

MOLEKÜLER BİYOLOJİ

DOÇ. DR. MEHMET KARACA
(6. BÖLÜM)

GENLER

Bazı genlerde regülatör sekansları transkripsiyon başlama bölgesinin baş kısımlarında bulunabildiği gibi 50 kb yukarıda bulunabilmektedir. Promotör, izolatör, enhanser regülatör dizilere örnek elementlerdir.

Bir gende ortalama 8 yada 9 ekson vardır ancak bu sayı 1 ile 178 arasında gözlenebilmiştir.

Ekson uzunluğu 8 nükleotit ile 17 bin nükleotit arasındadır. Ortalama 145 nükleotit uzunluğundadır.

İntronlar 1 kb – 50 kb arasında değişebilmektedir.

Ortalama bir gen uzunluğu yaklaşık 2400 nükleotit iken bazı genlerin uzunluğu 27 kb kadar çıkabilmektedir.

GEN REGÜLASYONU

POZİTİF KONTROL:

Herhangi bir transkripsiyon ünitesinde bulunan genlerin aktivasyonu başka bir faktörün bağlanması ile artırılması durumu POZİTİF REGÜLASYONDUR. “Aktivatörlerle” kontrol pozitif kontrole örnektir.

NEGATİF KONTROL:

Herhangi bir transkripsiyon ünitesinde bulunan genlerin baskılanması başka bir faktörün bağlanması ile azaltılması durumu negatif kontrole örnektir. “Represörlerle” kontrol negatif kontrole örnektir.

GEN TİPLERİ

İNDÜKLENEBİLEN GENLER:

Ekspresyonu bir faktör veya faktörler tarafından (bu faktör indüser olarak isimlendirilir) sağlanabilen genlerdir.

BASKILANABİLEN (REPRESÖRLENEBİLEN) GENLER:

Bir represör faktörünün bağlanması ile ifadesi durdurulabilen veya baskılanan genlerdir.

PROTEİN KODLAYAN GENLER:

Oluşturduğu mRNA translasyon sonucu fonksiyonel bir polipeptit zinciri, enzim, ve protein oluşturan genlerdir.

GEN TIPLERİ

PROTEİN KODLAMAYAN GENLER:

Oluşturduğu RNA translasyon işlemine girmez ancak bir fonksiyonel gen gibi biyokimyasal reaksiyonları düzenler. Bu genlere örnek olarak tRNA, rRNA, miRNA (mikro RNA) ve bazı siRNA'lar verilebilir.

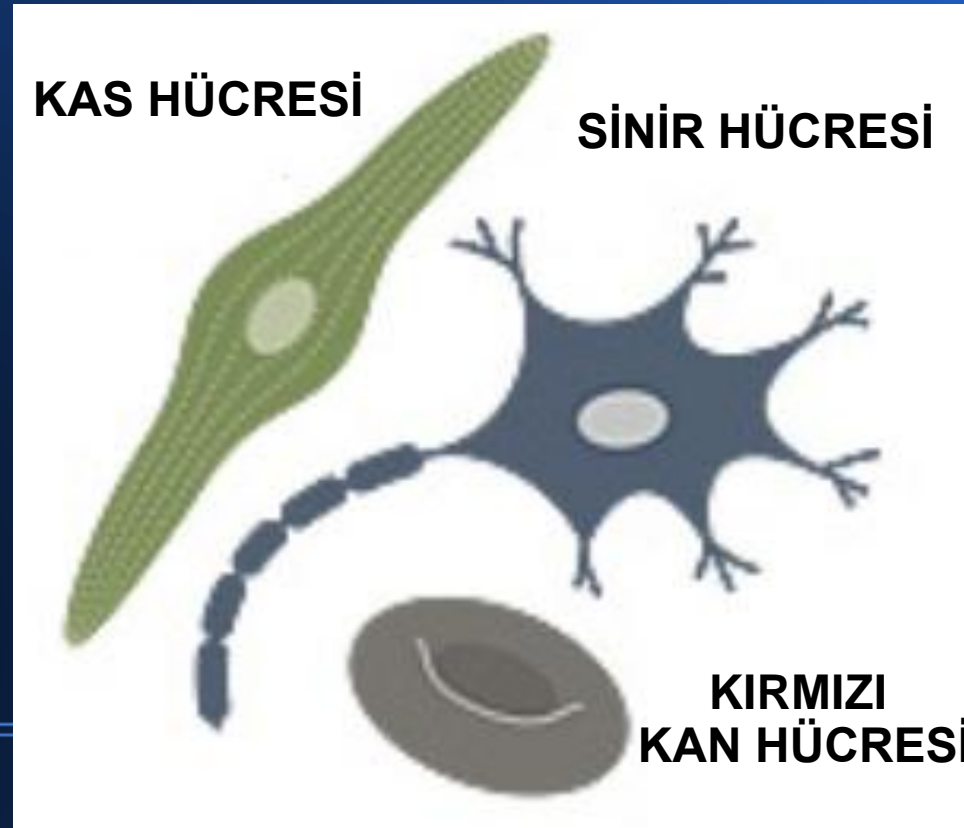
KATABOLİK GENELER:

Oluşturduğu gen yada genler katabolik reaksiyonlardan sorumlu genlerdir. Örneğin laktoz regülasyonundan veya glikolizden sorumlu genler.

ANABOLİK GENLER: Oluşturduğu genler herhangi bir biyokimyasal süreçte görev alarak biyosentez gerçekleştiren genlerdir. Örneğin Calvin-Benson döngüsü genleri.

GEN TİPLERİ

House keeping genler: hücre işleviyle ilgili, hücrenin normal şartlar altında ihtiyaç duyduğu yapısal ve fonksiyonel unsurları kodlayan genlerdir.



TERMİNOLOJİ

İntron: Genellikle ökaryotik ve az sayıda da prokaryotik genlerde bulunan değişik uzunluktaki DNA dizileri olup DNA ve hnRNA'da bulunan ancak olgun (işlevsel) mRNA bulunmayan dizilerdir.

Ekson: Protein kodlayabilen DNA dizileridir, DNA, hnRNA, mRNA üzerinde bulunurlar. Genetik kod eksonlar üzerindedir.

Siplisom: hnRNA'dan intronların uzaklaştırılıp eksonların birleştirilmelerinden sorumlu protein ve RNA kompleksi.

hnRNA [heterojen RNA (heterogeneous nuclear RNA)]: Transkripsiyonla DNA'dan sentezlenen işlenmemiş veya ham RNA'dır. hnRNA yapısal olarak riboprotein yapısındadır. RNA ve proteinden oluşur. Kendisi bir enzim gibi çalışarak oto-işleme yapabilir.

TERMİNOLOJİ

3'-UTR: Genin alt kısımlarında bulunan ancak translasyona alınmayan DNA dizileri. UTR: Untranslated Terminal Region

5'-UTR: Genin üst kısımlarında bulunan ancak translasyona uğramayan DNA dizileri.

ORF (Open Reading Frame): Açık okunabilir çerçeve: Bir başlama kodonu ve bitiş kodonlarından birini içeren DNA veya RNA ünitesidir.



TRASNKRİPSİYON

DNA'yı oluşturan nükleotit dizisinin RNA polimeraz enzimi tarafından bir RNA dizisi olarak kopyalanmasıdır. DNA'dan RNA'ya genetik bilginin aktarımıdır.

Protein kodlayan DNA durumunda, transkripsiyon, DNA'da bulunan genetik bilginin (bir mesajcı RNA aracılığıyla) bir peptit dizisine çevirisinin ilk aşamasıdır.

RNA'ya yazılan bir DNA parçasına "transkripsiyon birimi" denir. DNA sentezinde olduğu gibi transkripsiyonda da RNA sentezi 5'→3' doğrultusunda ilerler. Kalıp DNA 3'→5' doğrultusunda okunur; yeni, tümleyici RNA 5'→3' doğrultusunda oluşur.

TRASNKRİPSİYON

DNA'da bulunan bilgi işlevsel protein veya RNA ürünlerinin sentezini sağlar. Bu işlevsel ürünleri kodlayan DNA dizilerine gen, bunların oluşumuna da "gen ifadesi" veya "Gen Ekspresyonu" denir.

DNA'daki bilginin RNA olarak yazılmış haline "transkript" denir.

Ribozomların protein sentezi yapmak için okuduğu RNA molekülü "mesajcı RNA"dır.

TRASNKRİPSİYON

Prokaryotlarda RNA polimerazın ürettiği RNA ile ribozomlarda translasyonu yapılan mRNA aynı moleküldür.

Ökaryotlarda ise transkript bir takım işlemlerden geçtikten sonra olgun mRNA olur. Bu bakımdan, işlem görmemiş mRNA'ya "öncül mRNA", "prekürsör mRNA" veya "pre-mRNA" da denir.

Transkripsiyonun Aşamaları

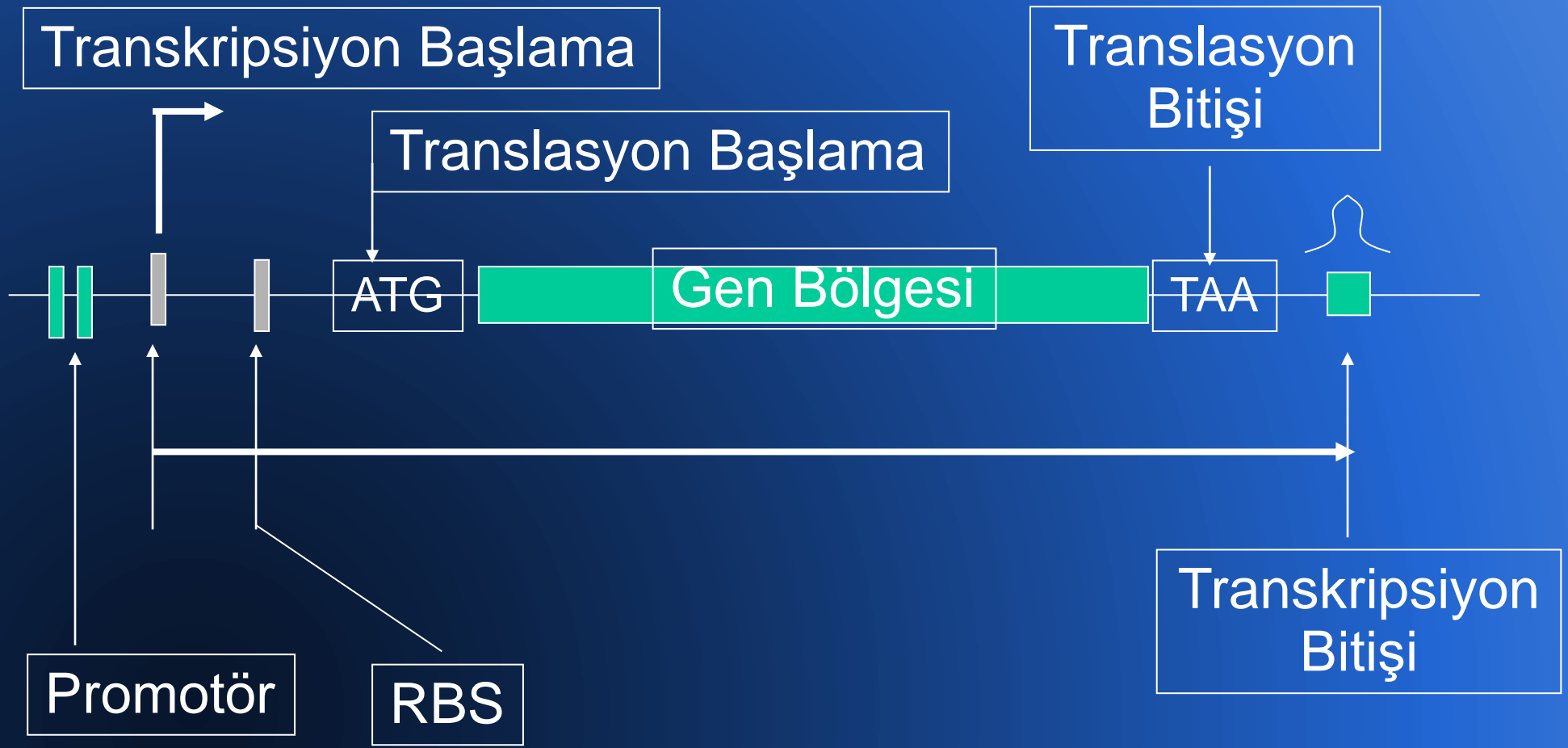
1. İniasyon (Başlama)
2. Elongasyon (Uzama)
2. Terminasyon (Sonlanma)
2. Proses (İşlenme)

TRANSKRİPSİYON

Elongasyon prokaryot ve ökaryotlarda benzerlik gösterir. İnisiyasyon ve terminasyon prokaryotlar ve ökaryotlarda farklılık göstermektedir.

Ökaryotik transkripsiyonda heterojen nüklear RNA (hnRNA) vardır. Heterojen nüklear RNA (Heterogenous nuclear RNA (hnRNA): DNA'dan sentezlenmiş olan ve işlenmemiş (ham mRNA) olup ribonükleotit-protein kompleksidir.

BAKTERİ GEN YAPISI



BAKTERİ GEN YAPISI

Operon: Bakteri kromozomunda transkripsiyonu koordine eden DNA ünitesidir. Operon Aşağıdaki Kısımlardan Oluşabilir

1-Regülatör Gen

Bu tür genler regülatör proteinleri kodlarlar. Örneğin laktoz bastırıcı proteini lac I geni tarafından sentezlenir

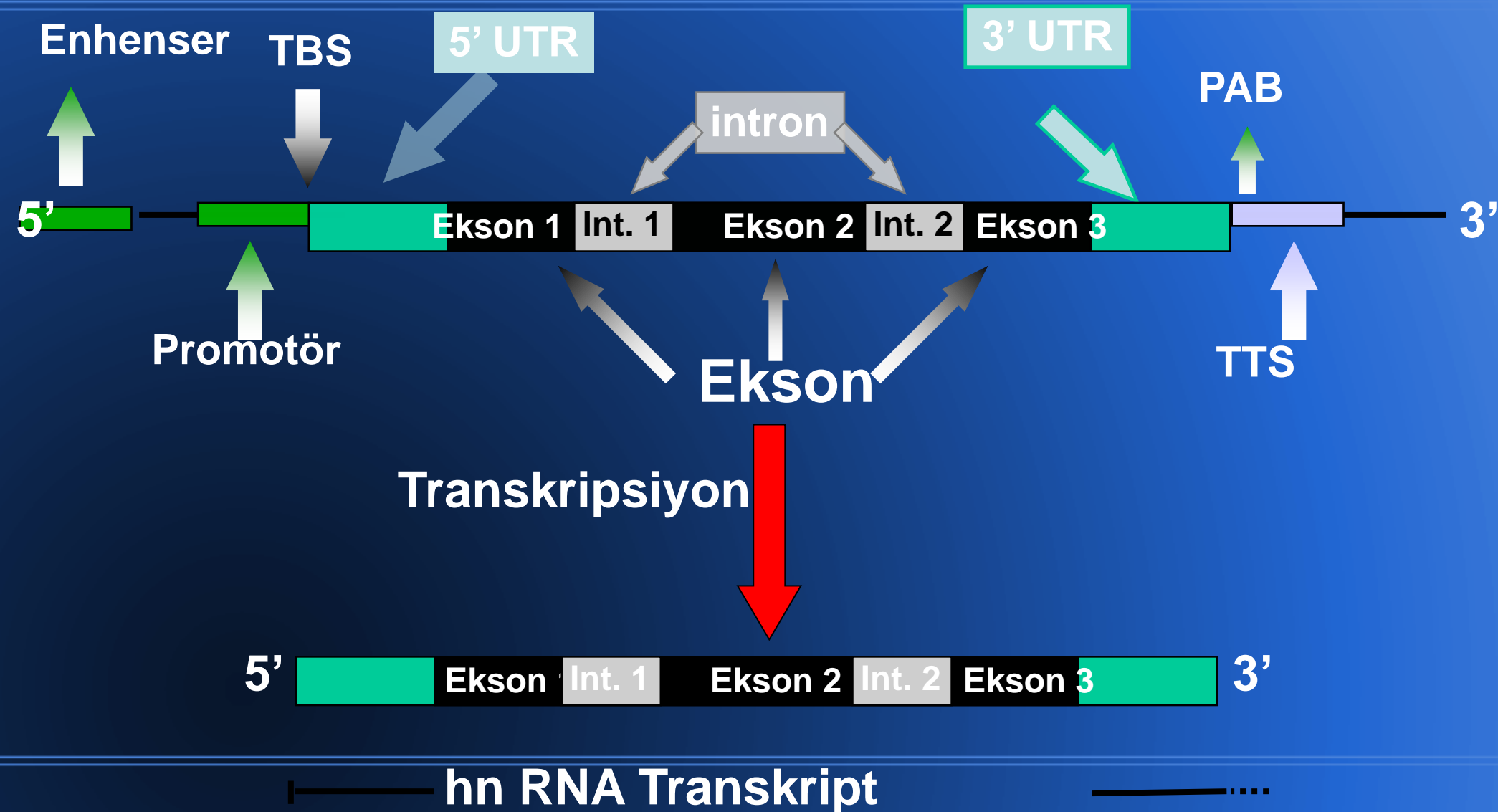
2- Operator

Regülatör proteinlerin bağlandığı operon DNA dizileridir.

3- Promotör: RNA polimeraz enziminin bağlandığı DNA dizisidir. RNA sentezi promotör dizilerinden hemen sonraki kısımları kapsar.

4-Yapısal ve Fonksiyonal Proteinleri Sentezleyen Genler: Örneğin laktoz operonunda bu genler laktoz metabolizmasından sorumlu enzimleri sentezleyen genler.

Basit ökaryotik gen kaseti



RNA POLİMERAZ (Prokaryot)

Primere ihtiyaç duymaz

En az 6 alt ünitelerden oluşur (2α , β , β' , σ , ω)

2,000 molekül/hücre

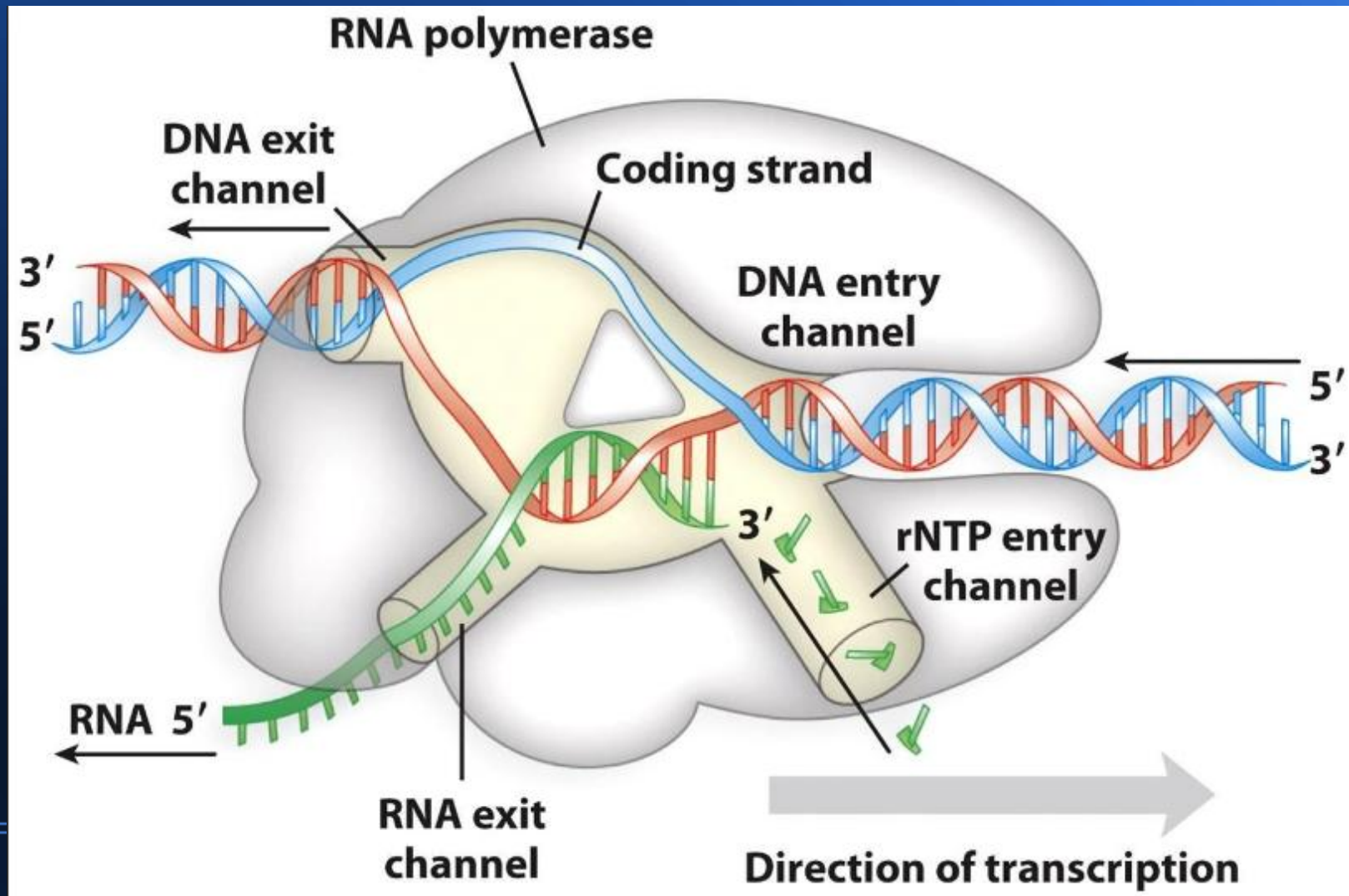
2α , β , β' = 'çekirdek'; polimeraz aktivitesi

σ promotöre bağlanma

Sigma Faktörü

Bakteri RNA polimerazın bir komponenti olup enzimin promotörü tanıyıp bulmasından sorumludur.

RNA POLİMERAZ (Prokaryot)



İNİSASYON

Prokaryotlar:

Promotörlerde iki önemli DNA dizisi vardır: biri, transkripsiyon başlama noktasından 10 nükleotit yukarıda (-10 konumunda) olan TATAAT dizisi; diğeri -35'de bulunan TTGACA dizisi önemlidir. Polimeraz DNA'ya bağlanır ve promotör için ilerler. Sigma altbirimi -35 dizisini tanıyıp RNA polimerazın daha sıkı bağlanmasını sağlar.

Sigma ayrılır ve geriye çekirdek enzimi bırakır. A-T baz çiftleri G-C baz çiftlerine kıyasla daha zayıf oldukları için -10 dizisinde DNA zincirleri birbirlerinden ayrılırlar.

İki DNA zincirinin birbirinden ayrıldığı bölge "transkripsiyon kabarcığı" olarak tabir edilir. RNA polimeraz uygun noktadan itibaren RNA sentezine başlar.

İNİSASYON

Ökaryotlarda -30'da TATAAA veya benzeri bir dizi (TATA kutusu) ve -80 civarında bulunan GGCCAATCT dizisi (CCAAT kutusu) vardır. Ökaryotlardaki TATA kutusuna önce TATA Bağlanma Proteini (TBP) bağlanır. Bu başlama kompleksi RNA polimerazı promotöre bağlar ve transkripsiyon sürecini başlatmasını sağlar. Bu proteinler temel düzeyde bir transkripsiyon için yeterlidirler. Daha yüksek seviyede transkripsiyon elde etmek için başka transkripsiyon faktörleri gereklidir.

Promotör ve ökaryotlarda hızlandırıcılara bağlanan düzenleyici proteinler, RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasına engel olarak veya bağlanmasını kolaylaştırarak transkripsiyonun seviyesini düzenlerler.

TRANSKRİPSİYON ELONGASYONU

RNA polimeraz 8-9 nükleotit ekledikten sonra sigma faktör holoenzimden ayrılır.

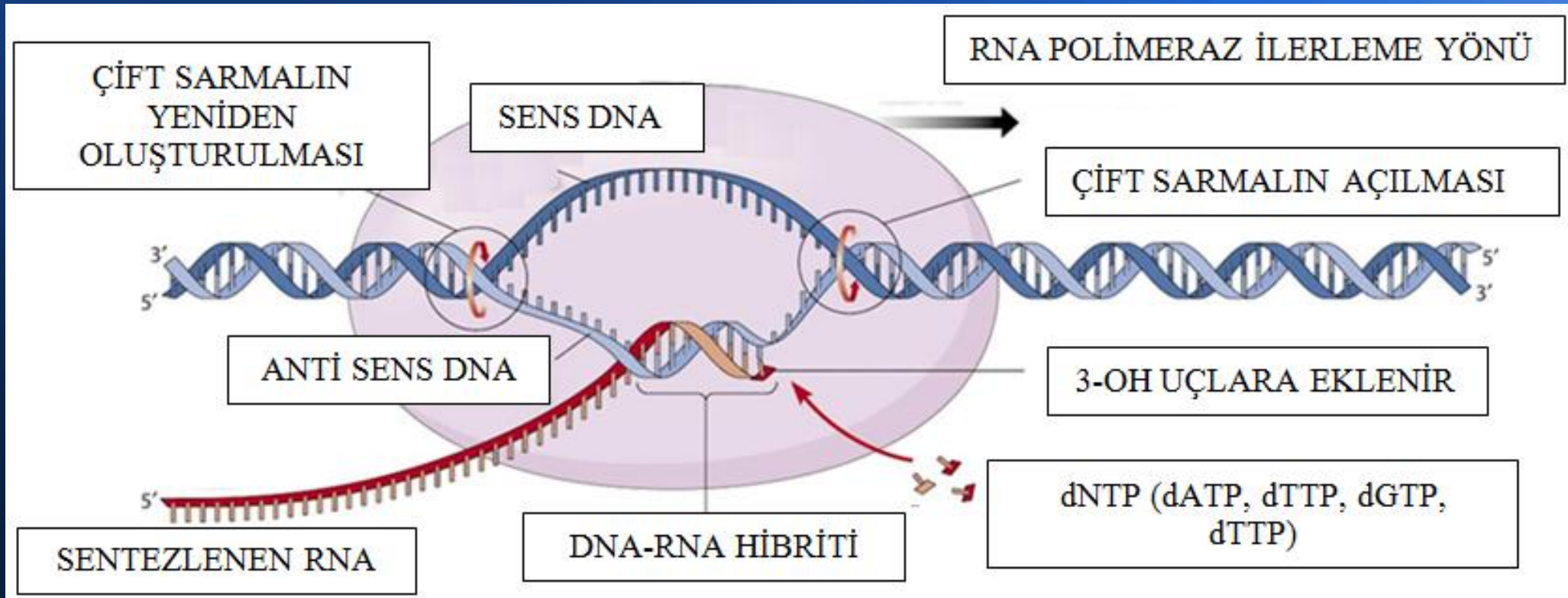
RNA polimeraz transkripsiyonu 30-50 nükleotit/saniye hızıyla sentezlemeye başlar.

RNA polimerazın önünde çifte sarmallı heliks hızlı bir şekilde açılırken RNA sentezinin tamamlandığı geri bölgelerde çifte sarmallı heliks tekrar kapanır.

Yeni sentezlenen RNA sarmalı ile DNA'nın kalıp sarmalı arasında DNA:RNA hibriti oluşur.

Uzama, prokaryot ve ökaryotlarda benzer şekilde gerçekleşir. Sentez sırasında geçici bir DNA-RNA hibriti oluşur ama sonra RNA DNA'dan ayrışır ve ilerleyen enzimin gerisinden DNA tekrar kapanıp normal çift sarmallı haline geri döner.

TRANSKRİPSİYON ELONGASYONU



TRANSKRİPSİYON TERMİNASYONU

Prokaryotlar:

RNA polimeraz bir sonlanma sinyaline rastlayınca RNA sentezi sona erer. Prokaryotik genlerde iki tip sonlanma vardır: "rho" adı verilen sonlanma proteininin gerekli olup olmadığına göre, rho'ya bağlı ve rho'dan bağımsız sonlanma.

Bunların sinyalleri farklıdır. Rho'dan bağımsız sonlanmada sık G/C nükleotitli bir bölgeyi izleyen sık A/T'li bir bölge bulunur. G/C'li kısım RNA'ya yazılınca, oradaki nükleotitler firkete görünümlü bir şekil alırlar ve bu RNA polimerazı yavaşlatır. Bunu izleyen sık A/T'li kısımda ise polimeraz duraklar ve DNA'dan kopar.

TRANSKRİPSİYON TERMİNASYONU

Prokaryotlarda transkripsiyonun sonlandırılması 2 değişik tipte gerçekleşir:

Tip I (Rho (ρ -) bağımsız)

Terminasyon bölgesine sentezlenmiş olan RNA üzerindeki Palindromik tekrarlar iplik oluşturarak DNA:RNA hibritinin ayrılmasına ve doğasıyla transkripsiyonun sonlandırılmasına neden olur.

Tip II (ρ -bağımlı)

Rho (ρ) faktör proteini DNA:RNA hibritini terminasyon bölgesinde ayırarak transkripsiyonun sonlandırılmasını gerçekleştirir.

TRANSKRİPSİYON TERMİNASYONU

Rho'ya bağılı sonlanmada ise DNA'da sık C'li bir bölge olur. Transkripsiyon sırasında rho proteini büyümekte olan RNA'ya bağlanıp, onun üzerinden polimeraza doğru ilerlemeye başlar. Polimeraz sık C'li bölgeye gelince duraklar, bu sayede rho polimeraza yetişir ve yeni sentezlenmiş RNA'yı ondan kopartır.

Ökaryotlarda prokaryotlardaki gibi belirgin sonlanma sinyalleri yoktur. RNA polimeraz mRNA'nın biteceği yerden 1000-2000 nükleotit daha ileriye kadar okumaya devam eder. Bu RNA sonradan işlenerek fazla uzamış kısmı çıkartılır.

ÖKARYOTLARDA POSTRANSKRİPSİYON MODİFİKASYONLAR

Prokaryot RNAlar sentezlendikten sonra herhangi bir işlemden geçmeden protein sentezinde kullanılırlar; hatta bir RNA'nın sentezi bitmeden translasyon başlayabilir.

Ökaryotlarda en son mRNA'nın oluşması için RNA polimeraz II transkriptleri bir takım işlemlerden geçer.

Bu olay post-transkripsiyon modifikasyonu olarak isimlendirilmektedir.

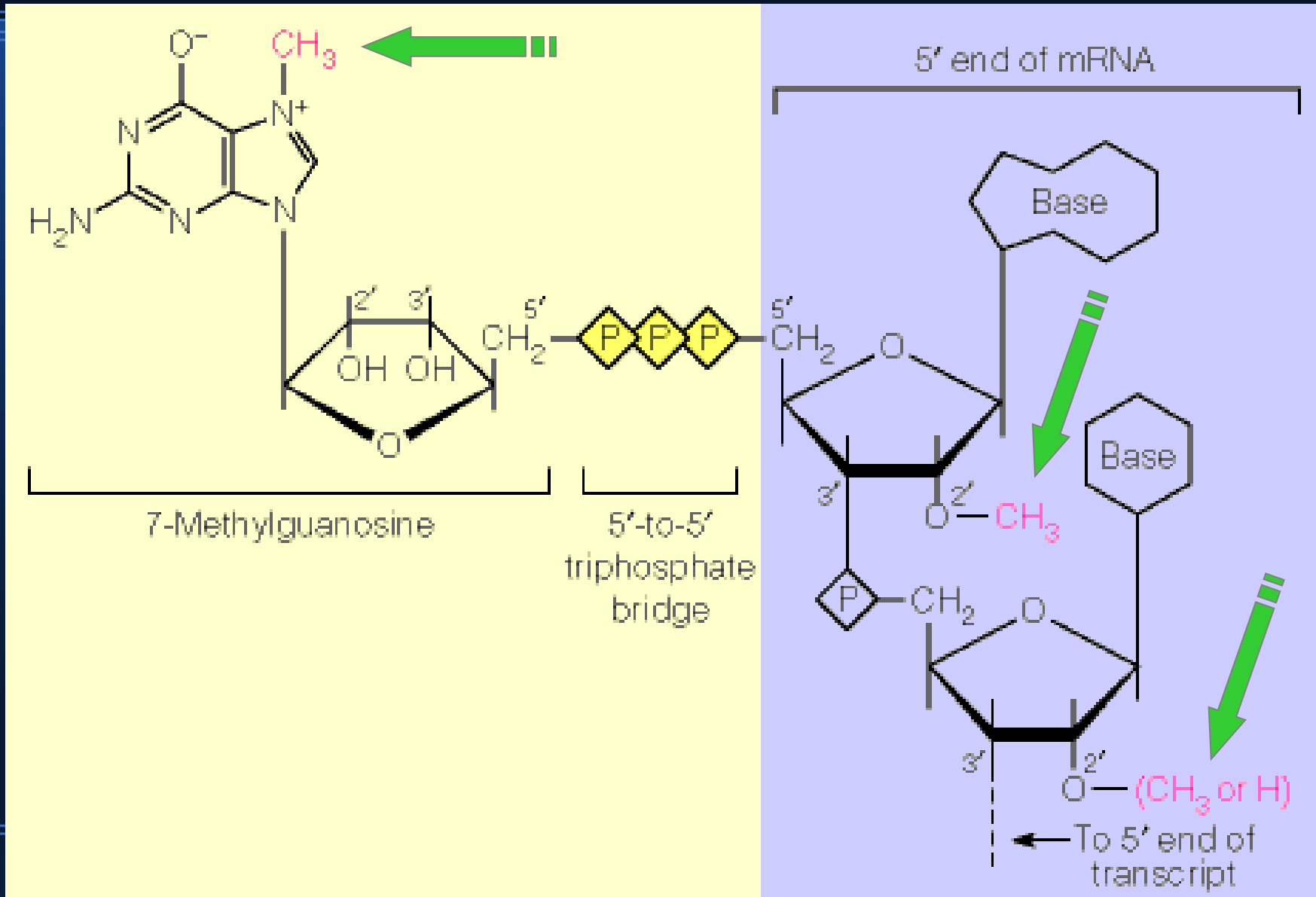
mRNA Başlığı (Capping)

mRNA stabilitesi ve Ribosoma bağlanma için mRNA'nın 5' ucuna G-nükleotidinin eklenmesidir. Ribozomal ve taşıyıcı RNAlar da işlenir, ancak başlık ve poliadenilasyon gerçekleşmez.

Başlık RNA'nın 5' ucunda olur. RNA'ya 5'-5' fosfodiester bağlantısı ile metilli bir guanin nükleotidi eklenir. Bu "başlık", mRNA'nın çeviri sırasında ribozomlar tarafından tanınması için önemlidir.

Bu olay sadece RNA pol II transkriptinde görülür. 5'-başlık yada cap protein sentezinin başlamasında ve ribozomun tanınmasında önemlidir. mRNA'nın 5' ucundan stabil olmasını sağlar.

mRNA 5'-Başlıklanması (Cap)



Poli A – Kuyruğu (Poliadenilasyon)

Poliadenilasyonda RNA'nın ucu kesilerek doğru olan 3' uç ortaya çıkar ve buna bir dizi adenin nükleotiti eklenir (Genellikle 100-200 nükleotit uzunluğunda A').

3' ucun konumu RNA içinde bulunan bir nükleotit dizisi tarafından belirlenir. Bu dizi, AAUAAA, poliadenilasyon sinyali olarak adlandırılır. Gerekli enzimler bu diziyi tanıyınca RNA bu sinyalden 10 - 30 nükleotit aşağıda kesilir ve sonra ona bir dizi adenin eklenir. Bu adeninlerin eklenmesinde bir şablon kullanılmaz; A'lar sadece peşpeşe RNA'nın 3' ucuna eklenir. Bu poli(A) kuyruğu ortalama 200 nükleotit uzunluğunda olur ve RNA'yı yıkımdan korur.

Poli A – Kuyruğu (Poliadenilasyon)

Transkripsiyon genellikle AAUAAA sekansını geçtikten yaklaşık ~20 nükleotit sonra bir nükleaz enzimi AAUAAA nın 10 -30 nükleotid sonrasında bir kesim yapar.

AAUAAA dizisi “poliadenilasyon bölgesidir”

Sonra Poli A polimeraz enzimi 100 – 250 baz uzunluğunda bir kuyruk ekler.

- Mayada ~ 100 baz
- Sineklerde ~ 150 baz
- Memelilerde ~ 250 baz

SİPLİSİN

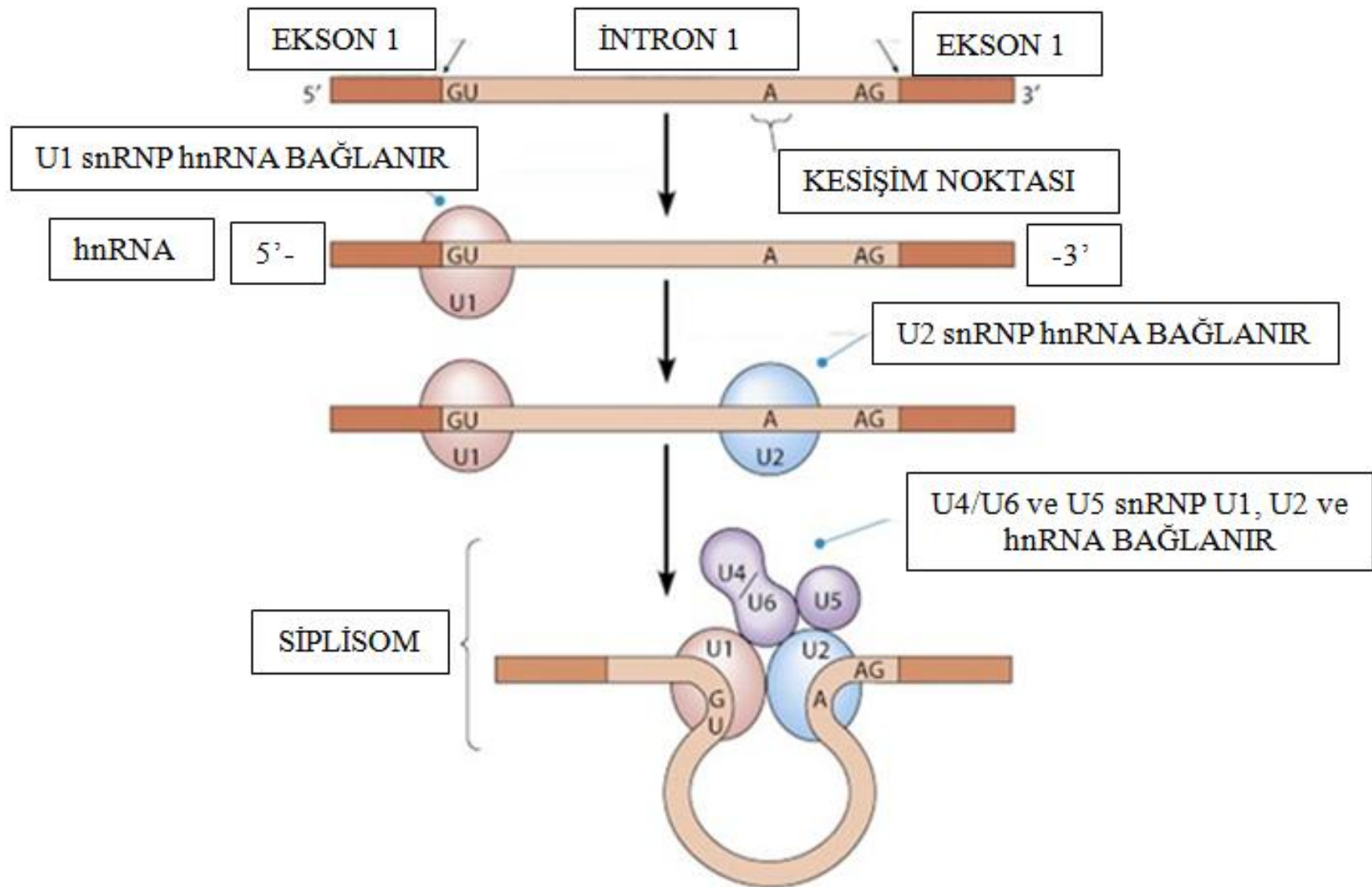
İntronların atılması eksonların birleştirilmesi. Bazı durumlarda ise farklı eksonlar birleştirilerek farklı genler oluşturulabilmektedir.

İntronların çıkartılma mekanizmasına bağlı olarak iki tip introndan söz edilir.

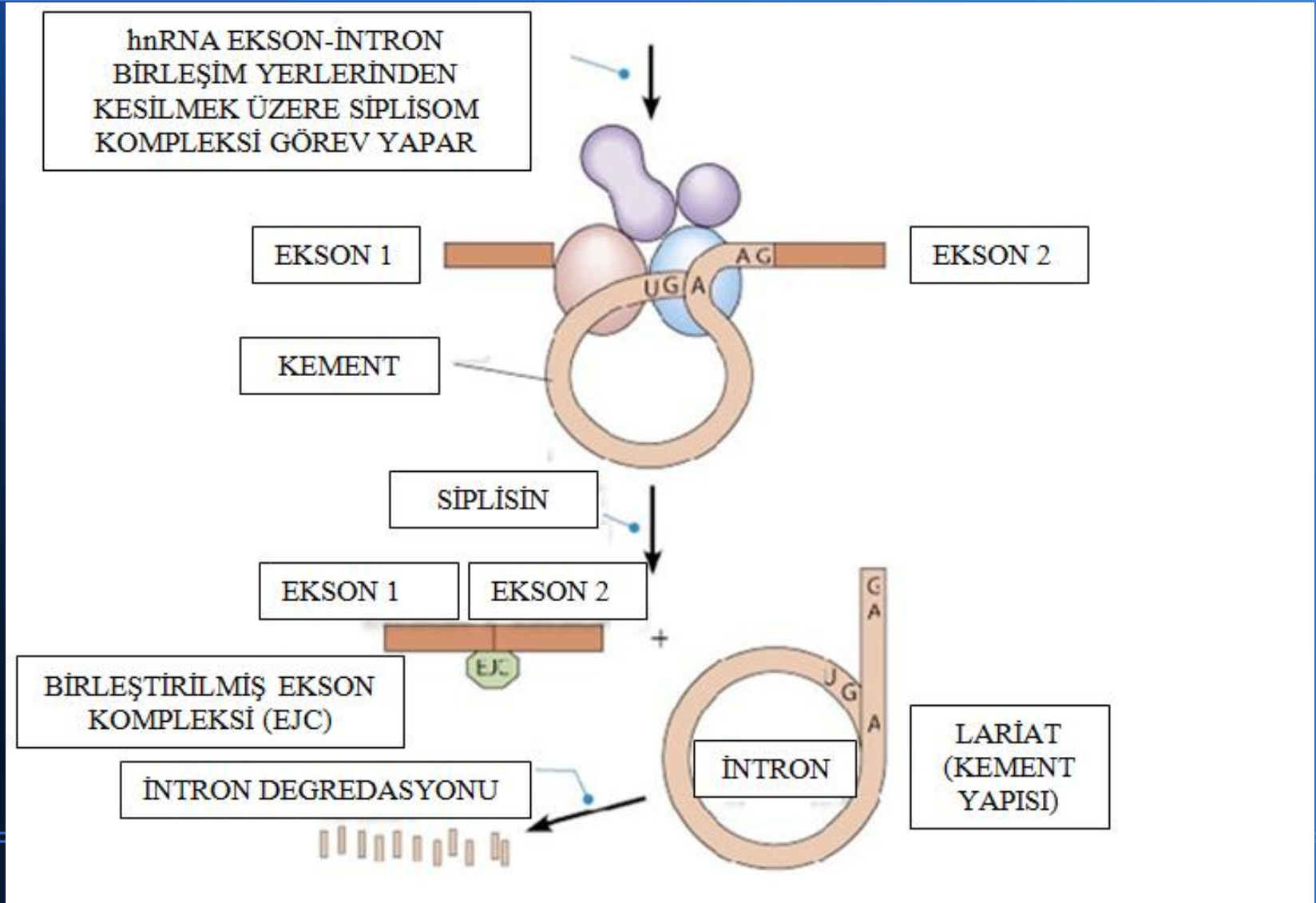
Tip I intronlarda RNA'nın katalizör özelliği vardır; kendi kendini kesip birleştirme yeteneğine sahiptir.

Tip II intronlarda bu işlemde sorumlu olan splizom (spliceosome) adlı büyük bir RNA/protein kompleksi vardır. Splizom, intron-ekson sınırını tanıyıp RNA'yı o noktada keser, sonra da bitişik eksonları birleştirerek olgun mRNA'yı meydana getirir.

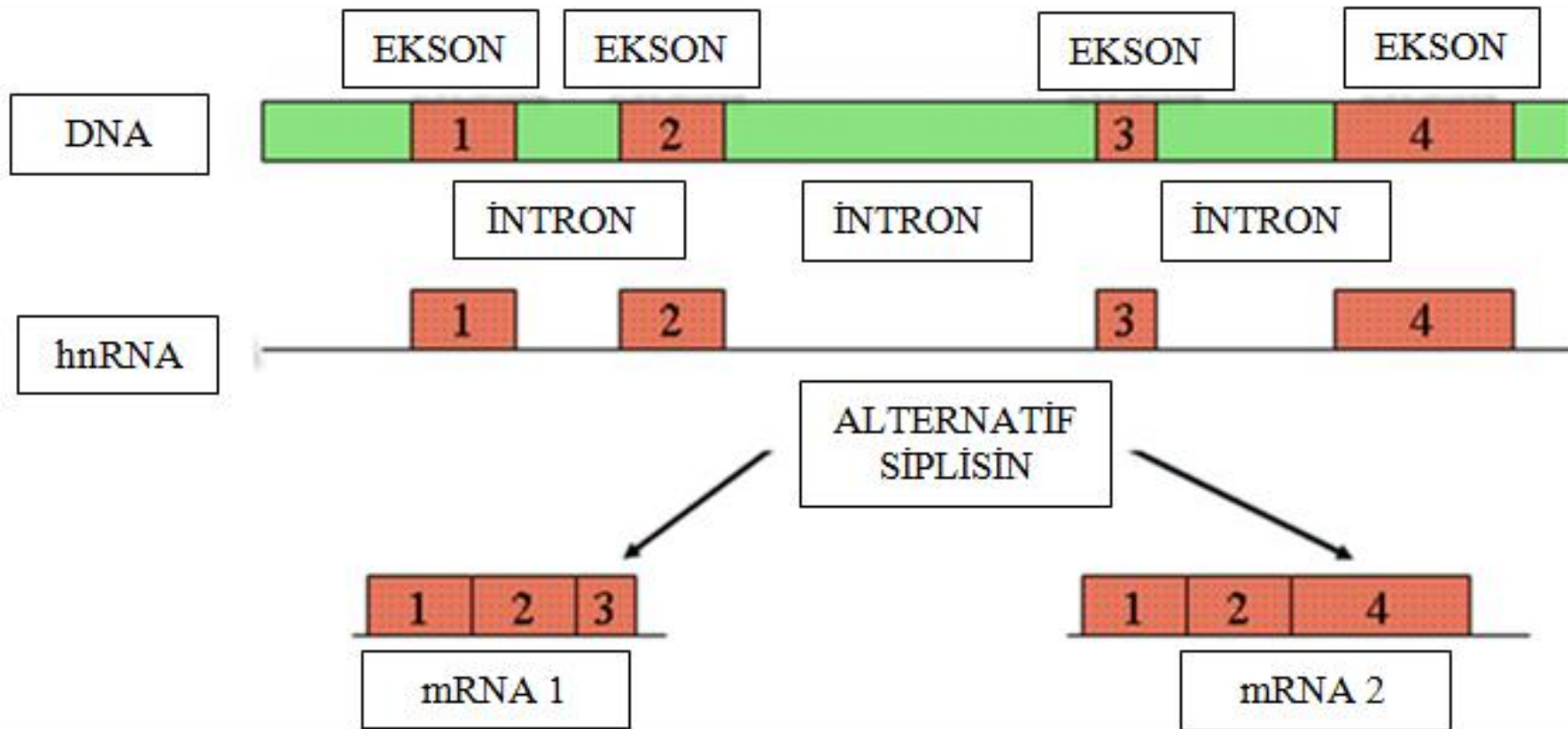
SİPLİSİN



SİPLİSİN



SİPLİSİN



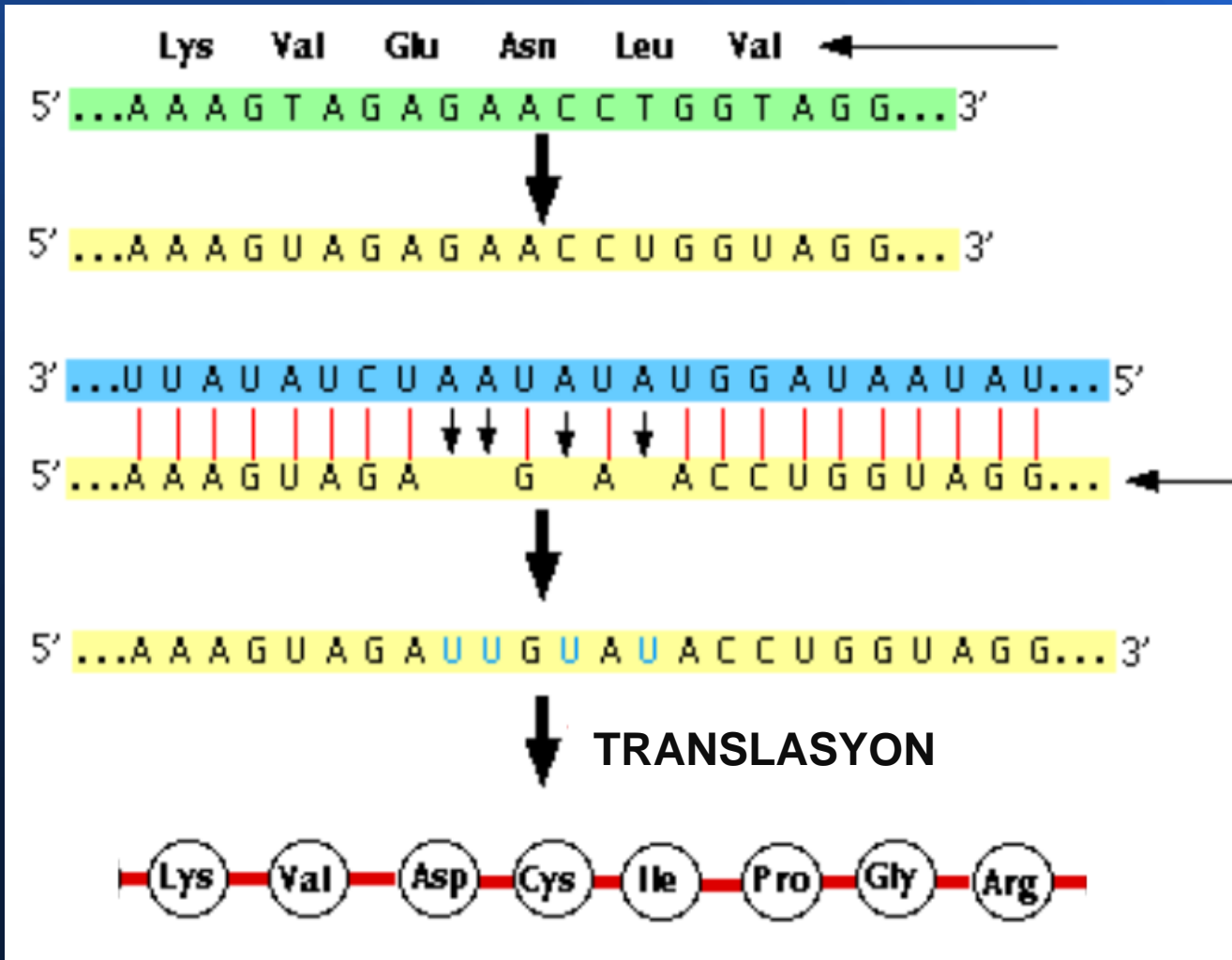
RNA EDITİNG (RNA EDİSYONU)

Transkripsiyon sonrası splicing, Kepleme ve Adenilasuon dışında DNA üzerindeki bilgi ile mRNA arasındaki bilgi farklılığına neden olan işlemlerdir.

Transkripsiyon olayından sonra bazı bazların eklenmesi veya çıkarılması ve bazı durumlarda değiştirilmesi olayıdır.

Edisyona alınacak RNA ile rehber RNA eşleme yapar. Eşlemenin ardından rehber RNA ve hedef RNA baz eşlemeleri arasındaki uyumsuzluklar aralarında terminal uridiltransferaz (TUTaz), RNA Ligaz'ın bulunduğu endonükleazlar tarafından rehber RNA lehinde değiştirilir.

RNA EDİSYONU



AMİNO ASİT ZİNCİRİ
DNA

İŞLENMEMİŞ RNA

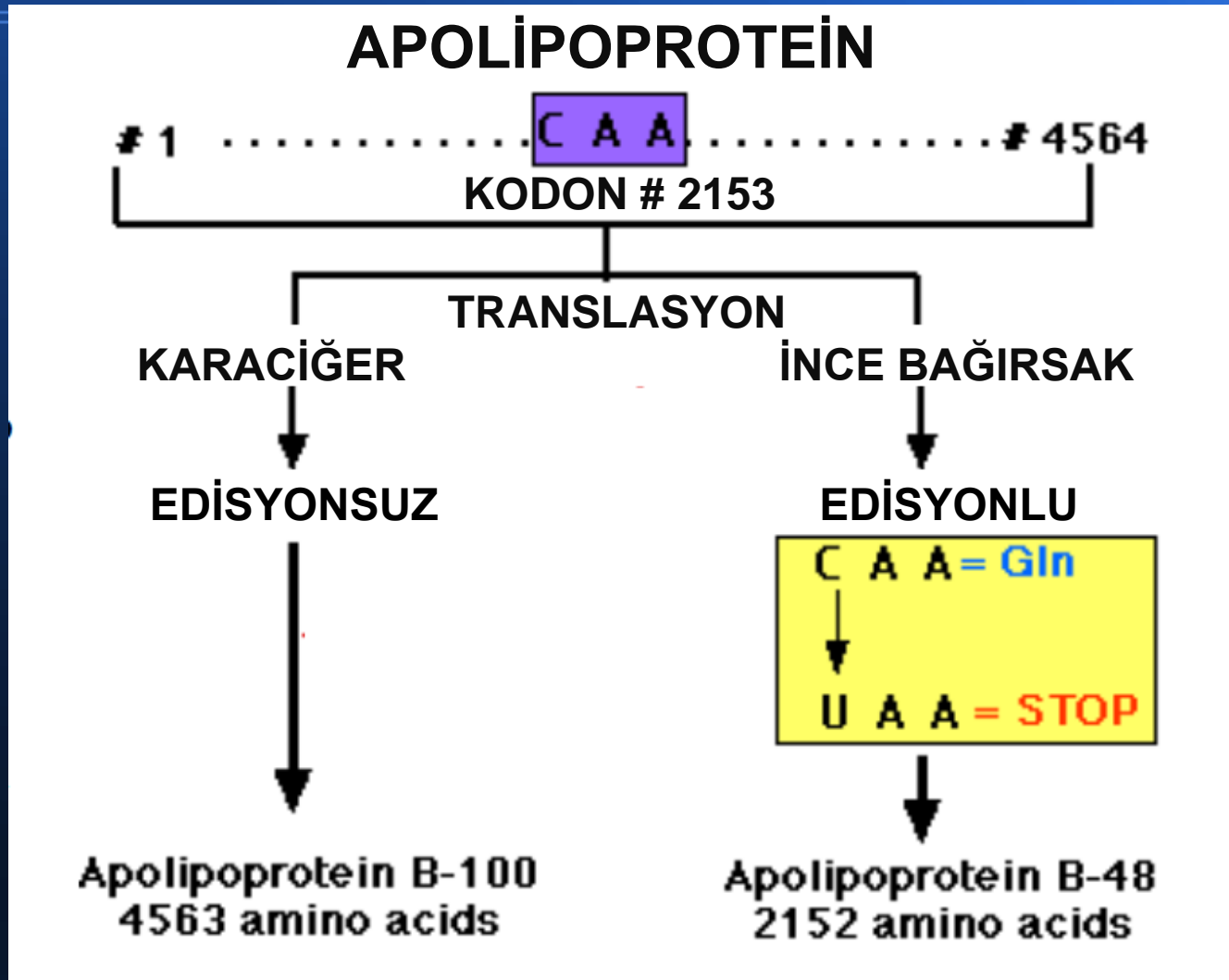
REHBER RNA

RNA

EDİSYONLU RNA

AMİNO ASİT ZİNCİRİ

RNA EDİSYONU



**KANDA KOLESTEROL
TAŞINMASI**

**İNCE BAĞIRSAKTA
LİPİT EMİLİMİ**

TERS TRANSKRİPSİYON

Bazı virüsler (HIV) RNA'yı DNA'ya dönüştürür. Bu tür dönüşüm **TERS TRANSKRİPTAZ** adlı enzim tarafından gerçekleştirilir.

Ters transkripsiyon ters transkriptaz adlı enzim tarafından gerçekleştirilir. DNA'dan cDNA sentezler. Başka bir enzim, ribonükleaz H, DNA-RNA hibritindeki RNA molekülünü yıkar. Ardından ters transkriptaz, cDNA'yı tümleyici bir DNA sarmalı daha sentezleyerek çift sarmallı bir DNA oluşturur.

TERS TRANSKRİPSİYON

