

5 TRANSKRİPSİYON VE RNA İŞLEME

Bir organizmanın yapısı, fonksiyonu, gelişmesi ve üremesi hücrede ve dokuda mevcut proteinlerin özelliklerine bağlıdır. Proteinleri oluşturan polipeptitlerin amino asit dizisi DNA'da bulunan gen bölgelerindeki genetik bilgi ile belirlenir. Genetik bilginin doğru bir şekilde proteinlere aktarımı iki basamakta gerçekleştirilir: Transkripsiyon ve translasyon. DNA'dan RNA'ya ve proteinlere doğru gerçekleşen bu bilgi akışı **sentral dogma** olarak da adlandırılır. Bazı durumlarda genetik bilgi akışı RNA'ya kadardır (Ribozomal RNA'lar, tRNA'lar ve snRNA'lar).

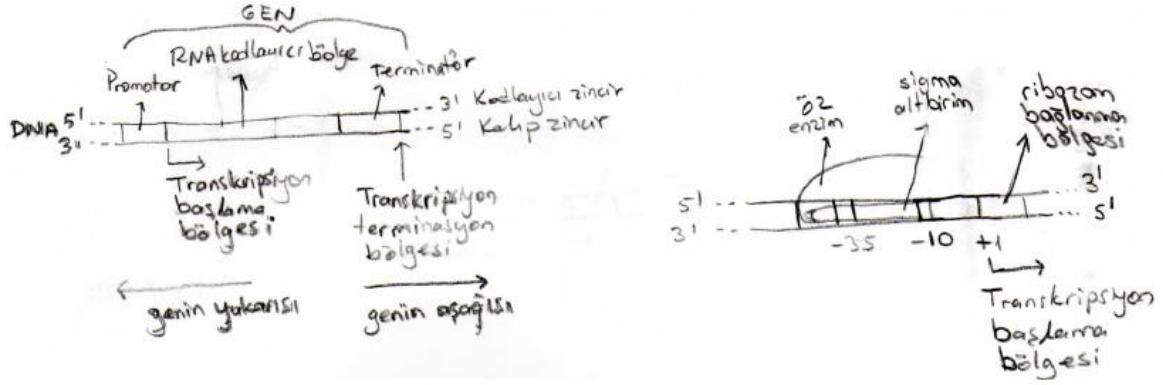
DNA nükleotit dizisinin RNA nükleotit dizisine dönüştürüldüğü transkripsiyon süreci prokaryot ve ökaryotlarda temelde aynıdır. DNA bir genin bitişiğinden açılır. Promotor denilen bu açılan bölgeden DNA'ya bağlanan RNA polimeraz DNA'nın 3'-5' yönündeki zincirini kalıp olarak kullanarak 5'-3' yönünde bir RNA sentezler. Bazı istisnalar dışında bir DNA bölgesindeki zincirlerden sadece biri RNA sentezi için kalıp olarak kullanılır. Transkripsiyon sürecinde de genetik bilginin değişmeden (hemen hemen değişmeden!) RNA'ya aktarılır. Bu aktarım bir DNA zincirinin kalıp olarak kullanılması esasına dayanır. RNA zinciri DNA zincirinin komplementeri olarak sentezlenir ve dolayısıyla genetik bilgi doğru bir şekilde RNA'ya aktarılmış olur.

Hücrede dört tip RNA vardır: mRNA, tRNA, rRNA ve snRNA (küçük çekirdek RNA'sı). Prokaryotlarda mevcut olan üç tip RNA (mRNA, tRNA ve rRNA) tek bir RNA polimeraz enzimi tarafından sentezlenir. Enzim 3'-5' DNA zincirini kalıp olarak kullanarak 5'-3' yönünde yeni RNA zincirini sentezler, yeni zincire riboz şekerli nükleotitleri (NTP, nükleotit trifosfat) ekler. Ökaryotlarda ise üç tip RNA polimeraz enzimi mevcuttur. RNA polimeraz I sadece çekirdekçikte yer alır ve ribozomların yapısına katılan üç RNA molekülünü (28S, 18S ve 5.8S rRNA) sentezler. RNA polimeraz II çekirdek plazmasında yer alır, mRNA ve snRNA sentezini gerçekleştirir. RNA polimeraz III ise çekirdek plazmasında bulunur, tRNA'larla 5S rRNA'yı ve bazı snRNA'ları sentezler.

5.1 Prokaryotlarda Transkripsiyon

Tipik bir prokaryotik organizma olan *Escherichia coli* gen bölgelerinin özel bir organizasyonu vardır. Belli bir gen veya genlerin bulunduğu DNA kısmında bir **promotor bölgesi** vardır, RNA polimerazın sigma alt birimi bu bölgeyi tanır ve bağlanır (Şekil 5.1). Promotor bölgelerinde transkripsiyonun başladığı nükleotitten (+1 pozisyonu) 10 nükleotit 5' tarafında (yukarısında = upstream) korunmuş yani bir çok promotorda aynı diziye sahip olan konsensus dizisi vardır. Bu dizi **-10 bölgesi** veya **Pribnow kutusu** olarak adlandırılır. Yine yaklaşık 35 nükleotit yukarıda diğer bir konsensus bölgesi vardır, bu bölge de **-35 bölgesi** olarak adlandırılır. Sigma alt ünitesi -35 ve -10 bölgelerine bağlanarak RNA polimeraz öz enziminin gen bölgesine bağlanmasını sağlar. Bu bağlanma bölgesinde bir transkripsiyon halkası oluşur. 8-9 nükleotit (NTP, dNTP değil!) uzunluğunda bir RNA molekülü sentezlendiğinde sigma alt ünitesi kompleksten ayrılır ve öz enzim RNA sentezini devam ettirir. Prokaryotlarda bir promotoru takip eden **ribozom**

bağlanma bölgesi ve benzeri düzenleyici dizilerden sonra genellikle birden fazla gen bölgesi vardır. Bu bölge **yapısal gen bölgesi** olarak adlandırılır. Yapısal gen bölgesindeki gen veya genler tek bir RNA molekülüne dönüştürülür. Gen bölgesinin sonunda bir **transkripsiyon terminasyon bölgesi** vardır. Bu bölgede transkripsiyon durdurulur, RNA ve RNA polimeraz öz enzimi yapıdan ayrılır. Bu olaylarda farklı aşamalarda çok sayıda **faktör** olarak anılan katalitik kompleks iş görür.



Şekil 5.1: Prokaryotlarda gen bölgesinin organizasyonu ve promotor bölgelerinin ayrıntılı yapısı.

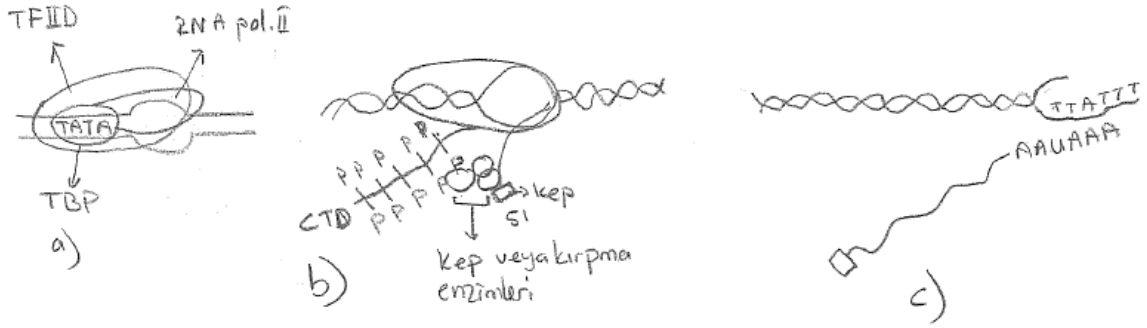
5.2 Ökaryotlarda Transkripsiyon

RNA sentez mekanizmaları aynı olmakla beraber, gerek DNA'nın kromozomlardaki organizasyonu, gerek ökaryotik DNA üzerinde genlerin organizasyon şekli ve gerekse transkripsiyon sırasındaki ve sonrasında olaylar bakımından prokaryotlarla ökaryotlar arasında önemli farklılıklar vardır. Her şeyden önce transkripsiyon başlamadan önce histonlarla kompleks oluşturmuş olan DNA'nın açılması gerekir. Bu DNA'nın açılması ökaryotlarda gen düzenlenmesinin temel hedeflerinden biridir ve olayın bu boyutu burada hariç tutulacak ve açılmış bir DNA üzerinden transkripsiyon incelenecektir.

Ökaryotlarda protein kodlayan genlerin transkripsiyonu RNA polimeraz II tarafından gerçekleştirilir. Senteze **genel transkripsiyon faktörleri (GTF)** olarak isimlendirilen proteinlerden oluşmuş bir kompleks yardım eder. Transkripsiyon son ürünü birincil transkript veya öncü mRNA'dır. Transkripsiyon son ürünü olan bu öncü mRNA, olgun mRNA'ya dönüştürülmek üzere, çekirdekte bazı modifikasyonlara ve işlemlere tabi tutulur. Bu DNA bölgesindeki kodlayıcı gen bölgesinin yukarısında bazı **düzenleyici elementler** yani düzenleyici DNA bölgeleri vardır. Gene yakın düzenleyici element **promotor**, uzak olanlar **güçlendiriciler** (veya bazı durumlarda **susturucular**) olarak adlandırılırlar.

Promotor bölgesinde transkripsiyon başlama bölgesinin 30 bp yukarısında sıklıkla TATA dizisini bulunduran bir bölge vardır. Bu bölge **-30 bölgesi** veya **TATA kutusu** (TATA elementi) olarak adlandırılır. GTF'nin bir çeşidi olan TFIID'nin bir parçası olan TBP bu bölgeye bağlanır. Dolayısıyla transkripsiyonun başlama bölgesi doğru olarak belirlenmiş olur. Sonra TFIID bu bölgeye bağlanır. Takiben diğer GTF'lerin yardımıyla RNA polimeraz II bu bölgeye bağlanarak başlama kompleksini oluşturur (Şekil 5.2a). Başlama kompleksi oluştuktan sonra RNA polimeraz II'nin karboksil ucu domain'inin

(CTD) fosforlanmasıyla uzama başlar. RNA polimeraz II'nin CTD bölgesi, transkripsiyonun yürütülmesini koordine eder. CTD bölgesindeki bir grup amino asitin fosforlanması/defosforile olmasına bağlı olarak komplekse uygun fonksiyonu yürütecek diğer kompleksler bağlanır: kep bağlama enzimleri, RNA kırpma kompleksi (splayozom) ve poliA kuyruğu ekleme proteini (Şekil 5.2b). Uzama AAUAA veya AUUAA dizisine ulaşana kadar devam eder. Bu dizi sentezlendiğinde bir RNA endonükleaz bu diziden RNA'yı keserek transkripsiyonun sonlanmasını sağlar (Şekil 5.2c).

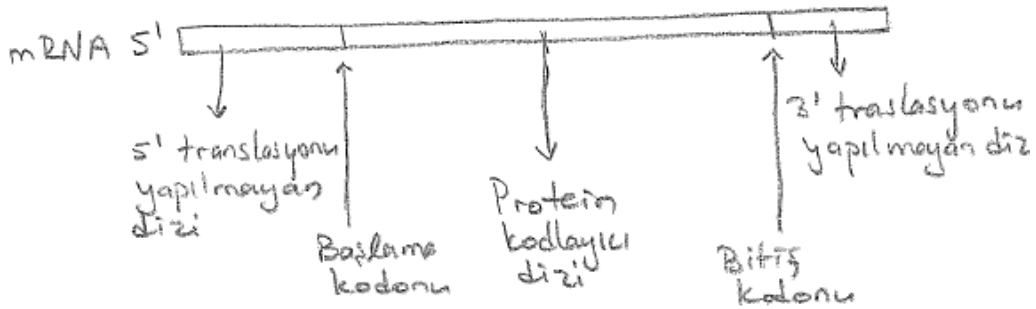


Şekil 5.2: RNA polimeraz II tarafından yürütülen transkripsiyon. a) Başlangıç kompleksinin oluşması, b) Uzama (kep takma ve kırpma) ve c) terminasyon.

Transkripsiyon başlama bölgesinin 1000 bp yukarısında veya nadiren aşağısında **güçlendirici DNA elementleri** vardır. Bunların görevi genin maksimum transkripsiyonunu uyarmaktır. Güçlendiricilerin aksine uzak bölgelerde transkripsiyonu baskılayan **susturucu DNA elementleri** de bulunabilir.

5.3 Prokaryotik ve Ökaryotik mRNA'lar

Bir mRNA molekülü bir öncü bölge, bir kodlayıcı bölge ve bir de artçı bölgeden meydana gelir (Şekil 5.3). Öncü bölge mRNA'nın ribozomlara bağlanmasında görev alır. Kodlayıcı bölge DNA'dan alınan ve proteine aktarılacak genetik bilginin kodonlar halinde tutulduğu bölgedir. Artçı bölge ise ribozomların mRNA'dan ayrılması ve mRNA'nın dayanıklılığı ile ilgili görevler gerçekleştirir. Öncü ve artçı bölgeler translasyona katılmaz, yani proteinlere dönüştürülmezler.



Şekil 5.3: Tipik bir mRNA'nın öncü, kodlayıcı gen ve artçı bölgesi.

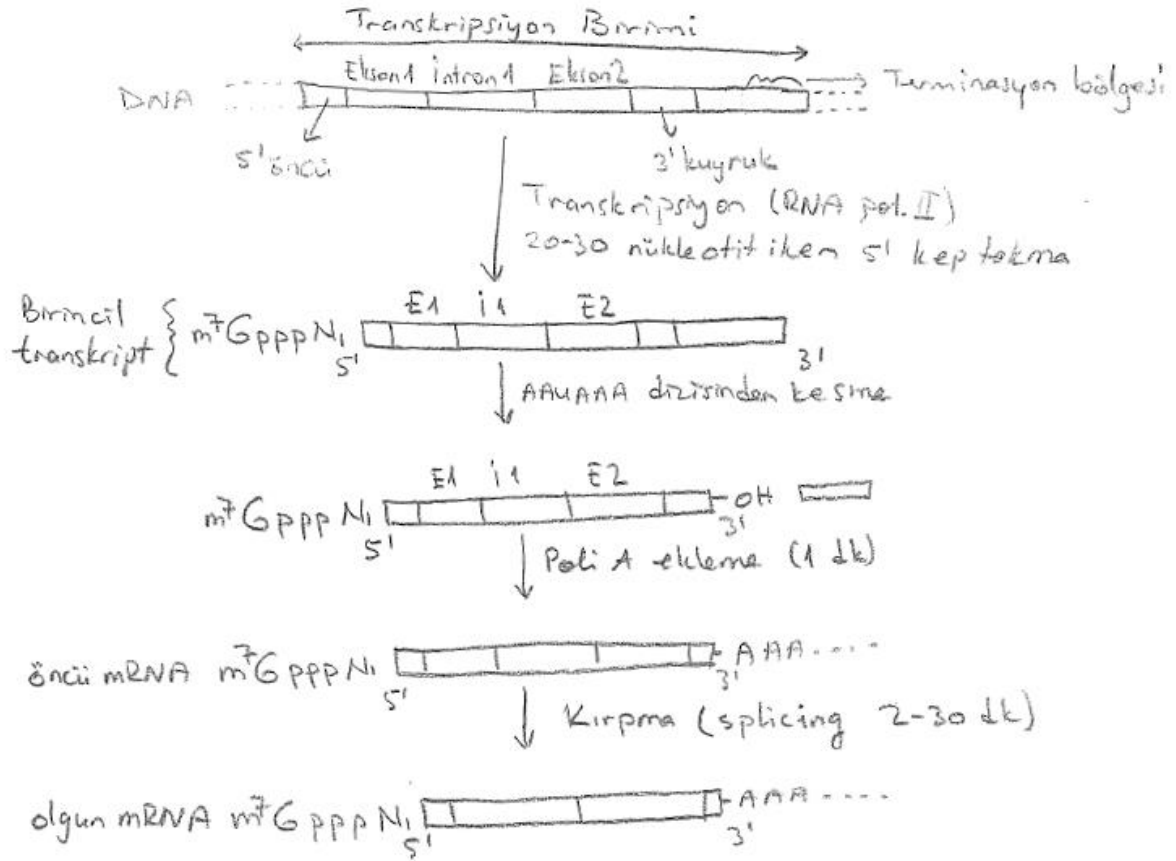
Prokaryotik genomlarda gen bölgeleri kesintisizdir ve bir yandan DNA'dan mRNA sentezlenirken, mRNA üzerindeki ribozom bağlanma bölgesinden (Shine-Dalgarno dizisi) ribozomlar mRNA'ya bağlanarak protein sentezi de gerçekleştirilir.

Ökaryotlarda ise DNA üzerindeki gene ait kodlayıcı bölgeler (ekson), kodlamada görev almayan DNA bölgeleriyle (intron) kesintiye uğratılmıştır. Transkripsiyon sırasında hem ekson ve hem de intronlar ilk sentezlenen mRNA'nın yapısında mevcuttur. İntronları da taşıyan bu mRNA **birincil transkript** veya **öncü RNA** adını alır ve genetik bilgiyi kesintisiz olarak taşımaz. Bu öncü mRNA translasyon için sitoplazmaya transfer edilmeden önce çekirdekte bazı işlemlerden geçirilir. Bunlar 5' kep bağlama (5' capping), 3' poli A ekleme ve RNA splicing (intron çıkarma, kırpma) işlemlerini içerir. Yakın zamana kadar RNA işleme dediğimiz bu işlemlerin transkripsiyondan sonra (posttranskripsiyonal) gerçekleştirildiği düşünülmekteydi. Ancak RNA işleme işlemlerinin transkripsiyon ile eş zamanlı olarak (kotranskripsiyonal) yürütüldüğünü artık biliyoruz.

5' kep bağlama: Bu işlem öncü mRNA'nın 5' ucuna genellikle 7 pozisyonuna metil bağlanmış bir guanin (7-Me guanin) nükleotidinin bağlanması işlemidir. Bu bağlanma alışılmadık bir şekilde 5'-5' ester bağı ile gerçekleştirilir. Ayrıca öncü mRNA'nın ilk iki nükleotidinde de metil grubu bağlanır. 5' şapka yapısı translasyonun başlangıç basamağında ribozomun olgun mRNA'ya bağlanması için esastir.

3' poli A ekleme: Prokaryotlardaki gibi transkripsiyon terminasyon bölgesi mRNA'da mevcut değildir. Bunun yerine mRNA transkripsiyonu yüzlerce, binlerce nükleotit boyunca devam ettikten sonra bir poli A kuyruğu bağlama bölgesine ulaşır ve bu bölgeyi geçer. AAUAAA dizisi poli A ekleme bölgesi sinyali olarak algılanır ve bir RNA endonükleaz tarafından kesilir. Sonra açığa çıkan 3' OH ucuna poli A polimeraz tarafından 50-250 kadar A nükleotidi eklenir. Poli A kuyruğu mRNA'nın dayanıklılığını artırır. Bu işlevini muhtemelen, mRNA'yı, sitoplazmada bulunan ribonükleazlardan koruyarak yapar.

RNA splicing (RNA kırpma): Öncü mRNA yapısındaki intronlar RNA splicing (splayslama, kırpma) denilen bir mekanizma ile uzaklaştırılır. Her bir intronun 5' ve 3' uçlarında tipik **sinyal bölgeleri** vardır. İntron, bu bölgelerden tanınarak öncü mRNA yapısından uzaklaştırılır (Şekil 5.4). Bu işlem çekirdekte "**splayozom**" denilen komplekslerde gerçekleştirilir. Bu kompleksler snRNA molekülleri ve 6-10 protein molekülünden meydana gelmiştir. Bu kompleksler **çekirdek ribonükleoproteinleri** (RNP) olarak adlandırılır. Hücrelerde çok sayıda farklı çekirdek RNP'leri mevcuttur ve her biri özel bir intronu öncü mRNA'dan koparır.



Şekil 5.4: Bir olgun ökaryotik mRNA oluşum basamakları.

5' şapkalama, 3' poli A ekleme ve intron uzaklaştırma (RNA splicing) işlemlerinin tamamına **RNA işleme** denir. RNA işleme çekirdekte gerçekleştirilir ve işlem tamamlandığında olgun mRNA sitoplazmaya bakılır.

5.4 Ribozomal RNA'nın Transkripsiyonu

Escherichia coli'nin 16S, 23S ve 5S rRNA genleri tek bir transkripsiyon birimi halinde bulunur ve her bir bölge arasında aralayıcı dizileri vardır. Transkripsiyonda oluşturulan tek bir transkriptten (RNA molekülü) RNaz III tarafından aralayıcı diziler uzaklaştırılır. İkinci bir RNA işleme sürecinden sonra her bir rRNA serbest kalır. rRNA transkriptini kodlayan DNA bölgesi **rDNA** olarak adlandırılır.

Ökaryotlarda 5S rRNA geni, genomda ayrı bir lokasyonda bulunur. Diğer rRNA genleri (18S, 5,8 S ve 28S) tek bir transkripsiyon ünitesi halinde peş peşe tekrarlayan rDNA şeklindedir. Tipik olarak 100 ila 1000 rDNA kopyası tekrarlanır. Bu rDNA kopyaları tek bir promotor tarafından öncü rRNA'ya transkribe edilir. Sonra prokaryotlarda olduğu gibi aralayıcı diziler yıkılır ve her bir transkriptten 18S, 5,8S ve 28S rRNA'lar üretilir.

Bazı intronların kendi kendilerini öncü rRNA'dan uzaklaştırdıkları bilinmektedir. Bu intronlar RNA yapısında bir protein enzim gibi katalitik aktivite gösterirler ve **ribozim** adını alırlar, spesifik olarak belli intronları keserler.

5.5 Transfer RNA'nın Transkripsiyonu

Genomda çok sayıda (61 adet) tRNA geni vardır. Bu genler bazen kümeler şeklinde bir arada bazen tek tek bulunabilmektedir. *E. coli*'de tRNA genleri tek kopya halinde bulunur. Ökaryotlarda prokaryotlardan çok daha fazla sayıda tRNA geni vardır. Mayalarda 400 civarında tRNA geni varken, karakurbağasında her bir tRNA geni (61 adet) için 200'den fazla kopya mevcuttur. Bazı ökaryotik tRNA genleri intronlar içerir; bu intronlar mRNA'dakine benzemeyen bir yolla uzaklaştırılır. tRNA transkripsiyonu sırasında bazı bazlar modifiye edilir.

tRNA'lar genetik bilginin mRNA'dan proteinlere aktarılmasında görev alırlar. 3' ACC uçlarına spesifik bir amino asit bağlanır. Antikodon tRNA'nın diğer bir kolunda yer alır (Şekil 5.5). Belli bir antikodon taşıyan bir tRNA sadece belli bir amino asiti taşır. Bir amino asitin hangi tRNA'ya bağlanacağı **aminoasil-tRNA sentetaz** enzimleri tarafından belirlenir. Hücrede 20 farklı aminoasil-tRNA sentetaz vardır. Her amino asit için bir adet mevcut olan bu enzimler tRNA'nın antikodon ve amino asit bağlanma bölgeleri ile etkileşerek antikodona uygun amino asitin tRNA'ya spesifik olarak bağlanmasını sağlar. Bu spesiflik genetik bilginin proteinlere, doğru bir şekilde geçmesini sağlayan kilit bir olaydır. Antikodon ribozoma tutunmuş mRNA üzerindeki kodon bölgesine bağlanırken taşıdığı amino asit protein sentez bölgesine ulaştırılmış olur.

Şekil 5.5: a) Maya alanin tRNA'sının şematik yapısı (yonca yaprağı modeli) ve transkripsiyonda rol alan fonksiyonel bölgeleri, b) gerçek üç boyutlu yapısının şeması. Modifiye bazlar: mI = metilinozin, T = ribotimidin, ψ = pseudoüridin, D = dihidroüridin, mG = metilguanozin, m₂G = dimetilguanozin ve UH₂ = dihidroüridin.

Görüldüğü gibi bazı RNA molekülleri herhangi bir proteini veya polipeptiti kodlamadığı halde hücresel süreçlerde yapısal veya fonksiyonel olarak görev yapmaktadır (rRNA'lar, tRNA'lar ve snRNA'lar). Dolayısıyla genetik bilgi bu RNA moleküllerine kadar taşındıktan sonra bir görevi gerçekleştirmektedir. Bu durumda bir gen-bir polipeptit yaklaşımı da gen kavramını tam olarak ifade edememektedir. Bunun

yerine bazı araştırcılar bir gen-bir transkript kavramını önermişlerdir. Buna göre her gen bir transkript oluşumundan, yani bir RNA molekülünün sentezinden sorumludur. Ancak prokaryotlarda polisistronik mRNA molekülleri (birden fazla gene ait şifreyi taşıyan mRNA molekülleri) düşünöldüğünde bu kavramın da geni, tam olarak ifade etmediğı ortadadır.

Sonuçta, mevcut değerlendirmeler ışığında şöyle bir gen tanımı yapmak mümkün olabilir: *Bir polipeptitin veya fonksiyonel bir RNA molekülünün kodlanmasından sorumlu DNA bölgelerine **gen** denir.*