

# Transkripsiyon ve Translasyon

Doç. Dr. Arzu FINDIK



# Transkripsiyon

DNA'nın bir iplikçğinde (**sens DNA, 3'-5' yönünde olandan**) bulunan genetik bilgilerin şifreler (kodlar) halinde, RNA polimeraz (transkriptaz) enziminin katalitik etkisiyle tek iplikçik RNA'ya transferine **transkripsiyon** ve bu bilgileri taşıyan RNA'ya da **mesenger RNA** adı verilir.

DNA'daki Timin yerine, **mRNA'da Urasil** bulunur. Sentezlenen mRNA, 5'---3' yönünde olup kendisine kalıp ödevi gören DNA iplikçğine (3'---5') anti paraleldir

**Prokayotik mRNA**, birden fazla genin (proteinin) kodlarına sahiptir (polisistronik veya poligenik mRNA). Buna karşın ökaryotiklerin mRNA'sı monosistronik (monogenik) bir özellik taşır



# Prokaryotik/ Ökaryotik fark

- ◆ Prokaryotiklerde, transkripsiyon ve translasyon sitoplazmada gerçekleşmesine karşın, ökaryotiklerde gerek primer mRNA ve gerekse olgun mRNA'nın sentezi çekirdekte tamamlanır ve olgun mRNA buradan sitoplazmaya geçerek transle edilir. Ökaryotik primer mRNA'larda, ekzonlarla birlikte intronlarda bulunmasına karşın, olgun mRNA'da sadece ekzonlar vardır intronlar çıkarılmıştır.



# Transkripsiyonun temel komponentleri

- ◆ Promotora sahip çift iplikli DNA (dsDNA)
- ◆ RNA polimeraz (transkriptaz)
- ◆ rNTP'ler (ribonükleotid trifosfatlar-ATP, CTP, UTP, GTP)



# DNA polimerizasyonu/RNA polimerizasyonu fark

- ◆ rNTP'lar kullanılır
- ◆ Primere ihtiyaç yoktur
- ◆ Tek iplikçik DNA gerekir
- ◆ Timin yerine Urasil geçer
- ◆ Genomun küçük bir bölümü transkripte olur



DNA Polimerizasyonu/replikasyon	RNA polimerizasyonu/transkripsiyon
DNA polimeraz enzimi tarafından katalize edilir, primerler gerekir	RNA polimeraz enzimi tarafından katalize edilir, primere gerek yoktur
Deoksiribonükleotidler (dNTP) kullanılır	Ribonükleotidler (rNTP) kullanılır
Adenin karşısına Timin gelir	Adenin karşısına Urasil gelir
Tüm genom kopyalanır	Genomun sadece bir bölümü kopyalanır
Geriye yönelik kontrol okuması (proof-reading) var	Geriye yönelik kontrol okuması (proof-reading) yok



# DNA POLYMERASE VERSUS RNA POLYMERASE

DNA polymerase is the enzyme which synthesizes new DNA molecules from DNA nucleotides in a process called DNA replication

Used in DNA replication

Synthesizes a double-stranded DNA molecule

Uses DNA nucleotides to synthesize a new strand

Active during S phase of the interphase

RNA polymerase is the enzyme responsible for the synthesis of RNA molecules from DNA in a process called transcription

Used in transcription

Synthesizes a single-stranded RNA molecule

Uses RNA nucleotides to synthesize a new strand

Active during G1 and G2 phases of the growth phase

Binding to a strand requires a replication fork, which is made by DNA gyrase

Requires a primer for the initiation of replication

Possess exonuclease activity

Synthesizes the entire chromosome

Has a low error rate

Pol I and Pol III are the two types of DNA polymerases, which are responsible for 80% of DNA replication in the cell

Binding to a strand requires its holoenzyme to recognize the promoter of the gene

Does not require a primer for the initiation

Lacks exonuclease activity

Stops the synthesis at the transcription termination site

Has a comparatively high error rate

Eukaryotes contain RNA polymerase I to V; Prokaryotes contain only one type of RNA polymerases



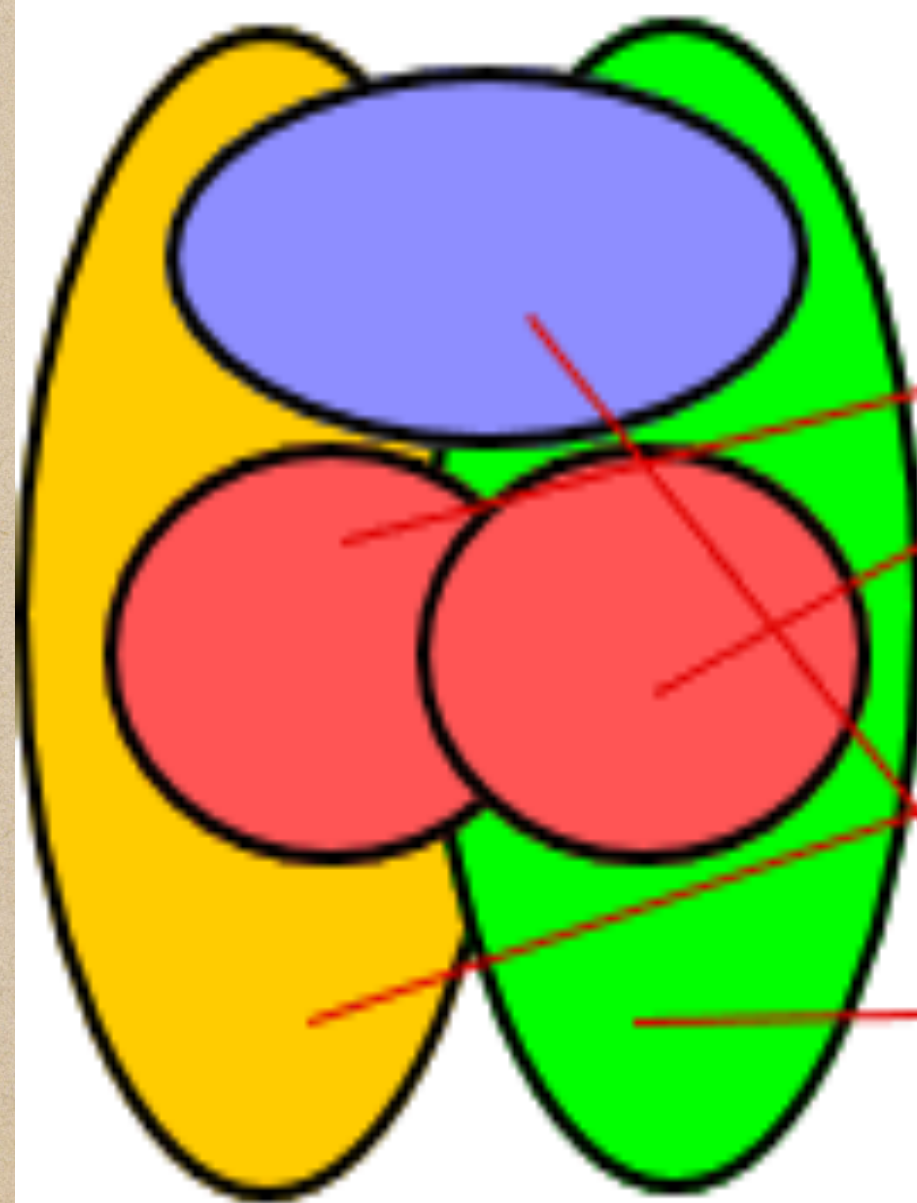
# Transkripsiyon

- ◆ Transkriptaz (DNA'ya bağı RNA polimeraz); prokaryotiklerde tek, ökaryotiklerde 3 farklı RNA pol. vardır
- ◆ 5 farklı alt ünite: 2 molekül halinde  $\alpha$ , iki ayrı  $\beta$ , ve bir de **sigma- $\sigma$**  faktörü. Alt proteinlerden ilk 4 üne ( $\alpha$  2,  $\beta$ ,  $\beta'$ ) **merkez enzim kompleksi** adı verilir.
- ◆  $\alpha$  faktörleri; mRNA zincirinin başlamasında,  $\beta$  faktörü; başlama ve zincirin uzamasında,  $\beta'$  faktörü; DNA'ya bağlanmada ve sigma faktörü de enzim tarafından promotorun tanınmasında etkin rollere sahiptirler. Sigma faktörü, sentez başladıktan sonra hemen ayrılarak sitosola döner ve sentezi merkez enzim kompleksi devam ettirir.



# RNA polimeraz

## Prokaryotic RNA Polymerase: Holoenzyme Enzyme



<u>Subunit</u>	<u>Size</u>	<u>#/Molecule</u>	<u>Function</u>
α	36.5 kD	2	chain initiation and interaction with regulatory proteins
β	151 kD	1	chain initiation and elongation
β'	155 kD	1	DNA binding
σ	70 kD	1	promoter recognition



# PROKARYOTIC RNA POLYMERASE VERSUS EUKARYOTIC RNA POLYMERASE

## PROKARYOTIC RNA POLYMERASE

The RNA polymerase in prokaryotes, consisting of four subunits and a sigma factor

Types: A Single Type occurs in prokaryotes

The core enzyme contains five subunits

Size: Around 400 kDa

Synthesizes polycistronic RNA

Prokaryotes regulate transcription with the use of different types of sigma factors

## EUKARYOTIC RNA POLYMERASE

The five types of RNA polymerases occur in eukaryotes

Types: RNA pol I, II, III, IV, and V

Contains 10-20 subunits

Size: Around 500 kDa

Synthesizes monocistronic RNA

Eukaryotic transcription is regulated by the presence of different types of RNA polymerases

Visit [www.PEDIAA.com](http://www.PEDIAA.com)



# Transkripsiyon

1. Başlama

2. Zincir uzaması

3. Bitiş



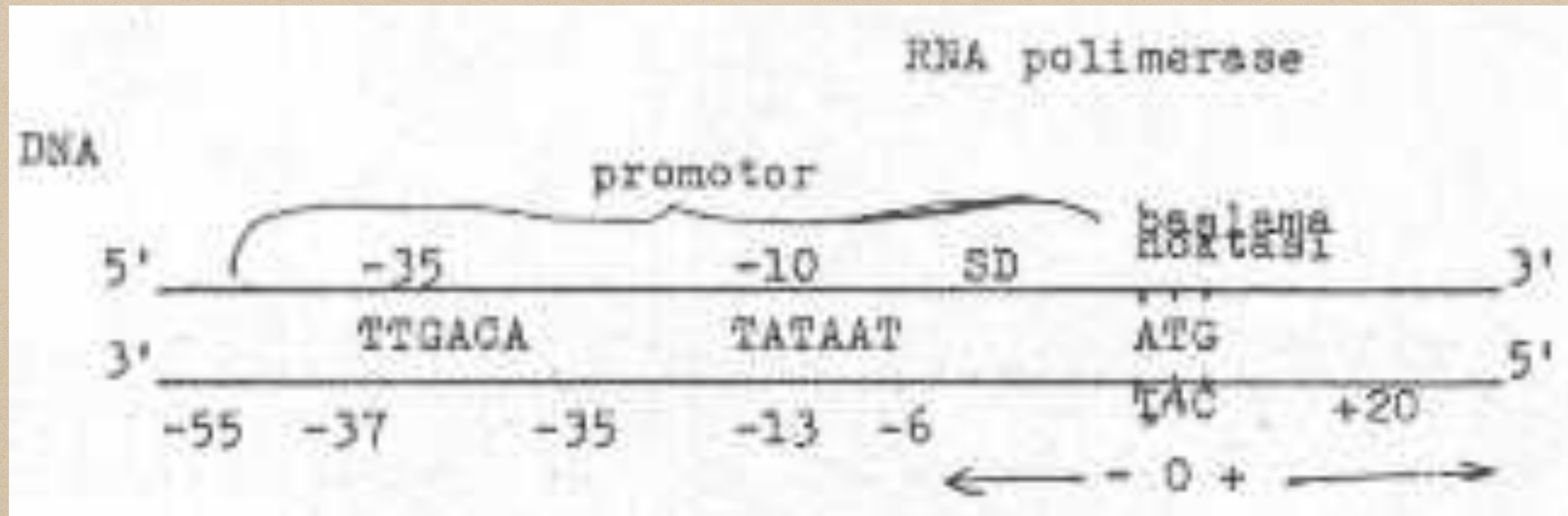
# Transkripsiyon-Başlama

- ♦ **Promotor**; DNA'da kodlayan sekansların (DNA'nın 5' -ucuna doğru), primidinlerden zengin bölgesi olup mRNA sentezinin başlangıcında RNA polimeraz enzimi bu bölgeye bağlanır. Bu bağlanma 77-80 bazlık bir bölgeyi (-55 ile +20 bazları arası) kapsar.

mRNA'daki **AUG; başlangıç kodonu ("0")**ndan sola (upstream) doğru "-", sağa (downstream) doğru "+" bölgedir.



# Promotor



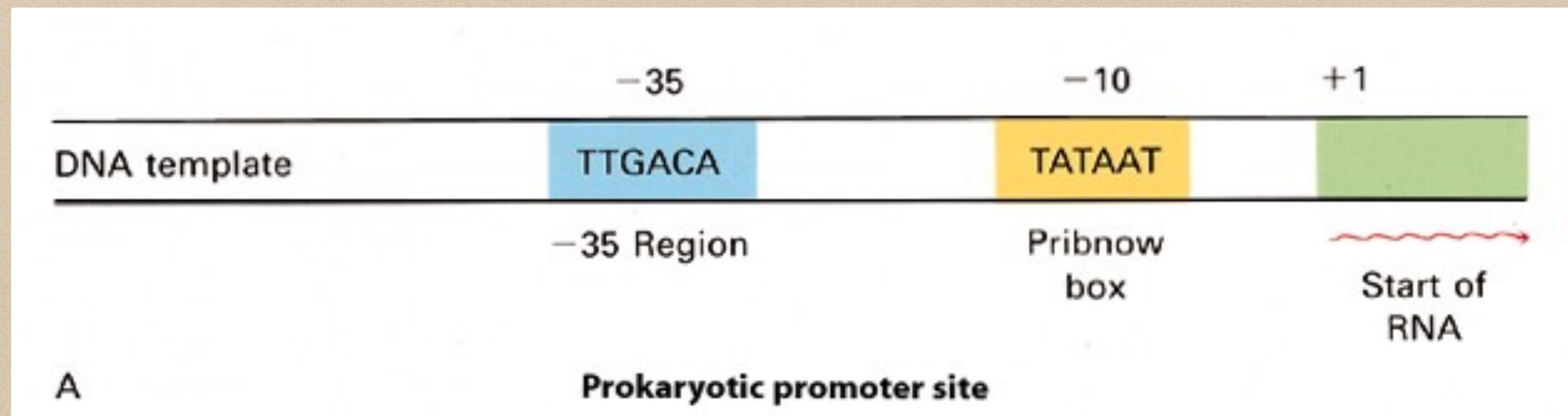


# Başlama bölgeleri

- ♦ -55 bölgesine kadar olan bölge içinde çok korunmuş olan ve merkezleri **-10 ile -35'e** isabet eden, her biri yaklaşık 6 bazdan oluşan **iki bölge** bulunmaktadır:
- ♦ **Pribnow box:** -6 ile -13 bölgeleri arası/ TATAAT
- ♦ **İkinci bölge:** -30. ile -37. bazlar arasında/TTGACA **Bu bölgelerden -10;** DNA'da açılma sinyalini **ve -35;** RNA polimerazın bölgeyi tanıma sinyalini taşırlar



# Başlama bölgeleri





# Transkripsiyon

- ◆ RNA polimerazın promotora bağlanması, sadece gen “on” konumundaysa oluşur. Diğer başka proteinler (transkripsiyon faktörleri) RNA polimeraza promotora bağlanmada yardımcı olurlar. Diğer DNA sekansları (daha sol tarafta kalan) buna katılır.
- ◆ Bir kez promotora bağlandıktan sonra, RNA polimeraz DNA'nın küçük bir bölümünü gevşetir ve bunu kalıp olarak kullanır.
- ◆ Kalıp (template) olarak kullanılan DNA iplikçisi (**anlamlı iplikçik**), diğeri “**kodlayan iplikçik**”tir. RNA, 5' ucundan 3' ucuna doğru, 3'--5' iplikçisi kalıp kullanılarak sentezlenir.

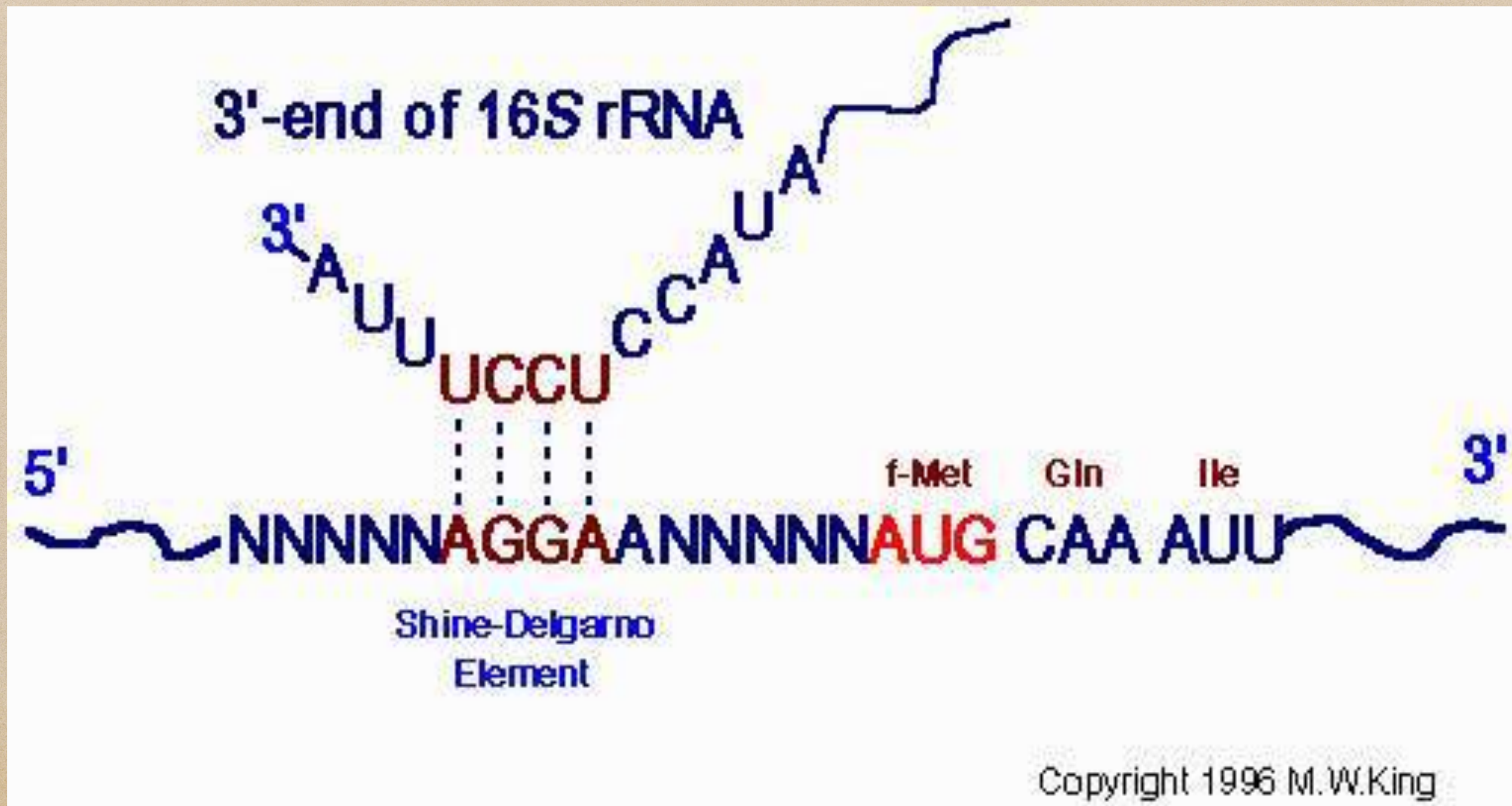


# Transkripsiyon

- ◆ Başlama noktası ile -10 bölgesi arasında bulunan ve yaklaşık 6-7 bazdan oluşan, pürinlerden zengin kısım **Shine Dalgarno (SD) sekansları** olarak tanımlanır **ve burası da aynen mRNA ya aktarılır** (yalnız prokaryotik translasyonda). SD sekansları 16S rRNA'nın 3' ucundaki sekansa komplementerdir.
- ◆ Buna karşın, -10 ve -35'lik bölgeler (promotor bölgesi) sentezin başlamasında rol aldığı halde, mRNA'ya transfer edilmezler.

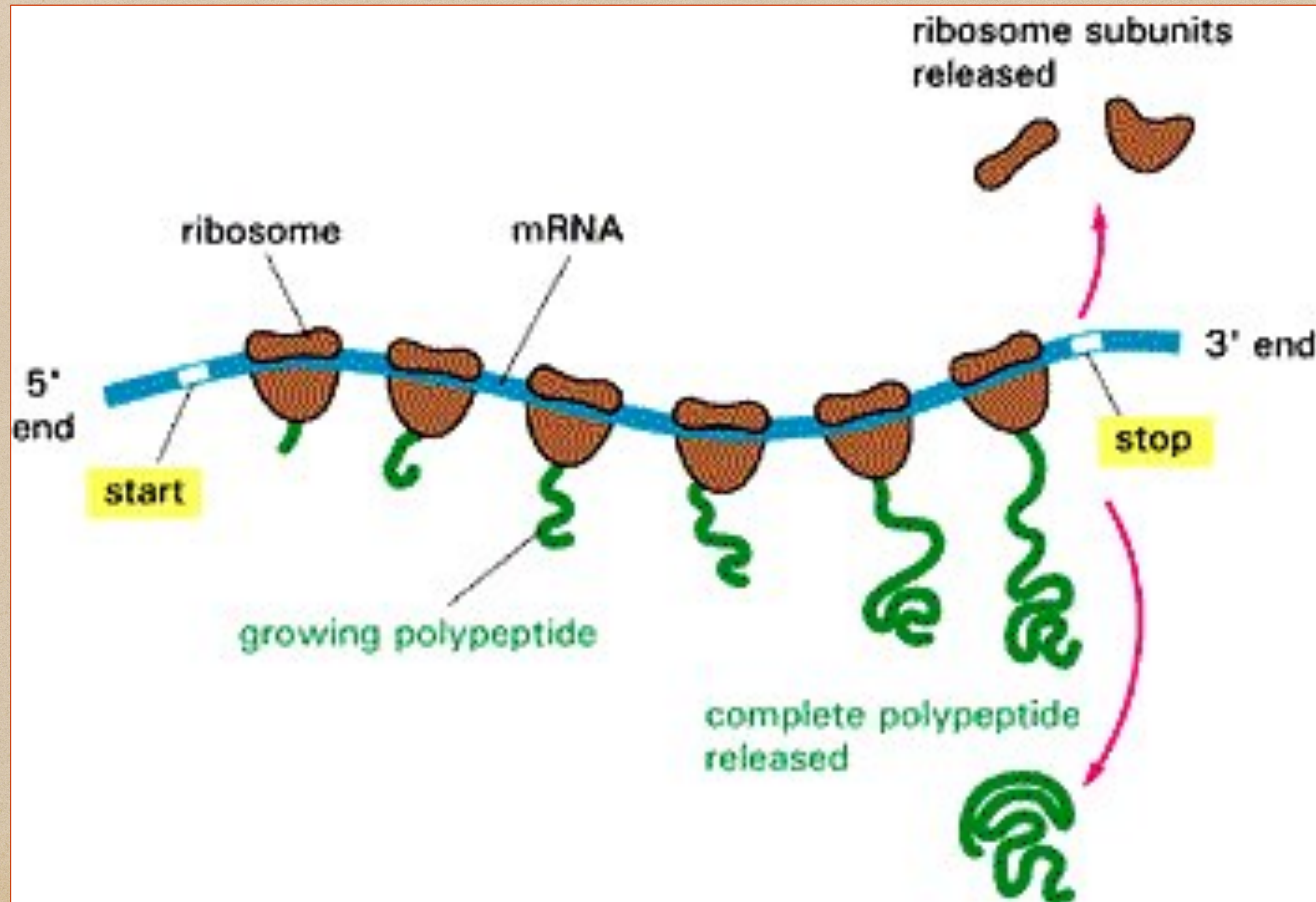


# Shine Dalgarno Sekansı





# Polizom (poliribozom)





# Polizomların Elektronmikroskopik Görüntüsü





# Transkripsiyon

- ◆ Bazı promotorlarda, çok korunan -10 ve -35 bölgelerinin yerleri, promotorun kuvvetine göre değişebilir ve böylece promotorlar etkinliklerine göre **zayıf, orta ve kuvvetli** promoterler olmak üzere gruplandırılabilirler (promotorun etkinliği, belli bir süre içinde sentezlenen proteinlerin miktarına göre, tanımlanmaktadır)

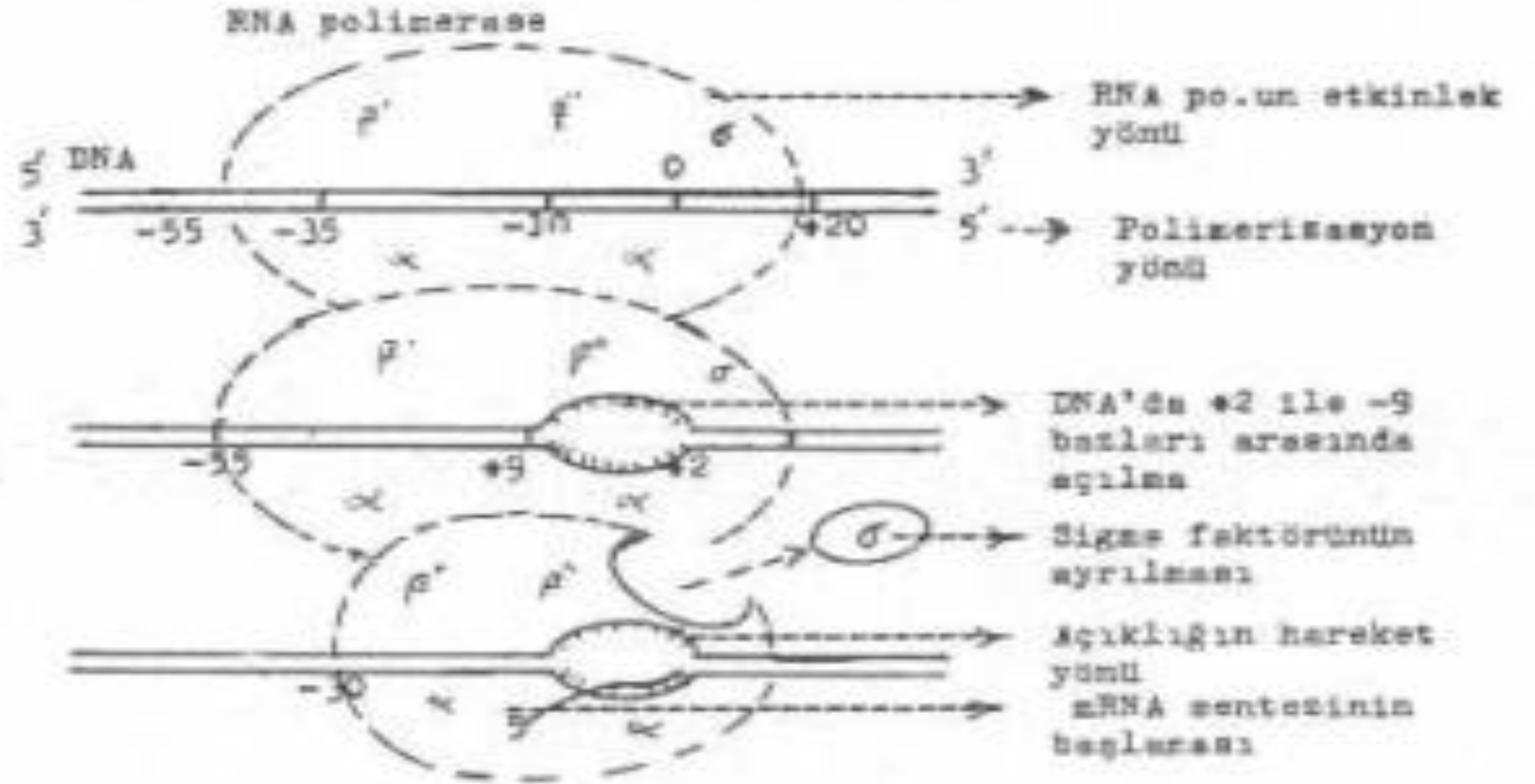


# Transkripsiyon

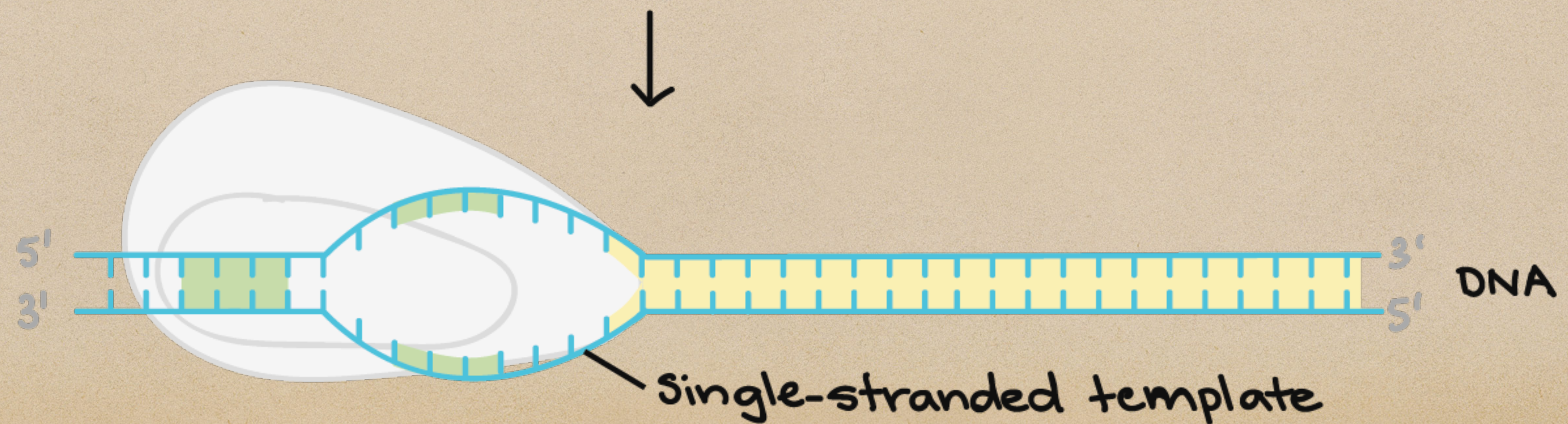
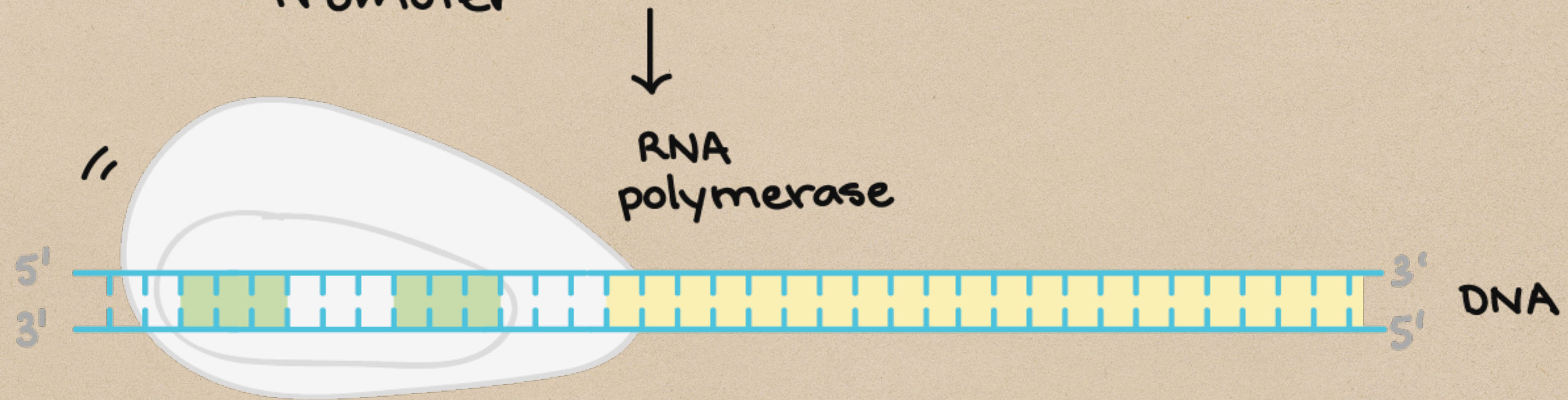
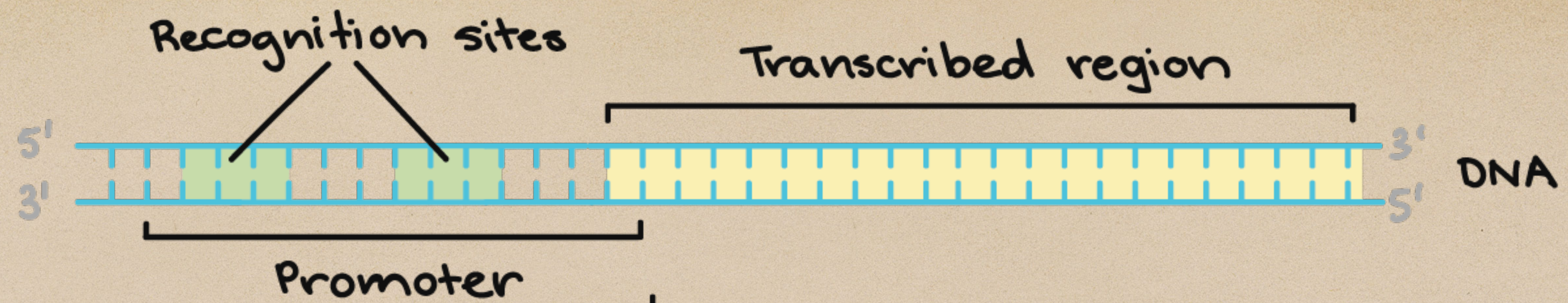
- ◆ RNA polimerazın bağlantısı, bu iki bölgede (-10 ve -35) kuvvetlendikten sonra promotorda hemen açılma olmaz. Önce kısa bir süre için kapalı kalır ve bunun hemen arkasından, -9 ile -2 sekansları arasında yaklaşık 10 baz uzunlukta DNA'nın 5'--3' yönündeki iplikçiğinde bir açılma meydana gelir. Bu bölgede, DNA'da karşılıklı bazlar arası bağlantılarda kopmalar oluşur. Bu açılmayı RNA polimeraz enzimi gerçekleştirir. Açılma meydana geldikten hemen sonra da, DNA'nın 3'--5' yönündeki iplikçiğinden ve başlangıç noktasına yakın yerinden sentez başlar. **Sentez başlayınca da sigma faktörü kompleksten ayrılır. Ayrılma olunca, merkez enzimleri ( $\alpha 2$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ ) polimerizasyona devam ederler**
- ◆ Sigma faktörü, RNA polimerazın DNA'nın 5' ucuna bağlanmasını güvence altına alır.



# A)Başlama









# Transkripsiyon-Zincir Uzaması

- ◆ -9 ile -2 sekansları arasındaki açılma ile birlikte RNA pol. enzimi, DNA üzerinde, 5'--3' yönünde ilerlemeye başlarken, açık olan kısımda, DNA'nın 3'--5' yönündeki iplikçiğin üzerinde de aynı yönde mRNA sentezlemeye devam eder.
- ◆ Açılan DNA bölgesinin hemen arkasından da ilmek kısmında kapanma meydana gelir. Açılma veya açıklık enzimle birlikte ilerler. Böylece, DNA'nın dejenerasyonu önlenmiş olur.
- ◆ Sentez sırasında nukleotid trifosfatlar, mRNA'nın 3' -OH ucuna ilave edilerek tek iplikçik RNA'nın 5'--3' yönünde uzamasını sağlar. Ancak, DNA'da bulunan timin yerine, RNA'da urasil bulunur.
- ◆ Bakterilerde, mRNA sentezi devam ederken, ilk önce sentezlenen 5' -ucu, ribozomlarda transle olmaya başlar. Böylece, transkripsiyon devam ederken translasyon da başlamış olur. mRNA, translasyon tamamlanınca 5' -ucundan itibaren degrade olmaya başlar. Ökaryotiklerde mRNA'nın hücre içindeki dayanma süresi, prokaryotiklerden daha uzundur (4-24 saat).

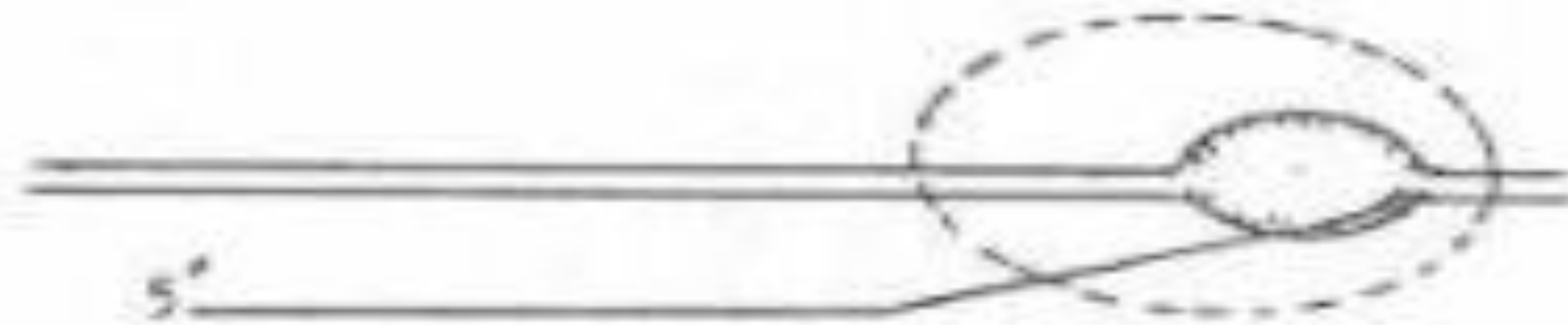


B) Zincir uzaması



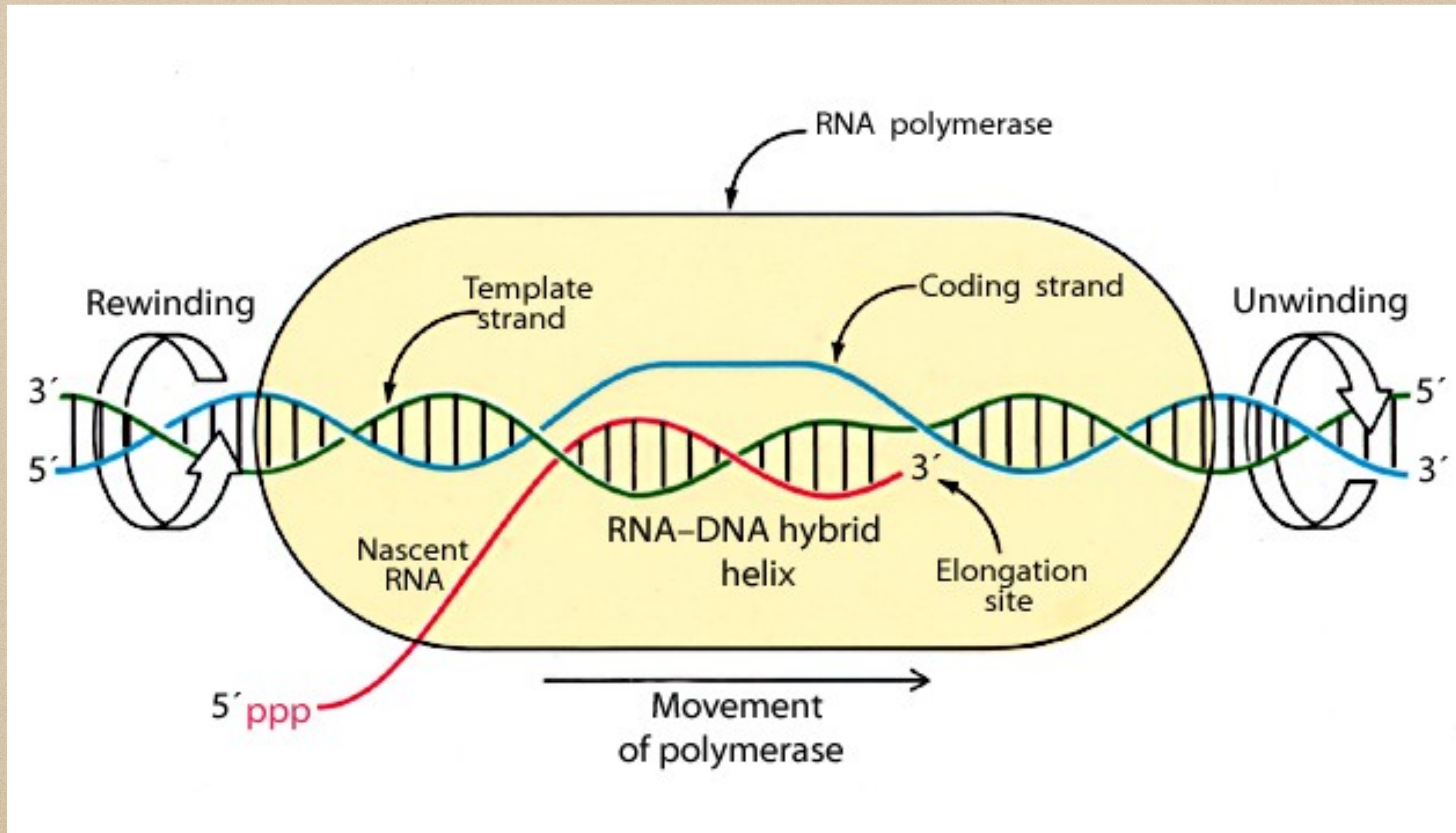
RNA pol. un ilerlemesi

açıklığın ilerlemesi



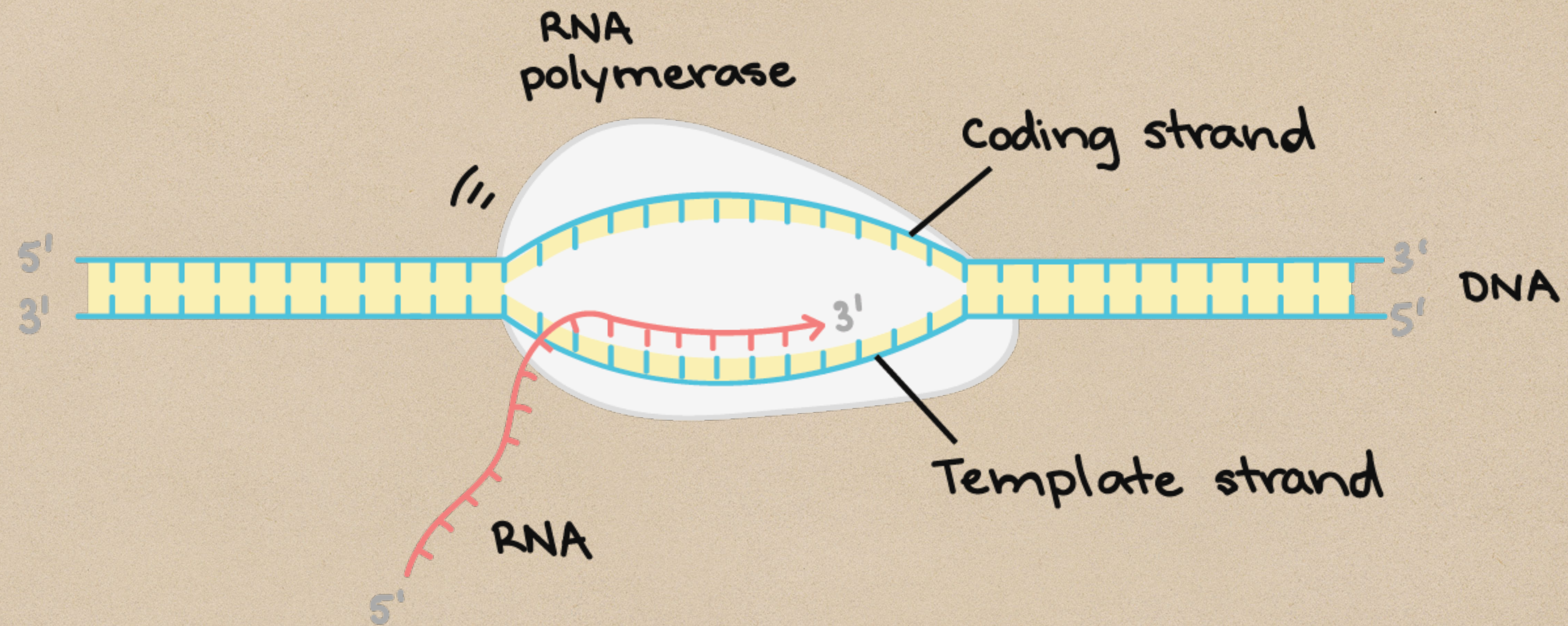


# Transkripsiyon-Zincir Uzaması





# Transkripsiyon-Zincir Uzaması



Coding strand	5'	A	T	G	A	T	C	T	C	G	T	A	A	3'
RNA	5'	A	U	G	A	U	C	→	3'					
Template strand	3'	T	A	C	T	A	G	A	G	C	A	T	T	5'



# Transkripsiyon-Bitiş (Terminasyon)

RNA polimeraz, mRNA sentezini başlattıktan sonra zincir uzaması **terminatör sekansa** gelinceye kadar devam eder ve durur. Artık, enzim, zincire herhangi bir nukleotid ilave etmez. Sonra, zincir serbest kalır ve DNA'dan ayrılır. İlmekteki DNA x RNA dubleks hibrid bağları kopar. DNA'daki açıklık kapanır ve eski kapalı formuna döner

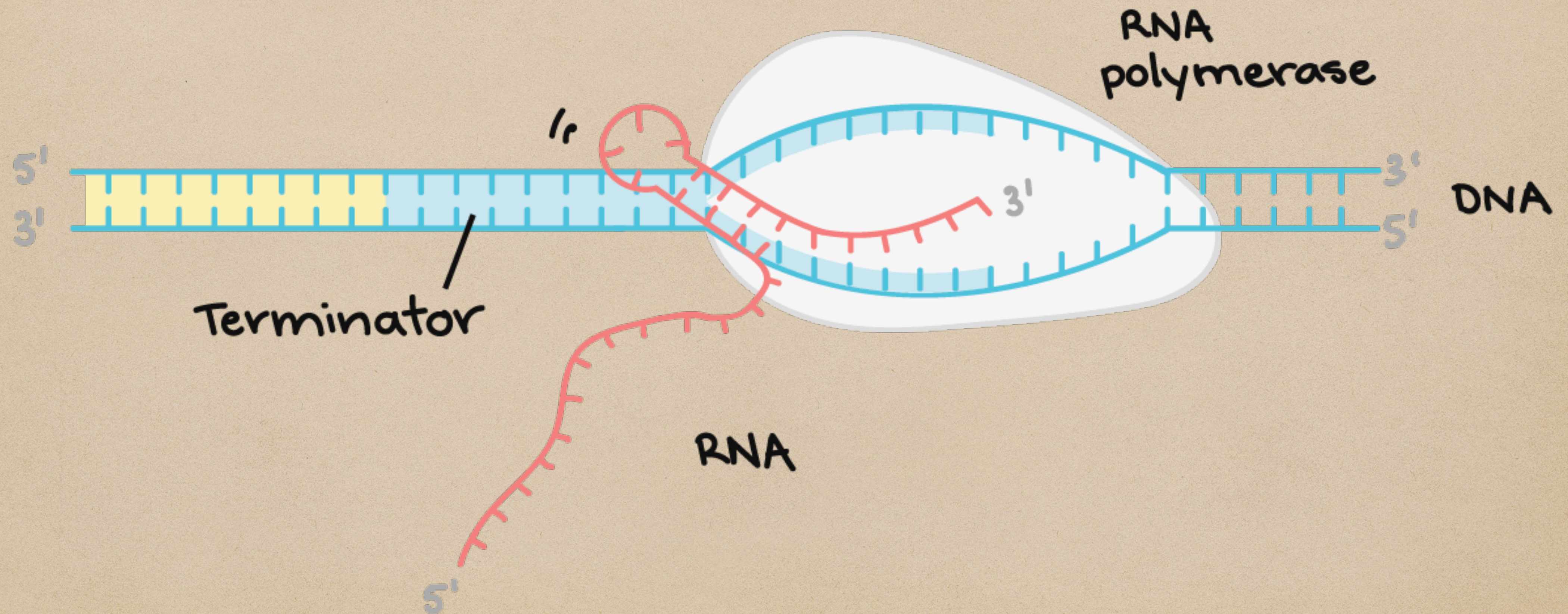


# Transkripsiyon-Bitiş (Terminasyon)

- ◆ **Terminatör faktöre (rho faktörü) bağımsız sonlanma:** RNA pol. (merkez enzimi) terminatör bölgeye ulaştığında sentez durur. Terminatör bölge iki yapısal karakter gösterir. Bunlardan biri G-C bazlarından zengin karşılıklı birleşmiş bir sap ve bunun ucunda tek iplikçikilmek ile bu sapın tabanında 6 uridin bazından oluşan terminatör sekans bölgesi, diğeri ise a 6 adet A bazından (poli A) meydana gelmektedir. RNA pol., G-C'den zengin bölgeye gelince yavaşlar ve durur. Çünkü, bu bazlar arasındaki bağlar oldukça sağlam ve stabildir ve açılmaları zordur. DNA'nın bu yapısı, oluşan mRNA'ya saç tokası gibi bir şekil de verir (Rho faktörsüz).



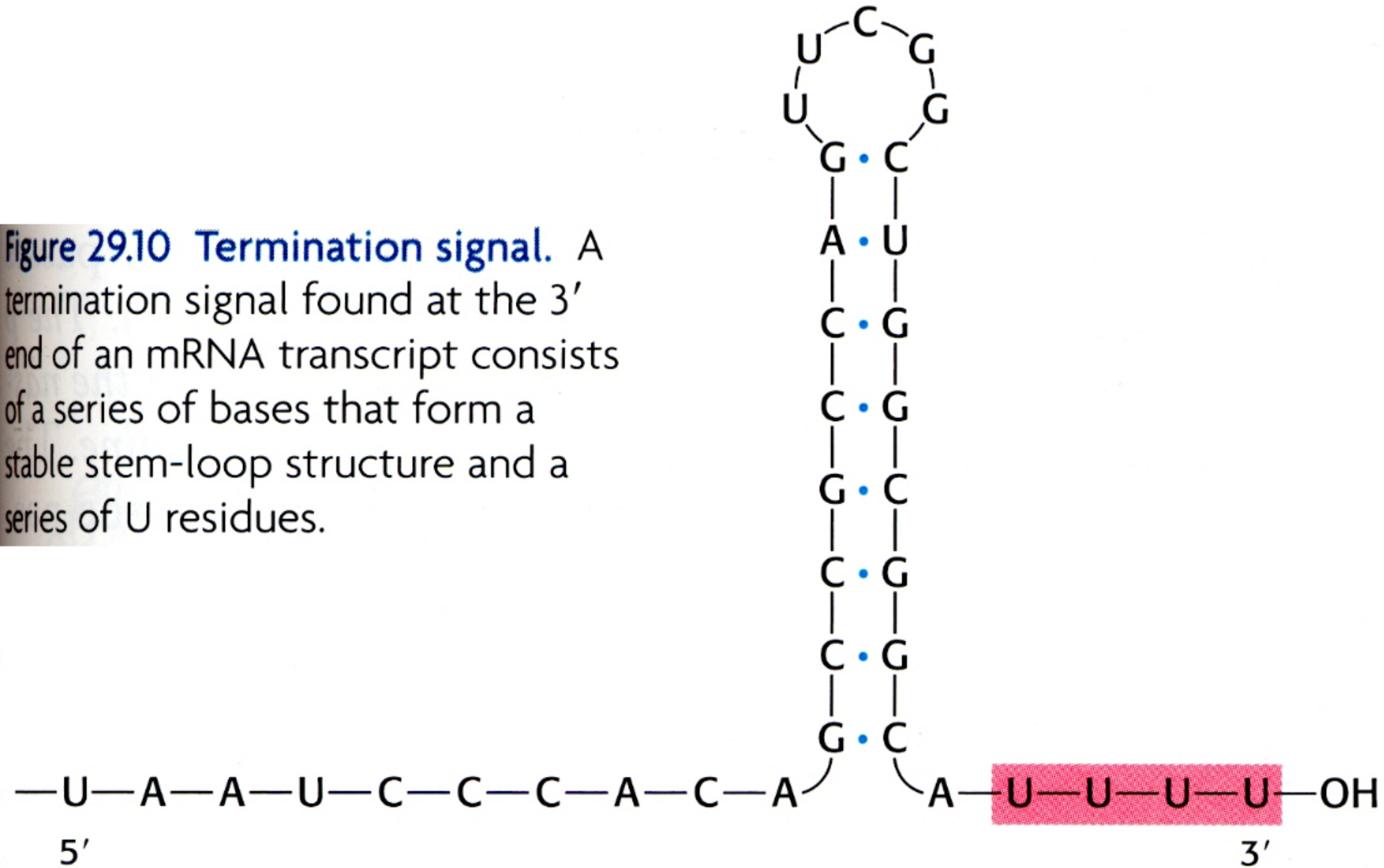
# Transkripsiyon- Terminasyon





rho-bağımsız Transkripsiyon terminasyonu  
sinyal motifi

**Figure 29.10 Termination signal.** A termination signal found at the 3' end of an mRNA transcript consists of a series of bases that form a stable stem-loop structure and a series of U residues.





# Transkripsiyon-Bitiş (Terminasyon)

- ◆ **Terminatör faktöre (rho) bağımlı sonlanma:** rho faktörü (MA: 46.000, hekzamer) RNA üzerinde özel bir yere sıkıca bağlanarak ribonukleotid trifosfatları, nukleotid difosfat halinde hidrolize eder. Burada oluşan enerji, Rho faktörünü mRNA üzerinde, DNA'daki açıklığa doğru iter ve burada durur. Açıklık RNA pol.'un daha ileri gitmesini önler ve RNA'nın serbest kalmasına yardımcı olur. Bundan sonra RNA pol., mRNA ve rho faktörü serbest kalırlar. Diğer bir terminasyon faktörü olan nus A gen ürünü protein de (asidik, MA 55 000), zincirinin serbest kalmasına katkıda bulunur.

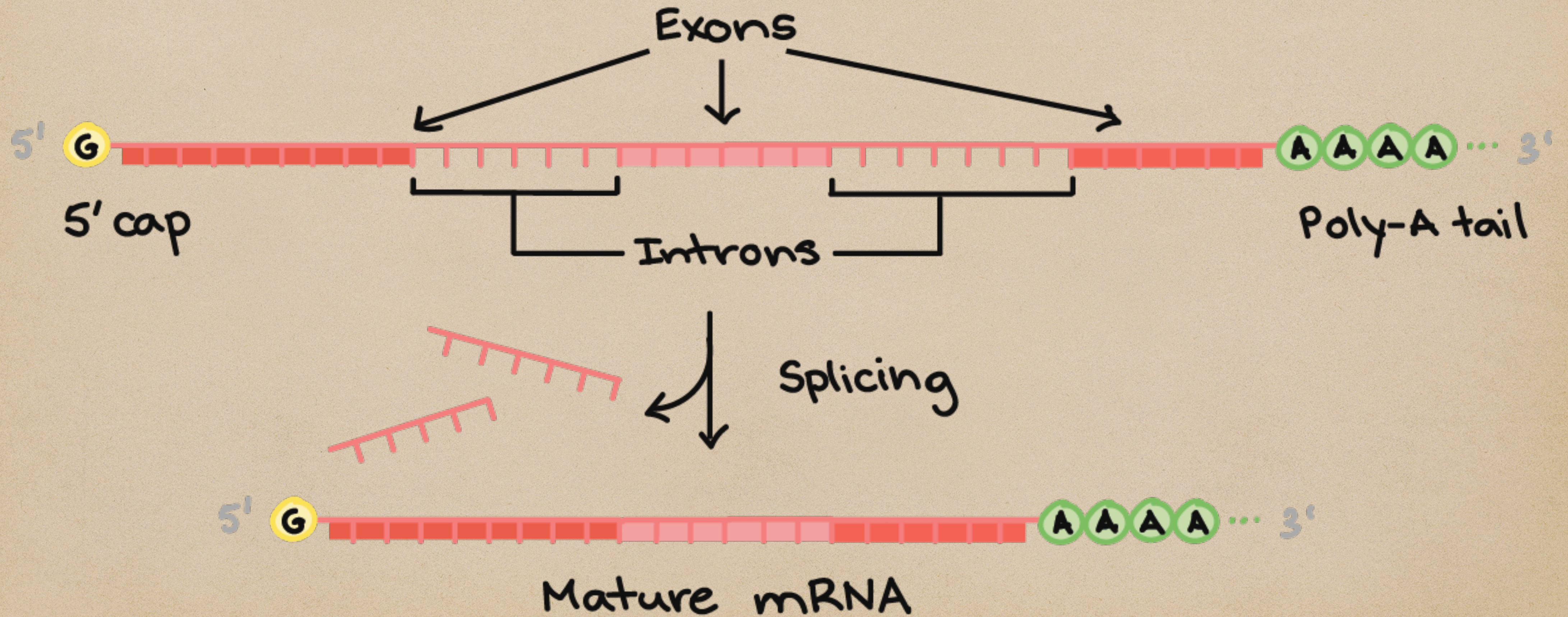


# Ökaryotik RNA modifikasyonları

- ◆ Bakterilerde, RNA transkriptleri hemen haberci mRNA'lar olarak hareket edebilir. Ökaryotlarda, protein kodlayan bir genin transkriptine **pre-mRNA** denir ve transkripsiyonu yönlendirmeden önce ekstra işlemlerden geçmesi gerekir.
- ◆ Ökaryotik pre-mRNA'ların uçları, **bir 5' cap (başlangıçta) ve 3' poli-A kuyruğu (sonunda)** eklenerek değiştirilmelidir.
- ◆ Pek çok ökaryotik pre-mRNA, splicing'e (kesme) maruz kalır. Bu süreçte, pre-mRNA'nın parçaları (intronlar olarak adlandırılır) kesilir ve kalan parçalar (ekson adı verilir) birbirine yapıştırılır.
- ◆ Son modifikasyonlar mRNA'nın stabilitesini artırırken, splicing mRNA'ya doğru dizisini verir. (İntronlar çıkarılmazsa, ekzonlarla birlikte çevrilerek "anlamsız" bir polipeptit oluşturulur.)



# Ökaryotik RNA Modifikasyonları





# Translasyon

- ◆ Protein sentezi bilinen en kompleks biyokimyasal olaylardan biri olup 100 den fazla farklı protein ve 30 türden fazla tRNA'nın fonksiyonu ile gerçekleştirilir
- ◆ Protein sentezi için gereken biyomoleküller:
  - mRNA; kalıp
  - tRNA'lar; amino asitlerin transferi
  - ribozom; sentezin gerçekleştiği yer (organel)
  - aminoasil-tRNA sentetaz tRNA'ya ve amino asite bağlanır
  - protein faktörler
  - ATP ve GTP
  - inorganik iyonlar



tRNA

rRNA

mRNA





# Translasyon

A, G, U ve C, üçlü bazlar şeklinde organize olmuşlardır (**kodon**)

64 (  $4 \times 4 \times 4$  ) kodon vardır ve genetik kodu oluştururlar

Genetik kodda 61 kodon 20 amino asiti spesifiye eder. Bunlar anlamlı kodonlardır. 3 kodon ise, **UAA**, **UAG** ve **UGA**, herhangi bir amino asiti kodlamaz. Bunlar **stop** kodonlardır.



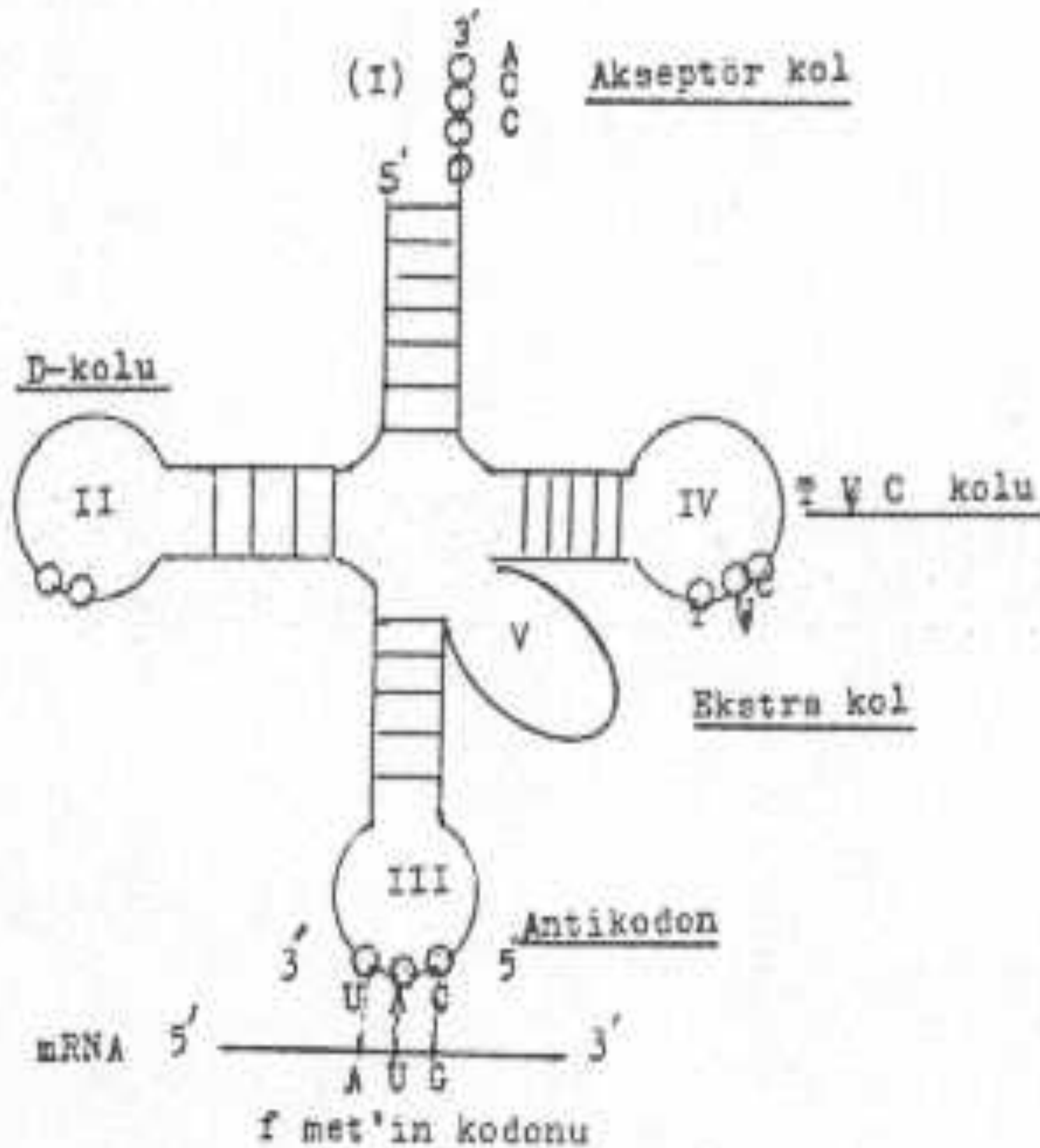
# tRNA

- Amino asitlerin transferini sağlayan araçlardır.
- 20 amino asit ve 61 anlamlı kodon vardır. Yaklaşık 3 düzine prokaryotik ve 50 ökaryotik tRNA vardır
- Her amino asit, birden fazla t RNA ile temsil edilir. Bir amino asiti temsil eden birden fazla t RNA 'ya isoakseptör tRNA adı verilmektedir (Örn, Leucine, 4 amino acyl t RNA: CUU, CUC, CUA ve CUG tarafından temsil edilir). Antikodon civarında meydana gelen değişiklikler, kodon-antikodon birleşmesine de etkilerler



# tRNA

- Sekonder yapı formunda, tek iplikçikli olan t RNA, kendi üzerine kıvrılarak 4 tane çift iplikçikli kol ve bunların ucunda da tek iplikçik halinde bir ilmek bulunur (akseptör bölge hariç çünkü, bunda ilmek yok).





# tRNA

**Akseptör kol:** Amino asitlerin, kendine ait tRNA'ların bağlandığı serbest uçtur (3' -ucu, CCA). Bu uca, aminoacyl sentetaz tarafından tanınarak aktive edilen spesifik amino asitler kovalent olarak bağlanırlar. CCA (adenilat) ucu, bütün tRNA'larda spesifik amino asitlerle ilişki kurabilmektedir (ilmeksiz kol.)

**D-kolu:** Amino asil sentetaz enzimini tanır. Ayrıca, bu bölgenin ucunda tek iplikçikten oluşmuş bir ilmek bölgesi vardır.

**Antikodon kolu:** tRNA'da bulunan antikodon bölgesi bazları, mRNA'daki kodon bazları ile anti paraleldir. Bu bölge tek iplikçiktir. Kodon ve antikodon bazları birbirine anti paraleldir ve kovalent olarak birleşirler.

**Ty C kolu:** Sıra dışı bazlara sahiptir. Bu kolda pseudouridine (y) ve ribotimidin fazlaca bulunur. Bu kol ribozomları tanır.

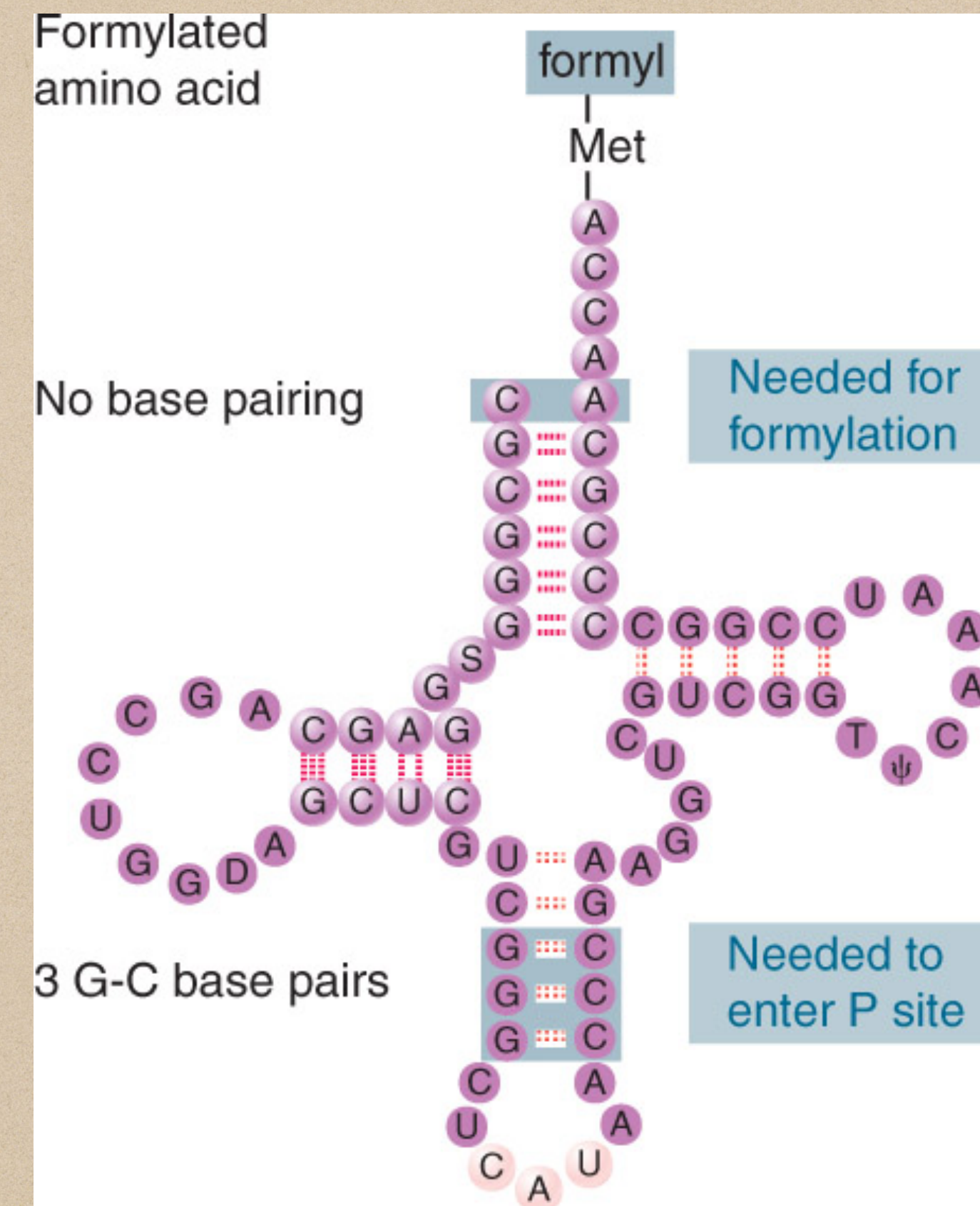
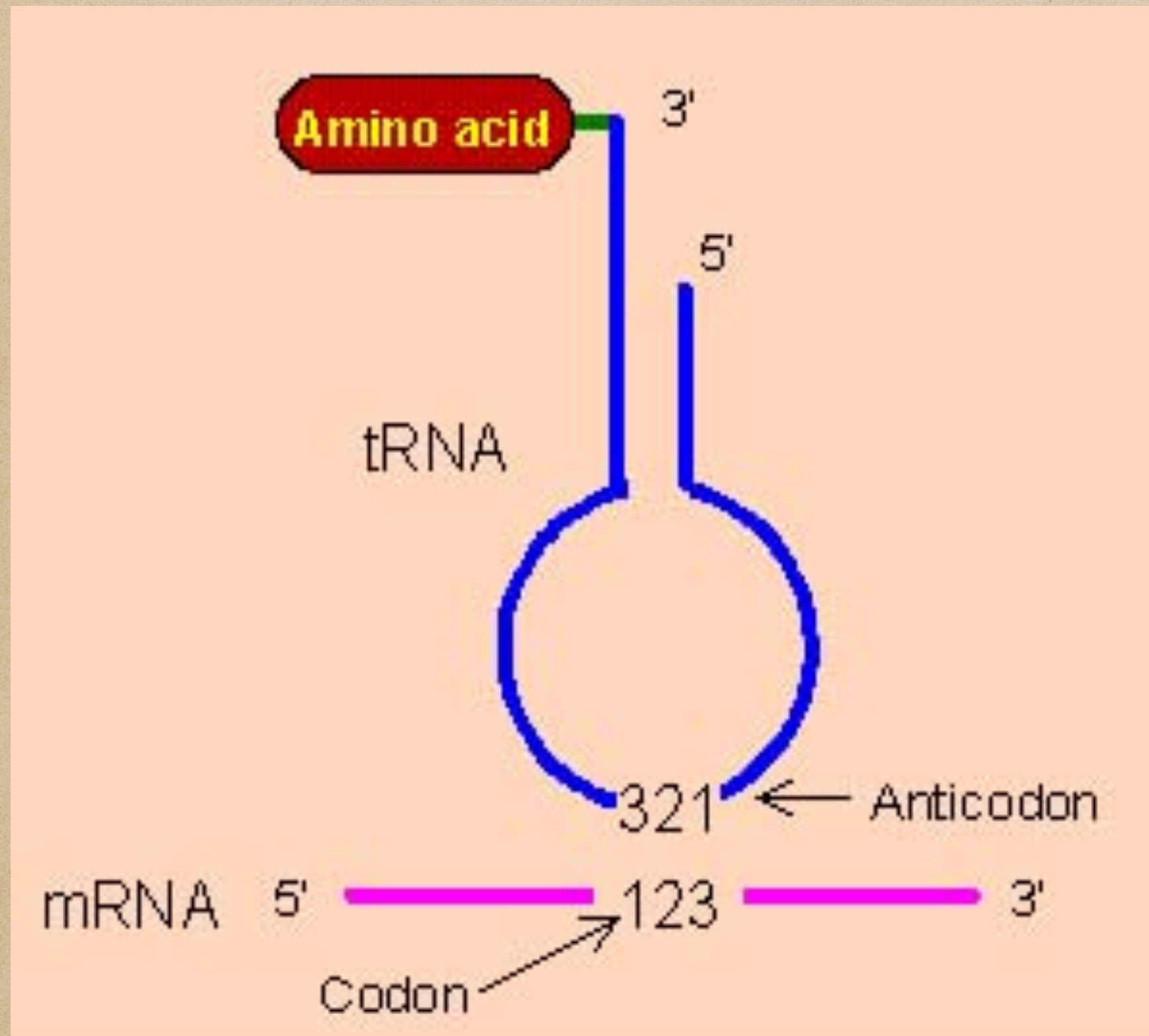
**Ekstra kol:** Bu kol, antikodon ile T (y) C arasında yer alır.



Transfer RNA'nın antikodon bölgesinde 3 bazdan oluşan triplet vardır ve bu bazlar kodon bazlarına anti paraleldir. Diğer bir deyimle, **kodondaki 1. baz ile antikodondaki 3. baz karşılıklı kovalent bağlarla birleşirler.**



# tRNA





# Ribozom

- ◆ Prokaryotik ribozom: 30S (16 rRNA ve 21 özel pr) ve 50S (23 S ve 5S rRNA, 35 özel protein)
- ◆ İki alt ünite birleştiğinde aralarında bir oluk meydana gelir. mRNA bu oluğa değil de, 30S'lik alt ünitenin üzerine bağlanır.



# Ribozom

**A-Bölgesi (Akseptör Bölge):** Amino asitlerle bağlanmış olan spesifik tRNA'ların antikodonlarının, 30S alt ünite de mRNA üzerinde sırada bulunan bazlarla birleştiği bölgelerdir. Bu bölge hem 50S ve hem de 30S alt ünite de bulunur.

**P-Bölgesi (Peptidil Bölge):** A bölgesinde özel tRNA ile bağlı bulunan aminoasitlerin, bu bölgeyi boşaltmak için aktarıldıkları bölgedir. Bu bölge hem 50S ve hem 30 S'lık alt ünite de bulunur.

**mRNA Bölgesi:** mRNA'nın translasyonu için 30S'lik alt ünite de yerleştiği bölgedir.

**E (exit) Bölgesi:** P-bölgesinden ayrılan tRNA'nın 50S'lik alt üniteyi terk etmeden önce, bu alt ünite üzerinde ve geçici olarak bulunduğu bölgedir.



# Ribozom

**Peptidil Transferaz Bölgesi:** A-bölgesi ile P-bölgesi arasında lokalize olan ve peptidil transferaz enziminin aktivite gösterdiği ve iki amino asitin birbirine bağlandığı bölgedir.

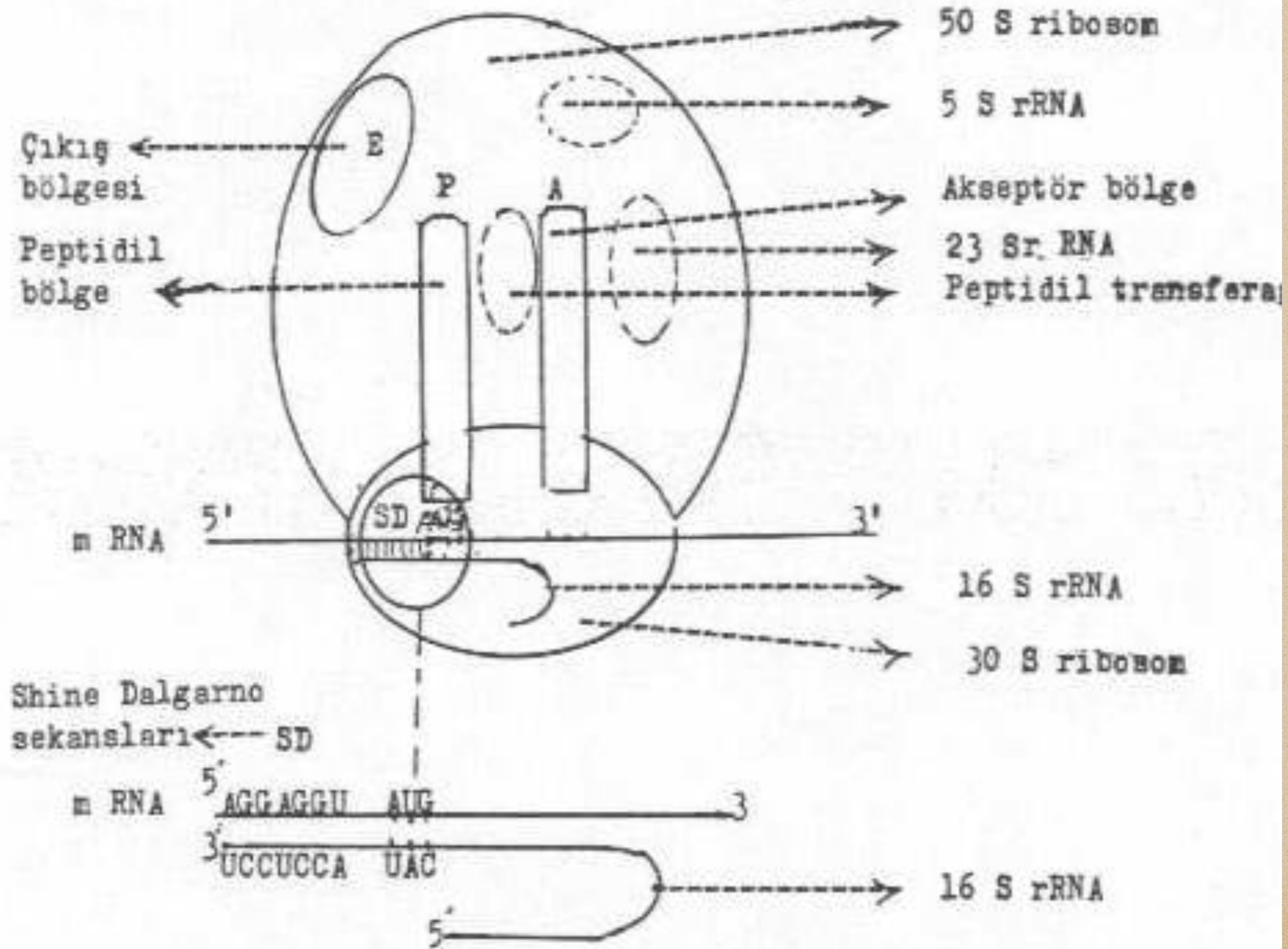
**16S rRNA Bölgesi:** 30S ribozomal küçük alt ünite de bulunan ve 16 S rRNA'nın 3'-terminusundaki sekanslarla mRNA'nın 5'-ucundaki SD sekansları ve AUG kodonları ile bağlanan yerlerdir.

**23S rRNA Bölgesi:** 50S ribozomal alt ünite de bulunan A- ve P- bölgelerini kapsayan yerde etkinlik gösteren 23 S rRNA bulunduğu ribozomal alandır.

**5S rRNA Bölgesi:** 50 S 'lik ribozom üzerinde bulunur.



# Ribozom





# Translasyon

4 basamakta gerçekleştirilir:

1) Aktivasyon

2) Başlama

3) Zincir uzaması

4) Bitiş (terminasyon)



# Translasyon-Aktivasyon

- ◆ Sitosolda bulunan amino asitlerin, mRNA üzerindeki spesifik kodonlarına taşınmadan önce, kendine ait spesifik tRNA ile etkileşime girmesi ve bağlanması gereklidir.
- ◆ Her amino asitin kendine uygun bir veya birden fazla tRNA'sı bulunmaktadır.
- ◆ Amino asitleri mRNA'ya taşımada **tRNA'lar** adaptör molekül görevi yaparlar. Amino asitlerin, kendilerine uyan tRNA'lara bağlanmasında **amino acyl synthetase** enzimi önemli fonksiyona sahiptir ve amino asitleri aktive ederek, tRNA'ya bağlanmasını sağlar.
- ◆ Aktive olan amino asitler, kendilerindeki karboksil grubu ile tRNA'nın serbest **3'-CCA (adenilik asit) terminusuna (akseptör kol)** ester bağlarıyla birleşir. Reaksiyon iki aşamada tamamlanır. Gerekli enerji ATP'den sağlanır ve reaksiyonu **sentetaz** enzimi katalize eder



# Translasyon-Aktivasyon

- ◆ Her sentetaz enzimi, hem spesifik amino asitin ve hem de ilgili tRNA'nın üzerindeki özel bölgeleri tanıma yeteneğine sahiptir. Hücrelerde, genetik kodlar tarafından spesifiye edilen her bir amino asit için bir tane sentetaz enziminin bulunduğu bildirilmektedir. Ancak enzim, birden fazla ilgili tRNA'yı tanıma yeteneğindedir. Hatta, enzim, tRNA'ların antikodonları değişse veya çıkarılsa bile yine de (uygun) tRNA'yı tanıyabilir. Fakat, bazı sentetazlar ise hiçbir değişikliğe maruz kalmamış antikodonları tanıyabilmektedir.
- ◆ Birçok sentetaz enziminde hataları düzeltmek için bazı spesifik bölgelerin bulunduğu belirtilmiştir. tRNA'lara uygun olmayan amino asitlerin bağlanması durumunda, enzim, bunları hidrolize ederek çıkarır ve doğru amino asitle yer değişmesini sağlar (geriye dönük düzeltme okuması).



# Translasyon-Başlama

- ◆ Protein sentezini başlatmada özel tek bir tRNA görev yapar; formilize olmuş metionini taşıyan fmet tRNA'dır. Bu transfer RNA, aynı zamanda, kendi antikodon bölgesindeki bazlar (UAC) yardımıyla, mRNA üzerinde sırada bulunan ve metioninin kodonu olan AUG'yi tanıyarak kovalent olarak bağlanır. Bakterilerde, bazen AUG yerine, nadiren GUG kodonu da kullanılabilir.



# Translasyon-Başlama

İki tür tRNA, metionini spesifiye eder:

- ◆ internal pozisyonda bulunan metionini tanıyan ve onunla bağlanan (met tRNA)
- ◆ formilize olmuş metioninle bağ kuran (fmet tRNA). **Sadece fmet tRNA başlatmada rol alır ve önem taşır.**

Aynı zamanda, **başlatma faktörleri (IF)** fmet tRNA'yı ve **uzatma faktörleri de (EF)** met tRNA'ları tanırlar.



# Translasyon-Başlama

- ◆ Formilize olmuş metioninin tRNA'sının antikodonu (UAC) ile, 30 S'lik ribosomal alt ünite üzerinde sıraya girmiş olan mRNA'daki kendine ait AUG kodonunun bağlanır.
- ◆ 30 S ribozomal serbest alt ünite önce başlatma faktörü (IF-3) ile bağlanır. **Bu faktör, 30 S'lik alt ünitenin, mRNA'nın 5' -ucuna ve AUG kodonuna bağlanmasını güven altına alır.** IF-3 olmadan 30 S alt ünite mRNA ile bağlanamaz. Böylece, 30 S'lik alt ünite mRNA'nın 5' -ucundaki AUG kodonu ile bağlanmış ve protein sentezi için güvenli ilk adım atılmış olur.
- ◆ Bu aşamadan sonra, başlatma faktörlerinden olan **IF-2 fmet tRNA ile bağlanarak bunu, ribozoma getirmede görev alır.** Bununla beraber, reaksiyonda gerekli olan enerjiyi sağlayacak olan GTP'de ribozoma getirilir. fmet tRNA gelmeden ve 50 S de birleşmeden önce, görevi sona eren IF3 ayrılır ve hidrolize olan GTP'de GDP'ye dönüştürülür.



# Translasyon-Başlama

- ◆ mRNA, 30 S'lik küçük alt ünite ile birleştikten sonra IF-3 hemen ayrılır. 30 S alt ünite de P-bölgesinde sırada bulunan ve IF-2 ile bağlanmış olan fmet tRNA'nın antikodon bölgesindeki bazlar (UAC), mRNA'da sırada bulunan kendine ait olan kodon (AUG) ile birleşir. Bu iki bölge birbirine komplementerdir.
- ◆ mRNA'da AUG kodonunda 5' -ucuna doğru ve bundan yaklaşık 10 baz kadar uzakta pürinden zengin olan Shine Dalgarno (SD) sekansları da mRNA'nın ribozomlara sıkıca bağlanmasında rolü vardır. Shine Dalgarno bölgesindeki bazlar ile 30 S'lik alt ünite de bulunan 16 S rRNA'daki nukleotidler birbirlerine komplementerdir. Böylece kolay bir bağlanma yaparlar. Bu sekanslar, mRNA'nın ve dolayısıyla da mesajların daha güvenli ve sağlam bağlanmasını sağlarlar.
- ◆ Prokaryotiklerde DNA üzerinde başlatma kodonundan 3' -ucuna doğru, promotor bölgesi de bulunmasına karşın, mRNA'ya sadece SD ve (DNA da bulunan TAC tripletinin karşılığı olan) AUG bazları aktarılır, promotor aktarılmaz.



# Translasyon-Başlama

- ◆ 30 S'lik alt üniteye fmet tRNA bağlandıktan hemen sonra 50 S ribosomal büyük alt ünite de katılır. Böylece **başlama kompleksi oluşur** (70 S). Hemen IF-2 (ve IF-1) kompleksten çıkarılır. GTP'de hidrolize olur ve GDP + PPİ'e ayrışır.
- ◆ 50 S'lik ribosomal alt ünite de bulunan bölgelerden P-bölgesinde (peptidil bölgesi) fmet tRNA lokalize olmuştur ve A-bölgesi (akseptör bölge) ise boştur. Ancak, burada polipeptid zincirine girecek olan ikinci amino asitin kodonu bulunmaktadır. İkinci amino asitin (aa2) sıraya girebilmesi için, sentetaz enziminin yardımı ile kendine ait tRNA ile birleşmesi ve bu defa zincir uzatma faktörüne (EF-Tu) bağlanarak A-bölgesinde hazır bulunan mRNA üzerindeki kendine ait kodona, antikodonuyla birleşmesi gerekir.
- ◆ EF-Tu+amino asil tRNA+GTP, üçlü kompleksi ribozom üzerinde A-bölgesinde sıradaki kodona, tRNA'nın antikodon bölgesindeki nukleotidler ile bağlanır. Bağlanma bitince EF-Tu serbest kalır. GTP'de GDP'ye ve PPİ'e ayrışır.



# Translasyon-Başlama

- ◆ Böylece, P-bölgesinde fmet tRNA (1. amino asit, aal) ve A-bölgesini de 2. amino asiti (aa2) taşıyan tRNA (amino asil tRNA) işgal etmiş olur. Bundan sonra, P-bölgesindeki fmet ile, A-bölgesinde tRNA'ya bağlı bulunan 2. amino asit arasında peptid bağı kurularak P bölgesindeki aal (fmet) A-bölgesine transfer edilir ve aal ile aa2 birleşir. Bu suretle, A-bölgesinde tRNA'nın 3' -CCA ucunda iki amino asit bağlı bulunmuş olur. İki amino asit arasında peptid bağının kurulmasını peptidil transferase enzimi katalize eder. Bu suretle, polipeptid zincirine iki amino asit katılmış olur. P-bölgesinde serbest kalan f metionine ait tRNA buradan, geçici bir süre için E-bölgesine transfer edilir ve sonra da buradan ayrılır



# Translasyon-Zincir Uzaması

- ◆ Başlatma kompleksi oluştuktan sonra ikinci amino asitin kodonla birleşmesi, zincir uzamasının ilk adımını da oluşturur. Bu periyot başlıca 3 kısımdan meydana gelir:
  - ◆ Kodon tanıma
  - ◆ Translokasyon
  - ◆ Transpeptidasyon



# Kodon Tanıma

- ◆ mRNA üzerinde sıraya giren ve üç bazdan oluşan kodonla bu kodonun temsil ettiği amino asitle birleşen tRNA'nın antikodon bölgesi arasında, bunların komplementer olması nedeniyle, karşılıklı bağlar kurulur. Örn, eğer kodon üzerinde Valinin tripletinden biri olan GUU varsa, buna tekabül eden ve valini taşıyan amino acyl tRNA'nın antikodonunda CAA bazlarının bulunması gerekecektir.
- ◆ Böylece, tRNA'ya bağlanmış olan amino asit, EF-Tu+GTP ile birlikte, 30 S ribozom alt ünitelerdeki kodonla birleşir. Birleşme olunca EF-Tu serbest kalır, GTP'de, GDP ve PP veya l'e ayrışır (EF-Tu-GDP inaktif bir moleküldür).



# Translokasyon

- ◆ 70 S'lik ribozomda P- ve E-bölgeleri boşaldıktan sonra, A-bölgesinin de boşalması ve buraya 3. amino asiti bağlayan tRNA'nın gelmesi gerekir. Bunun için, A-bölgesinin serbest kalması lazımdır. İşte bu önemli olay, 70 S'lik ribozomun mRNA üzerinde bir kodon boyu kayması (5'--3' yönde) ile gerçekleşir. 70 S'lik ribozom, mRNA üzerinde sadece bir kodon boyu kaydığında, A bölgesine yeni bir kodon gelmiş olur. Böyle bir hareket olurken, P bölgesindeki AUG kodonuna bağlı olan ve amino asit taşımayan tRNA dışarı itilerek serbest kalır ve AUG kodonundan ayrılır. Serbest kalan tRNA önce 50 S alt ünite üzerindeki E bölgesine gelir ve buradan da diğer bir amino asitle bağlanmak için tekrar sitosola döner. Bu kodona ait amino asitleri, amino asil sentetaz aktive ederek kendine ait tRNA ile bağlar. Bundan sonra, EF-Tu ve GTP ile bağlanan amino asil tRNA kompleksi, kodonla birleşir.



# Translokasyon

- ◆ Translokasyonda başlıca 2 faktör önemlidir:
  - ◆ EF-G; her hücrede bir kopya halinde bulunur. Ribozoma bağlanarak translokasyonu güven altına alır.
  - ◆ GTP; hidrolize olunca, EF-G'de serbest kalır.
- ◆ Ribozomlar, aynı anda, hem EF-Tu ve hem de EF-G ile ilişkili kuramazlar. Bu faktörler ribozomlara sıra ile bağlanırlar. Birinin fonksiyonu bitip kompleksten ayrılırken diğeri, reaksiyona katılır. Önce, EF-Tu+GTP+amino acyl tRNA üçlü kompleks oluşturur. Bundan EF-Tu+GDP ayrıldıktan sonra EF-G+GTP bağlanır ve sonra da EF-G+GDP halinde serbest kalır.



# Transpeptidasyon

- ◆ Peptidil bölgesindeki tRNA'ya bağı amino asitler ile A-bölgesindeki, yeni gelen, tRNA'daki amino asitin karboksil ve amino terminal uçları arasında peptid bağı kurulması olayıdır. Bu reaksiyonu peptidil transferaz enzimi katalize eder. Bu reaksiyon sonunda, P-bölgesindeki amino asitler, A-bölgesindeki yeni gelen amino asitle birleşirler.
- ◆ Böylece zincir uzaması devam eder. Her translokasyonda sıraya bir amino asit katılmış olur.



# Translasyon-Bitiş (terminasyon)

- ◆ Terminasyonda mRNA üzerinde 3 kodon etkili olur; **terminasyon kodonları (stop kodon)**, **UAG: amber**; **UAA: ochre** ve **UGA:opal**. Bakteriler, en fazla UAA tripletini terminasyon kodonu olarak kullanırlar.
- ◆ Eğer, mRNA üzerinde bulunan bu kodonlardan biri A-bölgesine gelirse, polipeptid zincirine herhangi bir amino asit ilave edilemez. Çünkü, bu kodonların karşılığı olan spesifik bir amino asit ve tRNA yoktur. Böylece sentez durur.
- ◆ Fakat, polipeptid henüz mRNA'dan ayrılmış değildir. E. coli 'de zincirinin ayrılmasında 2 proteinin rolü bulunmaktadır. Bunlardan biri, **serbest bırakma faktörü-1 (RF-1)** ve diğeri de **RF-2'dir**. Bunlar farklı terminasyon kodonu için spesifiktirler. RF-1, UAA ve UAG'yı tanır, RF-2 ise UGA ve UAA'yı tanır. Bu faktörlerden birisi terminasyon kodonuna geldiğinde polipeptid zinciri tRNA'dan serbest kalır. Diğer bir serbest bırakma faktörü (RF-3) olarak tanımlanan proteinin, diğer iki faktörünün (RF-1 ve -2) aktivitesini kuvvetlendirdiği bildirilmektedir.
- ◆ Protein sentezi sona erdikten ve protein serbest kaldıktan sonra iki alt ünite de (30 S ve 50 S) birbirinden ayrılarak sitosola dönerler.