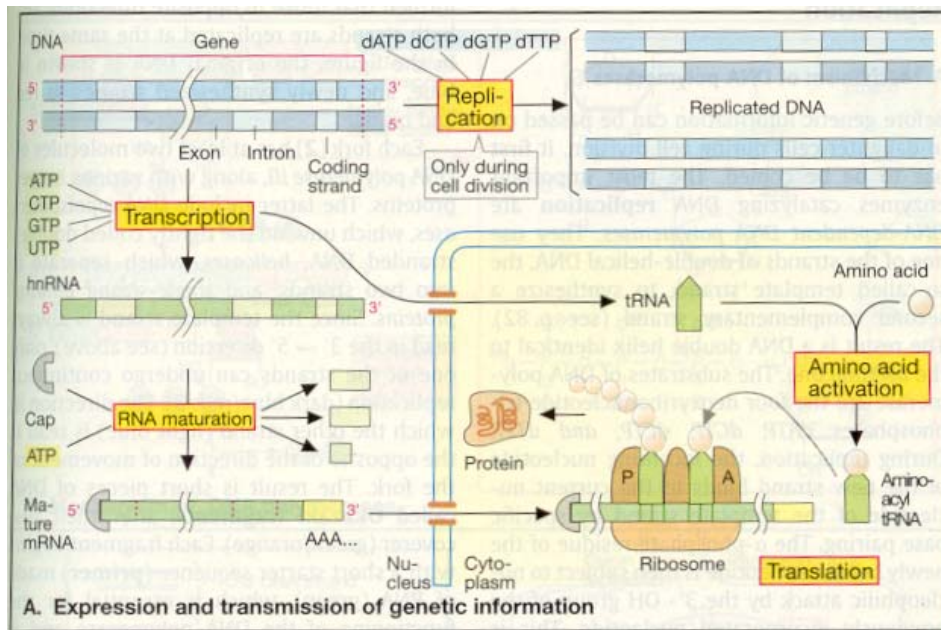
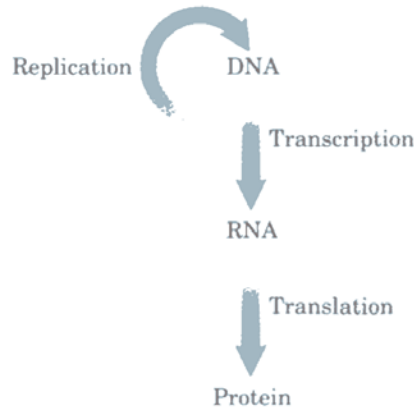


NÜKLEİK ASİT METABOLİZMASI

Nükleik asitlerin fonksiyonları

DNA'nın nükleotid dizisi, organizmanın protein moleküllerinin tümünün sentezinde bilgi kaynağıdır. DNA, genetik bilgi deposu olarak, biyolojik makromoleküller arasında eşsiz ve merkezi bir yere sahiptir. Bir protein molekülüne ait olarak DNA'da saklanan genetik bilgiler, önce bir RNA molekülünün sentezi suretiyle kopyalanır veya yazılır (**transkripsiyon**); transkripsiyonla RNA'ya kopyalanmış olan genetik bilgiler daha sonra okunarak bir protein molekülü haline çevrilir (**translasyon**). DNA'da saklanan genetik bilgilerin böylece bir protein molekülü haline dönüştürülmesi için gerçekleşen olayların tümü gen ifadesi (**gen ekspresyonu**) olarak adlandırılır. *DNA'nın nükleotid dizisi, sonunda tüm hücrel RNA'lar ve proteinlerin primer yapısını belirler.* Ayrıca DNA molekülü, sakladığı genetik bilgilerin sonraki nesillere aktarılması için kendi kopyasını da oluşturur (**replikasyon**). *DNA molekülü, kendi kopyasının oluşmasını sağlayan tek moleküldür.*

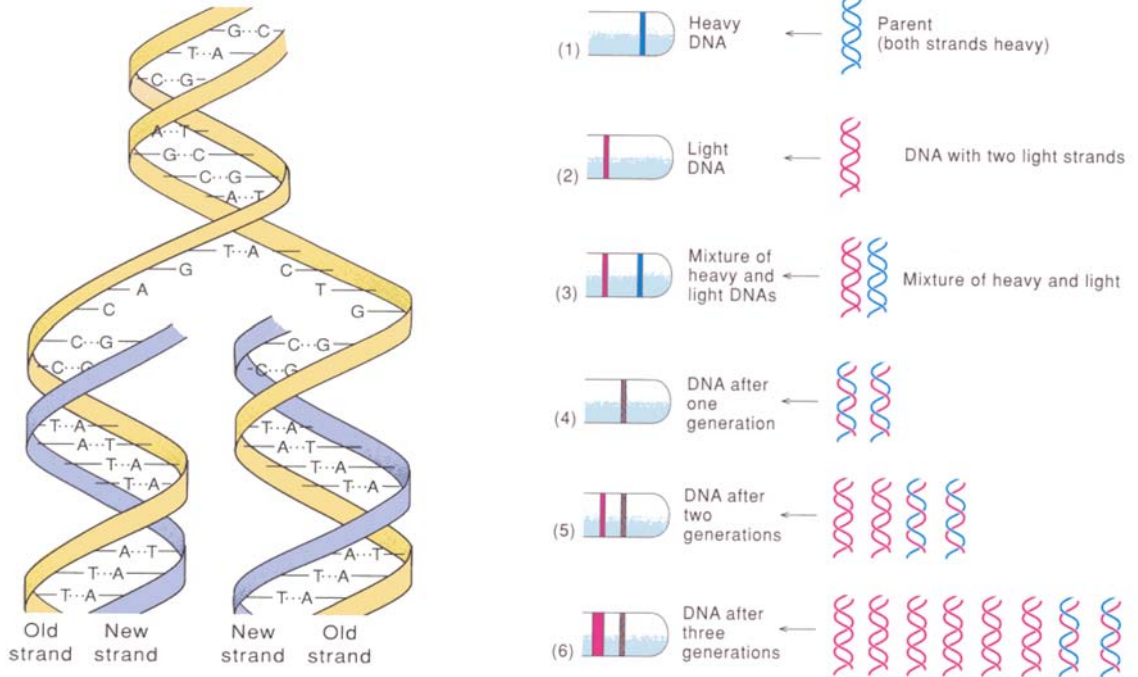
Replikasyon, transkripsiyon ve translasyon, nükleik asit metabolizması olarak ayrıntılı bir şekilde incelenecektir:



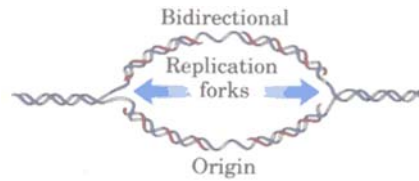
DNA'nın replikasyonu

DNA'nın replikasyonu, DNA moleküllerinin doğru kopyalarının yapılmasıdır.

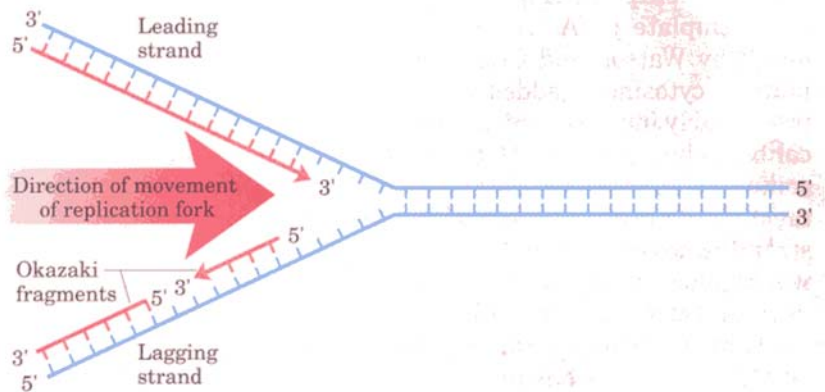
Bugün kabul gören görüşe göre DNA'nın replikasyonu semikonservatiftir; bir DNA molekülünün iki kolundan her biri yeni bir DNA kolu sentezi için bir kalıp olarak görev görür ve sonuçta meydana gelen iki yeni DNA molekülü yeni ve eski kollar içerirler. Replikasyonun semikonservatif olduğu Watson ve Crick tarafından ileri sürülmüş ve 1957'de Matthew Meselson ve Franklin Stahl tarafından deneysel olarak gösterilmiştir:



DNA replikasyonu, *orijin* diye adlandırılan bir başlama noktasında başlar ve genellikle iki yöndeki replikasyon çatallarında ilerler:



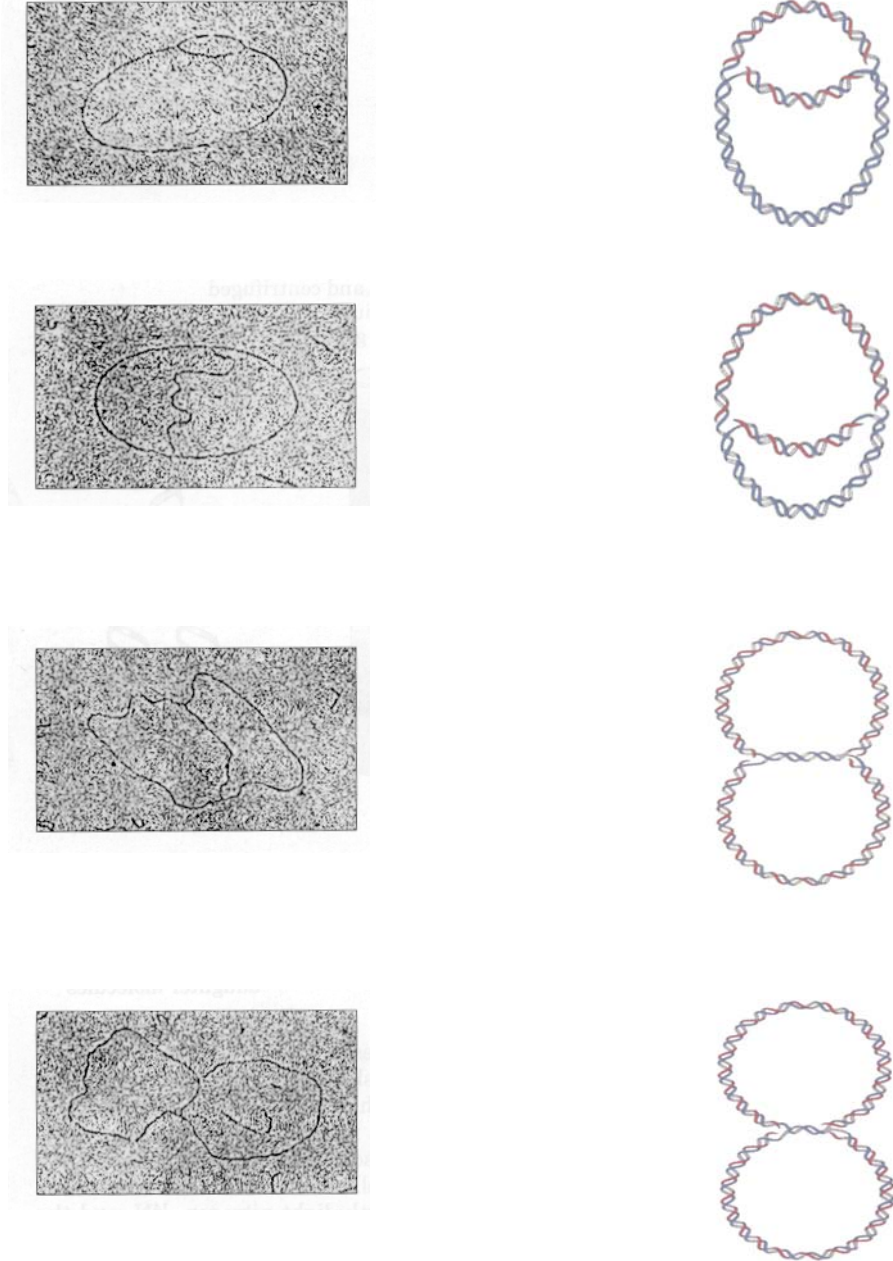
DNA sentezi, 5' → 3' yönünde ilerler; kalıp olarak görev gören kol 3' → 5' yönünde okunur:



E.coli'de DNA replikasyonu

E.coli'nin ana kromozomu, tek bir dairesel DNA molekülünden ibarettir. E.coli ve diğer birçok bakteri, **plasmid** denen küçük kromozomlara da sahiptirler. Plasmid DNA'sı, ana kromozomdan bağımsız olarak replike olur ki her hücrede 50 kadar plasmid kopyası bulunabilir.

E.coli kromozomunda dairesel şekilli DNA molekülünün replikasyonu, izolösin ve valin biyosentezinden sorumlu enzimleri kodlayan **ilv geni** yakınında bir noktadan başlar; saat yelkovanı yönünde ve aksi yönde aynı hızlarda ilerler; başlangıç noktasına göre iki zıt yönde bulunan ve triptofan biyosentezini gerçekleştiren enzimleri kodlayan **trp geni** yakınında son bulur:

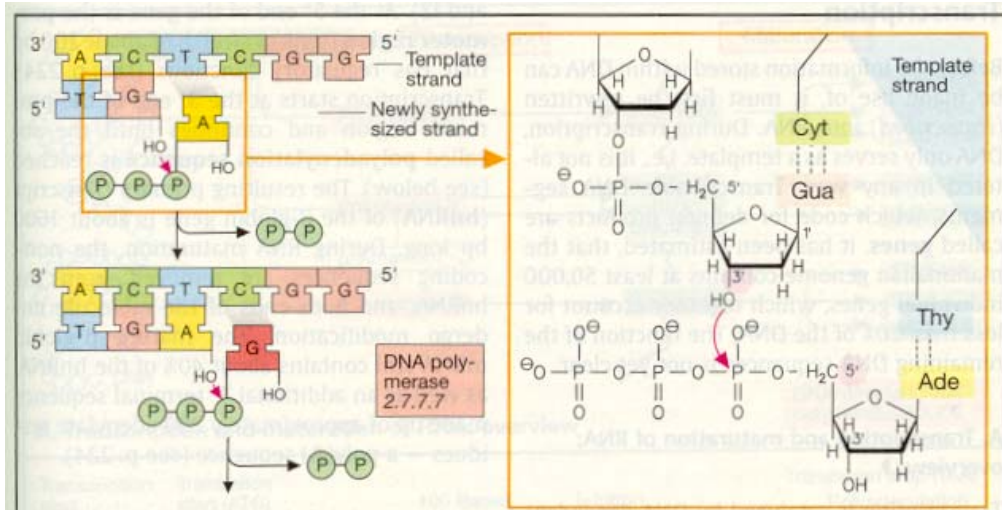
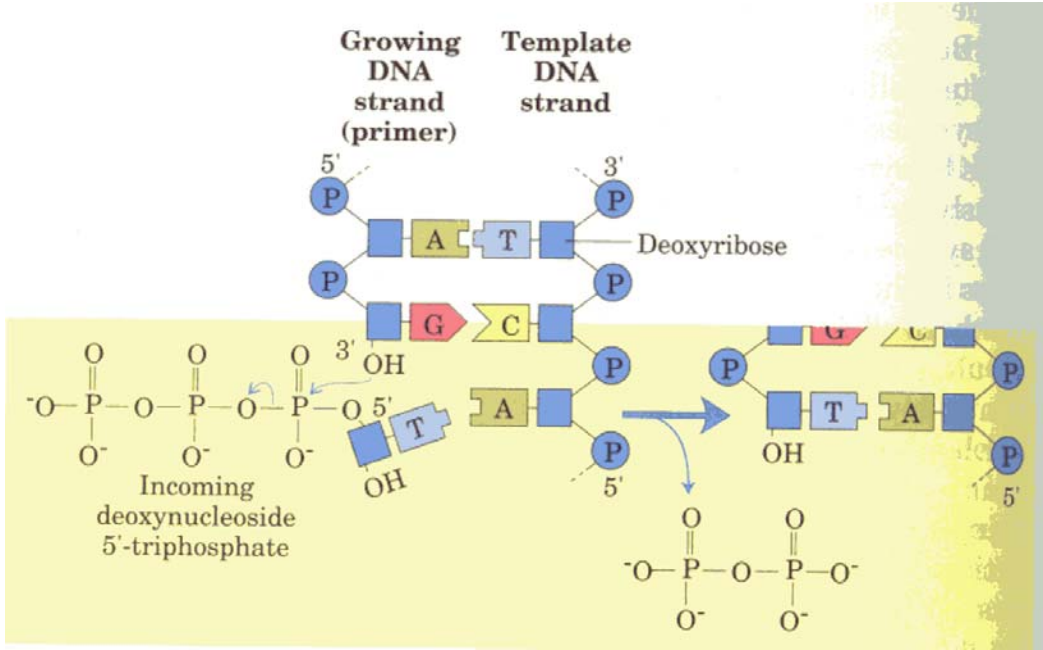


E.coli'de DNA replikasyonu beş aşamada gerçekleşir: 1) Parental çift heliksin açılması. 2) Bir oligonükleotid primerinin sentezi. 3) DNA zincirinin 5' → 3' yönünde büyümesi. 4) Primerin çıkarılması. 5) Yeni sentez edilen DNA zincirinin birleşmesi.

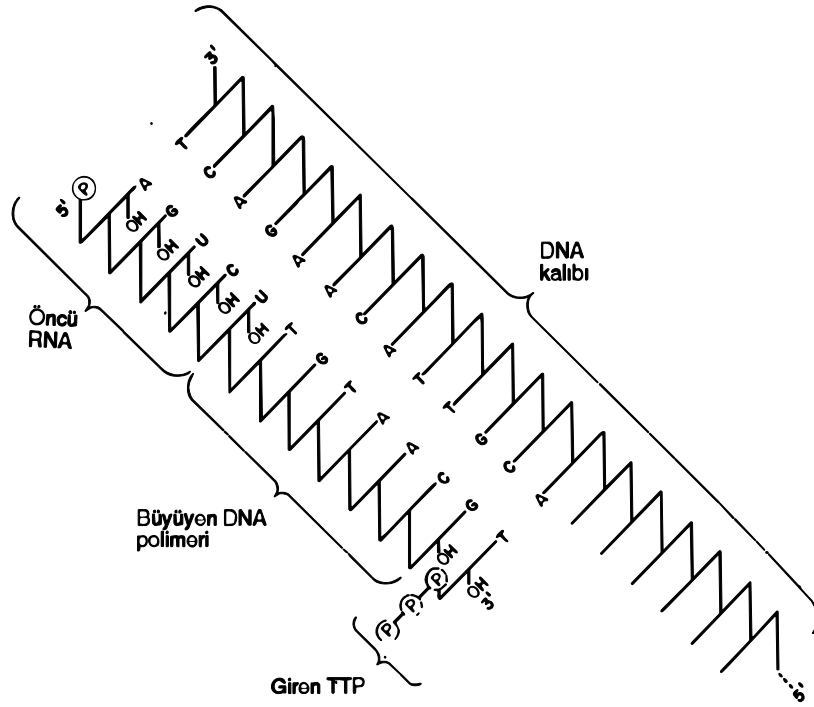
Helikaz denen bir enzim, replike olacak DNA çift heliksini kıvrımlarını açar. Önceleri DNA açılmasını sağlayan enzim olarak bilinen ve bir başka helikaz olan *rep protein* de şeridin ayrılmasını sağlar. *Çentikleyici ve yeniden kapatıcı enzimlere DNA topozomerazları* denilir.

Bir defa DNA kıvrımı açıldıktan sonra **primaz** denen spesifik bir *RNA polimeraz*, kromozom DNA'sının replikasyonunun başlangıcını temsil eden özel bir bölgesini tamamlayıcı ve primer RNA veya öncü RNA denen kısa bir RNA şeridi sentez eder. Öncü RNA sentezinin anahtarı, DnaB proteindir ki her hücrede 20 kadar DnaB protein molekülü bulunur. DnaB proteini, DNA'ya bağlandıktan ve primaz etkisini başlattıktan sonra replikasyon çatalında kalır.

DNA çift heliksi çatallanma noktasında açıldıktan ve primaz aşamaları tamamlandıktan sonra **DNA polimerazların** etkisiyle uygun deoksiniükleozid trifosfatlardan (dNTP) deoksiniükleozid monofosfatların (dNMP) girişiyle DNA polimerizasyonu başlar ve devam eder:



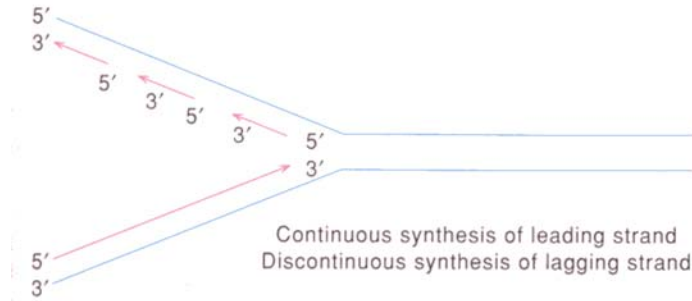
Tüm DNA polimerazlar, sentezi başlatabilmek için, serbest 3^I-OH grubu içeren bir primere gereksinim duyarlar ki primer, 10 nükleotidlik RNA'dır:



E.coli'den izole edilen üç çeşit DNA polimeraz vardır; bir *E.coli* hücresi, yaklaşık 400 molekül DNA polimeraz I, 40 molekül DNA polimeraz II ve 10 molekül DNA polimeraz III içerir:

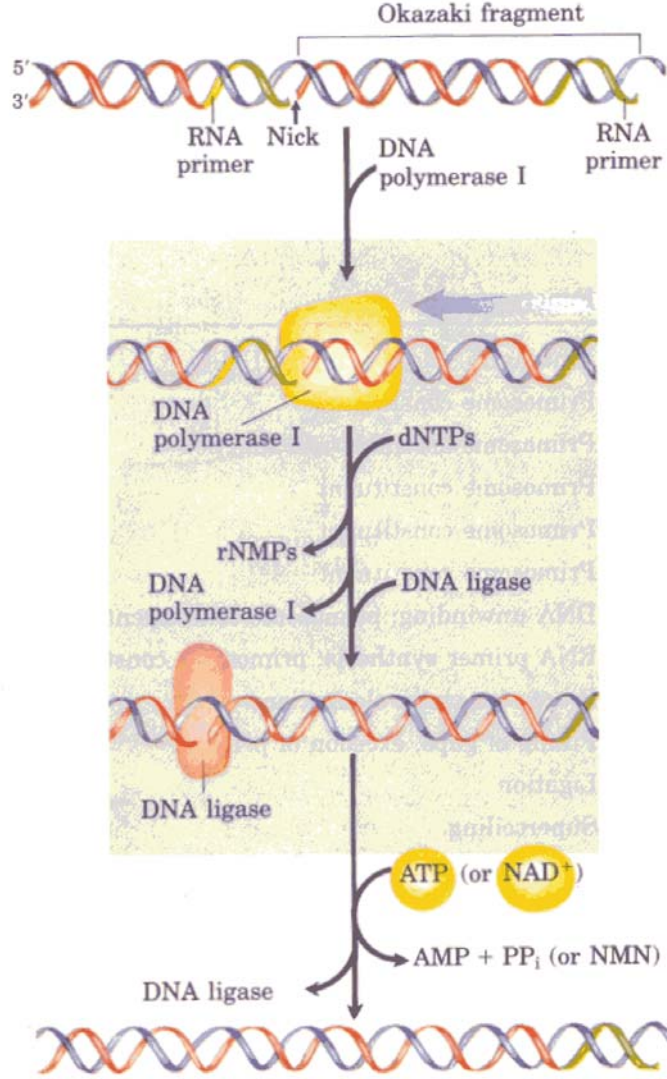
- **DNA-POLİMERAZ I:** 3'-5' EKZONÜKLEAZ+5'-3' EKZONÜKLEAZ+ POLİMERAZ
- **DNA-POLİMERAZ II:** 3'-5' EKZONÜKLEAZ + POLİMERAZ
- **DNA-POLİMERAZ III:** 3'-5' EKZONÜKLEAZ+ 5'-3' EKZONÜKLEAZ+ POLİMERAZ

Parental şeritler zıt kutuplu olduklarından, devamlı DNA sentezi, bir şerit üzerinde 5' → 3' aktivitesi olan DNA polimeraza, diğer şerit üzerinde ise 3' → 5' aktivitesi olan DNA polimeraza gereksinim gösterir. Bilinen bütün DNA polimerazlar zincir uzamasını özellikle 5'→3' yönünde katalize ettiklerinden zincir uzaması, öncü şerit denen şeritte devamlı olurken geciken şerit denen diğer şeritte kesintili olur:



Replikasyon, hem öncü şerit üzerinde hem geciken şerit üzerinde 5'→3' yönünde gerçekleşir. Geciken şerit üzerinde oluşan küçük polinükleotid parçalarına **okazaki parçaları** denmiştir; bunlar, DNA replikasyonunda ara ürünlerdir.

Okazaki parçaları sentez edildikten sonra DNA polimeraz I'in 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi vasıtasıyla RNA primeri çıkarılır; **DNA ligaz**, kalan çentikleri kapatır:



Yeni bir DNA şeridinin sentezi tamamlandıktan sonra **DNA giraz**, replike olmuş DNA'nın tekrar doğal haline kıvrılmasına yardımcı olur.

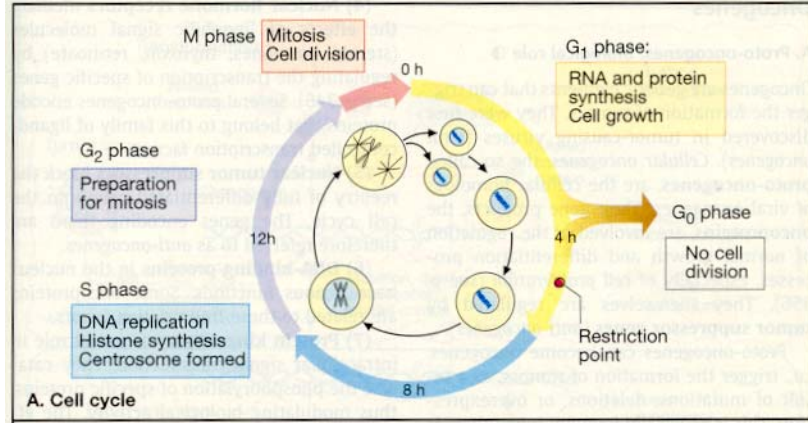
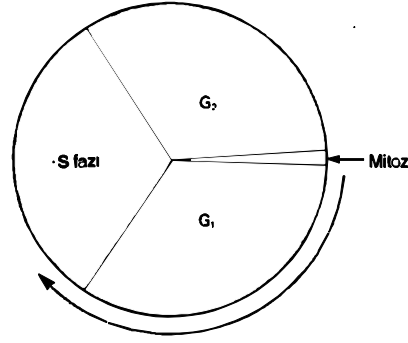
E.coli kromozomunun 4×10^6 baz çifti, *in vivo* olarak 37°C 'de 40 dakikada replike olur. *E.coli*'de DNA replikasyonundan sonra iki kromozom birbirinden ayrılır; fizyolojik bölünme ve hücre bölünmesiyle iki *E.coli* hücresi meydana gelir. Herhangi bir sebeple DNA replikasyonu durursa hücre bölünmesi olmaz.

Mitomycin A, alkilleme suretiyle; *distamycin A*, *streptonigrin* ve *bleomycin*, DNA ile kompleks oluşturma suretiyle prokaryotlarda DNA replikasyonunu inhibe ederler ve böylece bakteriyostatik etki gösterirler.

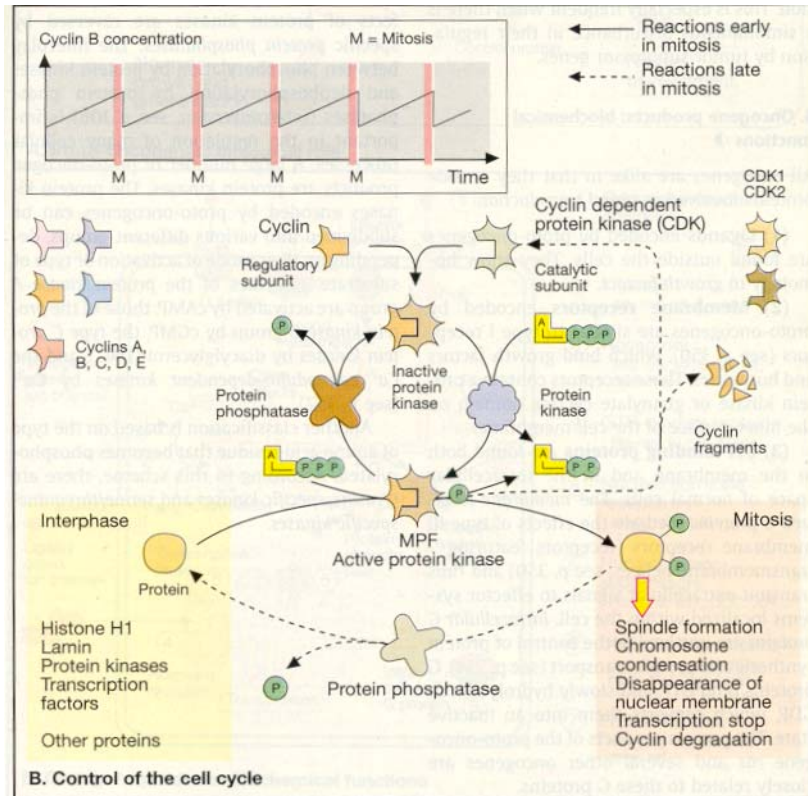
Ökaryotlarda DNA replikasyonu

Ökaryotik hücreler, prokaryotik hücrelere göre binlerce kat daha fazla DNA içerirler. Bölünme evresinde olmayan ökaryotik hücrede DNA, kromatin denen yapı içinde, histon adı verilen bazik proteinlerle kompleks halinde bulunur; kromatinde, nükleozom denen boncuk benzeri tanecikler ve bağlayıcı DNA şeridi kısımları vardır.

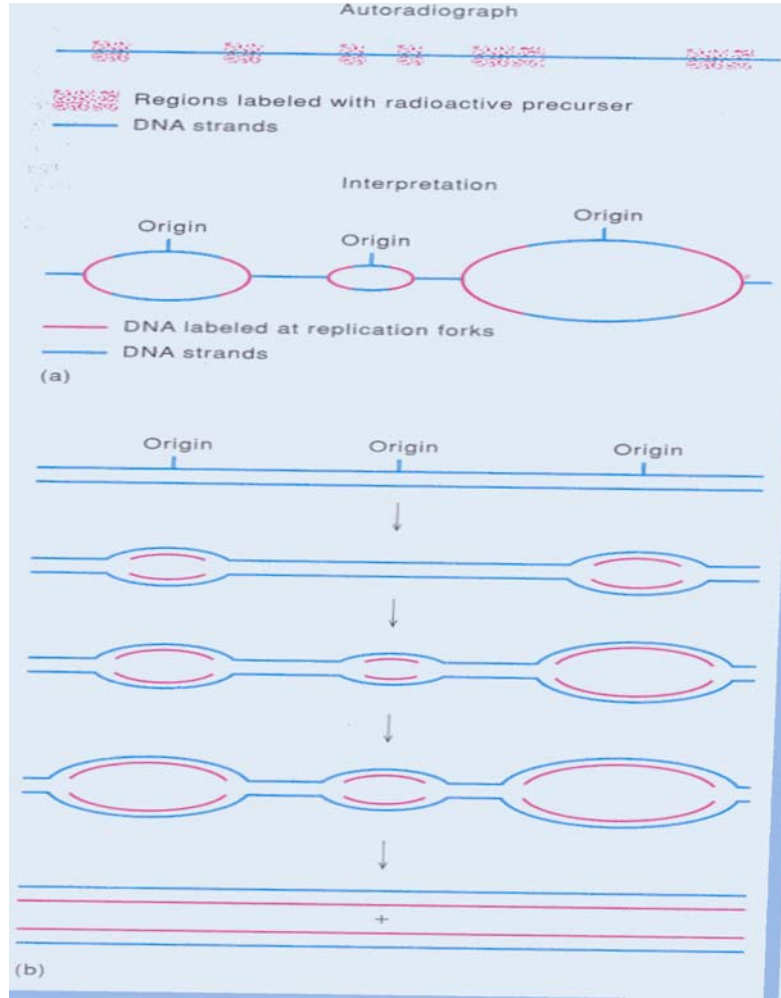
Ökaryotik hücrelerde aktif DNA replikasyonu, hücrenin yaşam sürecinde S-fazı diye tanımlanan dönemde gerçekleşir. S-fazı, G₁ ve G₂ aralıkları vasıtasıyla mitozdan ayrılmıştır:



G_1 , G_0 , S ve G_2 fazları topluca **interfaz** olarak adlandırılırlar. Hücre siklusunda interfaz ve mitoz karşılıklı olarak birbirini takip eder. Hücre siklusu, düzenleyici proteinlerin fosforile ve defosforile formlarının karşılıklı dönüşümleri vasıtasıyla düzenlenir:



Ökaryotik hücrelerde de DNA replikasyonu semikonservatifdir ve çift yönlü cereyan eder; öncü şeritte devamlı, geciken şeritte kesintili olur. Ancak ökaryotik hücrede DNA replikasyonu, kromatin üzerinde binlerce yerde birden başlar ve devam eder:



Replikasyon hızı, tek aşama için prokaryotlarda $20 \mu\text{m/dakika}$, ökaryotlarda $1 \mu\text{m/dakika}$ olduğu halde toplam replikasyon hızı ökaryot hücrede 100 kez daha hızlıdır.

Ökaryotik hücrelerde DNA replikasyonu ile birlikte nükleozomların da replikasyonu gerçekleşir; bu yüzden çok daha fazla kompleksir.

Ökaryotik hücrelerde DNA replikasyonu ile ilgili birçok protein nispeten daha az karakterize edilebilmişlerdir; ökaryotik hayvansal hücrelerde α , β , γ -DNA polimeraz tipleri bulunmuştur:

TİP	YERİ	ROLÜ	KÜTLESİ
α	Nükleus	Nükleer replikasyon	140 kD
β	Nükleus	Nükleer DNA tamiri	40kD
γ	Mitokondri	Mitokondrial replikasyon	150 kD

Mitomycin A, alkilleme suretiyle; distamycin A, streptonigrin ve bleomycin, DNA ile kompleks oluşturma suretiyle; cytosin-arabinosid, DNA polimeraz inhibisyonu suretiyle gibi maddeler çeşitli mekanizmalarla ökaryotlarda DNA replikasyonunu inhibe ederler.

Mutasyon ve mutajenler

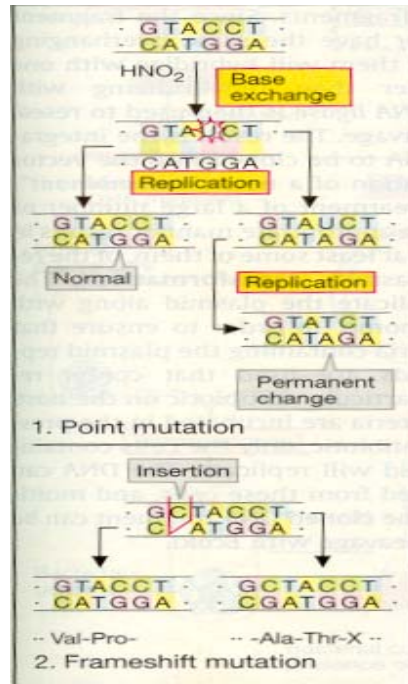
Mutasyon

DNA replikasyonu, kontrollü ve oldukça doğrudur. DNA replikasyonunda kopya edilen her 10^9 - 10^{10} baz çiftinde bir ortalama 1 hata (*Hatanın bu kadar az olmasının nedeni, sentezde birçok proteinin rol almasıdır.*) olabilir. Ayrıca UV, X-ışınları ve bazı kimyasal etkiler altında hücrenin DNA yapısı değişebilir.

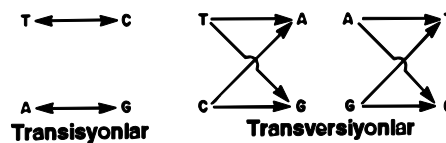
Çeşitli DNA hasar tipleri tanımlanmıştır: 1) Tek baz değişimi: Depürinasyon, C/U ve A/Hipoksantin dönüşümü, bazın alkilenmesi, nükleotid ekleme/çıkarma, baz analogunun bağlanması. 2) İki baz değişimi: UV ile T-dimeri oluşumu, iki fonksiyonlu alkilleme. 3) Zincir kırılması: İyonize edici radyasyon etkisiyle omurganın radyoaktif parçalanması. 4) Çapraz bağlanma: Aynı/zıt kollar arasındaki bazlar arasında, DNA/protein (histon) arasında

DNA'da meydana gelen hasarlar genellikle tamir edilir. DNA hasarı tamir edilmez de kalıcı olursa hücre ölümü gerçekleşebilir; hücre ölmezse, DNA'daki değişiklik genetik olarak aktarılır. DNA'nın azotlu baz dizisindeki kalıcı ve genetik olarak aktarılan değişikliklere **mutasyon** denir. Mutasyona sebep olan veya mutasyonun hızını artıran dış etkilere ise **mutajen** denir.

Genel olarak iki tip mutasyon vardır: 1) Nokta mutasyonu. 2) Kalıp değiştirme mutasyonu.



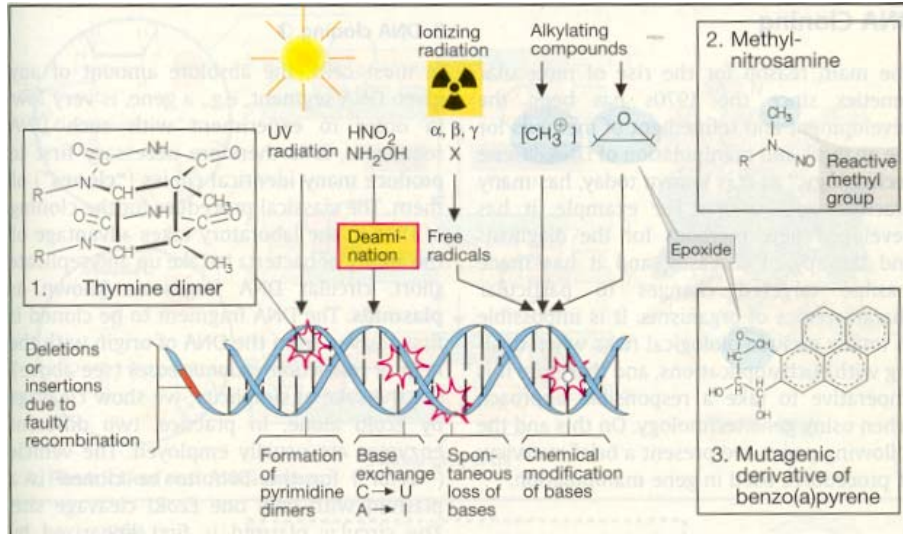
Nokta mutasyonu, total baz sayısı değişmeksizin bir bazın bir başka baz ile yer değiştirmesi şeklinde gerçekleşir. Pürin bazı pürin bazı ile veya pirimidin bazı pirimidin bazı ile yer değiştirirse *geçiş mutasyonundan* söz edilir. Pürin ve pirimidinlerden biri diğerinin yerine geçerse *çapraz mutasyon* söz konusudur:



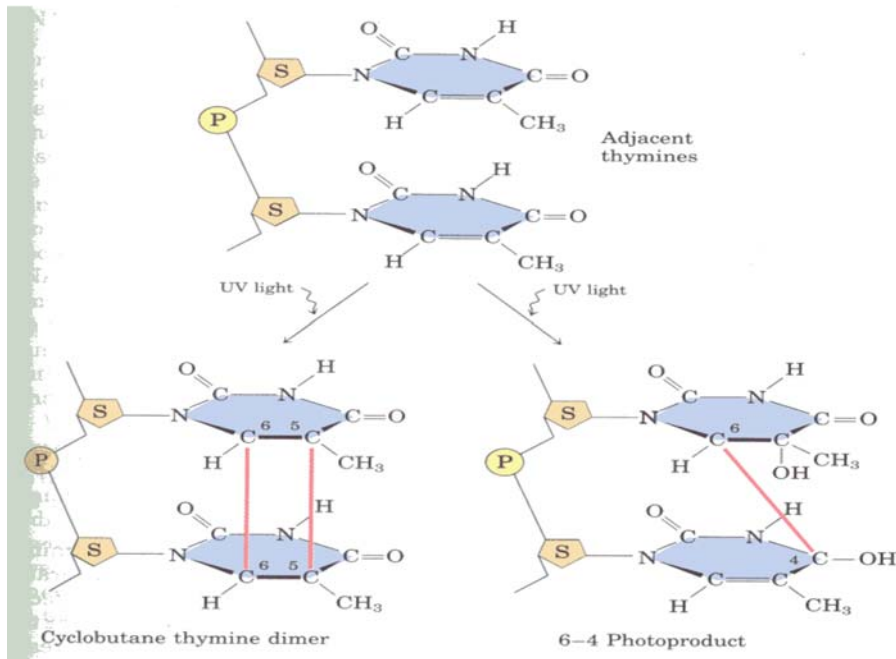
Kalıp değiştirme mutasyonu, DNA zincirine bir veya daha fazla baz eklenmesi şeklinde gerçekleşir; bir proteini kodlayan baz dizilişini değiştirir.

Mutajenler

Mutajenler, mutasyona sebep olan veya mutasyonun hızını artıran dış etkilere dir. UV ışınları, X-ışınları ve birçok kimyasal madde mutajen etki gösterirler:

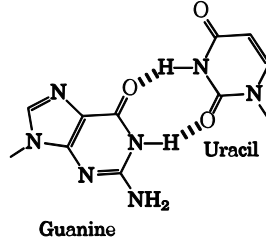


UV ışınları, bitişik timin bazlarının siklobutil dimerleri oluşturmasına neden olur:



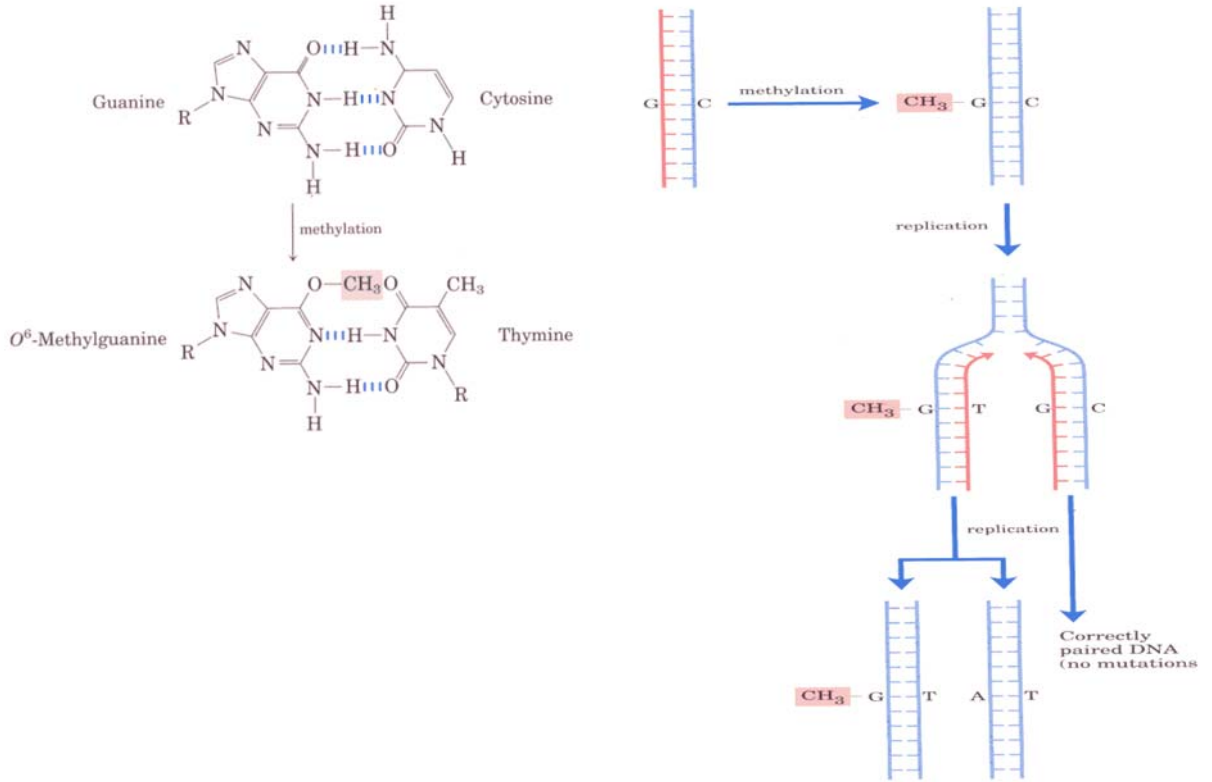
5-bromourasil, timin analogudur; yapısındaki brom(Br) atomu, timindeki metil(-CH₃) grubu ile aynı Van der Waals yarıçapına sahiptir. 5-bromourasilin mutajenitesi, laktam-laktim tautomerizasyon dengesinin laktime kaymasından ileri gelir. 5-bromourasilin laktim tautomeri adeninden daha çok guanin ile eşleşir ve 5-bromourasil-guanin baz çifti oluşturur; daha az sayıda 5-bromourasil-adenin baz çifti oluşturur.

Sodyum nitrit(NaNO₂), asit çözeltilerde nitroz asit oluşturur; serbest nitroz asit de DNA'daki bazların deaminasyonuna neden olur. Sitozinin deaminasyonundan urasil meydana gelir ve sitozin-guanin baz çiftinin yerini urasil-guanin baz çifti alır:



Hidroksilamin(H_2N-OH), sitozinle reaksiyona girip N^4 -hidroksisitozin oluşturur; bu da guanin yerine adeninle eşleşir.

Alkilleştirici etkenler, dimetilnitrozamin, dimetilsülfat, nitrojen mustard gibi maddelerdir; bunlar, DNA'nın yapısındaki bazıları alkillendirerek mutasyonlara neden olabilirler. Örneğin guaninin metilasyonu ile O^6 -metilguanin oluşur; bu da timin ile eşleşerek mutasyona neden olabilir:



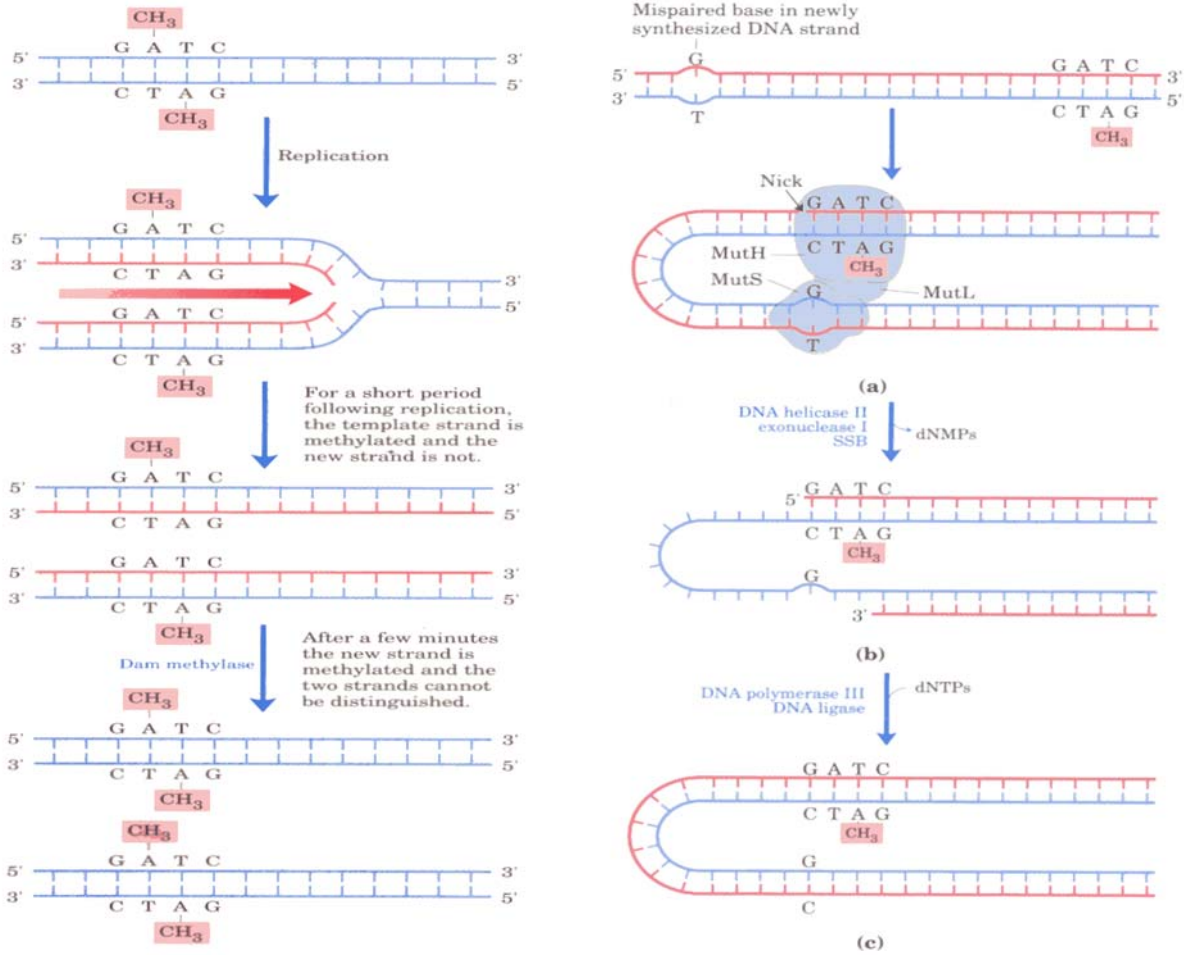
DNA'nın onarılması

Herhangi bir nedenle DNA'nın baz sırasında oluşan değişiklik, DNA'nın RNA ve protein sentezi için mesajını değiştirir; hatalı RNA ve protein sentezine neden olur. Bu nedenle DNA'nın baz sırasında oluşan değişikliklerin düzeltilmesi gerekir ki bu, DNA'nın onarılması diye tanımlanan bir süreçte gerçekleşir. DNA tamiri sırasında, **poli (ADP-riboz) polimeraz** enzimi aktivitesinin çok arttığı gösterilmiştir; enzim inhibe edilirse, tamir durur. Tamir bozursa, **DNA tamir hastalıkları** diye bilinen klinik durumlar ortaya çıkar. Örneğin doğuştan UV'ye aşırı duyarlılıkla karakterize *xeroderma pigmentosum* denen genetik hastalıkta T-dimerleri tamirinde bozukluk söz konusudur. *UV hasar tamirinde görevli enzimler, endonükleaz, fosfataz, ekzonükleaz, DNA-polimeraz, ligaz olarak sayılabilir. DNA-Ligaz, DNA sentez, tamir ve rekombinasyonunda görevli enzimdir.*

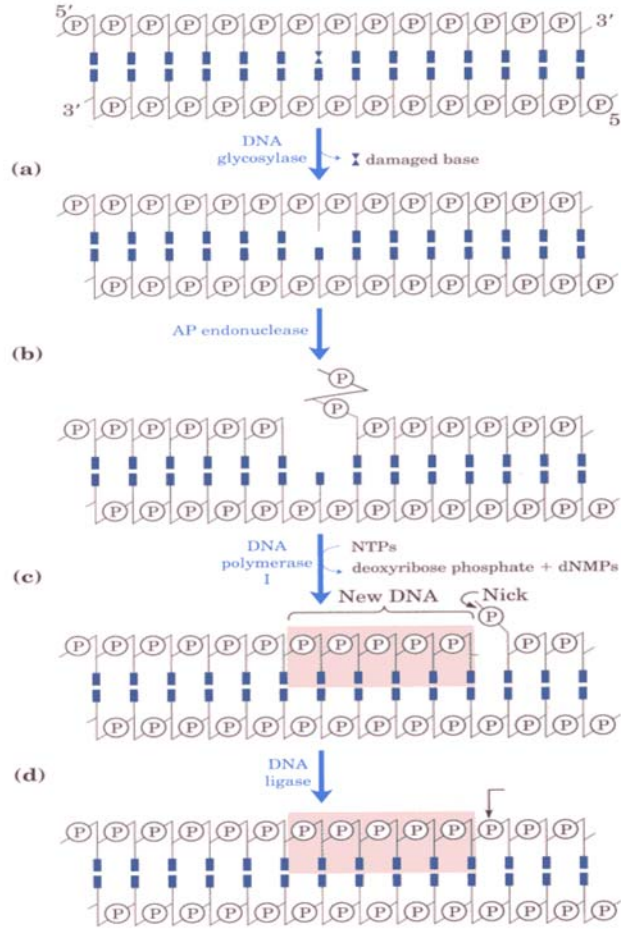
Hücrelerin onarılabilen tek molekülü DNA'dır. Bütün hücreler birçok DNA tamir sistemlerine sahiptirler ki bu DNA tamir sistemleri, birçok enzim ve protein kapsarlar ve belli DNA hasarlarını onarırlar:

System	Enzymes/proteins	Type of damage
Mismatch repair	Dam methylase MutH, MutL, MutS proteins DNA helicase II SSB DNA polymerase III Exonuclease I DNA ligase	Mismatches
Base-excision repair	DNA glycosylases AP endonucleases DNA polymerase I DNA ligase	Abnormal bases (uracil, hypoxanthine, xanthine); alkylated bases; pyrimidine dimers in some other organisms
Nucleotide-excision repair	ABC excinuclease DNA polymerase I DNA ligase	DNA lesions that cause large structural changes, e.g., pyrimidine dimers
Direct repair	DNA photolyases O ⁶ -Methylguanine- DNA methyltransferase	Pyrimidine dimers O ⁶ -Methylguanine

Mismatch tamir sistemi, uygun olmayan eşleşmeleri düzeltir:

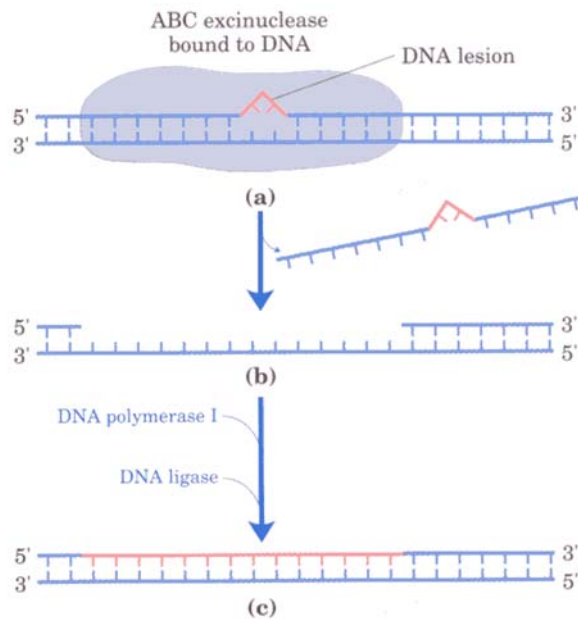


Baz-eksizyon tamir sisteminde önce DNA glikozilazlar vasıtasıyla hatalı baz çıkarılarak abazik yer oluşturulur:

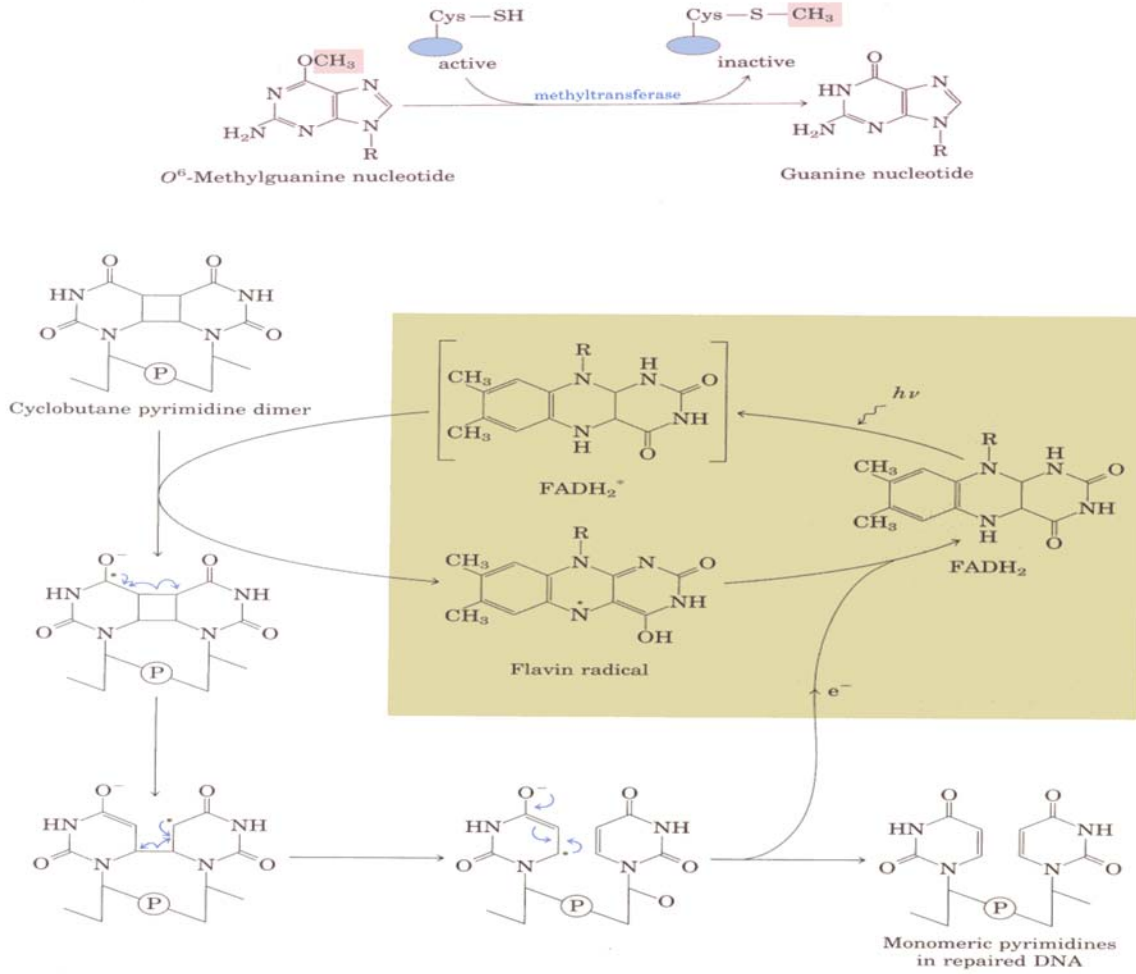


Tek baz değişiminin tamirinde görevli enzimler, spesifik N-glikozilaz, endonükleaz, DNA-polimeraz ve ligaz'dır.

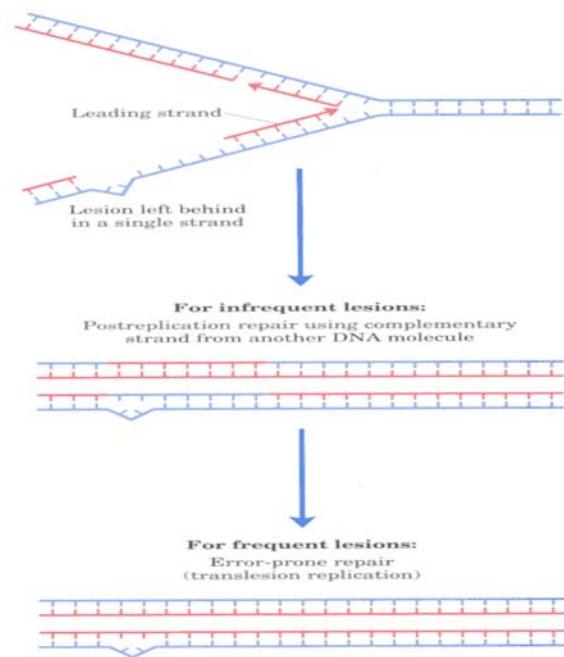
Nükleotid-eksizyon tamir sistemi, DNA'nın heliks yapısında büyük değişiklik oluşturan hasarları tamir eder:



Direkt tamir sisteminde DNA hasarının tamiri, baz veya nükleotid çıkarılması olmadan gerçekleştirilir:



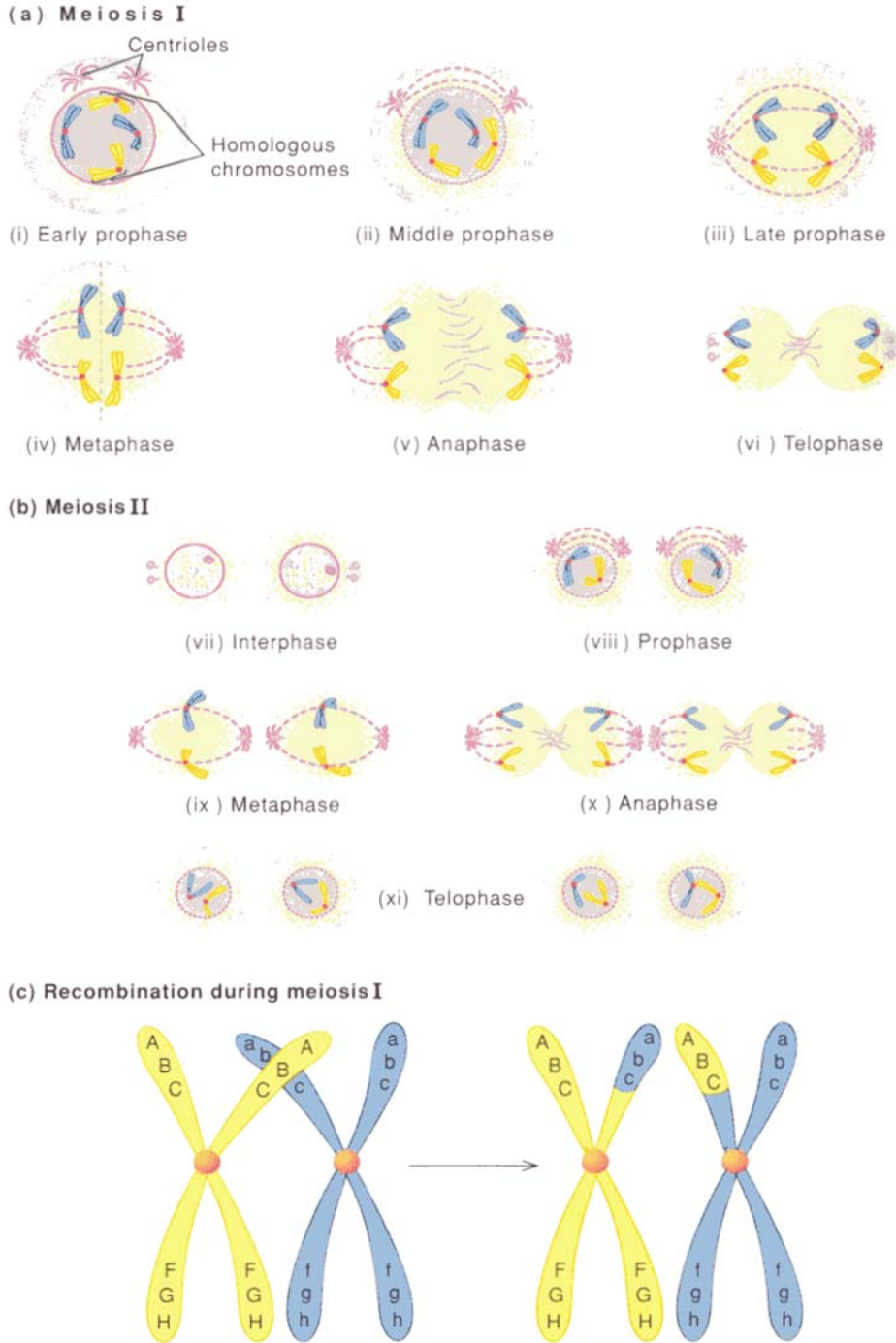
Çok büyük DNA hasarlarının tamiri, hataya eğilimli olur:



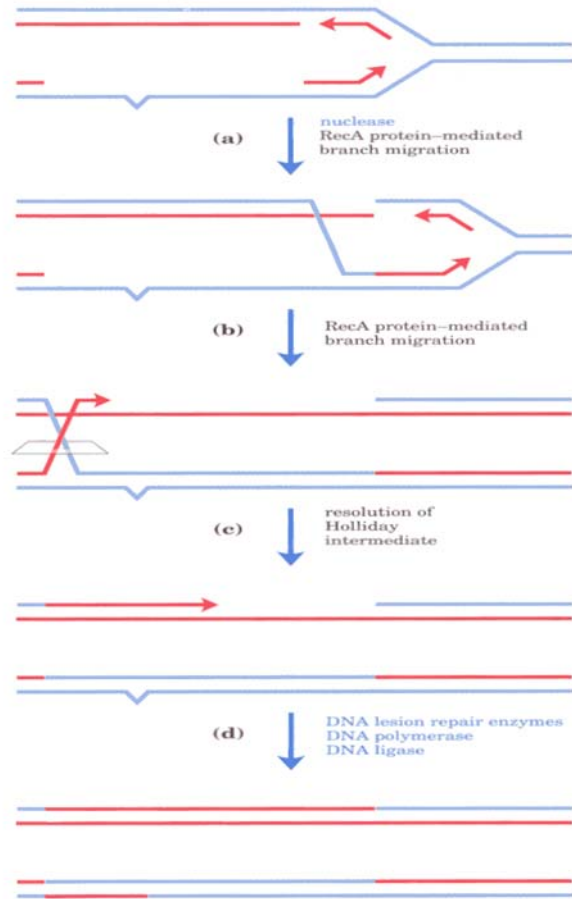
DNA rekombinasyonu

DNA rekombinasyonu, DNA segmentlerini veya kromozomları yeniden düzenleyen süreçtir. DNA rekombinasyonunun birçok farklı işlevi vardır ve çeşitli şekillerde olur. DNA rekombinasyonunun esas olarak üç tipi vardır: 1) Genel rekombinasyon. 2) Bölgeye özel rekombinasyon. 3) Nonspesifik rekombinasyon.

Genel rekombinasyon, kromozomların özdeş veya benzer segmentleri arasında yer değişimi şeklinde gerçekleşir; homolog ökaryotik kromozomları arasında meiosis sırasında gerçekleşen homolog genetik rekombinasyon, ovum ve sperm oluşurken genlerin yeni kombinasyonlar üretmesini sağlar:

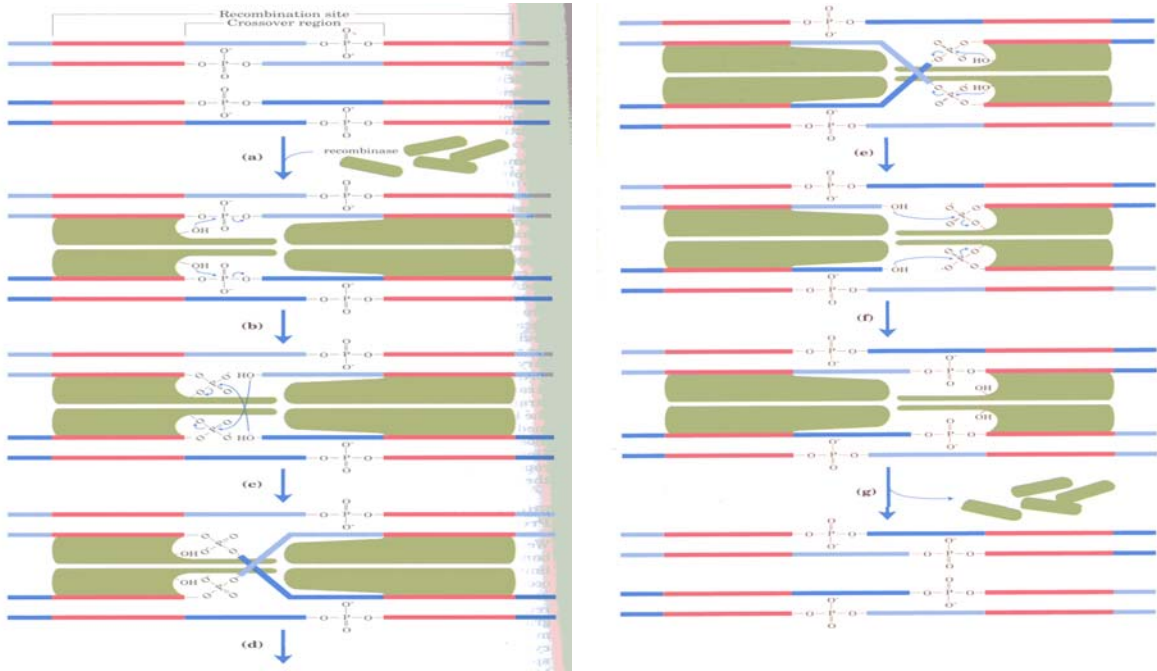


Rekombinasyon, DNA tamiri için de önemli bir yoldur:

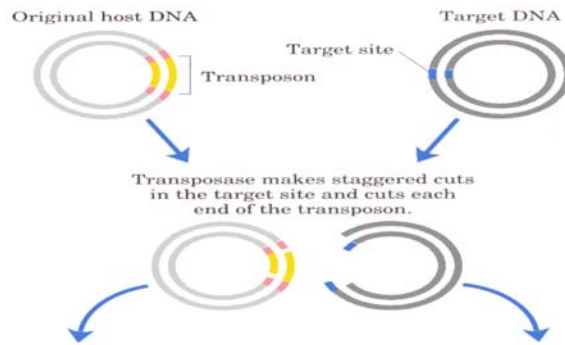
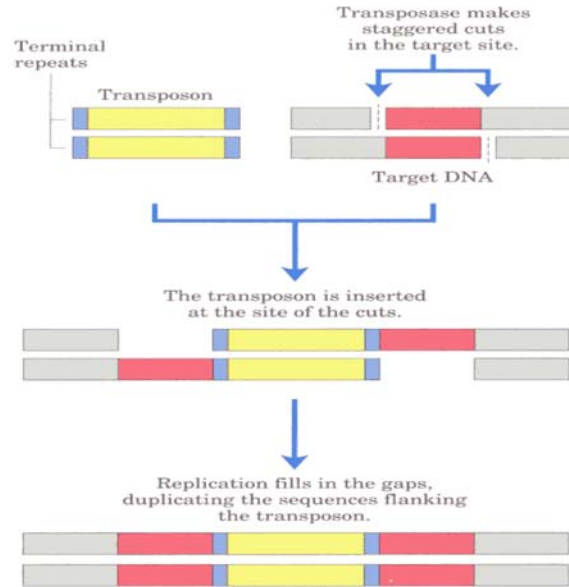


DNA-Ligaz, DNA sentez, tamir ve rekombinasyonunda görevli enzimdir.

Bölgeye özel rekombinasyon, bir DNA parçasının genomdaki özel bir bölgeye yerleşmesi şeklinde gerçekleşir; DNA'nın doğru düzenlenmesinde önemlidir.

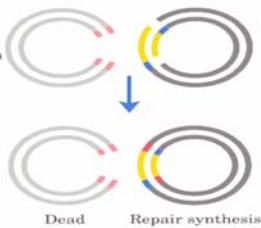


Nonspesifik rekombinasyon, genetik elementlerin bir yerden başka bir yere geçişidir. Deneysel DNA rekombinasyon tekniği ile farklı türlere ait DNA parçaları birleştirilebilirler ve böylece rekombinant DNA diye tanımlanan DNA molekülü oluşturulabilir. Bir DNA parçasının bakterilerde ekstrakromozomal DNA olan plazmid içine sokularak çoğaltılması DNA rekombinasyon teknolojisi ile mümkün olabilmektedir:



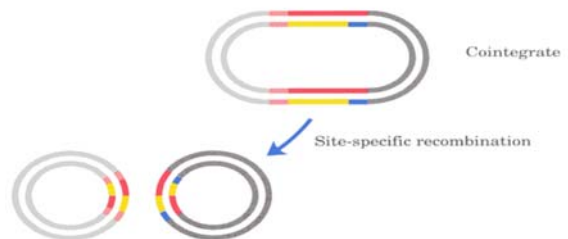
Direct (simple) transposition
A second set of cuts completely separates the transposon from the original host DNA. Transposon ends are joined to target site DNA.

DNA polymerase completes the target site duplication.



Replicative transposition
Transposon ends are joined to target site DNA.

DNA polymerase begins to copy each transposon strand after joining the cut ends to the target site DNA.

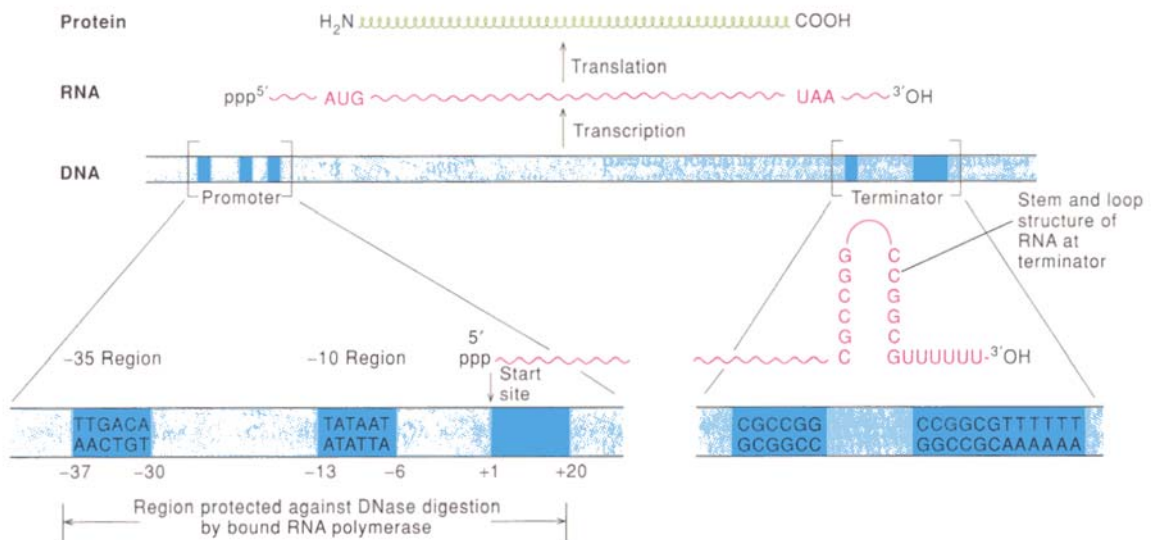


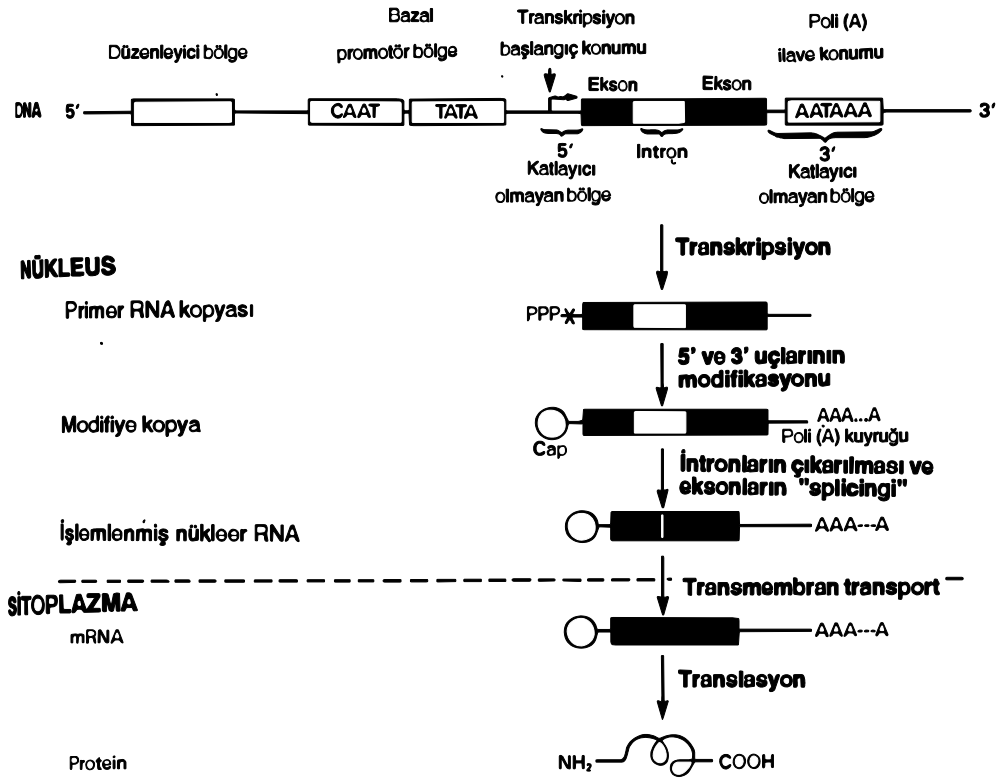
Rekombinant DNA araştırmalarında çeşitli enzimler kullanılmaktadır:

Enzim	Reaksiyon	Primer Kullanım
Alkalin fosfataz	RNA ve DNA'nın 5' uçlarını defosforile eder.	Kendi kendine bağlanmayı engellemek için kinaz işaretlemesinden önce 5'-PO ₄ gruplarının uzaklaştırılması.
Bal 31 Nukleaz	DNA'nın 3' 5' uçlarının ikisini de yıkılma uğratır.	DNA moleküllerinin ilerleyici kısalması.
DNA ligaz	DNA molekülleri arasındaki bağları katalize eder.	DNA moleküllerinin bağlanması.
DNA polimeraz I	Tek hatatlı DNA'dan çift hatatlı DNA sentezler.	Çift hatatlı C- DNA'nın çevirisi; çentik çevirisi.
DNaz I	Uygun koşullar altında, tek hatatlı DNA'da çentikler oluşturulur.	Çentik çevirisi; aşırı duyarlı konumların haritalandırılmaları.
Ekzonukleaz III	DNA'nın 3' uçlarından nukleotitleri uzaklaştırır.	DNA dizelenmesi, DNA protein etkileşimlerinin haritalandırılması..
λ Ekzonukleaz	DNA'nın 5' uçlarından nukleotitleri uzaklaştırır.	DNA dizelenmesi
Polinukleotit Kinaz	Terminal fosfatı (γ pozisyonu) ATP'den DNA veya RNA'nın 5' OH gruplarına nakleder.	DNA veya RNA'nın P ₃₂ ile işaretlenmesi.
Zit transkriptaz	RNA kalıbından DNA sentezler.	mRNA'dan cDNA'nın sentezi; RNA (5' ucu) haritalama çalışmaları.
SI nukleaz	Tek hatatlı DNA'yı yıkar.	cDNA sentezinde "firkete" uzaklaştırılması; RNA haritalama çalışmaları (hem 5' hem de 3' uçlarında)
Terminal transferaz	DNA'nın 3' uçlarına nukleotitleri ilave eder	Homopolimer kuyruklaşma

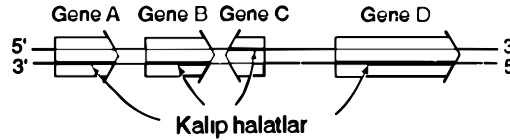
Transkripsiyon

DNA'nın nukleotid dizisi, organizmanın protein moleküllerinin tümünün sentezinde bilgi kaynağıdır. Ancak bir protein molekülünün sentezi için, o protein molekülüne ait olarak DNA'da saklanan genetik bilgilerin önce bir RNA molekülüne kopyalanması gerekir. Bir protein molekülüne ait olarak DNA'da saklanan genetik bilgilerin bir RNA molekülü (mRNA, tRNA, rRNA) sentezi suretiyle kopyalanması veya yazılmasına **transkripsiyon** adı verilir. Transkripsiyonla RNA'ya kopyalanan, bir protein molekülüne ait genetik bilgilerin okunması veya bir protein molekülü haline çevrilmesine **translasyon** adı verilir. Bir DNA molekülünde saklanan genetik bilgilerin kullanılarak spesifik proteinlerin sentez edilmesi yani transkripsiyon ve translasyon olaylarının toplamı, **gen ifadesi (gen ekspresyonu)** olarak tanımlanır:

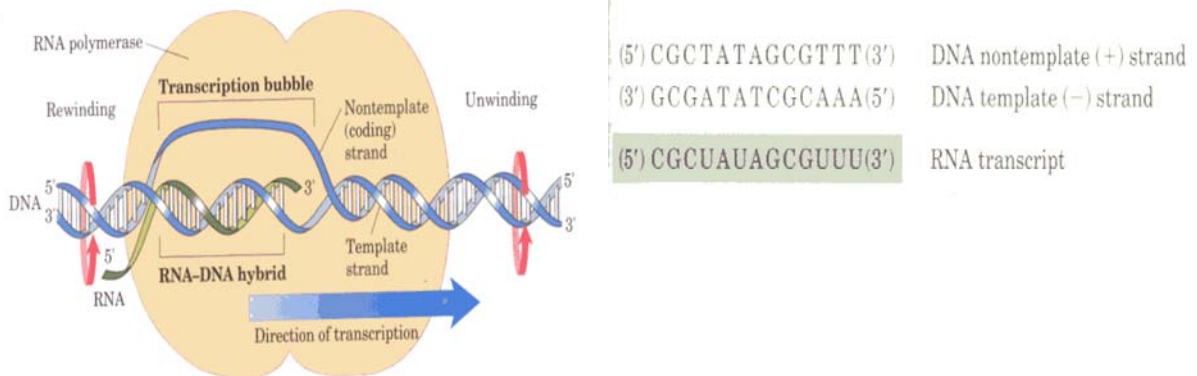




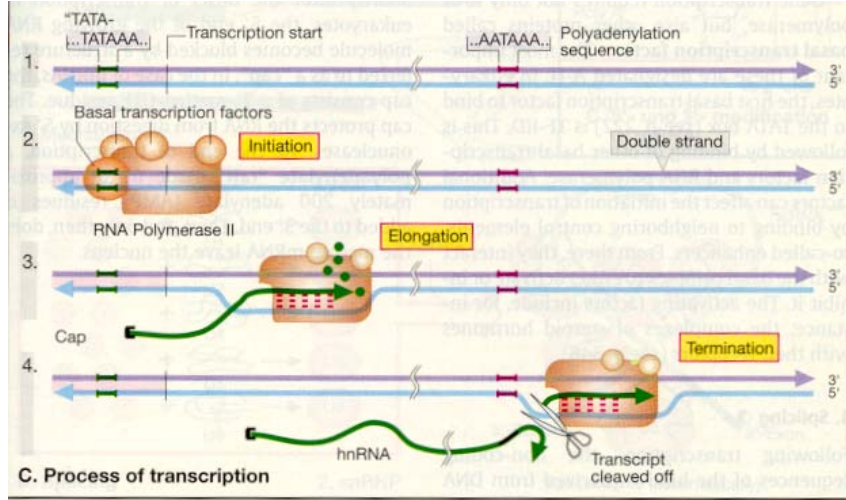
Transkripsiyon olayı ile, bir DNA kalıbından bir RNA molekülü sentezlenir. Çift kollu DNA molekülünde bir kol, bazı genler için kalıp kol olarak bazı genler için ise kalıp olmayan kol olarak görev görebilir; bir DNA molekülü üzerinde çeşitli kalıp kollar bulunur.



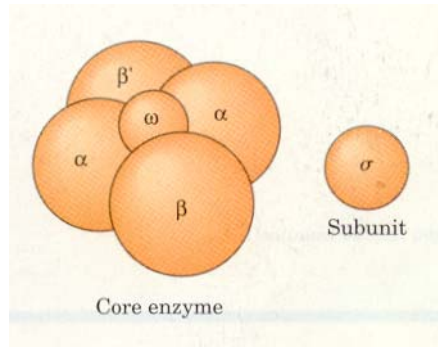
Bir RNA molekülündeki ribonükleotidlerin dizilişi, çift kollu DNA molekülünün *kalıp kol* olarak anılan bir kolundaki deoksiribonükleotidlerin dizilişinin tamamlayıcısıdır:



Bir RNA molekülü, DNA'nın kalıp kolunun dizilişini bütünleyici ribonükleotidlerin ATP, GTP, CTP ve UTP'tan pirofosfatlar ayrılması suretiyle polimerizasyonu sonucunda, 5' → 3' yönünde sentezlenir. RNA sentezi için *RNA polimeraza*, başlama ve sonlanma sinyallerine gereksinim vardır:



E.coli'de *RNA polimeraz*, bir merkez enzim ve sigma faktörü ile birlikte holoenzim oluşturur:



Sigma (σ) *faktörü*, DNA üzerinde bulunan promotör bölgeyi tanıyarak RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasına yardım eder. *DNA üzerinde bulunan promotör bölge, transkripsiyon başlama sinyallerini içerir ki bu sinyaller, prokaryotlarda ve ökaryotlarda farklıdır:*

PROKARYOT:

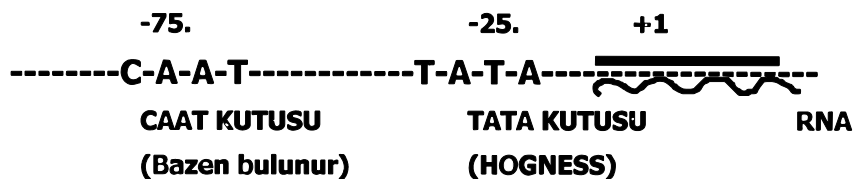


-35. BÖLGESİ

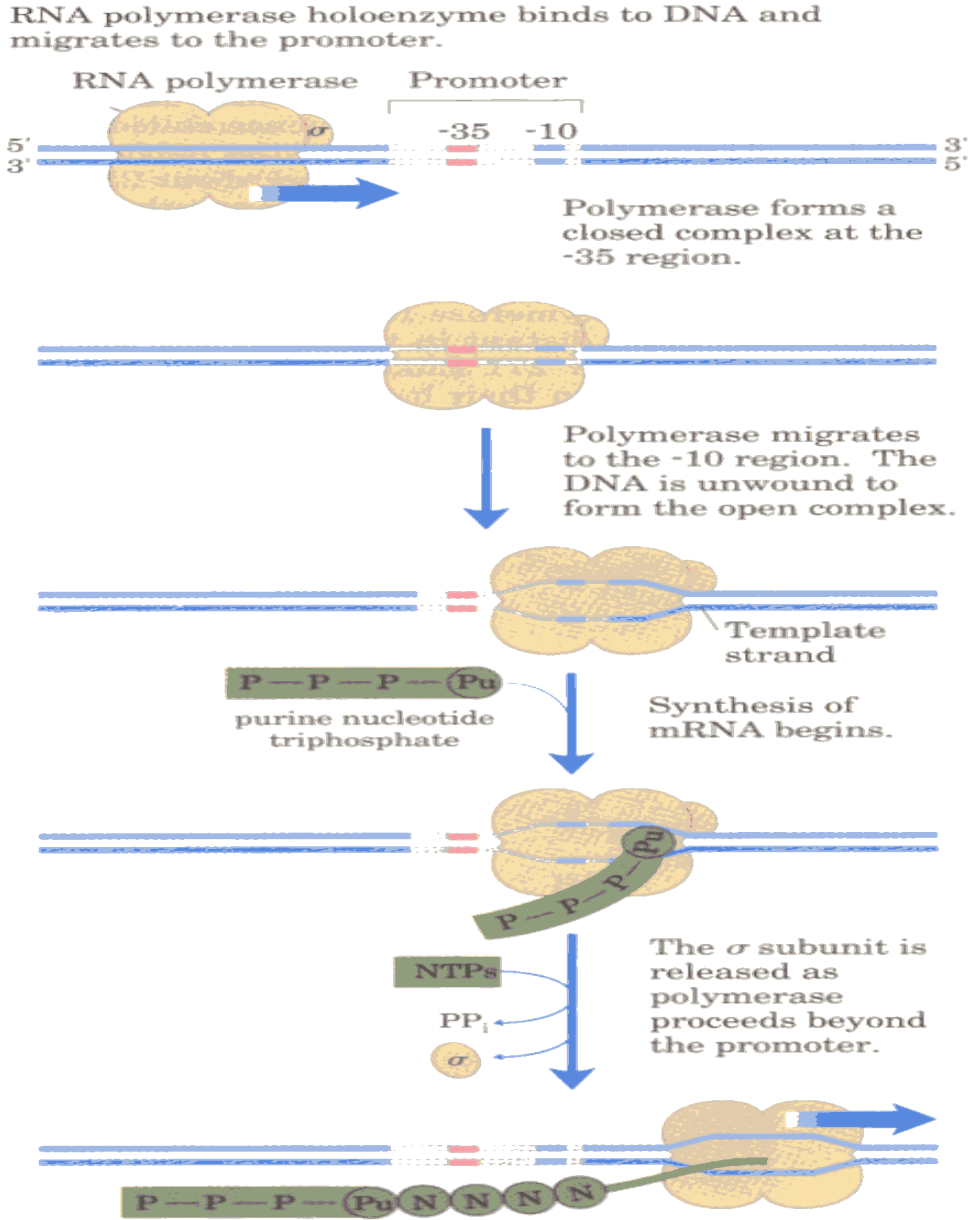
PRİBNOW KUTUSU

RNA

ÖKARYOT:



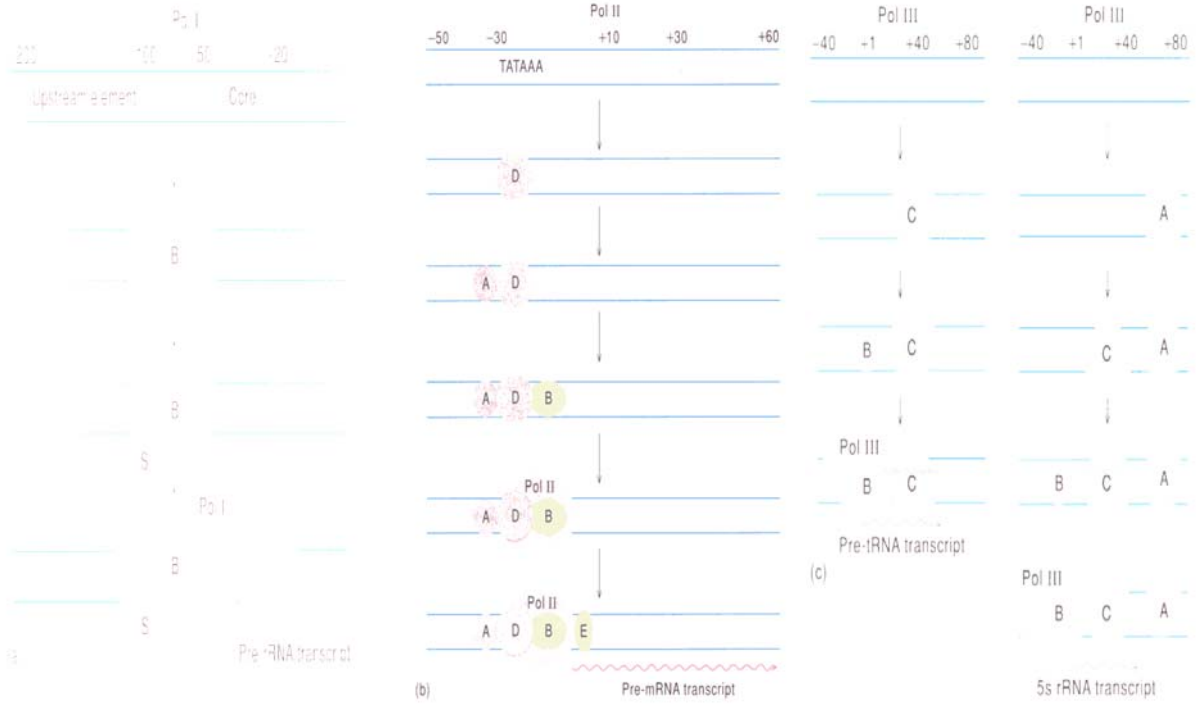
RNA sentezi (transkripsiyon) başlayacağı zaman, kopyalanacak kalıp DNA kolunun 3' tarafına, RNA polimeraz bağlanır ve promoter bölgeye doğru göç eder. Start yerinden itibaren RNA polimeraz kalıp kol tarafından yönetilen ve baz eşleşmesi kuralları tarafından yorumlanan spesifik bir diziliş içinde ribonükleotidleri polimerize ederken pirofosfatlar serbest bırakılır:



Hem prokaryotlarda hem ökaryotlarda RNA molekülünde ilk ribonükleotid, bir pürin ribonükleotididir. RNA polimerazın merkez enzimini içeren RNA uzama kompleksi DNA molekülü boyunca ilerlerken uygun bazlı ribonükleotid trifosfatların kalıp kolun nükleotidlerine ulaşmasını sağlamak için DNA heliksi 17 baz çifti kadar açılır.

RNA molekülü sentezi, RNA polimeraz RNA'nın kalıp koldan ayrılmasını sağlayan bir diziye rastlayıncaya kadar devam eder. Transkripsiyonun sonlanması için, bir rho (ρ) faktöre dayanan ve ρ -dan bağımsız (firkete yapı oluşumu ile ilişkili) mekanizmalar vardır.

Ökaryotlarda her biri farklı tür RNA sentezinden sorumlu üç tip RNA polimeraz vardır:



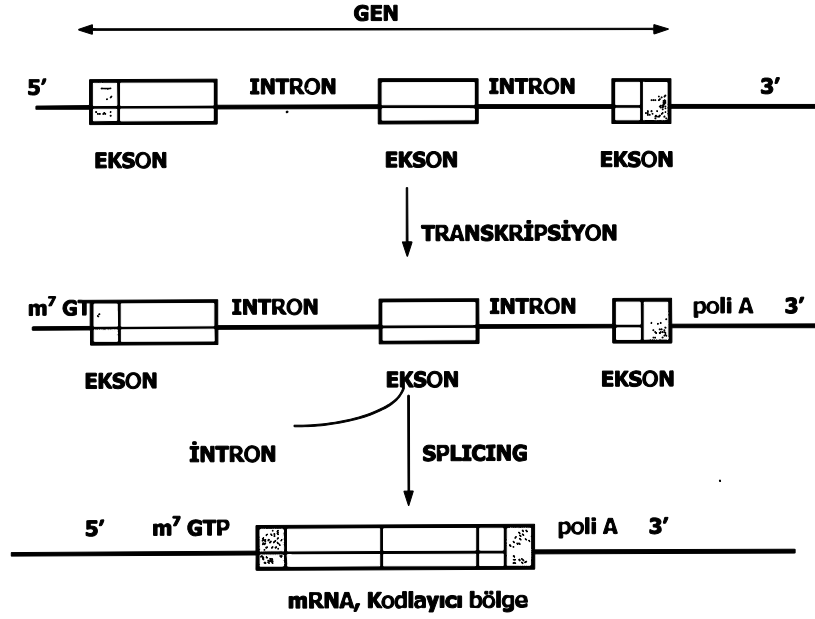
Mitokondride, mitokondriyal RNA sentezinden sorumlu RNA-Polimeraz IV de tanımlanmıştır:

ENZİM	ÜRÜN	HÜCREDEKİ YERİ
I	r RNA	Nukleolus
II	hn RNA (m RNA)	Nükleus
III	t RNA, 5s RNA	Nükleus
IV	Mitokondrial RNA	Mitokondri

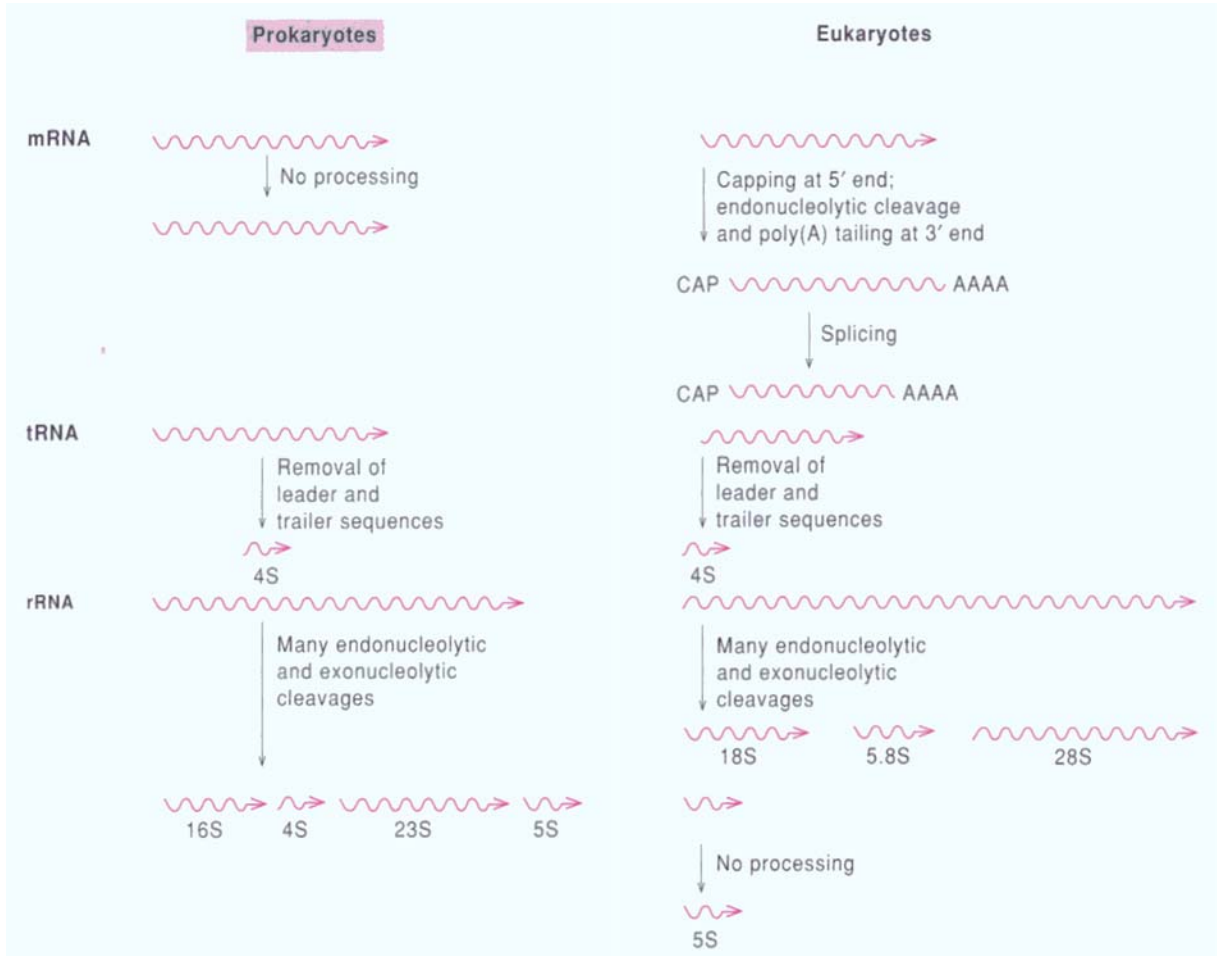
Transkripsiyonda bir fosfodiester bağı oluşumu için hız sabit olduğu halde toplam transkripsiyon hızı, gen kopya sayısına ve birim zamanda RNA-polimeraz start sayısına bağlı olarak değişir

Çoğu kanser tedavisinde kullanılan bazı antibiyotikler transkripsiyonu inhibe etmektedirler: Actinomycin D, prokaryotlarda ve ökaryotlarda, guanin bağlanması üzerine etkilidir. Daudonmycin ve distamycin A, prokaryotlarda ve ökaryotlarda, DNA üzerine etkilidirler. Rifampicin, prokaryotlarda RNA polimeraz inhibitörüdür. α amanitin, ökaryotlarda RNA polimeraz inhibitörüdür.

Transkripsiyon sonunda oluşan RNA'lar primer RNA'lar diye adlandırılırlar ve genellikle hemen kullanılmazlar; **RNA processing** diye tanımlanan bazı işlemlerden geçtikten sonra işlev görebilecek olgun RNA'lar haline gelirler:

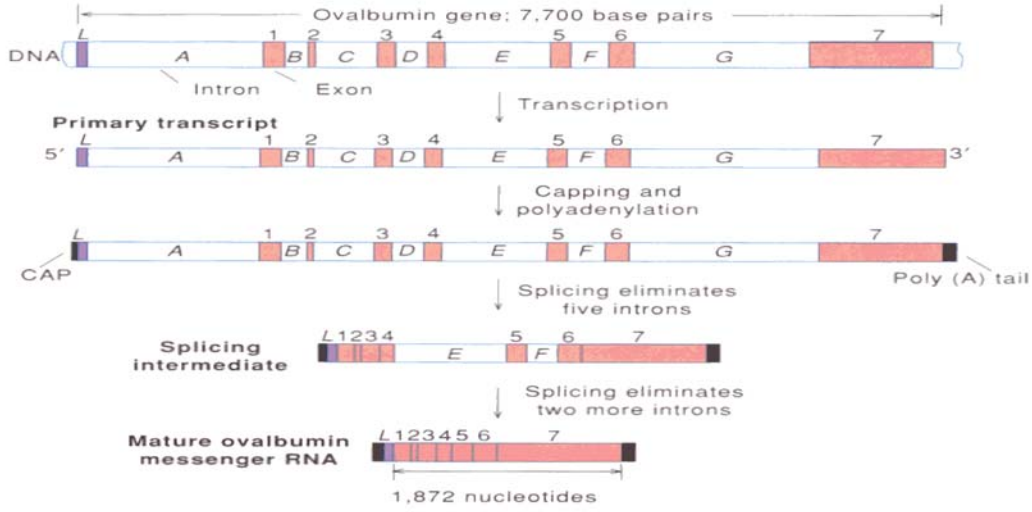


Primer RNA'ların RNA processing vasıtasıyla olgun (matür) RNA haline dönüşmesi, prokaryotlarda tRNA ve rRNA'larda gözlemlendiği halde ökaryotlarda tüm RNA türlerinde gözlenir:

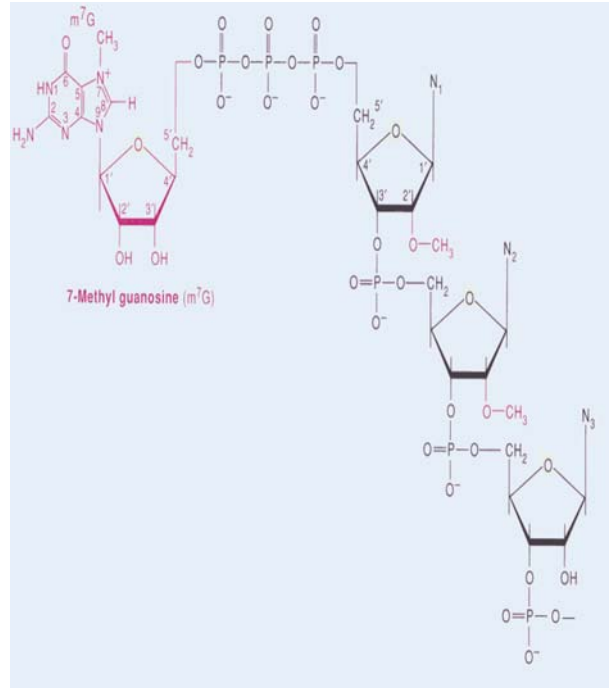
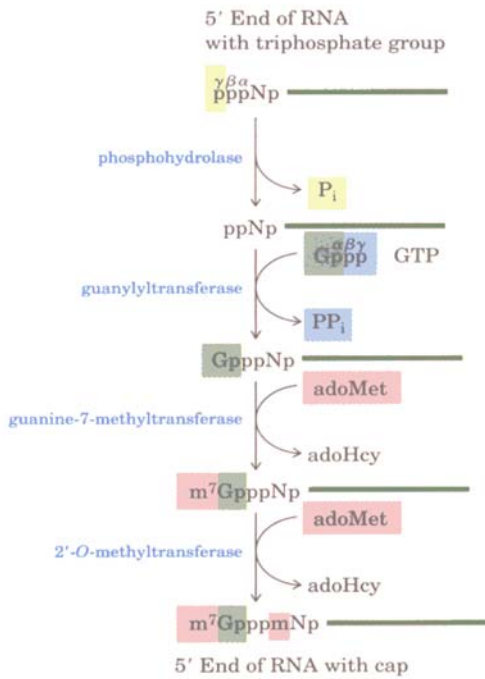


Ökaryotlarda hücre çekirdeğinde bulunan RNA'lar **heterojen nüklear RNA (hnRNA)** olarak adlandırılırlar ki bunların sadece az bir kısmı sonradan sitozolde mRNA olarak görülürler.

mRNA oluşumu için hnRNA'nın geçirdiği RNA processing üç işlemi kapsar: 1) 3' ucuna poliadenilat (poliA) takısı takılması. 2) 5' ucunun *cap strüktür* denen yapı ile kapatılması. 3) Primer RNA molekülü içinden bazı bölgelerin çıkarılması (Splicing). Örneğin bir ovalbumin mRNA'sının olgunlaşması şu şekilde şematize edilebilir:

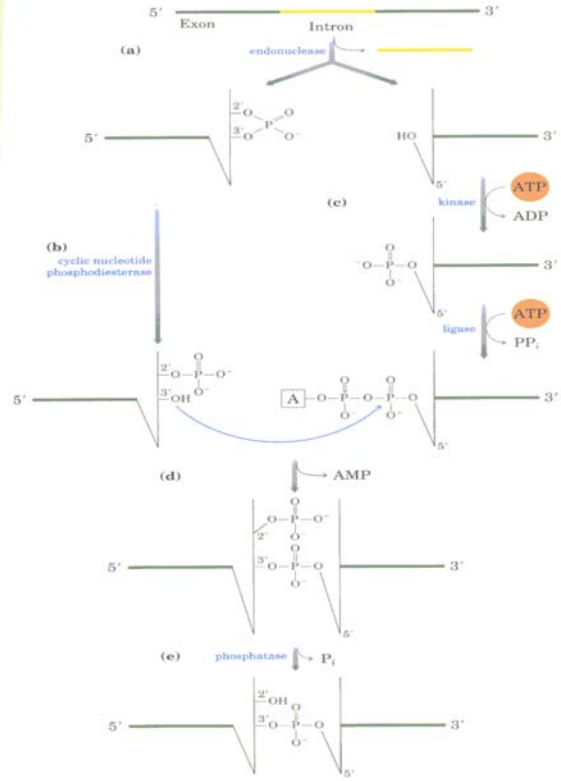
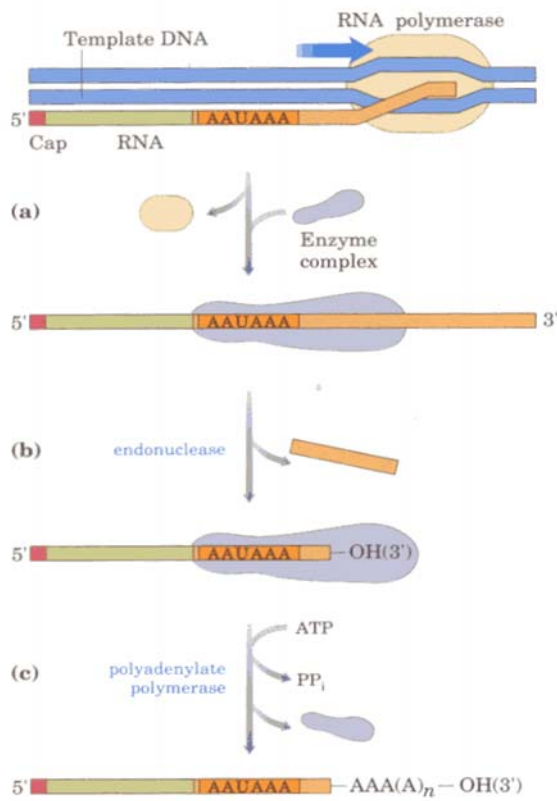


Bir ökaryotik mRNA'nın 5' ucunun *cap strüktür* denen yapı ile kapatılması, 5' ucuna trifosfat bağı vasıtasıyla N-7-metilguanozin bağlanması suretiyle olur:



CAP, kapak veya başlık yapısıdır; 5' ekzonükleazların etkisinden molekülü korur; mRNA'yı, splicing gibi processing olayları için uygun substrat (*cap-mRNA*) haline getirir; protein sentezinde ribozomların bağlantı bölgesini işaret eder.

Bir ökaryotik mRNA'nın 3' ucuna poliadenilat (poli A) takısı takılması ve splicing işlemleri çeşitli enzimleri gerektirir:

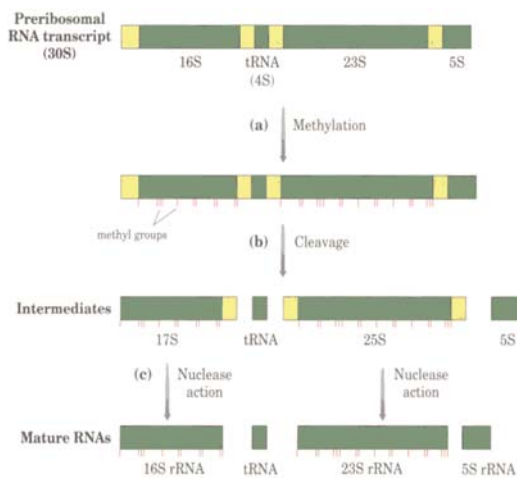


Poli A takısı, sitoplazmada veya nükleusta eklenir. Bazı türlerde poli A takısı eklenmesiyle transkripsiyon biter.

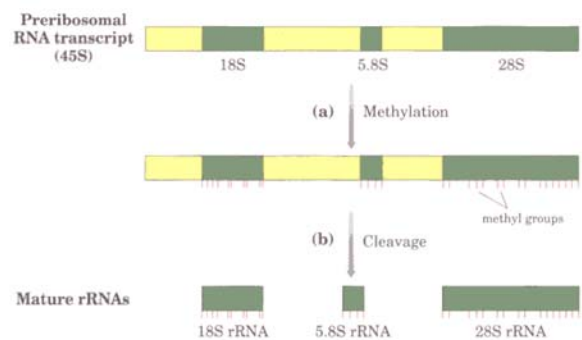
mRNA'nın yarı ömrü, prokaryotlarda 1-10 dakika; ökaryotlarda ise 1-100 saat kadardır.

Primer rRNA'nın işlenmesi, prokaryotlarda ve ökaryotlarda metilasyon ve ayrılma işlemlerini kapsar:

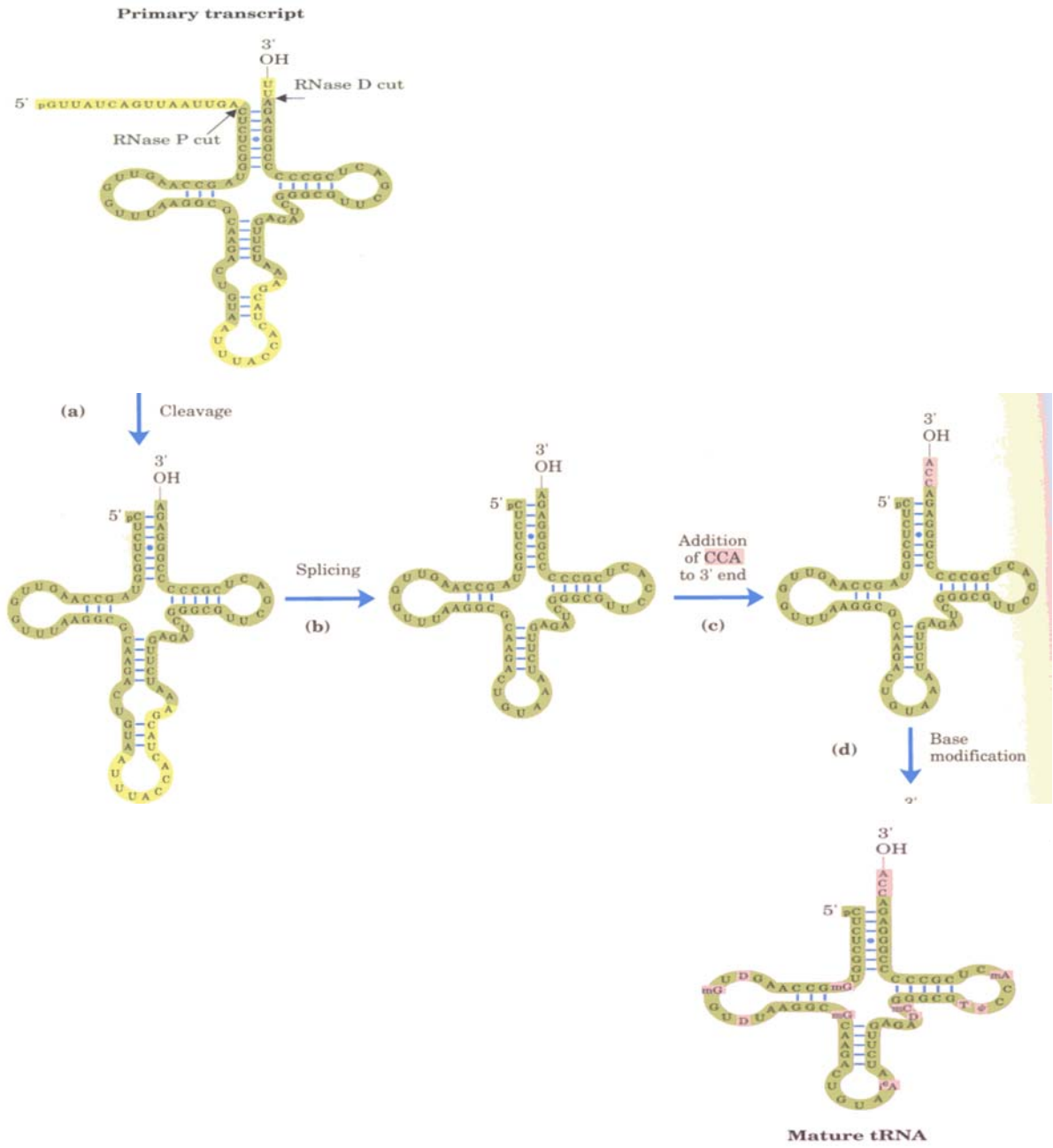
Prokaryotlarda primer rRNA'nın işlenmesi



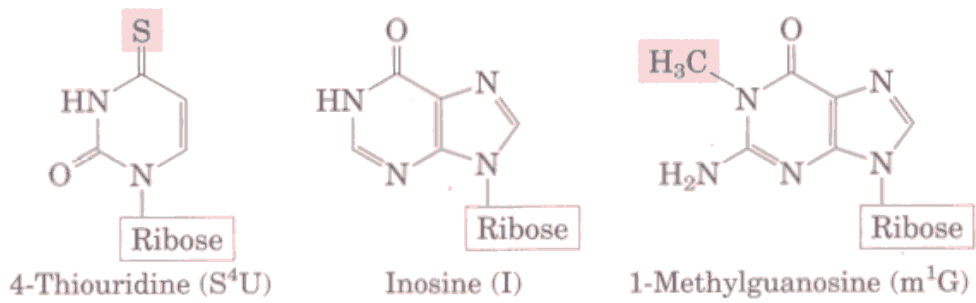
Ökaryotlarda primer rRNA'nın işlenmesi

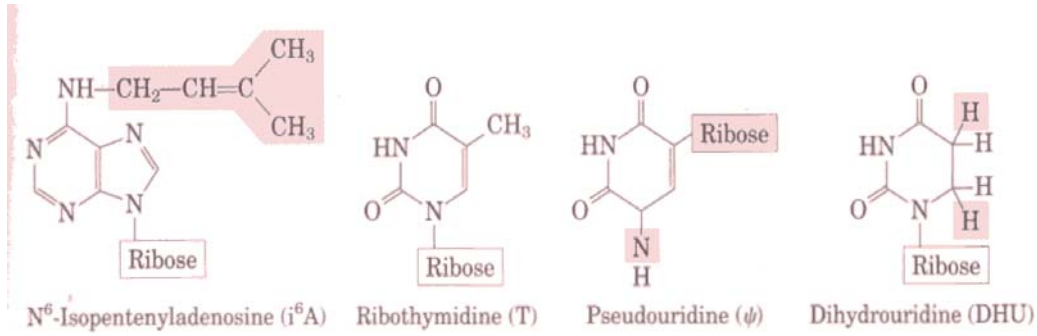


Primer tRNA'nın işlenmesi, prokaryotlarda ve ökaryotlarda birbirine benzer:



tRNA'larda bulunan bazı modifiye bazlar şunlardır:





Translasyon

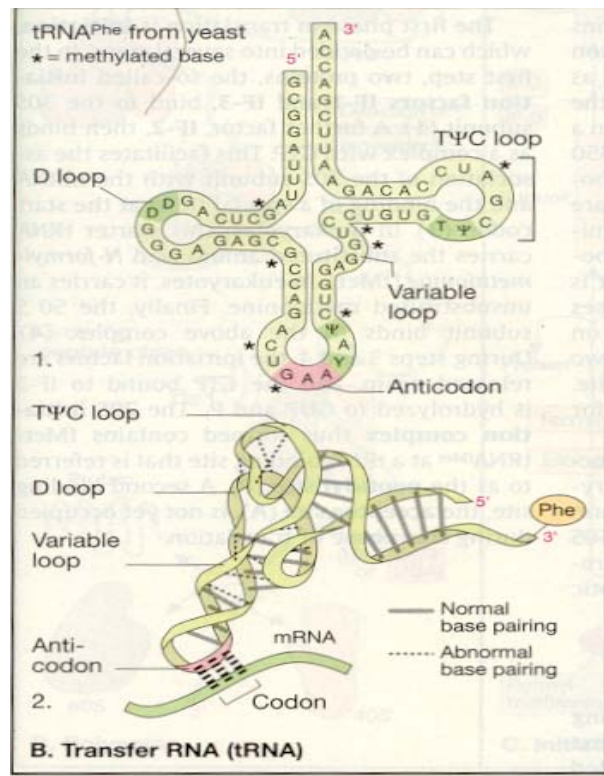
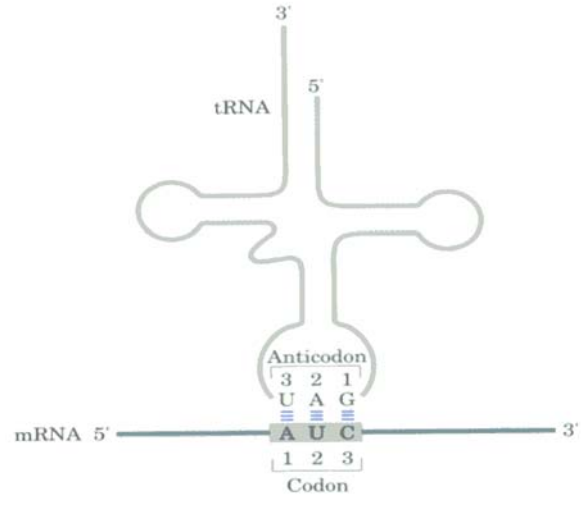
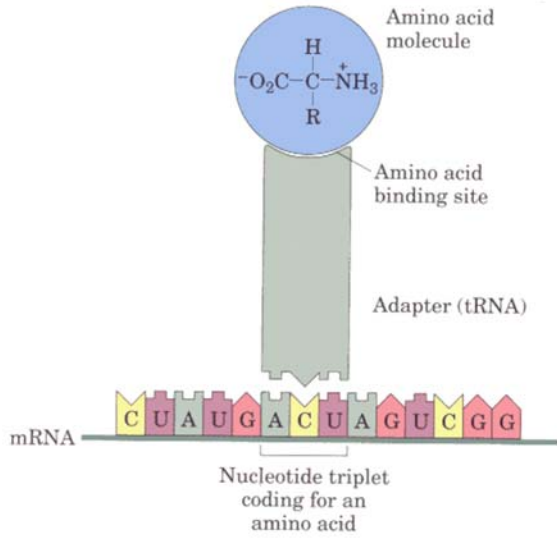
Translasyon, transkripsiyonla RNA'ya kopyalanan genetik bilginin bir protein veya polipeptit zinciri haline dönüştürülmesidir.

Protein sentezinin üç komponenti mRNA, tRNA ve ribozomlardır. mRNA, proteinin amino asit sırasını belirleyen kodu (şifre) içerir.

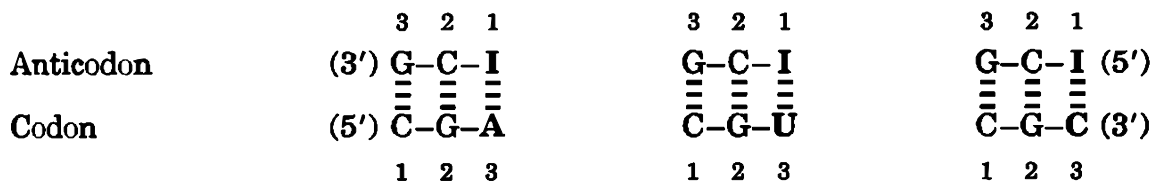
mRNA'yı oluşturan nükleotid dizisinde her üç bazlık dizi **kodon** olarak adlandırılır ki her kodon ya protein sentezine katılacak bir amino asidi veya protein sentezinin sonlanacağını ifade eder. Her amino asit için en az bir tane kodon vardır. Örneğin AUG metionine uyar; GUG, GUA, GUC, GUU valine uyar; UUU, UUC fenil alanine uyar. UAA, UAG, UGA ise hiçbir amino aside uymayan sonlanma kodonlarıdır:

		Second letter of codon							
		U		C		A		G	
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	

tRNA, her amino asit için en az bir tane olmak üzere bulunur; protein sentezi sırasında 3' ucuna bir aminoasil kalıntısı bağlar ve mRNA ile etkileşen bir adaptör olarak işlev görür. tRNA üzerinde **antikodon** denilen ve mRNA'daki kodonları tamamlayıcı üçer bazlık nükleotid dizileri vardır:

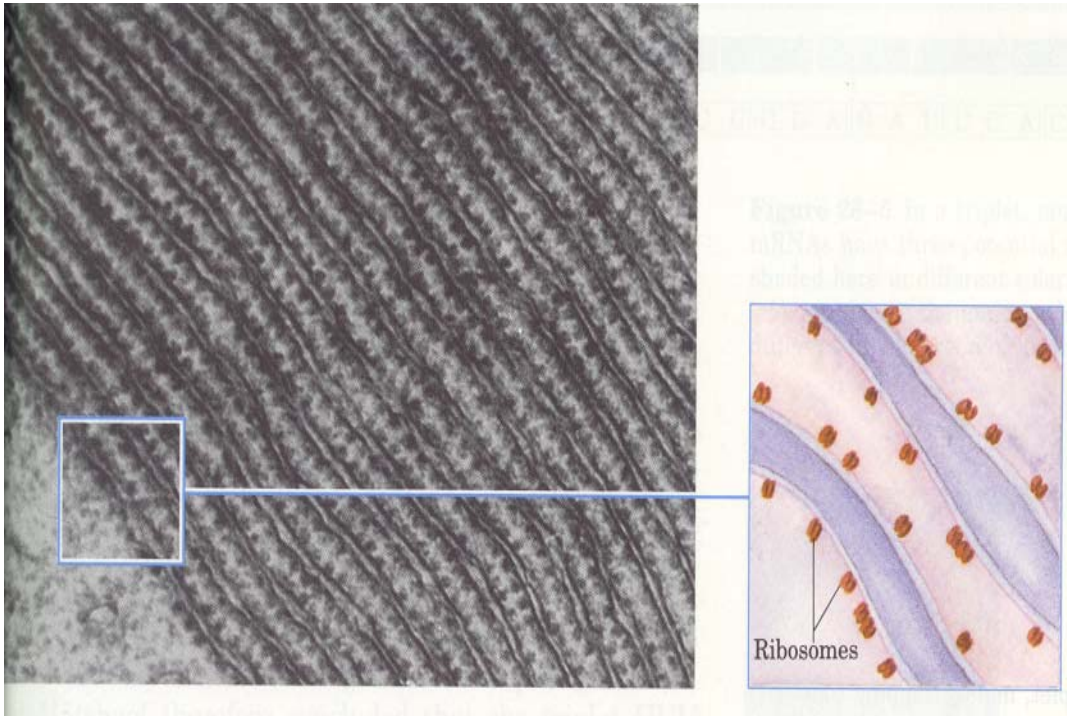


Wobble hipotezine göre, bir baz, birden fazla baz ile hidrojen köprüsü yapabilir; bir tRNA, aynı amino aside ait üç değişik kodonu tanıyabilir. Örneğin tRNA^{Arg}'daki (5¹)ICG antikodonu, mRNA'da, arjinine ait (5¹)CGA, (5¹)CGU, (5¹)CGC kodonlarını tanıyabilir.

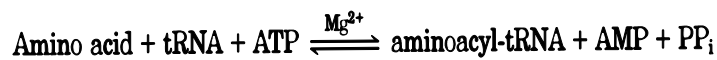


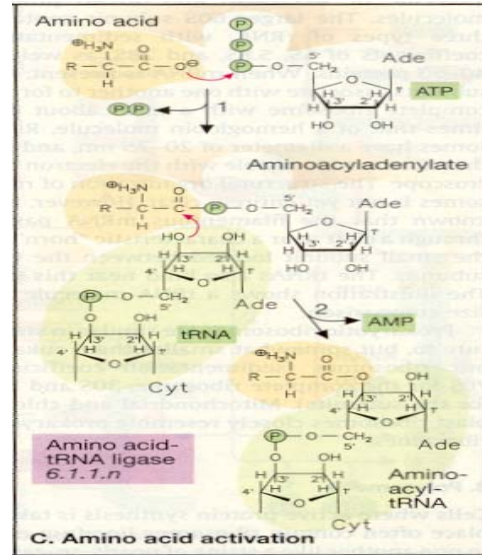
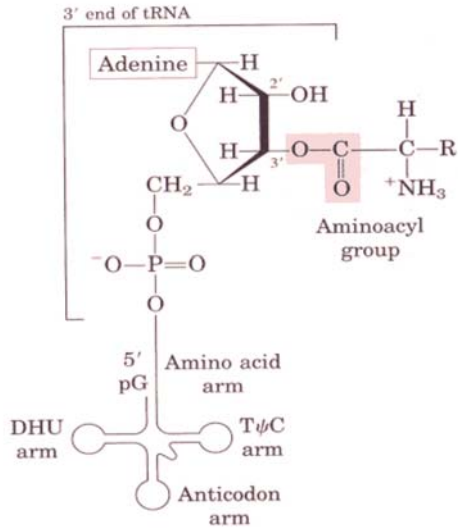
5' Base of Anticodon	3' Base of Codon
C	G
A	U
U	A or G
G	C or U
I	U, C, or A

Ribozomlar, ökaryotik hücrelerde 40S ve 60S'lik sedimantasyon katsayılarına sahip iki alt ünitesi olan toplam 80S'lik sedimantasyon katsayılı, prokaryotik hücrelerde ise 30S ve 50S'lik sedimantasyon katsayılarına sahip iki alt ünitesi olan toplam 70S'lik sedimantasyon katsayılı sitozolik taneciklerdir; sitoplazmada serbest veya endoplazmik retikulumun sitozolik yüzüne tutunmuş olarak bulunurlar:

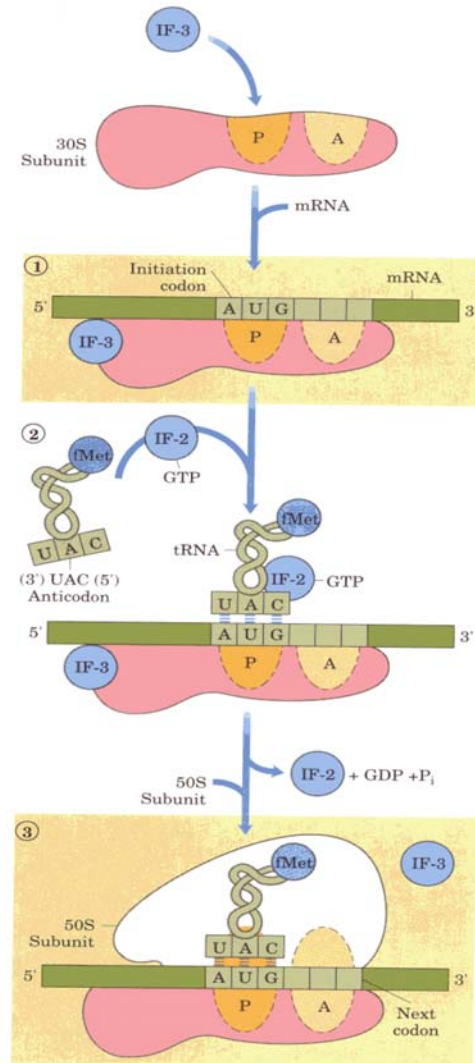
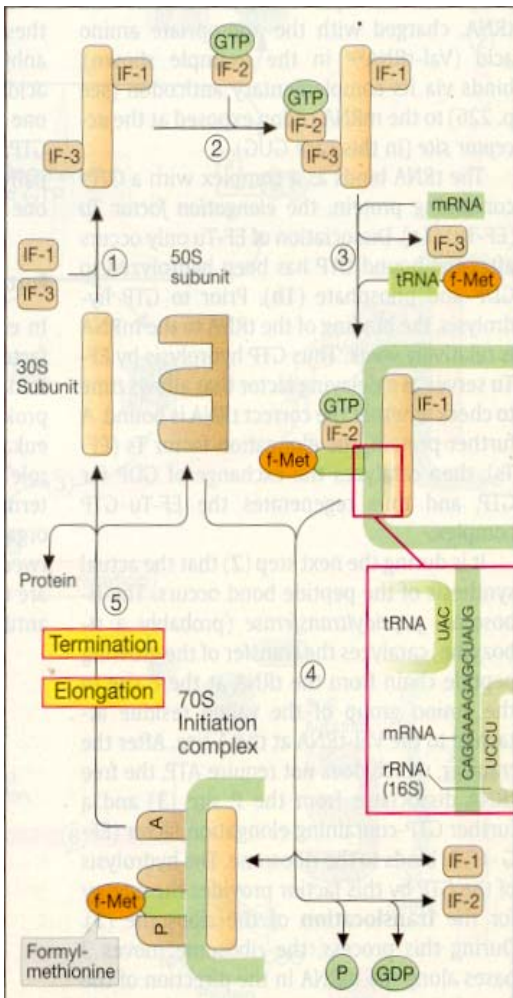


Protein sentezi başlayacağı zaman, sitoplazmada bulunan amino asitler, kendilerine özgü ve Mg^{2+} gerektiren *aminoasil-tRNA sentetaz* enzimleri yardımıyla kendilerine özgü tRNA'lara bağlanarak aminoasil-tRNA şeklinde aktiflenirler. Aminoasil-tRNA oluşumu sırasında amino asidin karboksil ucuyla, tRNA'nın 3' ucundaki adenozinin ribozunun 3' OH grubu arasında su çıkışıyla bağlanma (ester bağı) oluşmaktadır:





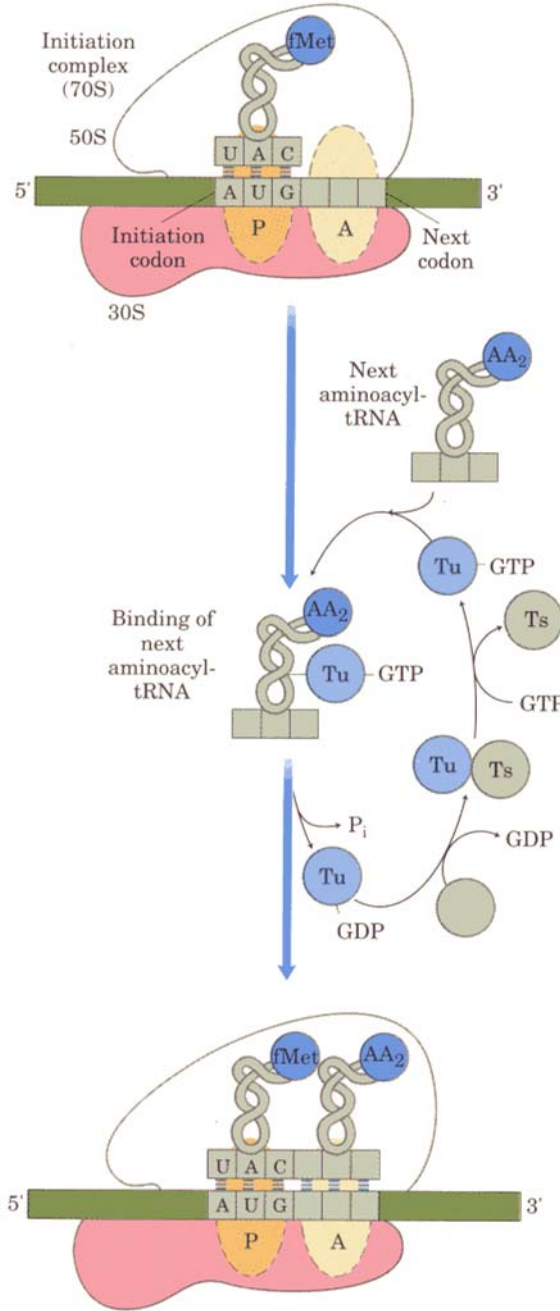
Prokaryotlarda protein sentezi başlarken başlama faktörleri (IF), GTP varlığında, ribozom alt üniteleri, mRNA ve fMet-tRNA'dan, mRNA'nın 5¹ ucuna yakın bir bölgesinde **başlama kompleksi** oluşur:



Protein sentezi spesifik bir amino asit ile başlar ki bu, prokaryotlarda N-formilmetionindir, ökaryotlarda ise metionindir.

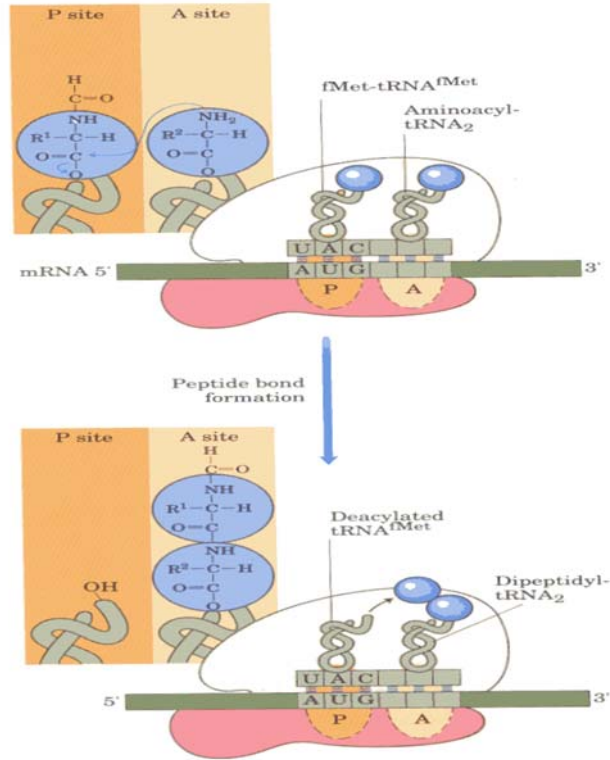
Başlama kompleksi üzerinde peptidil-tRNA bağlayan **P yeri** ve aminoaçil-tRNA bağlayan **A yeri** vardır. fMet-tRNA, başlama kompleksinde P yerindedir A yerine ise mRNA'nın bir başka kodonu rast gelmektedir.

Başlama kompleksi oluşuktan sonra, GTP'nin hidrolizi ve elongasyon faktörü (EF-Tu) sayesinde, bu kompleksteki A yerine, mRNA'nın buraya rast gelen kodonunu tamamlayan antikodonu içeren aminoaçil-tRNA gelir:

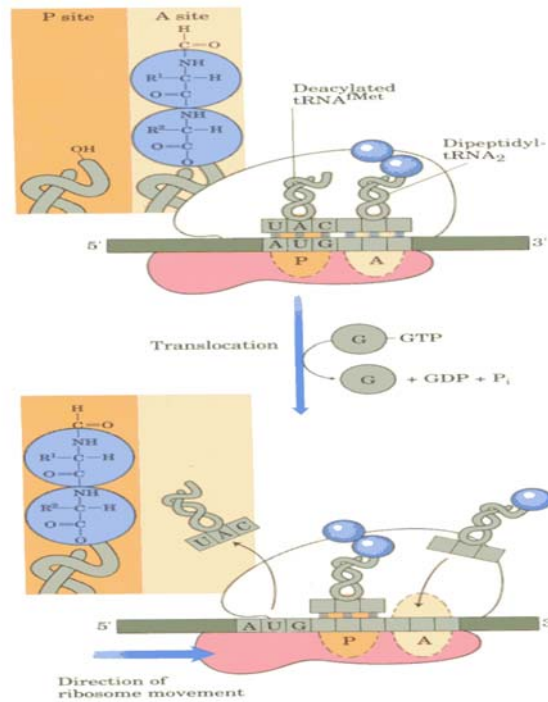


Prokaryotlarda elongasyon faktörleri EF-Tu, EF-Ts, EF-G'nin karşılığı olarak ökaryotlarda eEF1 α , eEF1 $\beta\gamma$, eEF2 saptanmıştır.

Bundan sonra ribozomda bulunan **peptidil transferaz** enziminin katalitik etkisiyle P yerindeki fmet-tRNA'da bulunan aminoasit grubu, A yerindeki aminoasit-tRNA'nın aminoasitinin serbest amino grubuna peptit bağı ile bağlanmak üzere taşınır:

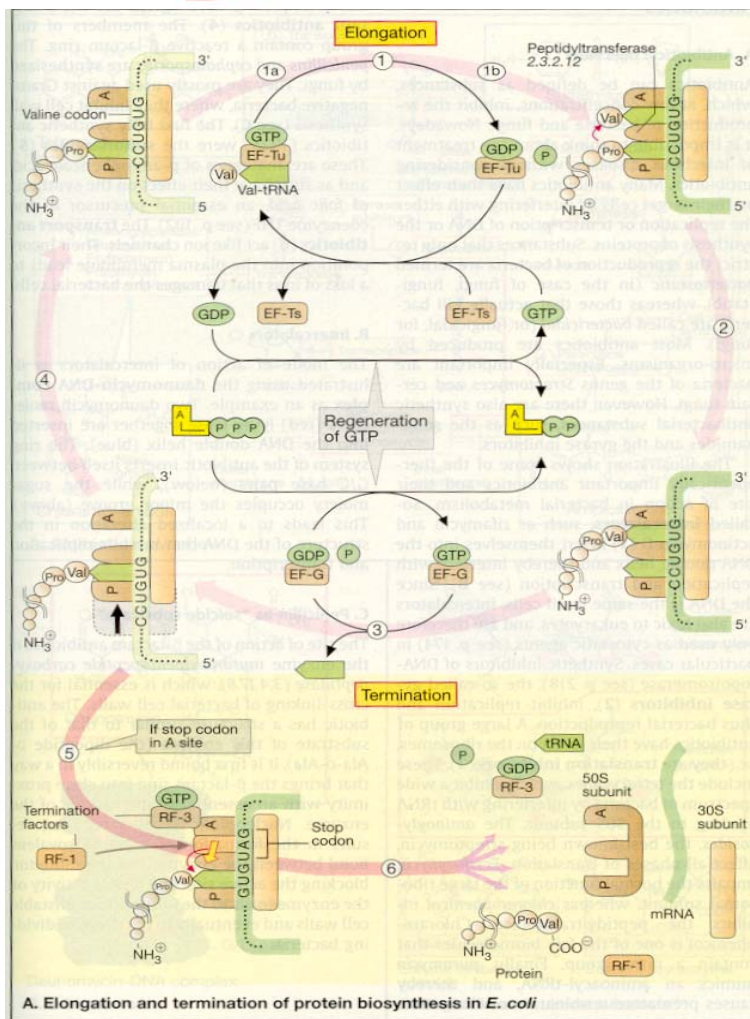
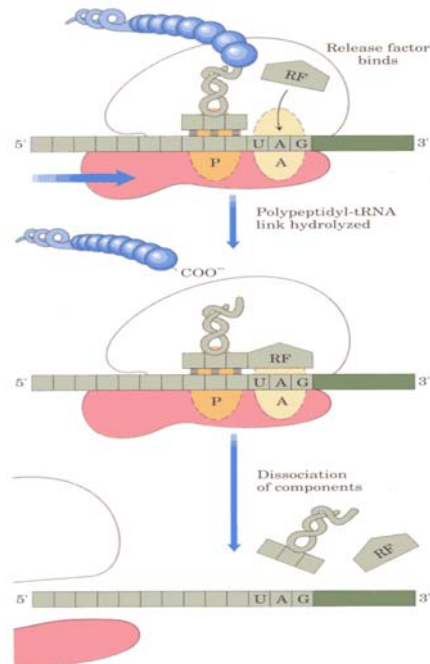


Daha sonra GTP'in hidrolizi ve EF-G (*Prokaryotlarda EF-G'nin karşılığı, ökaryotlarda eEF2'dir.*) sayesinde P yerindeki tRNA kompleksten ayrılır, A yerindeki dipeptidil-tRNA A yerinden P yerine yer değiştirirken ribozom, mRNA üzerinde 3' ucuna doğru bir kodon ilerler ve A yerine uygun aminoasit-tRNA gelir:



Son iki basamaktaki olayların tekrarı sonucunda polipeptit zinciri amino-terminal uçtan karboksil-terminal uca doğru uzar. *Polipeptit sentezi, amino-terminal uçtan başlar.*

Polipeptit zincirinin uzaması sonlandırılacağı zaman, A yerine UAG, UAA, UGA sonlandırma kodonlarından biri gelir; buraya terminasyon faktörü (RF) bağlanır ve önce polipeptidil-tRNA bağı hidroliz olur daha sonra diğer komponentler dissosiyasyon olurlar:



n sayıda amino asit içeren bir protein sentezi için enerji gereksinimi de hesaplanabilir:

Aminoasıl-tRNA oluşumunda

n ATP

Başlama kompleks oluşumunda

1 GTP

n-1 peptid bağı oluşumunda

n-1 GTP

n-1 translokasyon

n-1 GTP

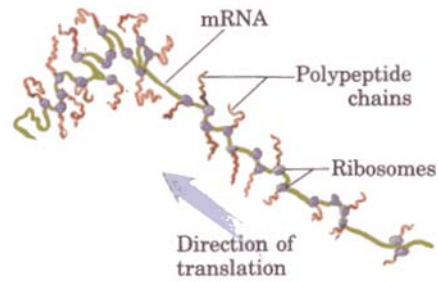
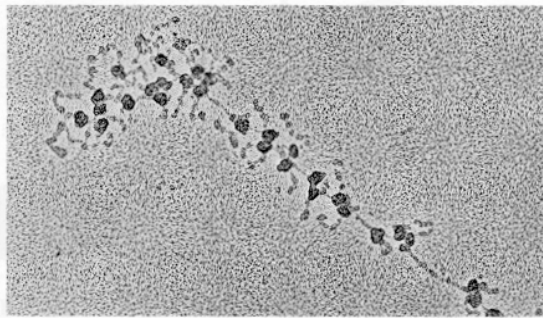
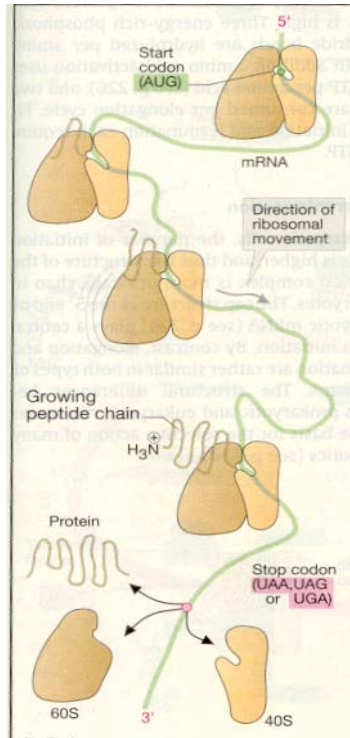
Sonlanma için

1 GTP

TOPLAM

3*n* ATP veya GTP

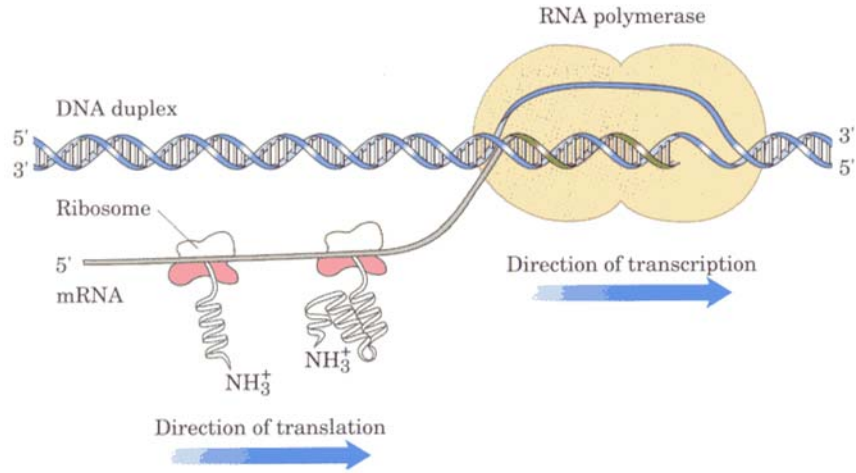
Protein sentezi sırasında aynı mRNA molekülü üzerinde birçok ribozom, bir poliribozom (polizom) oluşturabilirler:



In bacteria in response to a termination... the A site. PstI, a release factor, RF, or U...

Nispeten büyük olmaları nedeniyle ribozom partikülleri, bir mRNA üzerine birbirinden 80 nükleotidlik uzaklıktan daha yakın bağlanamazlar. Bir mRNA üzerinde 50 ribozom olabilir.

Prokaryotlarda mRNA'nın yarı ömrü kısa olduğundan transkripsiyon ve translasyon birlikte yürür:

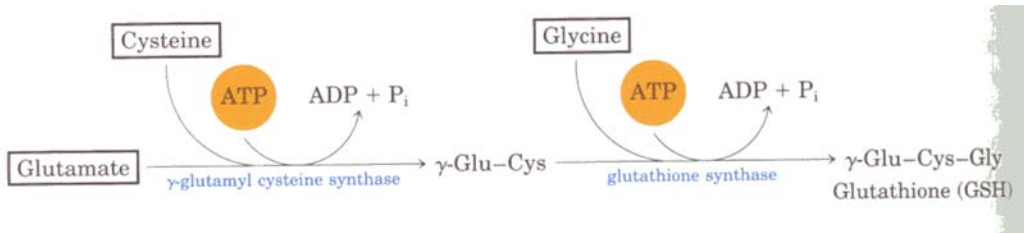


Ribozom, saniyede 15 kodon (45 nükleotid) tarar; E.coli ribozomu, 37°C'de, 20 saniyede 300 amino asitli bir protein sentezlenebilir. E.colide yaklaşık 5000 mRNA vardır ve E.colide saniyede 1000 protein sentezlenebilmektedir.

Aktif olarak protein sentez eden poliribozomlar, sitoplazma içinde serbest partiküller olarak bulunabilirler veya pürtüklü endoplazmik retikulum yapısında bulunabilirler. Sitozolda serbest bulunan poliribozomal partiküller, intrasellüler fonksiyonlar için gereken proteinlerin sentezinden sorumludurlar. Pürtüklü endoplazmik retikulumun poliribozomları tarafından sentez edilen proteinler, pürtüklü endoplazmik retikulumun tabakaları arasındaki sisternal boşluğa atılırlar ve buradan hücre dışına salgılanırlar veya bazıları Golgi cihazı tarafından zimojen partiküller halinde paketlenirler.

Protein sentez yeri olarak her ne kadar ribozomlar biliniyorsa da mitokondrilerde de bazı proteinlerin sentezi yapılmaktadır. Mitokondriyal DNA'nın birkaç geni, mitokondri membranının iç kısmının birkaç hidrofob proteinini ve solunum zincirinde kompleks IV olarak bilinen sitokrom oksidazın birkaç alt birimini kodlar. Mitokondriyal transkripsiyon ve translasyon, özel bir transkriptaz enzim sistemi ve prokaryotlardaki 70S ribozomların fiziksel özelliklerine uyan özel bir protein sentez apereyinde olur. Mitokondrilerde protein sentezi prokaryotlardaki gibi, N-formilmetionin-tRNA (fMet-tRNA^{fMet}) ile başlar ve inhibitörlere duyarlılığı, 70S ribozoma benzer.

Eritrositlerde ribozom yoktur; bu nedenle bir tripeptit olan glutatyonun eritrositlerde sentezi için mRNA gerekli değildir. Eritrositlerde glutatyonun sentezi, γ -glutamil sistein sentaz ve glutatyon sentetaz etkisiyle olur; senteze katılan amino asitler, ATP ile aminoasil-fosfatlar şeklinde aktifledikten sonra birbirlerine bağlanırlar:



Siklik bir dekapeptid olan gramisidin S'in biyosentezi, ribozomların ve mRNA'nın katkısı olmaksızın bir multienzim kompleksi üzerinde meydana gelir; senteze katılan amino asitler aminoasil-AMP şeklinde aktifledikten sonra senteze katılırlar.

Chloramphenicol, puromycin, streptomycin, erytromycin, tetracycline ve fusidik asit, çeşitli mekanizmalarla prokaryotlarda translasyonu inhibe ederler. Cycloheximid, puromycin, streptomycin ve fusidik asit ökaryotlarda da translasyonu inhibe ederler.

Proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonu

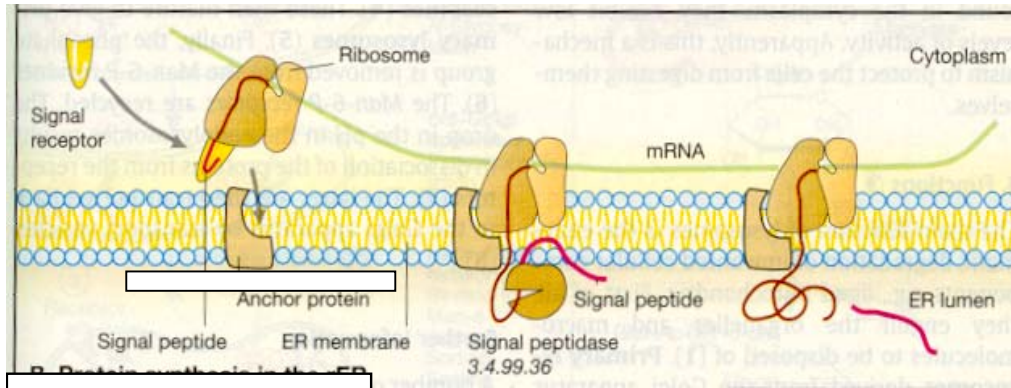
Translasyon sonunda yeni sentezlenen polipeptit zincir, biyolojik olarak aktif forma dönüşmek için **posttranslasyonel modifikasyonlar** denen değişikliklere uğrar. Başlıca posttranslasyonel modifikasyonlar şunlardır: 1) Amino-terminal ve karboksil-terminal modifikasyonlar. 2) Sinyal dizisinin çıkarılması. 3) Bazı özel amino asitlerin modifikasyonu. 4) Karbonhidrat yan zincirlerin bağlanması. 5) İzoprenil grupların eklenmesi. 6) Prostetik grupların eklenmesi. 7) Proteolitik işlem. 8) Disülfid çapraz bağlarının oluşması.

Amino-terminal ve karboksil-terminal modifikasyonlar

Translasyon sonunda yeni sentezlenmiş olan bütün polipeptitler, prokaryotlarda N-formilmetionin kalıntısı ile, ökaryotlarda ise metionin kalıntısı ile başlar. Amino-terminal ve karboksil-terminal metionin kalıntılarına eklenmiş olan formil grupları, enzimatik olarak çıkarılırlar. Ökaryotik proteinlerin %50'den fazlasında amino-terminal kalıntıların amino grupları translasyondan sonra asetillenir; bazen karboksil-terminal kalıntıları da modifiye edilir.

Sinyal dizisinin çıkarılması

Bazı proteinlerin amino-terminal ucundaki 15-30 kalıntı, proteinin hücrede son olarak gideceği yere yönlenmesinde rol oynar ki bu dizi, **sinyal dizisi** olarak tanımlanır. Böyle sinyal dizileri, sonunda spesifik peptidazlar vasıtasıyla çıkarılır:



Human influenza virus A

Met Lys Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Tyr Ala Phe Val Ala Gly Asp Gln

Human preproinsulin

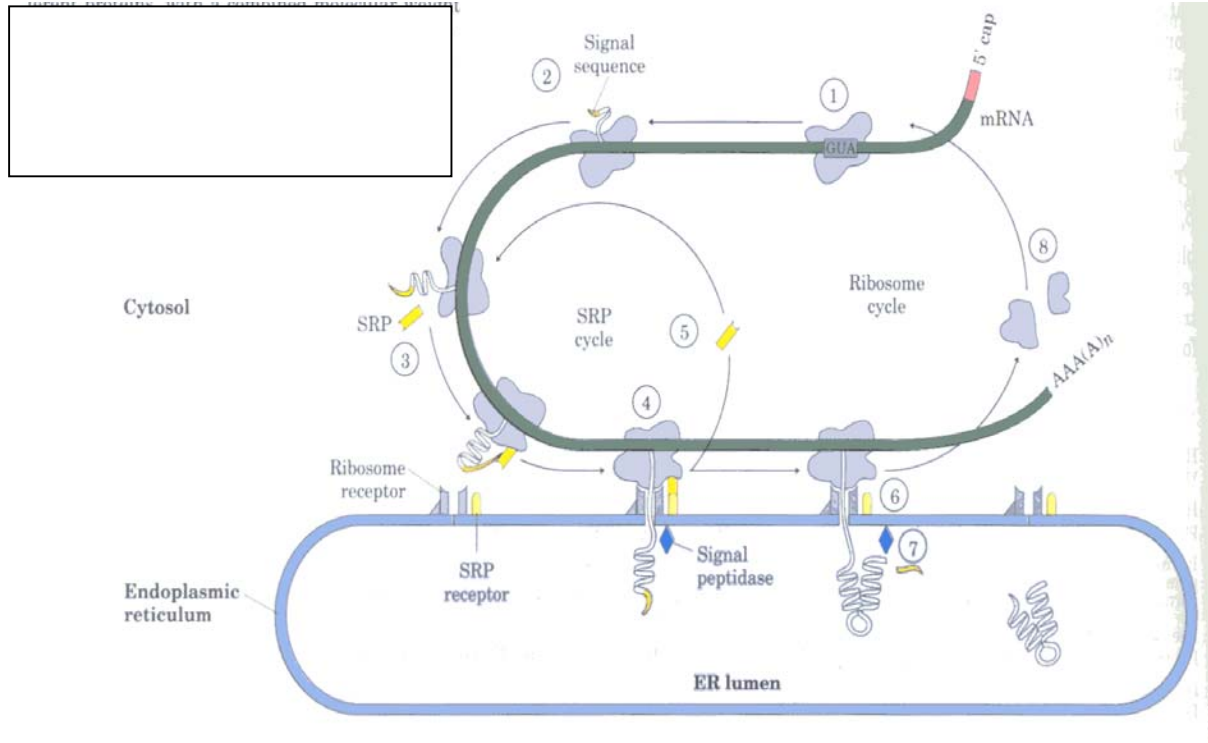
Met Ala Leu Trp Met Arg Leu Leu Pro Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Trp Gly Pro Asp Pro Ala Ala Ala Phe Val

n

Birçok peptid hormonlar ve salgılanan proteinler, genellikle inaktif olarak sentezlenirler ve parçalanma veya belli amino asit grubunun çıkarılmasıyla aktif şekle dönüşürler. Limitlenmiş proteoliz, intrasellüler veya ekstrasellüler olabilir. Proinsülden insülin, preparathormondan

parathormon, proalbuminden albumin, prooksiteosinden oksitosin oluşumu intrasellüler proteolizle gerçekleşir; prokollajenden kollajen oluşumu ise ekstrasellüler proteolizle gerçekleşir.

Çoğu lizozomal protein, membran proteini ve hücreden salgılanan proteinler, kendilerinin endoplazmik retikulum lümeni içinde translokasyonu için işaret olan bir amino-terminal sinyal dizisine sahiptirler. Yeni sentez edilen proteinlerin sinyal dizilerinin çıkarılması ve özel sellüler lokalizasyonlarına trasport edilmesi, **protein hedeflenmesi** olarak tanımlanır. Belkide en karakteristik hedefleme sistemi endoplazmik retikulumda (ER) başlar:



1) Başlama kompleksi oluşur ve protein sentezi başlar. 2) Yeni meydana gelen polipeptitin amino ucunda uygun bir sinyal dizisi belli olur. 3) Ribozoma sinyal tanıtıcı bir partikül (SRP) bağlanır ve elongasyonu duraksatır. 4) Ribozom-SRP kompleksi, reseptör vasıtasıyla endoplazmik retikuluma (ER) bağlanır. 5) SRP, dissosiyeye olur ve yeni döngüye girer. 6) Protein sentezi yeniden başlar ve devam eder, bu arada polipeptit zincir ER lümenine girer. 7) Sinyal dizisi, ER lümenindeki sinyal peptidaz vasıtasıyla yıkılır. 8) Ribozom yeni protein sentezi için döngüye girer.

Bazı özel amino asitlerin modifikasyonu

Bazı proteinlerin bazı serin, treonin ve tirozin kalıntılarının hidroksil grupları, ATP vasıtasıyla enzimatik olarak fosforillenir; fosfat grupları, bu proteinlere ek negatif yük kazandırır. Süt proteini kazein, Ca^{2+} bağlamak fonksiyonu gören birçok fosfoserin grubuna sahiptir ki böylece süt emen yavrular için esansiyel olan Ca^{2+} , fosfat ve amino asitleri sağlar. Bazı serin kalıntılarının hidroksil gruplarının fosforilasyon ve defosforilasyonu, glikojen fosforilaz gibi bazı enzimlerin aktivitelerinin düzenlenmesi için gereklidir. Bazı proteinlerin spesifik tirozin kalıntılarının fosforilasyonu, normal hücrelerin kanser hücreleri haline transformasyonunda önemli bir basamaktır.

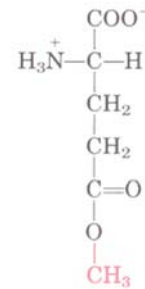
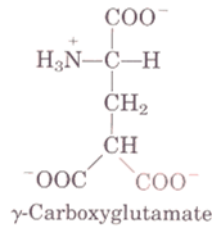
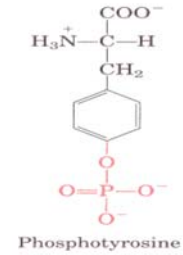
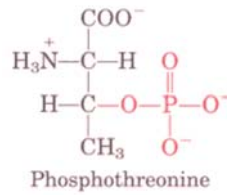
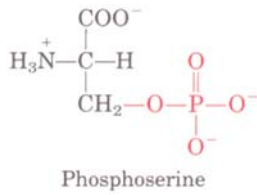
Bazı proteinlerin aspartat ve glutamat kalıntılarında ekstra karboksil grupları eklenebilir. Örneğin kan pıhtılaşma proteini protrombin, amino-terminal bölgesinde, vitamin K

gerektiren bir enzim vasıtasıyla sağlanmış bir grup γ -karboksiglutamat kalıntısı içerir ki bu gruplar, pıhtılaşma mekanizması için gerekli Ca^{2+} bağlama görevi görür.

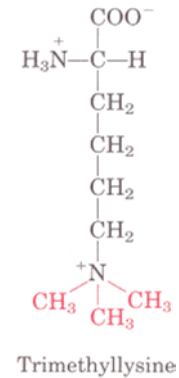
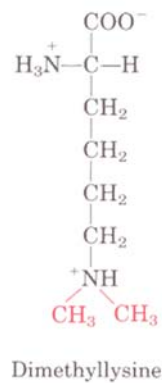
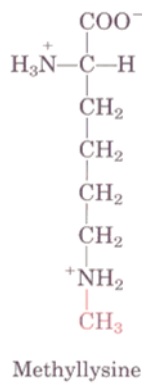
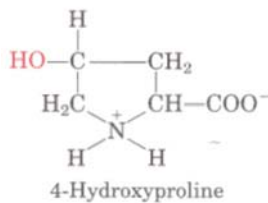
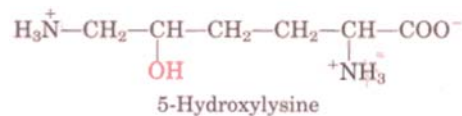
Bazı proteinlerdeki bazı lizin kalıntıları, enzimatik olarak metillenirler. Monometil- ve dimetillizin kalıntıları, bazı kas proteinlerinde ve sitokrom c'de bulunur. Organizmaların çoğunda kalmodulin, spesifik pozisyonda bir trimetillizin kalıntısı içerir. Bazı proteinlerde bazı glutamat kalıntıları metilasyona uğrar ve böylece negatif yükleri azaltılır.

Prokollajenden kollajen oluşurken prolin ve lizin hidroksillenerek hidroksiprolin ve hidroksilizin oluşturulmaktadır.

Proteinlerde bulunan bazı modifiye amino asit kalıntıları (atipik amino asitler) şunlardır:



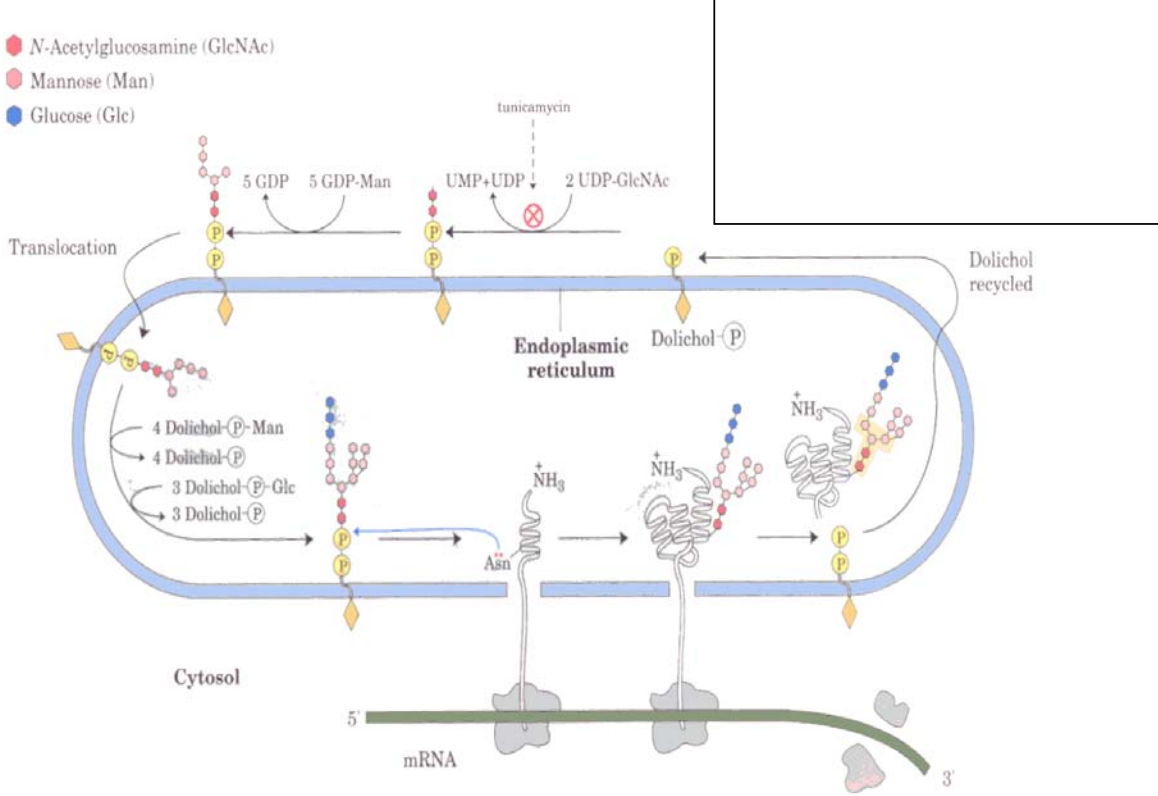
Methylglutamate



Karbonhidrat yan zincirlerin bağlanması

Glikoproteinlerin karbonhidrat yan zincirleri, polipeptit zincirin sentezi sırasında veya daha sonra kovalent olarak bağlanır. Karbonhidrat yan zincirleri, bazı glikoproteinlerde asparajin kalıntılarına N-glikozit bağı ile, bazı glikoproteinlerde ise serin veya treonin kalıntılarına O-glikozit bağı ile bağlanır. Mukoz membranları kaplayan kayganlaştırıcı proteoglikanlar gibi ekstrasellüler olarak fonksiyon gören birçok protein, oligosakkarit yan zincir içerir.

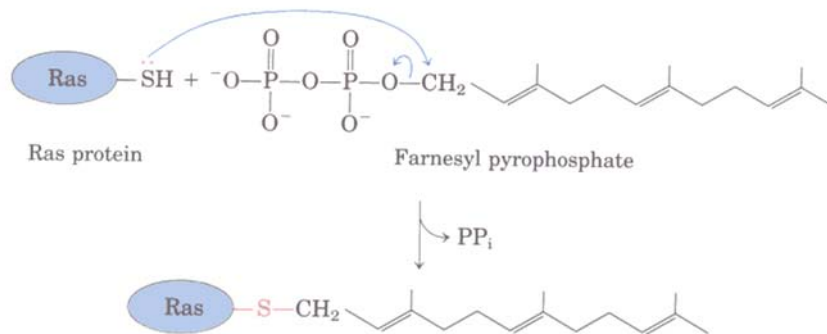
Glikozilasyon, protein hedeflenmesinde anahtar rol oynar:



Glikozillenme, serum proteinleri, immüoglobülinler, kollajen, membran proteinlerinin oluşumunda sıklıkla gerçekleşen posttranslasyonel modifikasyondur.

İzoprenil grupların eklenmesi

Ökaryotik proteinlerin bir grubu izoprenillenmiştir; proteinin bir sistein kalıntısı ile izoprenil grubu arasında bir tiyoeter bağı oluşturulmuştur. İzoprenil grupları, farnesil pirofosfat gibi, kolesterol biyosentez yolunun pirofosfat ara ürünlerinden türemiştir:



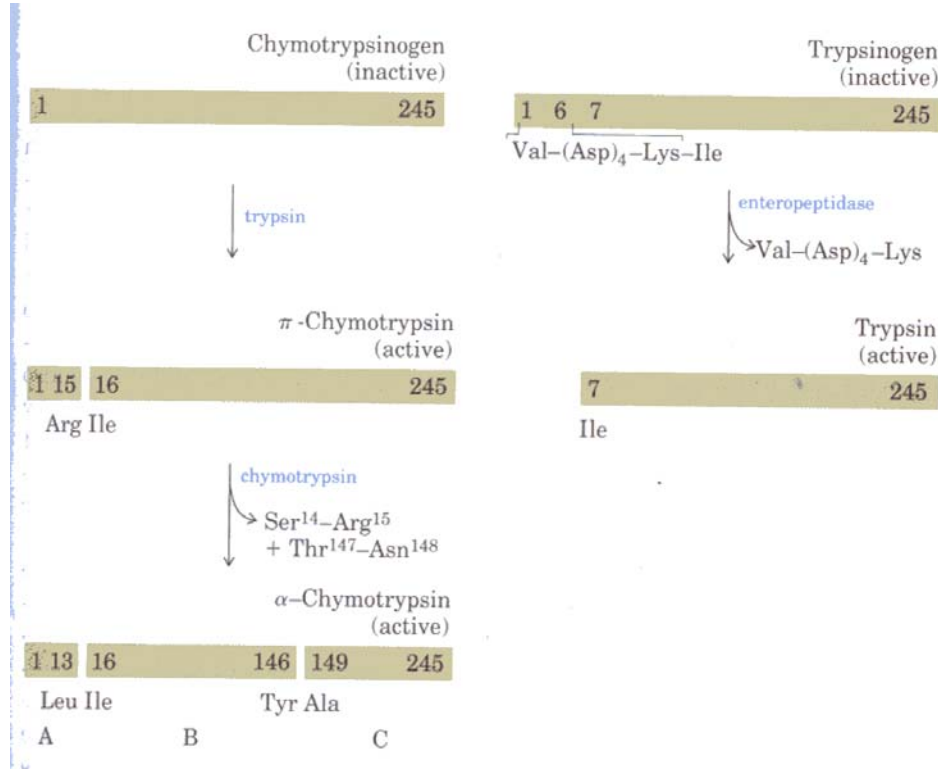
Ras onkogen ve proto-onkogen ürünleri, G proteinleri, nüklear matrikste bulunan laminler, bu yolla modifiye edilmiş proteinlerdir. İzoprenil grupları, bazı hallerde bir membrandaki proteini yerinde tutmak için görev görür.

Prostetik grupların eklenmesi

Birçok prokaryotik ve ökaryotik protein, aktiviteleri için, prostetik grupların kovalent olarak bağlanmasını gerektirir. Prostetik gruplar, protein zincire zincir ribozomdan ayrıldıktan sonra bağlanır. Asetil-CoA karboksilazdaki biotin molekülü ve sitokrom c'deki hem grubu, iki önemli prostetik grup örneğidir.

Proteolitik işlem

Birçok protein, örneğin insülin, bazı viral proteinler, tripsin ve kimotripsin gibi proteazlar, başlangıçta büyük ve inaktif prekürsör proteinler olarak sentez edilirler. Bu prekürsörler, son aktif formlarına dönüşmek için proteolitik olarak kısaltılırlar:



Limitlenmiş proteoliz olarak bilinen işlem, proinsülinin insüline ve proparathormonun parathormona dönüşümünde intrasellüler olduğu halde tripsinojenin tripsine ve prokollajenin kollajene dönüşümünde ekstrasellüler olmaktadır.

Disülfid çapraz bağlarının oluşması

Protein polipeptit zincirinin katlanması, sentez sırasında ve amino-terminal uçtan başlayarak olur; polipeptit zinciri sentezi bittiğinde spontan olarak gerçekleşen katlanma da hemen hemen bitmiştir. Proteinin sekonder, tersiyer yapılarının oluşması spontan olmaktadır. Bu sırada sistein kalıntıları arasında zincir içi veya zincirler arası disülfid çapraz bağları oluşur. Disülfid çapraz bağları, ekstrasellüler ortamda protein molekülünün doğal yapısını denatürasyondan korumaya yardım eder.

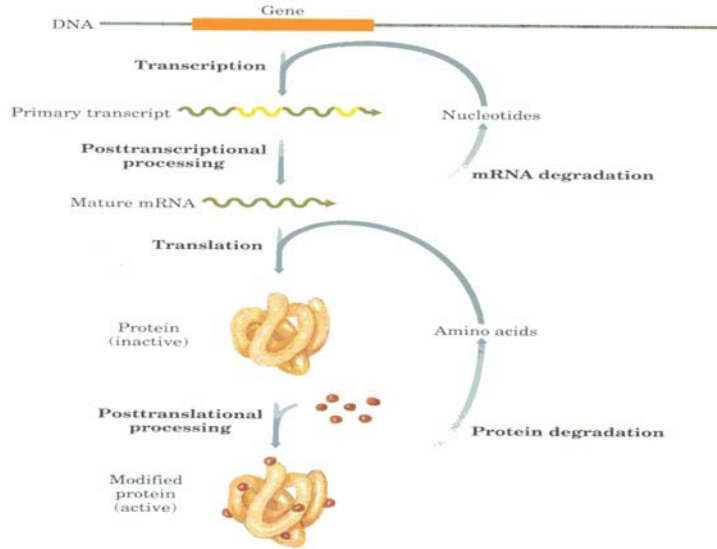
*Bir proteinin doğal konformasyonu, normal fizyolojik koşullarda mümkün olabilen en uygun katlanmış ve aktif şeklidir. Proteinlerin katlanmasında iki farklı görüş vardır: 1) Proteinlerin doğru katlanabilmesi için primer yapının doğru olması yeterlidir. 2) Proteinlerin doğal yapılarına katlanmalarında primer yapılarının yanı sıra **moleküler şaperon** olarak adlandırılan uygun bazı yapılar da gerekmektedir. Moleküler şaperonlar, proteinlerin*

sentezinde, taşınmasında, polimerlerinin oluşmasında ve denatüre proteinlerin yeniden doğal şekillerine dönüşmesinde (renatürasyonda) rol oynamaktadırlar.

Protein zincirinin katlanması, kotranslasyonel modifikasyon olarak tanımlanır. Protein zincirinin katlanması, amino-terminal uçtan başlar. Polipeptit sentezi bittiğinde katlanma da hemen hemen biter. Sekonder, tersiyer ve kuarterner yapılar spontan oluşur.

Gen ifadesinin (ekspresyonunun) regülasyonu

Bir proteinin hücredeki konsantrasyonunu, muhtelif süreçler etkiler:



Canlılarda protein sentez ve yıkılımı olağanüstü bir denge içinde düzenlenmektedir.

Gen ifadesinin düzenlenmesi çeşitli aşamalarda olur ki bu aşamalar şu şekilde sıralanabilir: 1) Primer transkriptlerin oluşumu. 2) Primer mRNA'dan matür (olgun) mRNA oluşumu. 3) mRNA'nın sitoplazmaya geçişi. 4) mRNA'nın yıkılımı. 5) Protein sentezi. 6) Proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu. 7) Protein yıkılımı.

Ökaryotlara ait gen ifadesinin düzenlenimi hakkında bilgilerimiz oldukça sınırlıdır. Buna karşılık prokaryotlarda bu konuda yapılan çalışmalar çok boyutludur ve ökaryotlardaki düzenlenimlere model oluşturmaktadır.

Gen ifadesinin düzenlenmesi, transkripsiyon düzeyinde kontrol ve translasyon düzeyinde kontrol ile olur.

Prokaryotlarda protein sentezinin kontrolü, genellikle transkripsiyon düzeyinde ve daha az olarak translasyon düzeyinde olur. **Transkripsiyon düzeyinde kontrol**, nitel kontroldür; bir protein sentezlendikten sonra, yeniden gerekene kadar bu proteinin sentezi kısıtlanır veya durdurulur; bu sırada diğer proteinler sentezlenir. Prokaryotlarda mRNA yarı ömrü kısadır. Genellikle protein azalması gerektiğinde gen transkripsiyonu kapatılır; mRNA yapılmaz. Prokaryotlarda translasyon aşamasında kontrolde, proteinler mRNA'ya bağlanarak olayı durdurabilirler; mRNA'nın tersiyer yapısı, mRNA/30S alt ünitesi bağlanmasını engelleyebilir.

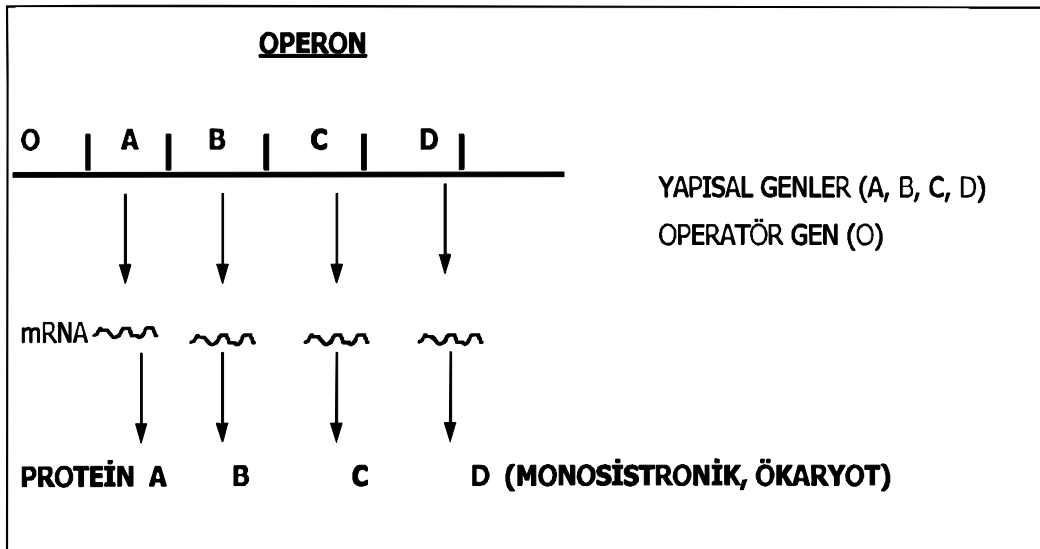
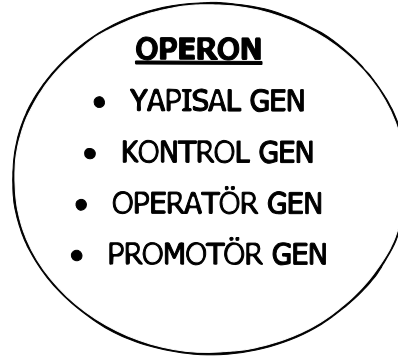
Ökaryotlarda protein sentezinin kontrolü, genellikle translasyon düzeyinde ve daha az olarak transkripsiyon düzeyinde olur. **Translasyon düzeyinde kontrol**, nicel kontroldür; feedback inhibisyon ve mRNA üzerinde ribozomların yoğunluğu ile sağlanır. Yapısı tam bilinmeyen bir inhibitörün birikmesi, başlama kompleksinin oluşmasını bloke eder ve protein sentezini azaltır; mRNA üzerinde ribozomların yoğun olması sentezlenen proteinin miktarını artırır. Memeli hücrelerinde 10^7 ribozom vardır; 200 milyon peptit bağı/saniye/hücre sentezi

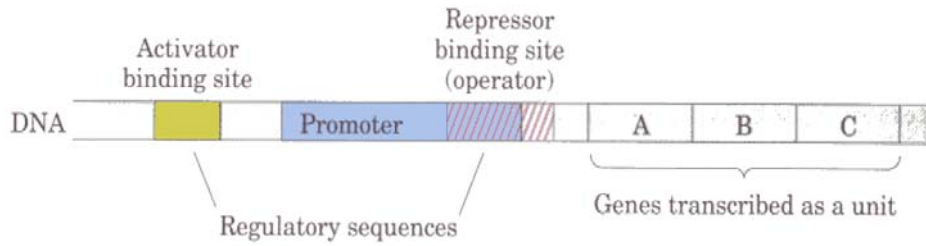
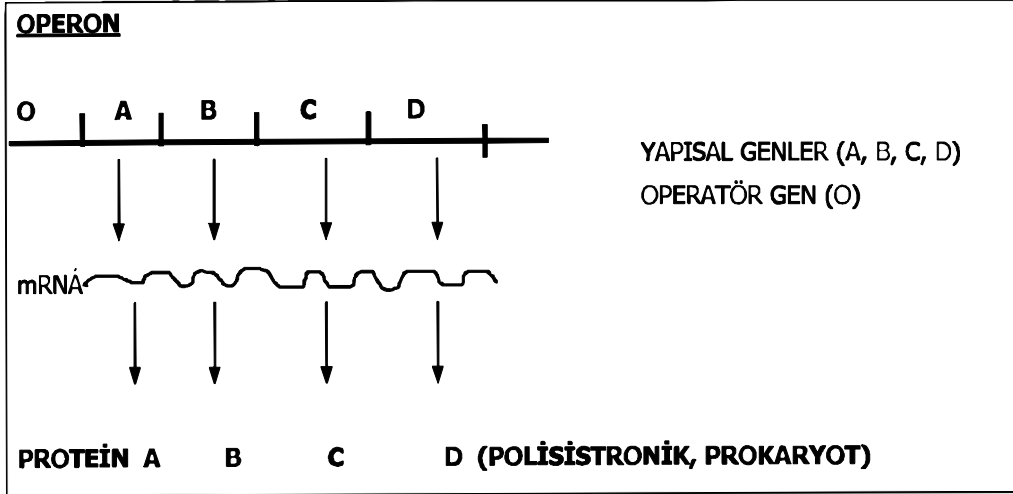
olur. Memelilerde demir eksikliği, hem eksikliğine neden olur ve globin sentezi feedback inhibisyonla durur; bir inhibitör, metiyonil-tRNA ile 40S ribozomun bağlanmasını bloke eder. Memelilerde globin β zinciri translasyon hızı globin α zinciri translasyon hızından %40 daha fazladır; fakat globin α zinciri için mRNA sayısı, genomda globin β zinciri için mRNA sayısından 1 adet daha çoktur; böylece retikülositler hemoglobin yapımı için eşit sayıda α ve β zinciri sentezlerler.

Operon modeli

Gen ifadesinin transkripsiyon düzeyinde düzenlenmesi için **operon modeli** tanımlanmıştır. Kromozomlardaki genler, fonksiyonlarına göre çeşitlere ayrılabilirler: 1) Yapısal genler; mRNA'yı oluştururlar. 2) Operatör genler; yapısal genlerin fonksiyonunu denetlerler. 3) Promotör genler; üzerinde RNA polimeraz bağlanma bölgesi ve cAMP+reseptör protein bağlanma bölgesi olmak üzere iki bölge içerirler. 4) Düzenleyici genler; operonu uzaktan kontrol ederler.

Operonda transkribe edilen diziler, regülatör diziler, promotör ve operatör bulunur:



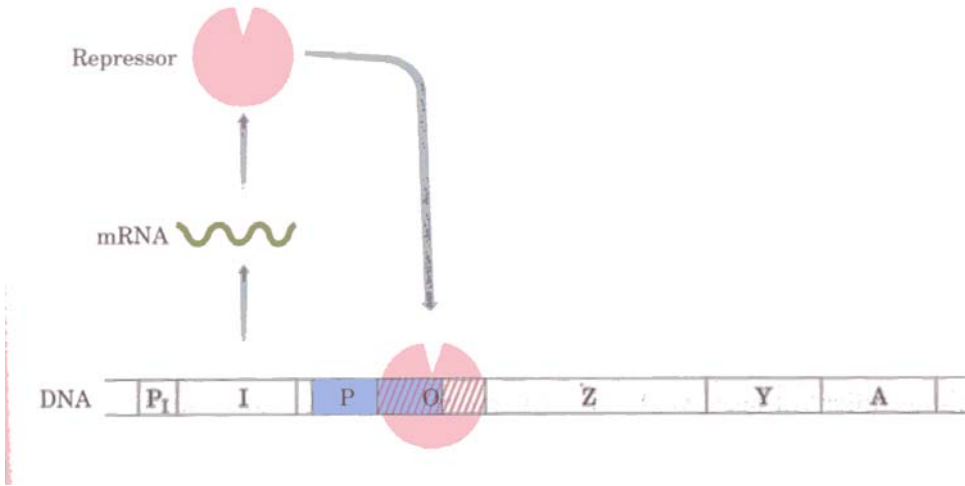


Sistron, bir protein molekülüne ait subünitenin yapısını şifreleyen, genetik ifadenin en küçük ünitesi olarak davranan genetik birimdir. Ökaryotlarda bir protein molekülünün her alt ünitesi veya her bir polipeptit zinciri için ayrı ayrı mRNA'lar transkribe edilmekte, prokaryotlarda ise bir protein molekülünün tüm alt üniteleri veya tüm polipeptit zincirler için bir tek mRNA transkribe edilmektedir. Bir başka deyişle ökaryotlarda bir mRNA, bir polipeptit içindir; prokaryotlarda ise bir mRNA, birçok polipeptit zincir içindir. Bu nedenle ökaryotlar monosistronik olarak, prokaryotlar ise polisistronik olarak tanımlanırlar.

Prokaryot hücrede gen ifadesinin düzenlenimi, transkripsiyon düzeyinde, indüksiyon ile düzenlenim ve represyon ile düzenlenim olmak üzere iki şekilde olabilir.

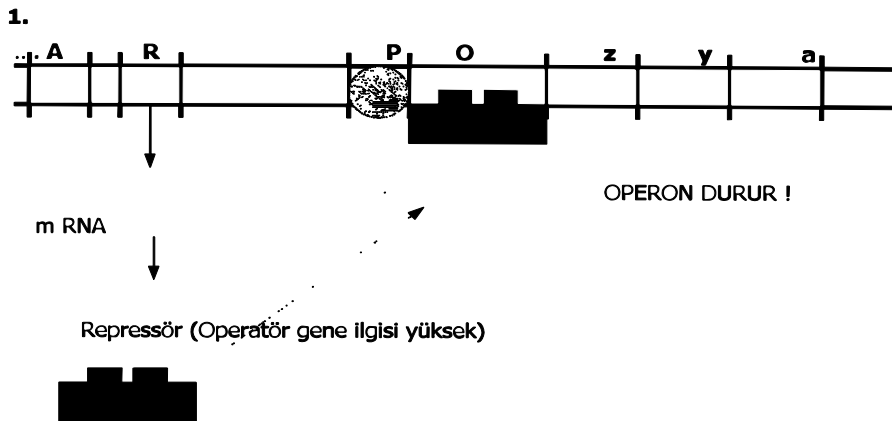
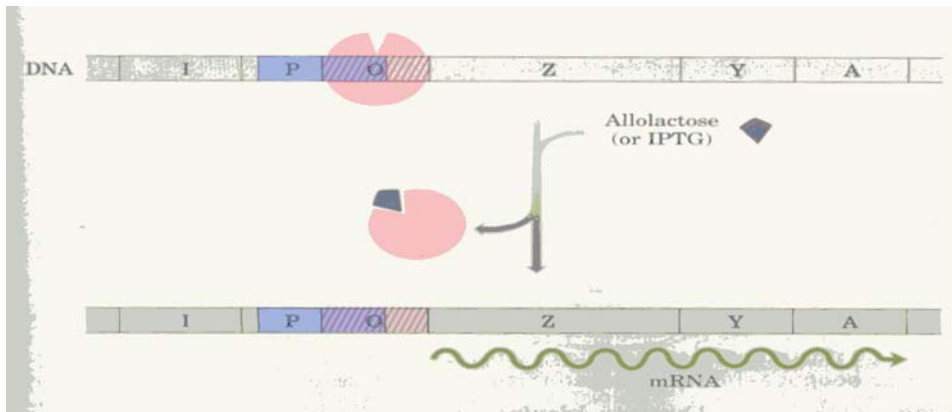
İndüksiyon ile düzenlenim

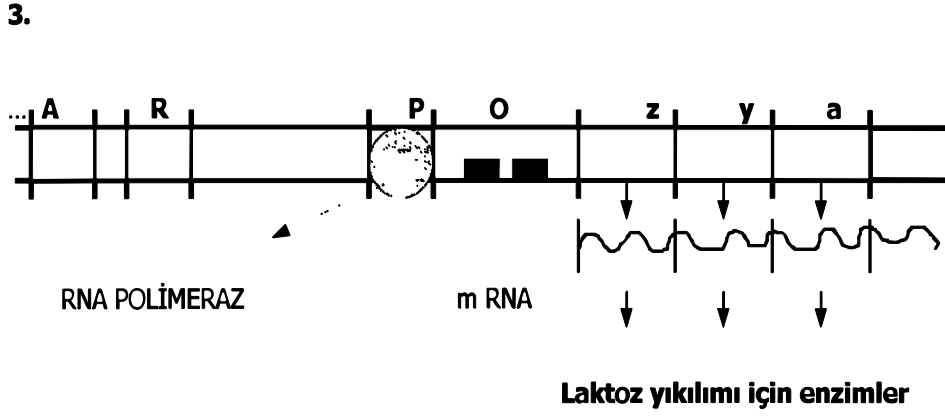
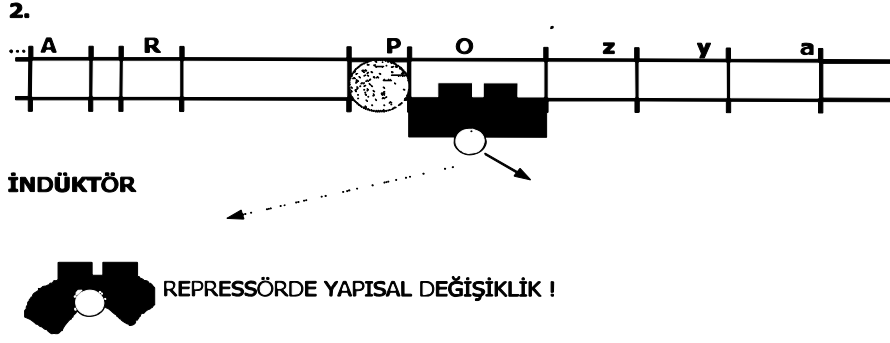
İndüksiyon ile düzenlenim, pozitif kontroldür. Örneğin bir E.coli-lac operon sisteminde operatör genin kontrol ettiği, birbirine oldukça yakın yerleşimde bulunan üç gen vardır: 1) z geni; laktoz ve β -galaktozidleri parçalayan β -galaktozidaz enzimini kodlar. 2) y geni; substratın hücreye girmesini sağlayan β -galaktozid permeaz enzimini kodlar. 3) a geni; β -galaktozid transasetilaz enzimini kodlar:



Z, Y ve A, β -galaktozidaz, galaktozid permeaz ve transasetilaz enzimlerini kodlayan genlerdir; P promotör, O operatördür; I lac repressörü kodlayan gendir; P₁ I geni için promotördür.

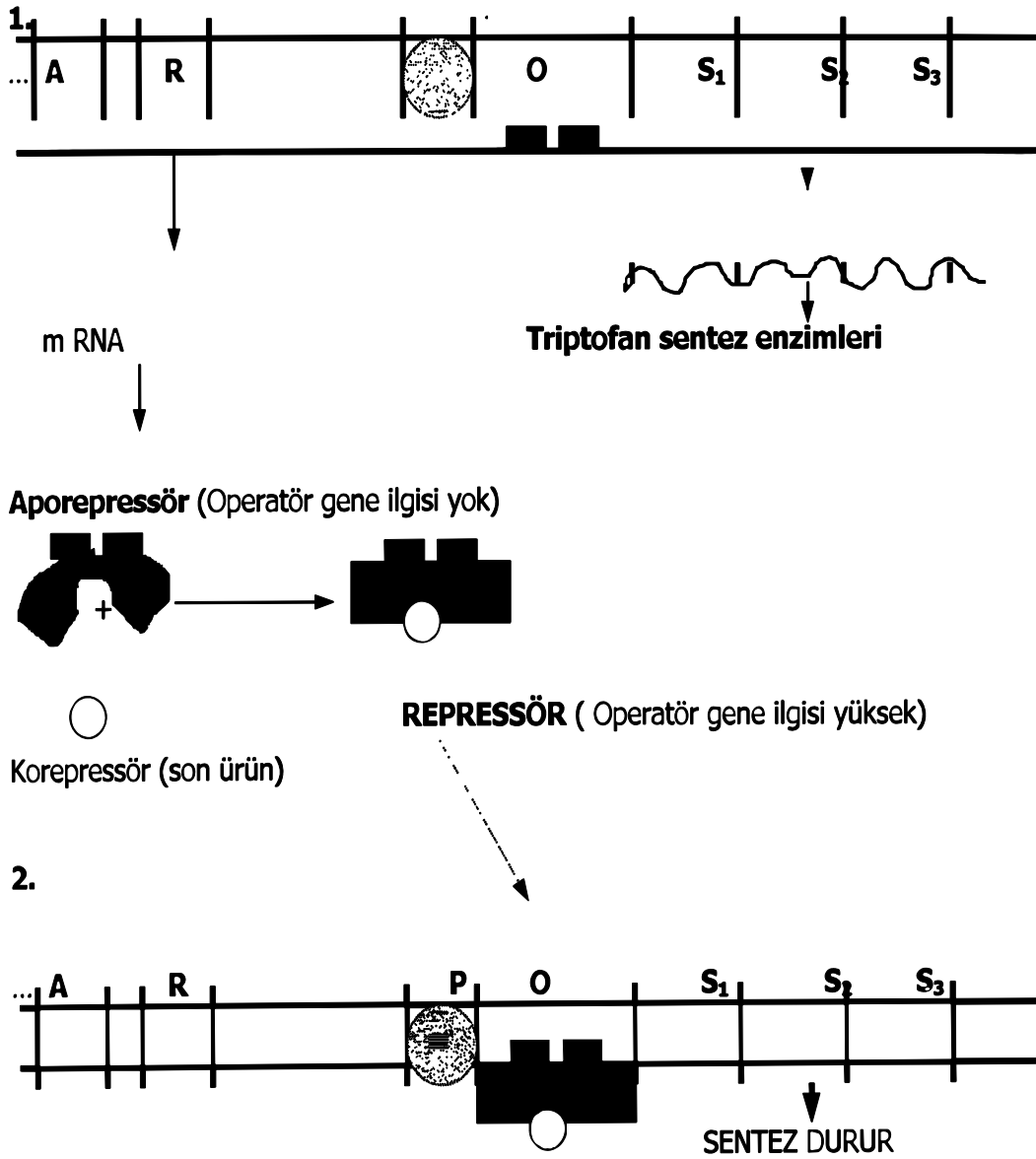
Hücrede laktöz yokluğunda Lac repressörün operona bağlanmasıyla laktöz parçalayan enzimlerin kodlanması durur. Hücreye laktöz alındığında ise indüktör [allolaktöz veya izopropiltiyogalaktozid (IPTG)], Lac repressöre bağlanır; Lac repressör böylece konformasyonel değişikliğe uğrar ve operatörden ayrılır; transkripsiyon başlar:





Reperasyon ile düzenlenim

Reperasyon ile düzenlenim, negatif kontroldür. Örneğin E.coli-triptofan operon sisteminde, triptofan sentezinin aşırı olduğu hallerde sentezin durdurulması için, regülatör genden transkribe edilen mRNA ile, aporepressör sentezlenir. Aporepressör, operatöre bağlanmak için aktif değildir; kendisine triptofanın bağlanmasıyla aktiflenir ve böylece operatöre ilgisi yüksek olan repressör oluşur. Oluşan repressörün operatöre bağlanmasıyla da triptofan sentezi durur:



Represyonla düzenleniminin bir başka örneği, laktozun yıkılımının glukoz vasıtasıyla engellenmesidir ki bu tür represyon, **katabolik represyon** olarak tanımlanır. Sentezleri katabolik represyon ile düzenlenen laktoz yıkılım enzimlerinin sentezi, laktoz varlığında **katabolik gen aktivatör proteininin (CAP)** cAMP ile kompleks yapıp aktifleşmesi sonucu gerçekleşmektedir. Sentezlenen laktoz yıkılım enzimlerinin etkisiyle fazla miktarda glukoz oluştuğunda ise glukoz, operona bağlanarak katabolik represyon etkisiyle laktoz yıkılım enzimlerinin sentezini durdurur:

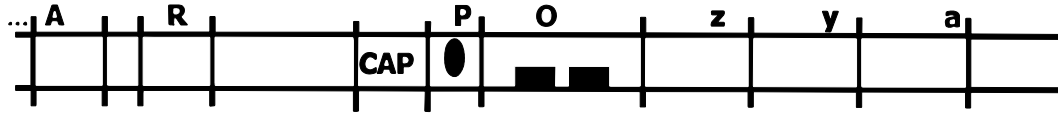
1.

Katabolit gen

aktivatör protein (CAP)

 CAP-cAMP (Aktif kompleks)

m RNA



LAKTOZ VARLIĞINDA:



REPRESSÖR, R

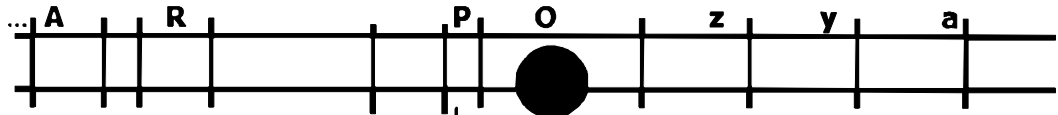
(GLUKOZ)



LAKTOZ YIKILIM ENZİMLERİ

● : RNA POLİMERAZ

2. **GLUKOZ İLE:**



 CAP



**LAKTOZ YIKILIM ENZİMLERİNİN
SENTEZİ DURUR !**