

6 GENETİK ŞİFRE VE GENETİK MESAJIN TRANSLASYONU

Bir protein, polipeptit denilen bir veya daha fazla moleküler alt birimden meydana gelir. Polipeptitler daha küçük yapıtaşlarının, amino asitlerin birbirine peptit bağlarıyla bağlanarak oluşturdukları uzun zincirlerdir. Birincil amino asit dizisi, proteinin ikincil, üçüncül ve dördüncül yapısını ve dolayısıyla fonksiyonel formunu belirler. O halde mRNA molekülü üzerindeki nükleotitler proteinlerin birincil amino asit dizisini nasıl belirler? mRNA'ya aktarılmış genetik bilgi doğru bir şekilde nasıl polipeptitlere aktarılır? Bu bölümde bu sorular cevaplandırılacaktır. Genel olarak şu söylenebilir ki mRNA'daki genetik bilginin doğru bir şekilde polipeptitlere aktarılmasında komplementer kodon-antikodon eşleşmesi esastır. Özgül bir antikodona sahip bir tRNA, özgül bir amino asite bağlanabilir. Bu yolla genetik bilgi en doğru bir şekilde proteinlere aktarılır. Bu mekanizmaların biraz daha ayrıntısının incelenmesine geçebiliriz.

6.1 Genetik Şifre (Kod)

Dört nükleotit kullanılarak (A, C, G ve U) üç harfli yani üç nükleotit veya bazdan oluşan 64 muhtemel kodon oluşturulabilir. Bu sayıdaki kodon proteinlerin yapısına katılan 20 (veya 21) amino asit için fazladır. Bu durum bazı amino asitler için birden fazla kodonun kullanıldığını gösterir. Yapılan deneysel çalışmalarda 64 kodonun her birinin hangi amino asiti kodladığı veya hangilerinin durdurma kodonu olduğu belirlenmiştir (Şekil 6.1a,b). Bu kodonların tamamı genetik kod olarak adlandırılır. Genetik kodun özellikleri şu şekilde özetlenebilir:

1. Genetik şifre üçlüdür, yani mRNA üzerindeki her bir kodon üç nükleotitten oluşur ve her kodon bir amino asiti kodlar.
2. Genetik şifre süreklidir. Üçlü gruplar (kodonlar) peş peşe devam eder.
3. Şifre hemen hemen evrenseldir (Mitokondri, kloroplast ve bazı organizmalarda alışılmadık kodlamalar da mevcuttur).
4. Şifre dejeneredir. Yani ikisi (AUG metionin ve UGG triptofan) hariç diğer amino asitler birden fazla kodon tarafından kodlanırlar. Bu dejenere şifreler (aynı amino asiti kodlayan farklı kodonlar) bütün organizmalarda aynı oranlarda kullanılmazlar. Bu olaya, yani aynı amino asiti kodlayan farklı kodonların farklı organizmalarda farklı oranlarda kullanılmasına **kodon kullanımı** (kodon tercihi) denir.
5. Şifre üst üste gelmez. mRNA üçlü gruplar halinde peş peşe okunur. Bir mRNA üzerinde sürekli devam eden bir kodon grubu **okuma satırı** (okuma çerçevesi) olarak adlandırılır. Farklı nükleotitlerden başlayarak bir mRNA üzerinde üç farklı okuma yapmak mümkündür. Ancak çok nadir istisnalar dışında bir mRNA'nın belli bir bölgesinde tek bir okuma satırı vardır.
6. Şifre başlama ve bitiş sinyallerine sahiptir. Başlama kodonu genellikle AUG'dir, metionin amino asitini kodlar. Nadir durumlarda GUG de **başlama kodonu** olarak iş görebilir. GUG kodonu normal şartlarda valini kodlar ancak başlangıç

pozisyonunda iken metionini kodlar. 64 kodondan 61'i aminoasitleri kodlar, bunlar **anlamalı kodonlardır**. Geriye kalan üç kodon UAG (amber), UAA (okre) ve UGA (opal) hiç bir amino asiti kodlamaz, hücrelerde bu kodanlara uygun antikodanlara sahip tRNA'lar mevcut değildir. Bu kodonlar **bitiş kodonları, anlamsız kodonlar** veya **zincir sonlandırıcı kodonlar** olarak adlandırılır. O halde bir **açık okuma satırı** bir başlama kodonu ile başlayarak belli sayıda anlamalı kodonla devam edip bir anlamsız kodonla sonlanan mRNA bölgesidir.

a)

Genetik Şifre (mRNA'da bulunduğu gibi)				
	U	C	A	G
U	UUU Phe (F) UUC " UUA Leu (L) UUG "	UCU Ser (S) UCC " UCA " UCG "	UAU Tyr (Y) UAC " UAA Ter UAG Ter	UGU Cys (C) UGC " UGA Ter UGG Trp (W)
C	CUU Leu (L) CUC " CUA " CUG "	CCU Pro (P) CCC " CCA " CCG "	CAU His (H) CAC " CAA Gln (Q) CAG "	CGU Arg (R) CGC " CGA " CGG "
A	AUU Ile (I) AUC " AUA " AUG Met (M)	ACU Thr (T) ACC " ACA " ACG "	AAU Asn (N) AAC " AAA Lys (K) AAG "	AGU Ser (S) AGC " AGA Arg (R) AGG "
G	GUU Val (V) GUC " GUA " GUG "	GCU Ala (A) GCC " GCA " GCG "	GAU Asp (D) GAC " GAA Glu (E) GAG "	GGU Gly (G) GGC " GGA " GGG "

b)

Asidik	Bazik	Nötral, nonpolar	Nötral, polar
Aspartik asit Asp D	Lizin Lys K	Triptofan Trp W	Tirozin Tyr Y
Glutamik asit Glu E	Arjinin Arg R	Fenilalanin Phe F	Serin Ser S
	Histidin His H	Glisin Gly G	Treonin Thr T
		Alanin Ala A	Asparajin Asn N
		Valin Val V	Glutamin Gln Q
		İzolösin Ile I	Sistein Cys C
		Lösin Leu L	
		Metionin Met M	
		Prolin Pro P	

Şekil 6.1: a) Genetik şifre (mRNA üzerinde kodonlar şeklinde) ve b) amino asitlerin üçlü ve tekli isimlendirme kodları.

7. Antikodonlarda yalpalama meydana gelir. 61 kodona karşılık belli bir hücrede 61 çeşit tRNA mevcut değildir. Bunun nedeninin tRNA'ların yalpalamasının olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. Hipoteze göre bir kodonun 5' ucundan itibaren iki bazı, antikodonun 3' ucundan itibaren iki bazı ile eşleşir ancak kodonun 3' ucundaki bazı ile tRNA'nın antikodonunun 5' ucundaki bazı eşleşmesi atlanır. Bu durumda polipeptit zincirine bağlanacak amino asitin kimliği kodon üzerindeki ilk iki bazı tarafından belirlenir. Bu olaya **yalpalama** (wobble) denir.
8. Her bir kodon esas olarak sadece tek bir amino asiti kodlar. Bir kodonun birden fazla amino asiti kodlaması nadirdir. Bu nadir duruma bir örnek GUG kodonudur. Bu kodon diğer pozisyonlarda valini kodlar ancak başlama pozisyonunda metionini kodlar. Bu olay kodon translasyonunda **konum etkisi** olarak bilinir. Kodonun bulunduğu mRNA bölgesindeki diğer nükleotit grupları, hangi amino asitin bu kodon tarafından kodlanacağını belirler. Konum etkisine diğer bir örnek UGA kodonudur. Normalde opal bitiş kodonu iken özel kodon dizilimlerinde selenosistein amino asitini kodlar ve selenoproteinlerin oluşmasını sağlarlar. Selenosistein amino asiti redoks enzimlerinin aktif merkezinde yer alır.

6.2 Genetik Mesajın Translasyonu

mRNA üzerinde, açık okuma satırı halinde düzenlenmiş üçlü bazı dizileri tarafından tutulan genetik bilginin proteinlere aktarılması gerekir. Bu aktarma işinde mRNA, ribozom, tRNA ve çok sayıda faktör (enzim kompleksi) rol alır ve olay **translasyon** veya **protein sentezi** olarak isimlendirilir.

Protein sentezi ribozomlarda meydana gelir. Ribozomlarda, mRNA içinde taşınan genetik mesaj tercüme edilir. Amino asitler ribozomlara, yüklenmiş tRNA'lar (aminoaçil tRNA'lar) tarafından taşınır. Bir polipeptitin dolayısıyla proteinin doğru amino asit dizisi iki mekanizma tarafından sağlanır:

1. mRNA'nın kodonu ile tRNA'nın antikodonu arasındaki spesifik komplementer bağlanma.
2. Her amino asitin, sadece spesifik bir antikodon taşıyan kendi spesifik tRNA'sına bağlanması.

6.2.1 Translasyonun başlaması

Prokaryot ve ökaryotlarda protein sentezi AUG başlama kodonu ile başlatılır. Nadiren GUG ile de başlayabilir. Bu durumda GUG valini değil metionini kodlar. Dolayısıyla yeni sentezlenen bir proteinin NH₂ ucundaki amino asit daima metionindir.

Prokaryotlarda başlangıç metionini formillenmiştir. Yani başlangıç AUG veya GUG kodonu fMet-tRNA^{Met} ile eşleşir. (tRNA^{Met} yüklenmemiş tRNA'yı fMet-tRNA^{Met} ise formil metionin ile yüklenmiş tRNA'yı ifade eder; diğer amino asitleri taşıyan tRNA'lar için de aynı terminoloji kullanılır). Normal AUG kodonları Met-tRNA^{Met} ile eşleşir. Ökaryotlarda da başlangıç kodonu AUG'dir, ancak prokaryotların aksine formillenmemiş bir metionin taşıyan Met-tRNA^{Met} ile eşleşir; yine de kodon aynı olmasına rağmen başlangıç

metioninini ve zincir içi metionini taşıyan tRNA'lar farklıdır. Prokaryot ve ökaryotlarda translasyon başlangıcı temelde benzer şekilde gerçekleştirilir. Yani ribozom küçük alt birimi önce mRNA'ya bağlanır. Bu bağlanmaya başlama faktörleri denilen özel protein kompleksleri de yardım eder. Sonra büyük alt birim yapıya bağlanır. Bu yapı **translasyon başlangıç kompleksi** adını alır.

Prokaryotlarda protein sentezinin doğru pozisyonda başlayabilmesi için başlama kodonunun 5' tarafında özel bir nükleotit dizisine ihtiyaç vardır. **Ribozom bağlanma bölgesi** veya **Shine-Dalgarno dizisi** olarak adlandırılan bu bölge ribozomun, doğru okuma satırını bulmasına yardım eder. mRNA üzerindeki ribozom bağlanma bölgesi 4-10 baz uzunluktadır ve ribozomun küçük alt biriminin 16S rRNA'sının özel bir bölgesiyle komplementerdir (Şekil 6.2a,b). Bu bölgeden 30S ribozom alt birimi mRNA'ya bağlanır. Böylece Shine-Dalgarno dizisi ribozomun doğru okuma satırını bulacak şekilde mRNA'ya bağlanmasını sağlar (Şekil 6.2c). Bu bağlanma işlemine başlama faktörleri ve GTP'de katılır; fMet-tRNA^{Met} molekülüyle beraber 30S başlangıç kompleksi oluşur. Daha sonra GTP hidroliz edilirken ribozomun büyük alt birimi yapıya katılarak 60S başlangıç kompleksi oluşur.

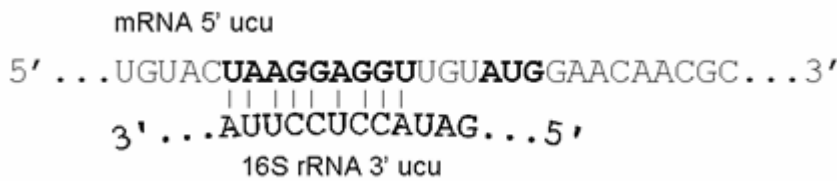
a)

mRNA kaynağı	5' baz dizisi (rbb ve başlama kodonları kalın ve altı çizilidir)
Faj λ Cro	AUG UAC UAA GGA GGU UGU AUG GAA CAA CGC
<i>E. coli trpB</i>	AUA UUA AGG AAA GGA ACA AUG ACA ACA UAA
<i>E. coli lacZ</i>	UUC ACA CAG GAA ACA GCU AUG ACC AUG AUU
<i>E. coli</i> RNA polimeraz β	AGC GAG CUG AGG AAC CCU AUG GUU UAC UCC

b)

3'...AUUCCUCCAUG...5'

c)



Şekil 6.2: a) Farklı mRNA moleküllerinin 5' uçlarında ribozom bağlanma bölgesinin ve başlama kodonlarının organizasyonu, b) *E. coli*'nin 16S rRNA'sının 3' ucunun baz dizisi, c) bir mRNA'da AUG başlama kodonunun yukarısındaki ribozom bağlanma bölgesinin, 16S rRNA'nın 3' bölgesi ile komplementerlik esasına göre bağlanması.

Ökaryotik mRNA'da bir Shine-Dalgarno dizisi mevcut değildir. Diğer bir yolla başlama kompleksi oluşturulur. Şapka (kep) bağlanma proteininin de dahil olduğu ökaryotik başlama faktörü mRNA'nın 5' şapka ucunu tanır ve bağlanır. Sonra 40S alt birim, başlatıcı Met-tRNA^{Met} ve GTP birbirine bağlanır ve mRNA üzerinde yürümeye başlar. Yakın bir pozisyonda bulunan AUG kodonunu bulana kadar yürümeye devam eder.

Ökaryotlarda da, AUG kodonu çevresinde, prokaryotların RBB'ne benzer bir dizinin bulunduğu rapor edilmektedir. 5'-ACCAUGG-3' şeklindeki bu dizi Kozak dizisi olarak adlandırılır. Bu dizinin ribozomun küçük alt birimine bağlanmaya yardım ettiği tahmin edilmektedir. Genellikle 5' şapka ucundan sonraki ilk AUG kodonu başlangıç kodonu olarak algılanır (bazen farklı durumlar da olabilir). AUG kodonu bulunduktan sonra başlama faktörü yapıdan ayrılır ve 60S ribozom alt birimi yapıya bağlanarak 80S başlama kompleksi oluşur.

6.2.2 Uzama ve sonlanma

Başlama kompleksinde ribozom büyük alt birimi üzerinde A, P ve E bölgeleri vardır. P bölgesine ilk yerleşen amino asit prokaryotlarda formilmetionin (fMet-tRNA^{Met} olarak), ökaryotlarda metionindir (Met-tRNA^{Met} olarak). Sıradaki kodona uygun antikodona sahip bir tRNA komplekse bağlanır ve taşıdığı amino asit A bölgesine yerleşir. A bölgesindeki amino asit ile P bölgesindeki amino asit (ilk amino asit veya translasyonun ileri aşamalarında bir amino asit zincirinin karboksil ucundaki amino asit olabilir) birleşir. Birleşme A bölgesindeki amino asitin amino (NH₂) grubu ile P bölgesindeki amino asitin karboksil (COOH) grubu arasında oluşan bir **peptit bağı** ile gerçekleştirilir. Bu reaksiyon ribozom büyük alt biriminin 23S rRNA'sının **peptidil transferaz** aktivitesi ile katalizlenir. P bölgesindeki tRNA boşaltıldığında (amino asitten ayrıldığında) bu bölgeden ayrılır, E bölgesine geçer ve ribozom bir kodon ileri kayar. Boşalan A bölgesine mevcut kodona komplementer antikodonu olan bir diğer aminoasit (yüklenmiş) tRNA yerleşir. Protein sentezinde A, P ve E bölgeleri dışında ribozom üzerinde önemli iki merkez daha vardır. Bunlardan biri A bölgesinin hemen yanında yer alan küçük alt birim üzerinde **şifre çözücü merkez**dir. Bu merkez A bölgesindeki kodon ile komplementer olan antikodona sahip yüklenmiş tRNA'ların girişini denetler. Diğer merkez de **peptidil transferaz merkez**dir. Bu merkez büyük alt birimin peptit bağlarının oluştuğu bölgesindedir. Son zamanlarda yapılan atomik seviyedeki araştırmalar bu bölgelerin tRNA-rRNA temas bölgeleri olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, peptit bağı oluşumunun rRNA'ya ait bir aktif merkez tarafından gerçekleştirildiğini ve ribozomal proteinlerin sadece yardımcı bir rolünün olduğunu göstermektedir.

Ribozomun A bölgesine bir sonlandırma (bitiş) kodonu gelene kadar protein sentezi devam eder. Bu kodon bir veya bir kaç **ayrılma faktörü** tarafından okunur. Sonra polipeptit ve tRNA ribozomdan ayrılır; ribozom mRNA'nın okuma satırından ayrılır.

6.2.3 Proteinlerin görev yerlerine transferi

Genetik mesaj proteinlere aktarıldıktan sonra, bu proteinlerin hücre içindeki (veya hücre dışındaki) görev yerlerine nakledilerek yapısal veya fonksiyonel birimler olarak iş görmeleri gerekir. Proteinler görev yerlerine özel **sinyal (hedefleme) dizilerinin** yardımıyla taşınır. Sözelimi endoplazmik retikuluma girecek proteinler amino ucunda bir sinyal dizisine sahiptir. Protein, bir yandan sentezlenirken bir yandan endoplazmik retikuluma girer. Giriş tamamlandıktan sonra sinyal dizileri **sinyal peptidaz** tarafından koparılır. Daha sonra Golgi kompleksi aracılığıyla son görev yerlerine gönderilirler.

Mitokondri, kloroplast ve çekirdeğe gidecek proteinler görev yerlerine girişe yardım edecek **transit dizisi** denilen özel amino asit dizilerine sahiptirler. Tamamen sentezlendikten sonra hedef organelere geçerler. İlgili organelere girildiğinde (mitokondri veya kloroplast) transit dizisi uzaklaştırılır. Çekirdek proteinlerinde ise transit dizisi kalıcıdır, hücre bölündüğünde yeni hücrelerde bu proteinlerin tekrar çekirdeğe geçişinde görev yaparlar. Prokaryotlarda da özellikle hücre dışına (hücre zarı dışına) salgılanacak proteinlerde özel sinyal dizileri mevcuttur.

Bütün bu özetlenen genetik bilgi transferi olaylarının sonunda, (replikasyon, transkripsiyon, translasyon, görev yerine nakil, fonksiyon) DNA'daki genetik bilgi, belli görevleri yapan RNA molekülleri ve proteinler şeklinde hücrede ilgili bölgelere iletilmekte ve hücre, atalarından gelen bir tarzda canlılık denilen aktivitelerini sürdürmektedir. Test edebildiğimiz veya iletişim kurabildiğimiz bütün organizmalarda genetik bilgi akışını özendirici mekanizmaların varlığını biliyoruz. Böylece genetik bilgi, sadece bir bireyi hayatta tutmakla sınırlı kalmayıp olabildiğince uzun süre kendi varlığını sürdürmek üzere de olayları yönlendirir. Bireyler yeterince uzun süre hayatta kalamadıklarına göre peşpeşe yeni bireylerin üretilmesi gerekmektedir ki genetik bilgi organizmaları üreme denilen süreçle daima yeni bireyler oluşturmaya yönlendirir. Bir bakıma bireyler, genetik bilginin zaman boyunca güvenli bir şekilde varlığını sürdürdüğü araçlardır. Kullanılmakta olan bir araç, eskiyeceğinden eski araçların (yaşlı birey) yerini almak üzere yenileri oluşturulur. "Genetik bilgi böylece kendi varlığını sürdürmek üzere bireyleri kullanır" (R. Dawkins, Gen Bencildir, TÜBİTAK, 1995).