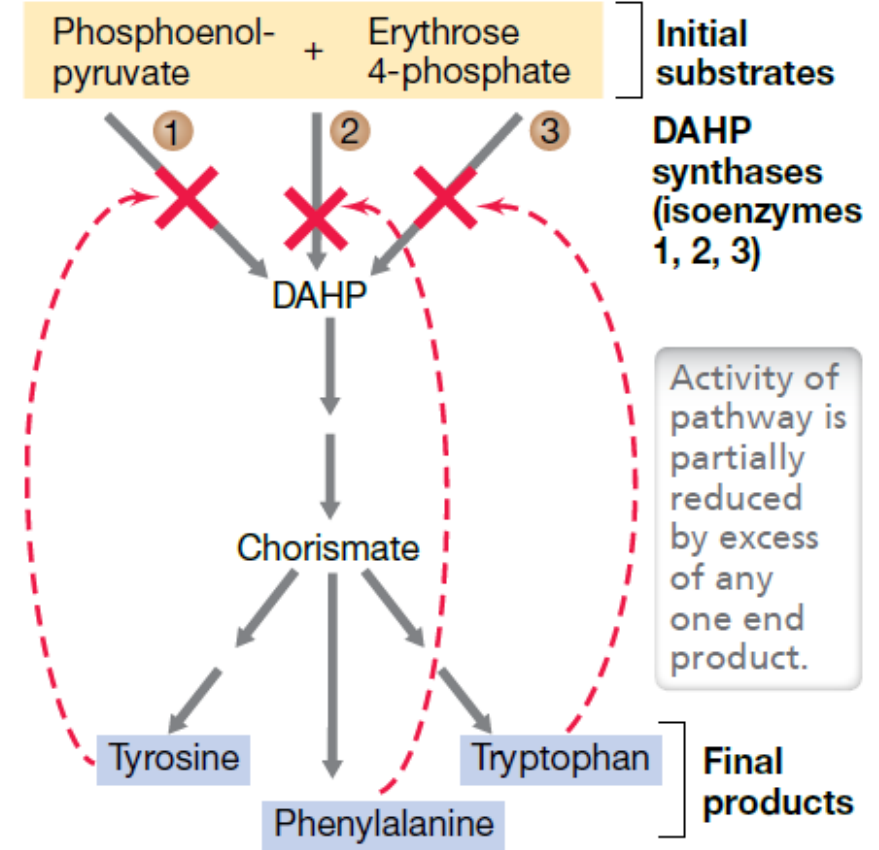
- DAHP sentaz, aromatik amino asit biyosentezinde merkezi bir basamağı katalizler.
- Bu yolakta dallanma noktası sürecin ileri safhalarında yer alır ve kontrol bu nedenle kritiktir.
- *E. coli*'de üç farklı DAHP sentaz izoenzimi aynı ilk reaksiyonu gerçekleştirir.



(c) Isoenzyme inhibition

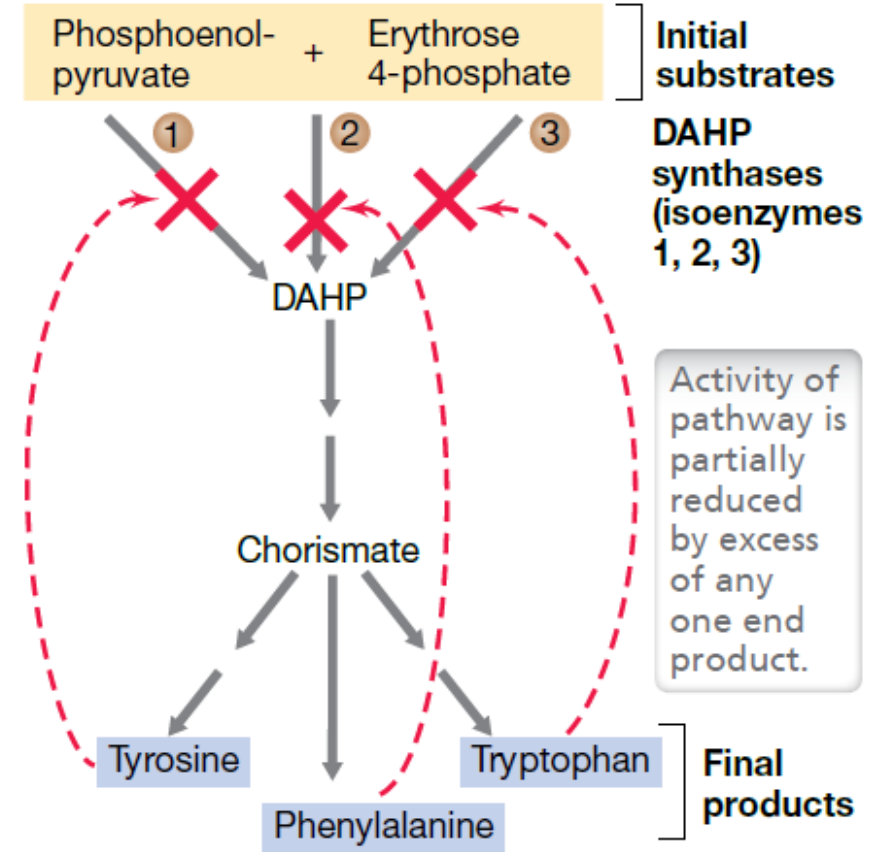
DAHP İzoenzimlerinin Bağımsız Düzenlenmesi

- *E. coli*'deki üç DAHP izoenziminin her biri farklı bir son ürün amino asidi tarafından bağımsız şekilde düzenlenir.
- Klasik geri besleme inhibisyonundan farklı olarak, burada enzim aktivitesi aşamalı biçimde azalır.
- Aktivite, ancak üç amino asidin de aşırı miktarda bulunması durumunda tamamen durur.



İzoenzim Düzenlemesinin Hücresel Avantajı

- Bu sistem, yalnızca bir veya iki amino asidin fazla olmasının tüm yolu kapatmasını engeller.
- Böylece üçüncü amino asit için hücrenin gereksinim hissettiği durumlarda yol tamamen kapanmaz.
- Bu düzenleme, aromatik amino asit üretiminde hücresel dengeyi korur.



(c) Isoenzyme inhibition

Proteinlerin Post-Translasyonel Düzenlenmesine Giriş

- Fosforilasyon ve metilasyon gibi düzenleme mekanizmaları daha önce iki bileşenli sistemler ve kemotakside ele alınmıştı.
- Biyosentetik enzimler, AMP, ADP ve UMP gibi küçük moleküllerin eklenmesiyle de düzenlenebilir.
- Ayrıca, hücrede protein–protein etkileşimleri de enzim faaliyetini değiştirebilen önemli yollar arasındadır.

Kovalent Modifikasyonla Düzenleme

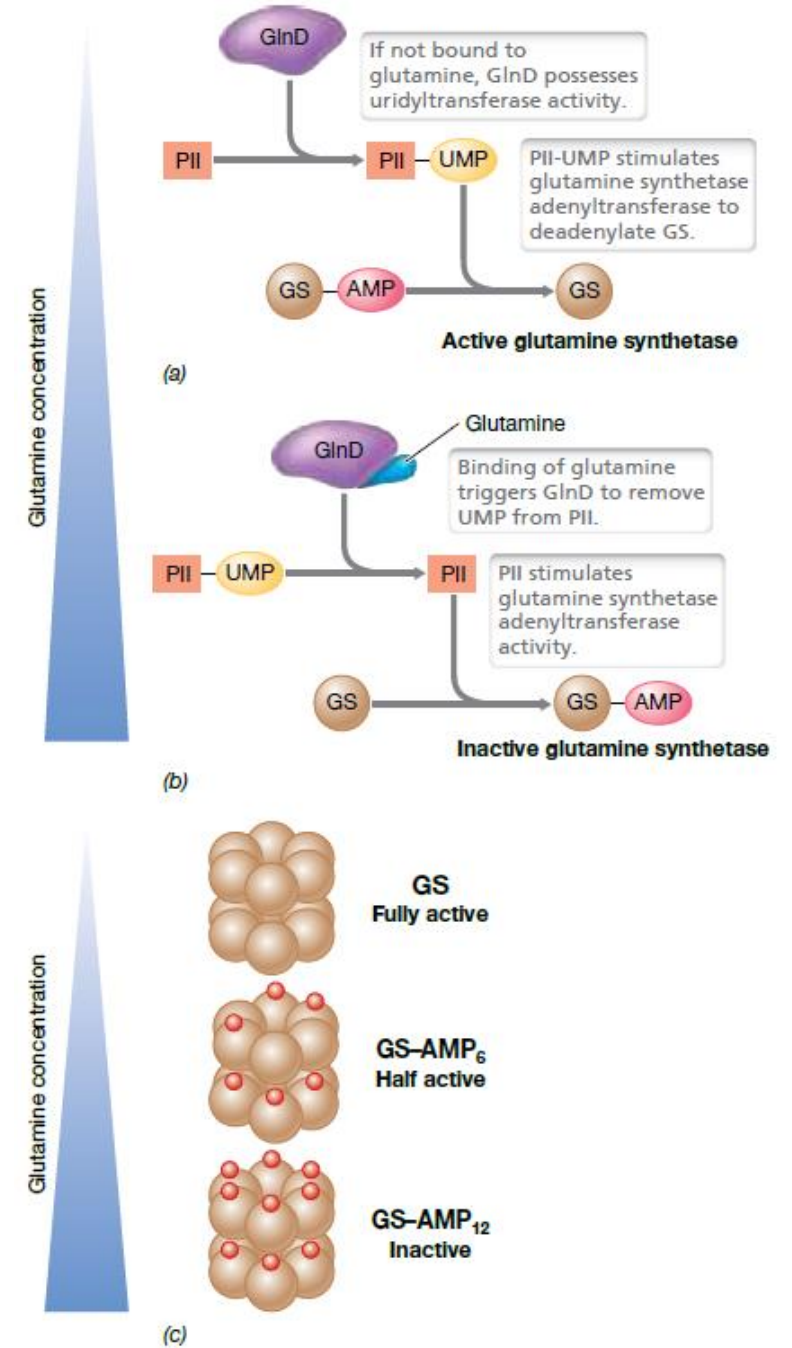
- Bazı enzimler küçük bir molekülün kovalent olarak eklenmesi ya da çıkarılmasıyla düzenlenir.
- Bu tür modifikasyonlar, proteinin tamamen sentezlenmesinden sonra gerçekleştiği için post-translasyonel düzenleme kapsamındadır.
- Burada özellikle PII proteinlerinin bu şekilde düzenlenmesi ele alınacaktır.

PII Proteinlerinin Genel Özellikleri

- PII proteinleri, Bacteria, Archaea ve bitki plastitlerinde bulunan yaygın sinyal iletim proteinleridir.
- Bu proteinler, azot metabolizmasında birçok transkripsiyon faktörünü, enzim ve taşıyıcı proteini düzenler.
- PII proteinlerinin aktivitesi, kovalent olarak modifiye edilip edilmemesine bağlı olarak değişir.

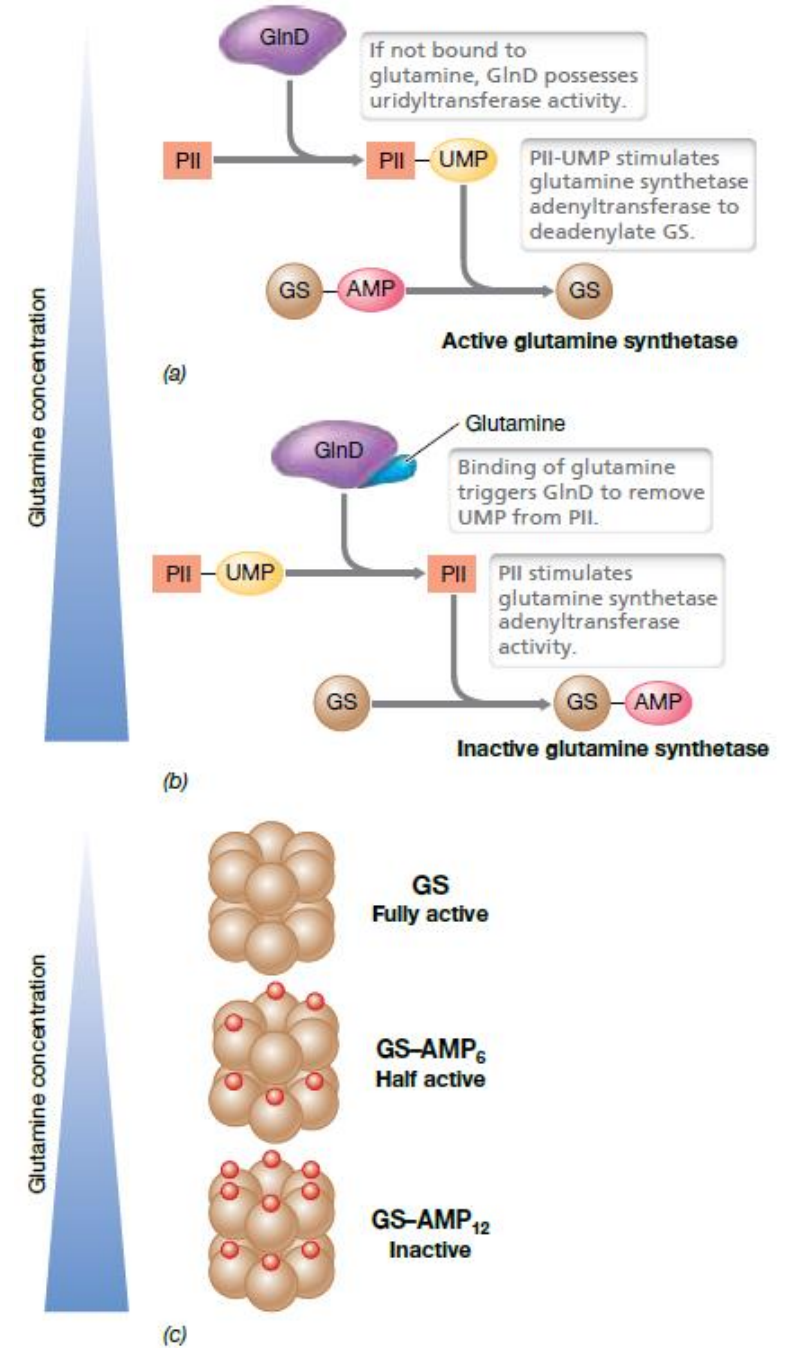
PII Proteinlerinde Modifikasyon Türleri

- PII proteinleri uridilasyon, adenilasyon ve bazı siyanobakterilerde fosforilasyon gibi eklemelerle düzenlenebilir.
- Bu modifikasyonlar protein aktivitesini değiştirir ve tamamen sentez sonrası gerçekleşir.
- Şimdi PII proteinlerinin GlnD tarafından uridilasyonuna odaklanılacağız.



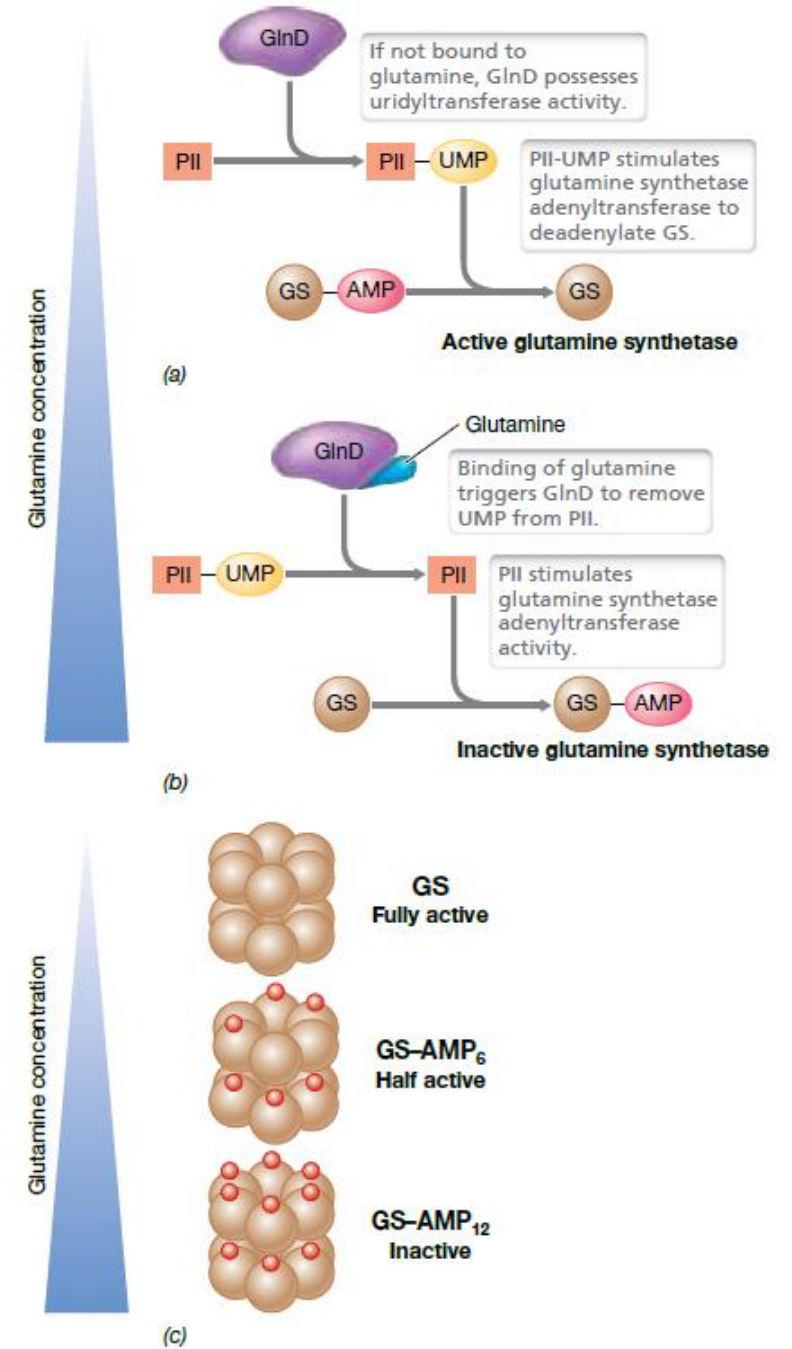
GlnD ve Glutamin Havuzu Üzerinden Sinyal Algılama

- Hücredeki glutamin düzeyi, NH_3 asimilasyonuna ihtiyaç olup olmadığını belirleyen temel göstergedir.
- Glutamin düzeyi düşükse, GlnD glutamin bağlamaz ve uridiltransferaz aktivitesi kazanır.
- Bu durumda PII proteinine bir UMP grubu eklenir ve PII-UMP oluşur.



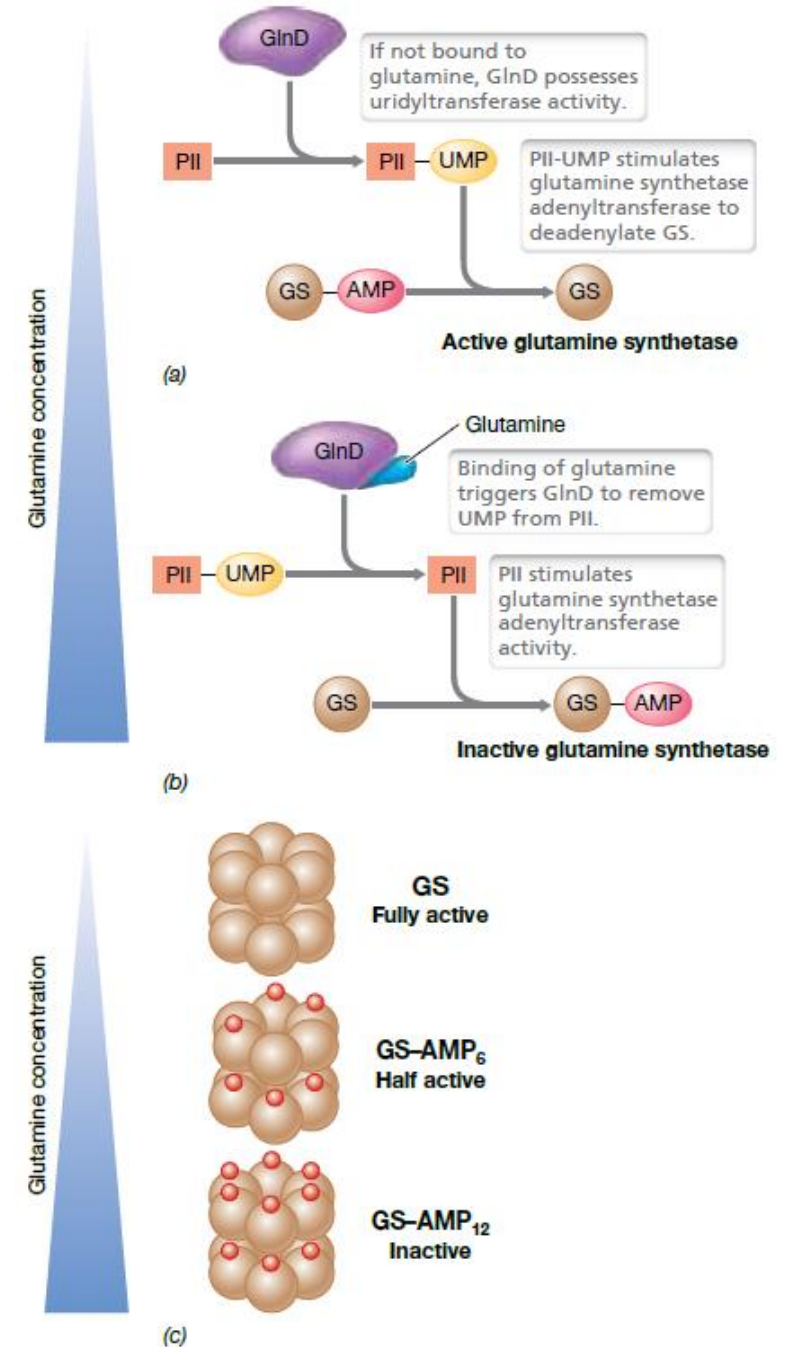
PII-UMP'nin GS Düzenlemesindeki Rolü

- PII-UMP, glutamin sentetaz adeniltransferaz enzimini uyararak glutamin sentetazdan adenil gruplarının uzaklaştırılmasını sağlar (Figür a).
- GS (glutamin sentetaz), NH_3 asimilasyonunun merkezi bir enzimi olduğu için aktivitesinin artması NH_3 kullanımını artırır.
- Adenil grubu azaldıkça GS aktivitesi artar ve NH_3 asimilasyonu hızlanır (Figür c).



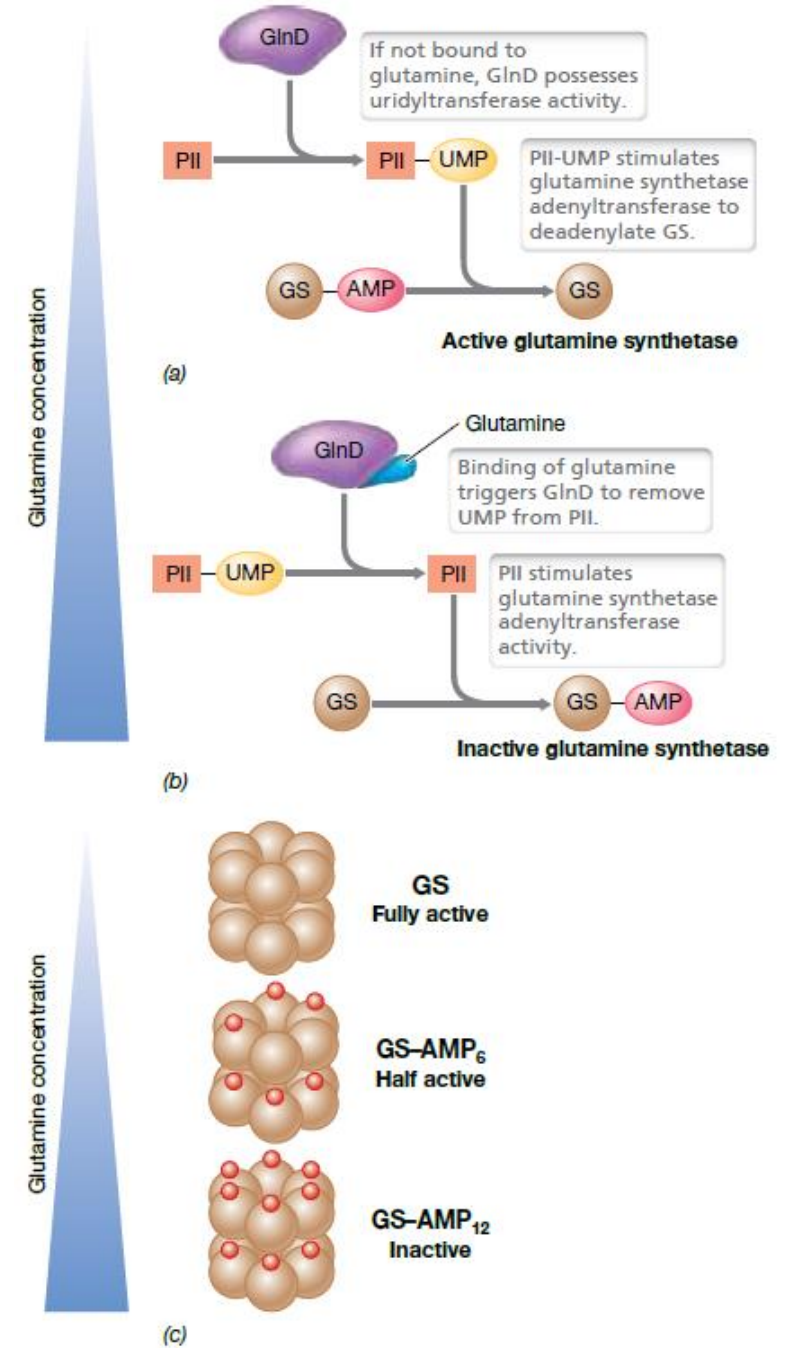
Glutamin Yeterliliğinde Düzenlemenin Tersine Dönmesi

- Glutamin düzeyleri yeterli olduğunda GlnD glutamini bağlayarak bu sinyali algılar.
- Bu bağlanma, GlnD'nin PII-UMP'den uridil gruplarını çıkarmasını sağlar (Figür b).
- Modifiye edilmemiş PII, GS üzerinde adenilasyonun yeniden artmasına yol açar ve GS-AMP oluşur.



GS Aktivitesinin Azalması ve NH_3 Asimilasyonu

- Tam adenillenmiş GS daha düşük aktivite gösterdiği için NH_3 asimilasyonu azalır.
- Bu durum, hücrenin yüksek azot düzeylerinde enerji tasarrufu yapmasını sağlar.
- Böylece NH_3 bol olduğunda ATP tüketen GS yolu gereksiz yere aktif kalmaz.



GS Üzerindeki Karmaşık Düzenlemenin Nedeni

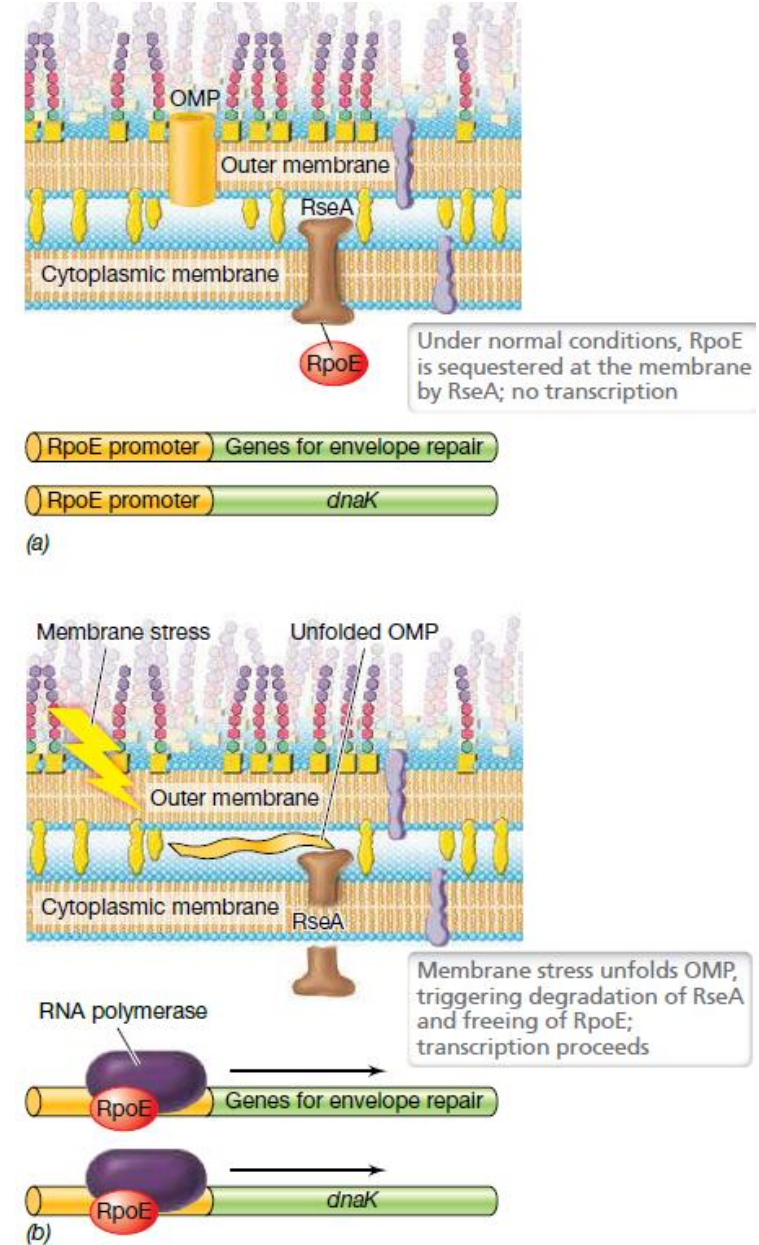
- GS'nin çalışması ATP gerektirdiği için aşırı aktivitesi hücre için enerji kaybına yol açar.
- NH_3 hücrede yüksek olduğunda, ATP harcamayan alternatif enzimler amino asit sentezinde kullanılabilir.
- GS yalnızca NH_3 düşük olduğunda aktif kalarak hücrenin enerji dengesini korur.

Sigma Faktörlerinin İnaktivasyonu

- Normal sıcaklık koşullarında RpoH sigma faktörü, DnaK tarafından inaktive edilir.
- Anti-sigma faktörü adı verilen bazı proteinler, sigma faktörlerine bağlanarak onları post-translasyonel düzeyde inaktive eder.
- Bu mekanizma, hücrenin çevresel koşullara hızla yanıt verebilmesini sağlayan önemli bir düzenleme basamağıdır.

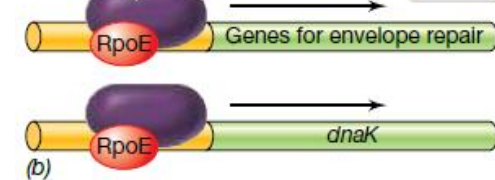
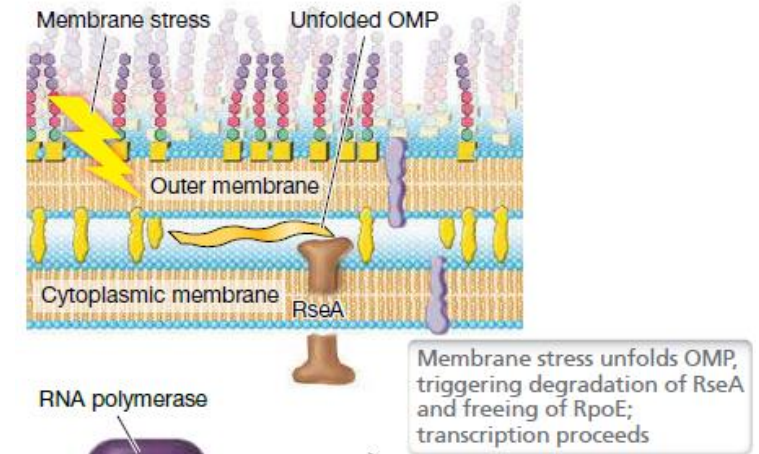
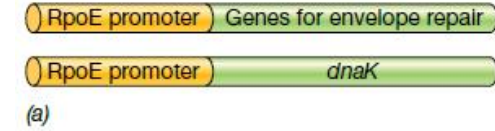
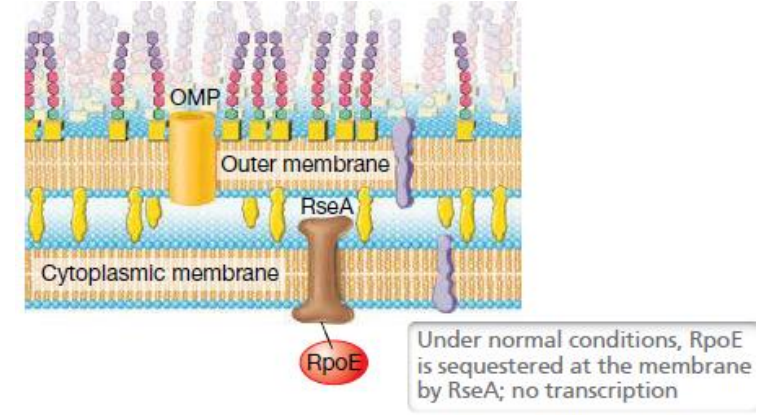
RpoE ve Ekstra-Sitoplazmik Stres Yanıtı

- RpoE (σ^{24} veya σE) pek çok bakteride korunan ve ekstra-sitoplazmik strese yanıt veren bir sigma faktörüdür.
- RpoE, dış zar proteinlerinin doğru katlanması, ekspresyonu ve dönüşümü için gereken genlerin promotörlerini tanır.
- Bu promotörlerden biri aynı zamanda dnaK genine aittir.



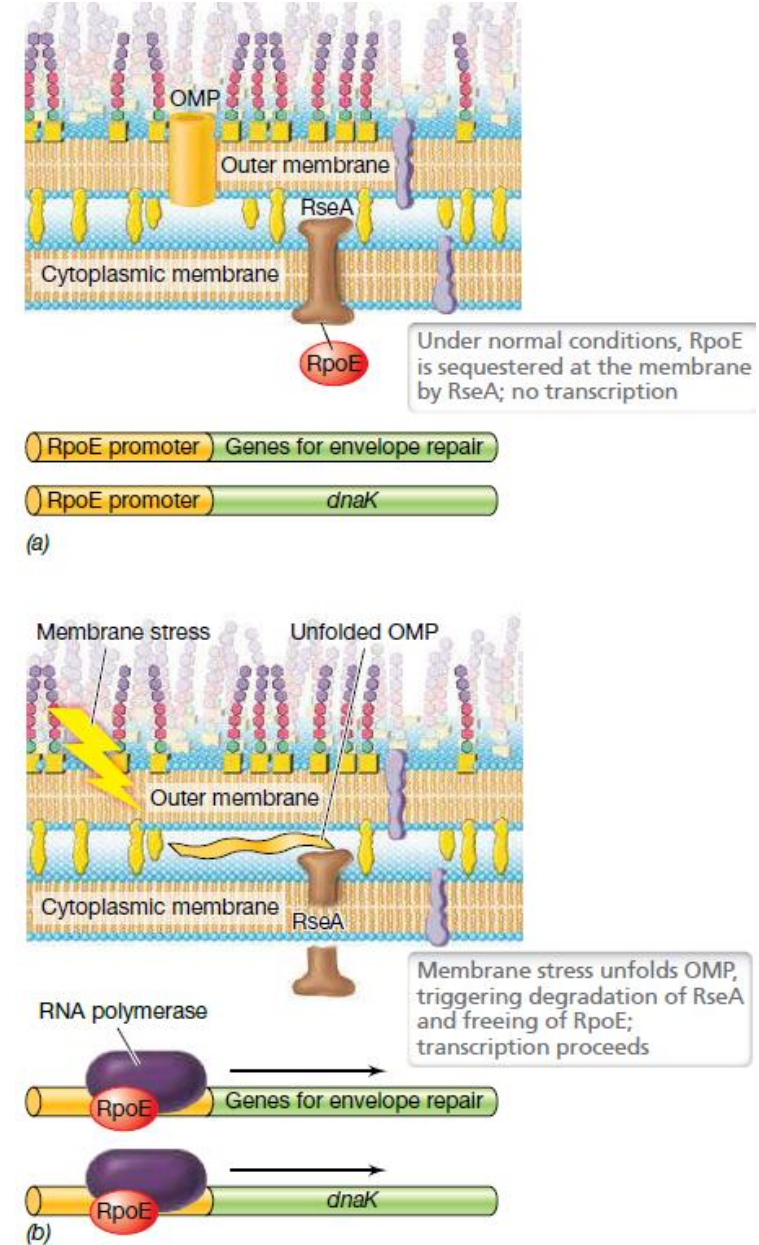
RseA'nın RpoE'yi Baskılaması (Normal Koşullar)

- Stres olmayan koşullarda zar bağlı anti-sigma faktör RseA, RpoE'yi hedef promotörlerden uzak tutar.
- Bu bağlanma, RpoE'nin transkripsiyonu başlatmasını engeller.
- Böylece hücre, dış zar stres yanıtı ile ilgili genleri gereksiz yere aktive etmez.



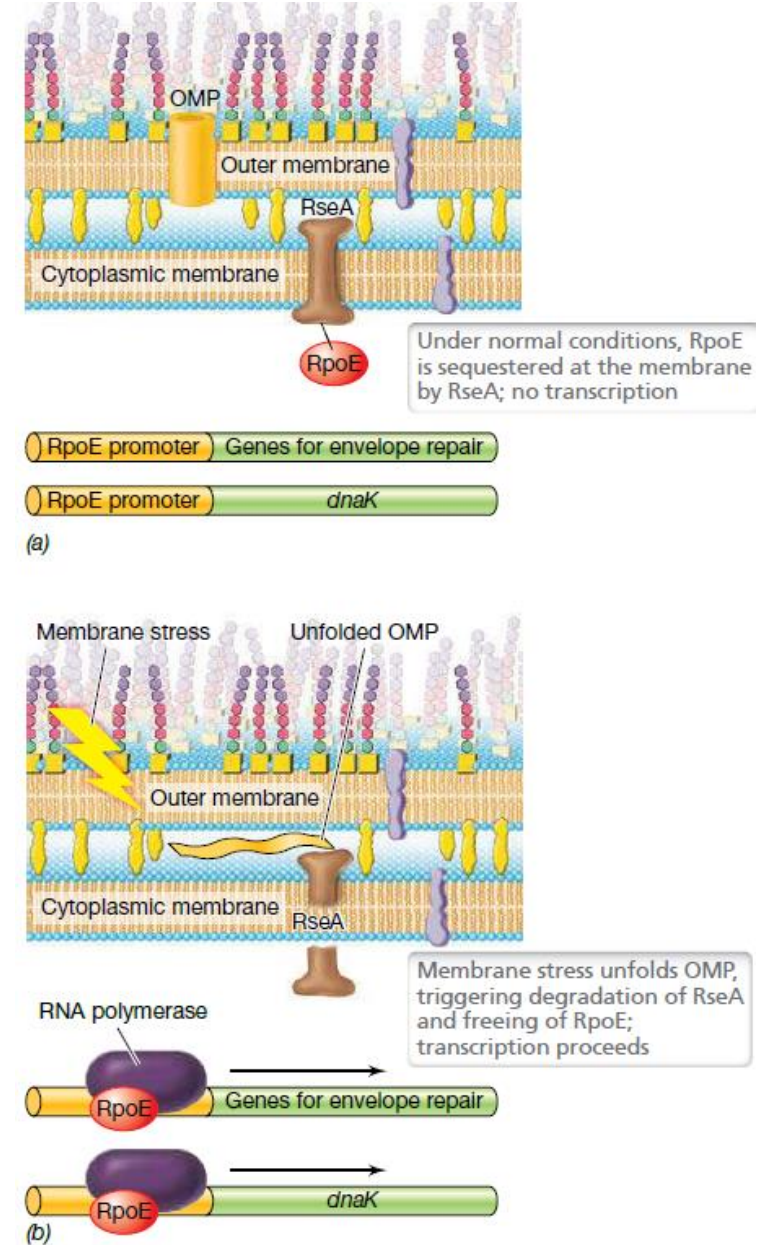
Zar Stresi ve RseA'nın Proteolitik Yıkımı

- Isı ya da ozmotik stres gibi koşullarda dış zar proteinleri denatüre olur.
- Bu durum, RseA'ya özgü bir proteazın aktive olmasına yol açar.
- RseA proteolitik olarak yıkıldığında, RpoE serbest kalır ve hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır.



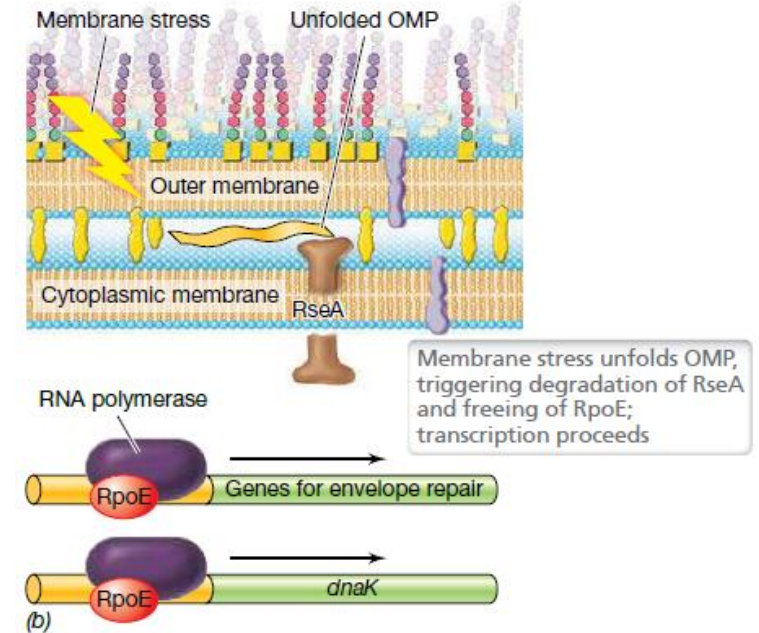
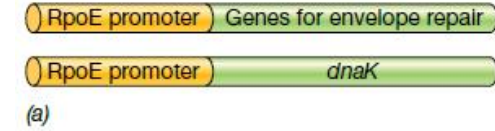
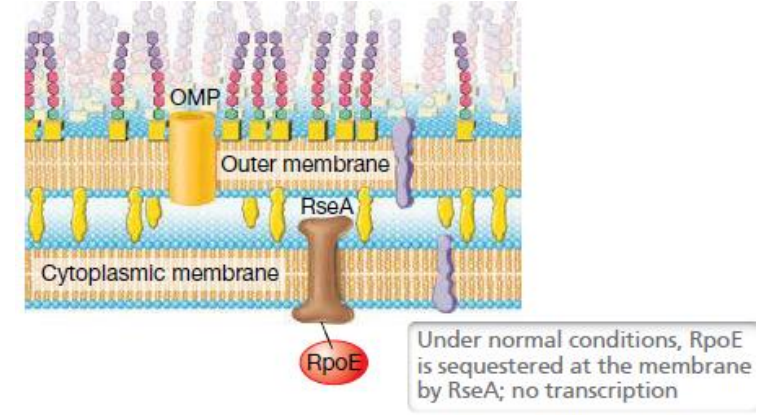
RpoE Aktivasyonu Sonrası Gelişen Süreçler

- Serbest kalan RpoE, zar onarımı için gerekli genlerin transkripsiyonunu artırır.
- Bu gen ürünleri arasında dış zar proteinlerinin yeniden katlanması ve fosfolipit/lipopolisakkarit sentezi bulunur.
- RpoE aktivasyonu aynı zamanda DnaK düzeyinin artmasını sağlar; DnaK, dış zar proteinlerinin katlanması ve yıkımı ile ilgilenir.



Zar Onarımı Tamamlandığında Düzenin Yeniden Kurulması

- Zar onarımı gerçekleştikten sonra RseA artık yıkım için hedeflenmez.
- RseA tekrar sitoplazmik zarla ilişki kurar ve anti-sigma faktör olarak işlevine geri döner.
- Bu durum, zar stresine yanıt genlerinin ve dnaK geninin ekspresyonunun azalmasına yol açar.



Başka Bir Anti-Sigma Faktör Örneği: Endospor Oluşumu

- *Bacillus* türlerinde endospor oluşumu sırasında anti-sigma faktör SpoIIAB, σ^F ile bağlanarak onun RNA polimerazla etkileşmesini engeller.
- Bu etkileşim, spor oluşumunda önemli bir düzenleyici basamaktır.
- Bu örnek, anti-sigma–sigma ilişkilerinin farklı biyolojik süreçlerde ne kadar kritik olabileceğini gösterir.

Genel Değerlendirme: Neden Bu Kadar Önemli?

- Hücrede RNA ve protein sentezinin düzenlenmesi, organizmanın biyolojisi için hayati derecede önemlidir.
- Bu düzenlemeler pek çok farklı mekanizma üzerinden gerçekleşebilir.
- Her ne kadar genetik olarak büyük bir yatırım gerektirse de, bu maliyetler evrimsel süreçte avantaj sağlamıştır.
- Rekabetçi ortamlarda mikroorganizmaların büyüme ve hayatta kalma başarısı, kaynakları doğru zamanda doğru süreçlere yönlendirebilmesine bağlıdır.

Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

