

## Gen Ekspresyonunun Regülasyonu

Her hücrede, polipeptidlerin veya t-RNA ve r-RNA'ların sentezinden sorumlu olan genlerin yanı sıra, bu genlerin çalışmasını kontrol eden genler de bulunmaktadır. Yapısal genlerin ekspresyonlarını düzenleyen proteinleri şifreleyen genler ise **regülatör (düzenleyici) genler** olarak adlandırılırlar. Birçok hücrenin, içinde bulunduğu herhangi bir ortam için gerekli olan proteinleri kodlamaktan çok daha fazla çeşitteki proteinleri kodlayabilecek genetik bilgiye sahip olduğu belirtilmişti. Bu nedenle hücrelerde, değişmekte olan büyüme ortamına karşı yanıt oluşturabilmek ve biyokimyasal reaksiyonları regüle edebilmek için veya gelişme ve farklılaşma prosesinin bir parçası olarak, genlerin ekspresyonlarının düzenlenmesi gerektiği açıktır. Bu tipteki bir regülasyon (düzenleme) ise nasıl oluşmaktadır?

Hücrede, gen regülasyonunun iki temel mekanizması bulunmaktadır. Bunlardan birinde, önceden var olan enzimlerin aktivitelerinin kontrol edilmesi, diğerinde ise bir enzimin miktarının (veya tamamıyla varlığı ya da yokluğu şeklinde) kontrol edilmesi sağlanmaktadır (şekil 8.1). Bir enzimin aktivitesinin kontrol edilmesi ise protein sentezinin tamamlanmasından sonra gerçekleşir (translasyon sonrası regülasyon). Bunun aksine, bir enzimin sentez miktarının kontrol edilmesi ise transkripsiyon seviyesinde (ne kadar m-RNA  retilenecektir) veya translasyon seviyesinde (m-RNA'nın proteine translasyonu gerçekleştirilir veya gerçekleştirilmez) regüle edilir. Bir enzimin sentezinin regülasyonu ise, bu enzimin aktivitesinin regülasyonundan daha kaba bir yöntemdir. Buna rağmen, bu iki kontrol mekanizmasının birlikte çalışması, hücresel metabolizmanın etkili bir şekilde regülasyonunu ve gereksiz işlemlerin  onlenmesi nedeniyle de enerji tasarrufunu sağlamaktadır.

### Transkripsiyonun Regülasyonu:  nd ksiyon ve Represyon

Bakterilerde enzim sentezini kontrol eden bir ak farklı mekanizma bilinmektedir. Bu mekanizmaların hepsi de organizmanın bulunduğu çevredeki, özellikle spesifik küçük moleküllerin bulunup bulunmamasından büyük ölçüde etkilenmektedir. Enzim indüksiyonunu başlatan maddeler **indüsür (indüktör)** olarak adlandırılırken, enzim üretimini baskılayan maddeler ise **korepressör** olarak adlandırılırlar. Daima küçük moleküller olan bu maddeler ise genel olarak **effekt rler** diye bilinmektedirler. Bu moleküller ise transkripsiyonu, çok ender olarak da translasyonu kontrol etmek için spesifik proteinler ile karşılıklı etkileşimlerde bulunabilmektedirler. Enzimler  zerine etkili olan tüm ind s rlar ve korepress rlar, etkili oldukları enzimlerin substrat ya da son ürünleri değildirler. Örneğin, bir enzimin substratı

olmamasına rağmen, bu substratın analogu olan maddeler de enzimin indüklenmesini veya represyonunu sağlayabilirler. Bu duruma örnek oluşturan maddelerden birisi ise izopropiltiyogalaktozid (IPTG)'dir. Çünkü IPTG,  $\beta$ -galaktozidaz tarafından hidrolize edilememesine rağmen, bu enzimin üretimini indüklemektedir. Bununla beraber, doğada ise bu indüsürler ve korepressörler, muhtemelen normal hücre metabolitleridirler.

Transkripsiyon düzeyindeki regülasyon mekanizmalarının temelini ise düzenleyici moleküllerin genin yapısındaki özel dizilerle etkileşime girmesi oluşturmaktadır. Bu etkileşimler sonucu RNA polimerazın transkripsiyonu başlatması ya da başlatmaması belirlenir ve aynı zamanda transkripsiyonun etkinlik derecesi ayarlanır.

Enzim **represyonu (baskılama)** ya da **indüksiyonu (teşvik etme)**, transkripsiyon düzeyinde rol oynamaktadır. Enzim sentezi, özel bir enzim veya enzim grubu için üretilen m-RNA'nın sentezinin başlatılması ya da terminasyonu (sonlandırılması) safhasında kontrol edilmektedir. İndüsürler ve korepressörler ise transkripsiyonu, spesifik olarak hangi yollarla etkilemektedirler? Bunlar, spesifik regülatör proteinlere bağlanarak, dolaylı yoldan m-RNA sentezini etkilemektedirler ve etkileme mekanizmalarının detayları ise takip eden kısımlarda ele alınmıştır.

Burada altı çizilerek vurgulanması gereken ise “hücredeki enzimlerin hepsi, sadece basit bir indüksiyon ya da represyonla kontrol edilmez ve bazı enzimlerin sentezinin kontrolü ise etkili bir şekilde gerçekleştirilememektedir”. Tüm büyüme koşulları altında sentezlenme düzeyleri yaklaşık olarak aynı olan enzimler ise **yapısal** (konstitütif) **enzimler** olarak adlandırılırlar. Yapısal enzimler, genellikle tüm besinsel koşullar altında büyüme için gerekli olan anahtar rolündeki hücresel enzimlerdir ve bu nedenle, bu enzimler büyümekte olan hücrelerde devamlı olarak sentezlenirler. Bununla beraber, repressör sistemlerin kontrolü altında bulunmayan enzimlerin de devamlı olarak sentezlenmesine gereksinim bulunmamaktadır.

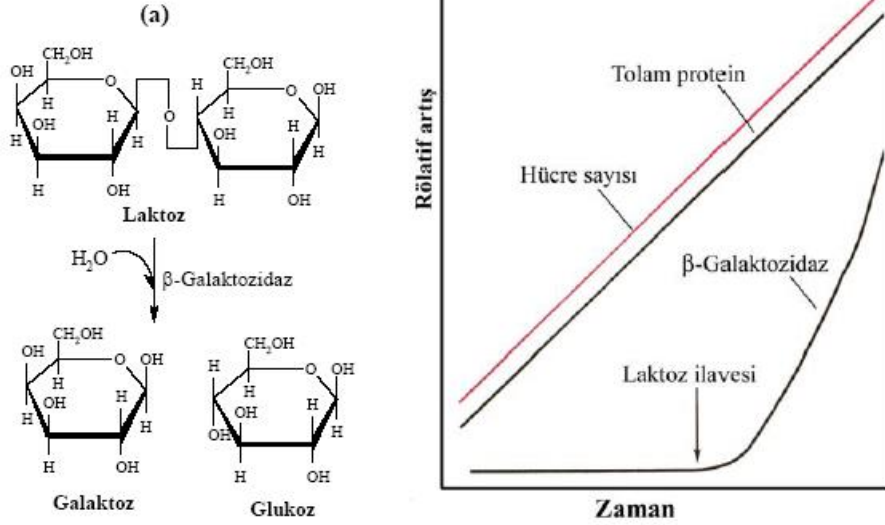
## **Enzim İndüksiyonu (Teşvik Etme) ve Laktoz Operonu: Negatif kontrol**

### ***Lac sisteminin keşfi:***

Gen ekspresyonunun kontrol mekanizması ile ilgili olarak ilk temel veriler, François Jacob ve Jacques Monod'un 1946'da *E. coli*'nin laktoz metabolizmasında rol alan enzimler ve bu bakteriye özgü olan  $\lambda$  faj immünitesi ile ilgili olarak yaptıkları detaylı genetik analiz çalışmaları ile elde edilmeye başlamıştır. Jacob ve Monod, sadece bir enzimin substratının

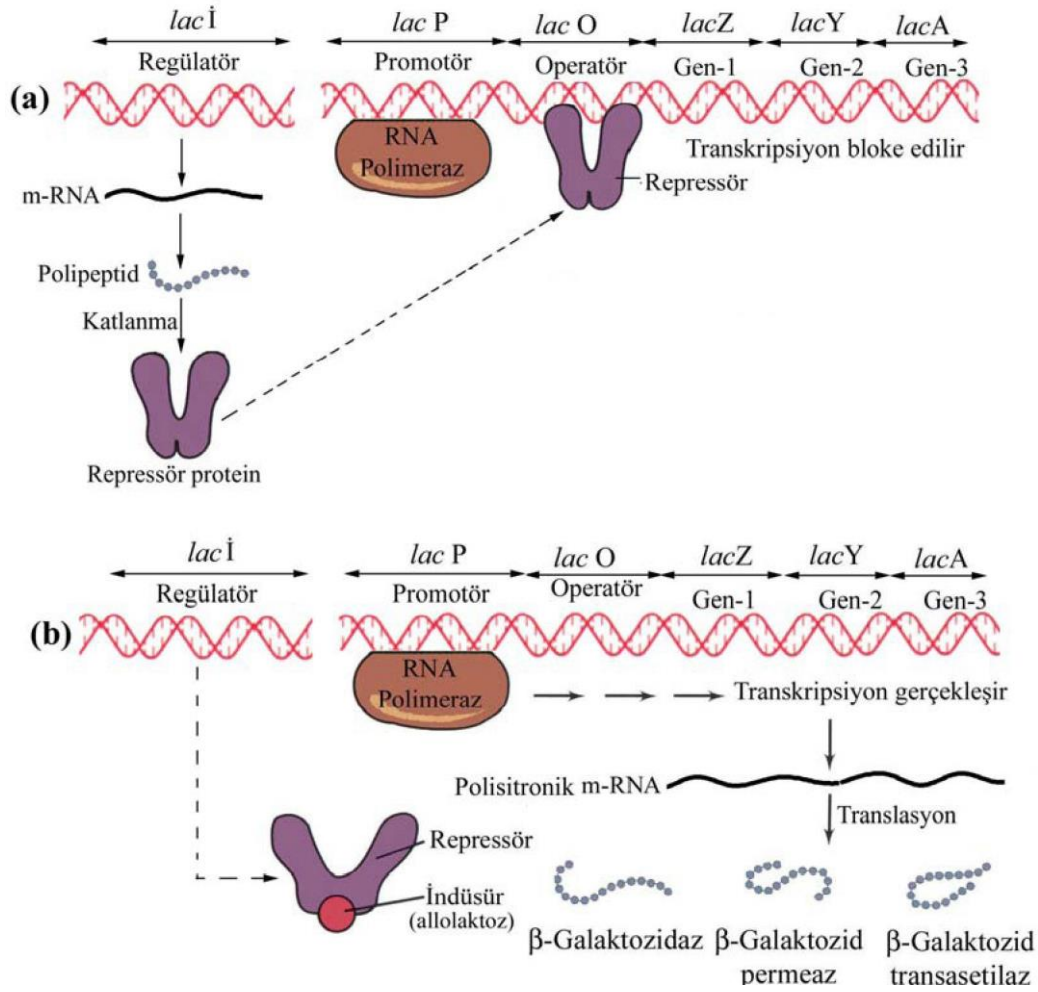
bulunduğu durumlarda ilgili enzimin üretilmesini sağlayan enzim indüksiyon mekanizmasını anlayabilmek için, *E. coli*'nin laktoz metabolizmasını incelemişlerdir. Jacob ve Monod'un 15 yıl kadar süren çalışmaları sonucunda, indüksiyon olayı aydınlatıldığı gibi, gen ekspresyonunun regülasyonu ile ilgili ilk bilgiler de elde edilmiştir. Bu nedenle *E. coli*'nin laktoz sistemi, bu tipteki regülasyon mekanizması için ilk araştırılan örnek olarak verilebilir.

Enzim represyonunun karşıtı, enzim indüksiyonudur. Enzim indüksiyonunda bir enzimin sentezi, sadece bu enzimin substratı ortamda bulunduğunda gerçekleştirilmektedir. *E. coli*, laktozu tek karbon kaynağı olarak kullanabilir. Bu disakkaritin metabolize edilmesinde zorunlu olan enzimlerden birisi ise laktozu, glukoz ve galaktoza hidrolize eden  **$\beta$ -galaktozidaz**'dır (Şekil 8.11,a). Laktoz içeren bir besi ortamında büyüyen *E. coli* hücresi, birkaç bin  $\beta$ -galaktozidaz enzimi içermektedir. Bunun aksine, şayet *E. coli* hücresi glukoz veya gliserol içeren bir besi ortamında büyümekte ise  $\beta$ -galaktozidaz enziminin sayısı hücre başına 10 kopya dan daha az olmaktadır. Kültür ortamında laktozun bulunması, *E. coli* hücrelerinde önceden sentezlenmiş olan proenzimlerin aktive edilmesini değil de,  $\beta$ -galaktozidaz enziminin sentezini stimüle etmektedir (Şekil 8.11,b). Bu nedenle  $\beta$ -galaktozidaz, indüklenen bir enzimdir.  $\beta$ -Galaktozidaz tarafından hidrolize edilen laktozun parçalanması ile oluşan glukoz ve galaktoz ise daha sonra hücrede metabolize olurlar. Bu örnekte de olduğu gibi, ancak özel bir substratın varlığında sentezlenen enzimlere **indüklenen enzimler** denilmektedir ve bu enzimleri şifreleyen genlerin, özel bir substratın varlığına cevap olarak çalışmaları biçimindeki regülasyona ise **indüksiyon** denilmektedir.



**Şekil 8.11:** (a) Bir disakkrit olan laktoz,  $\beta$ -galaktozidaz ile hidrolize edilerek galaktoz ve glikoza parçalanır. (b) Kültür besiyerine laktoz ilavesinden sonra, laktozun kullanılmasını sağlayan  $\beta$ -galaktozidaz enziminin sentezinin indüklenmesi. Burada toplam protein sentezinin değişmediğine dikkat edilmelidir.

**Genlerin kontrolü birlikte yapılmaktadır:** İndüksiyon prosesi ile ilgili önemli bir kanıtı, kullanılan bütün indüslere yanıt olarak  $\beta$ -galaktozidaz enziminin miktarı ile doğru orantılı olarak artan, permeaz ve transasetilez enzimlerinin sentezlerinin de arttığının belirlenmesi oluşturmuştur. Bu enzimleri kodlayan genlerin yapıları ile ilgili detaylar ise mutant suşların çalışılması ile ortaya konmuştur. Mutant suşların analizi ise laktoz metabolizmasında rol alan her bir enzimin ayrı bir gen tarafından kodlandığını, fakat *E. coli*'de laktozun kullanımıyla ilgili bu genlerin, genomda bir operon oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu operondaki 3 yapısal genin (***lac Z*, *lac Y* ve *lac A***), aynı yönde transkribe edilmesi ile sentezlenen polisistronik bir m-RNA, yine aynı yönde translasyona uğrayarak sırasıyla  $\beta$ -galaktozidaz,  $\beta$ -galaktozid permeaz ve  $\beta$ -galaktozid transasetilazın yapısını tayin eder (Şekil 8.12).



**Şekil 8.12:** Bir repressör kullanılması ile enzim indüksiyonunun prosesi. **(a)** Repressör protein, operatör bölgeye bağlandığı için RNA polimerazın aktivitesini bloke eder. **(b)** Bir indüsür molekül (laktöz), repressör proteine bağlanarak bu proteini inaktif eder. RNA polimeraz aracılığı ile transkripsiyon gerçekleştirilir ve bu operon için bir m-RNA oluşturulur.

## Operatör ve operon

**Operon**, repressör proteinin bağlandığı operatör bölgeye göre adlandırılmaktadır. İlk kez Jacob ve Monod tarafından önerilen **operon modeli**, ekspresyonu tek bir operatörün kontrolü altında olan gen kümesidir. Dolayısıyla bir gen ekspresyonu birimi olan operon, yapısal genlerden ve bu genlerin ekspresyonunu kontrol eden (regülatör gen, promotör ve operatör bölge) elementlerden oluşmaktadır. Bir operonu oluşturan yapısal genler, genellikle aynı metabolik yola ait enzimleri kodlarlar. Bir operondaki genlerin tamamı ise tek bir transkripsiyon birimine transkribe edilmektedir. **Operatör** ise m-RNA sentezinin başlatıldığı bölge olan **promotör** bölgeye bitişik olarak bulunur. Şayet repressör protein, operatöre bağlanırsa, m-RNA sentezi bloke edilir ve böylece, bu m-RNA aracılığı ile sentezlenecek olan

protein veya proteinlerin sentezi önlenmiş olur. Şayet, m-RNA polisistronik ise bu m-RNA ile kodlanacak olan bütün proteinler baskılanacaktır.

Laktoz operonunun regülasyonu ise şematik olarak Şekil 8.12’de verilmektedir. Operon modeline göre repressör protein, DNA’da özel bir bölgeye (**operatör**) bağlanarak transkripsiyonu kontrol eder (Şekil 8.12,a). Spesifik repressör proteini, indüsürün olmadığı zamanlarda aktiftir ve m-RNA sentezini tamamı ile bloke etmektedir. Fakat, indüsür eklendiği zaman bu indüsür, repressör protein ile birleşerek spesifik repressör proteinin inaktive olmasını sağlar. Böylece, m-RNA sentezini engelleyen spesifik repressör protein DNA’ya bağlanamaz durumda olduğundan, RNA polimeraz aktivite göstererek yapısal enzimlerin sentezinde kalıplık eden polisistronik m-RNA sentezini gerçekleştirir (Şekil 8.12,b).

Repressör içeren tüm sistemler, aynı temel mekanizmaya sahiptirler. Bu temel mekanizma, indüsür (laktoz gibi) ve repressör (triptofan gibi) olarak adlandırılan küçük moleküllerin kontrolü altında bulunan spesifik repressör proteinlerin etkisiyle, m-RNA’nın sentezinin inhibisyonunu sağlamaktadır. Çünkü, repressörün etkisi engelleyicidir, repressör içeren regülasyon sistemleri ise çoğunlukla **negatif kontrol** olarak ifade edilmektedir.

### **Enzim Represyonu (Baskılama) ve Triptofan Operonu**

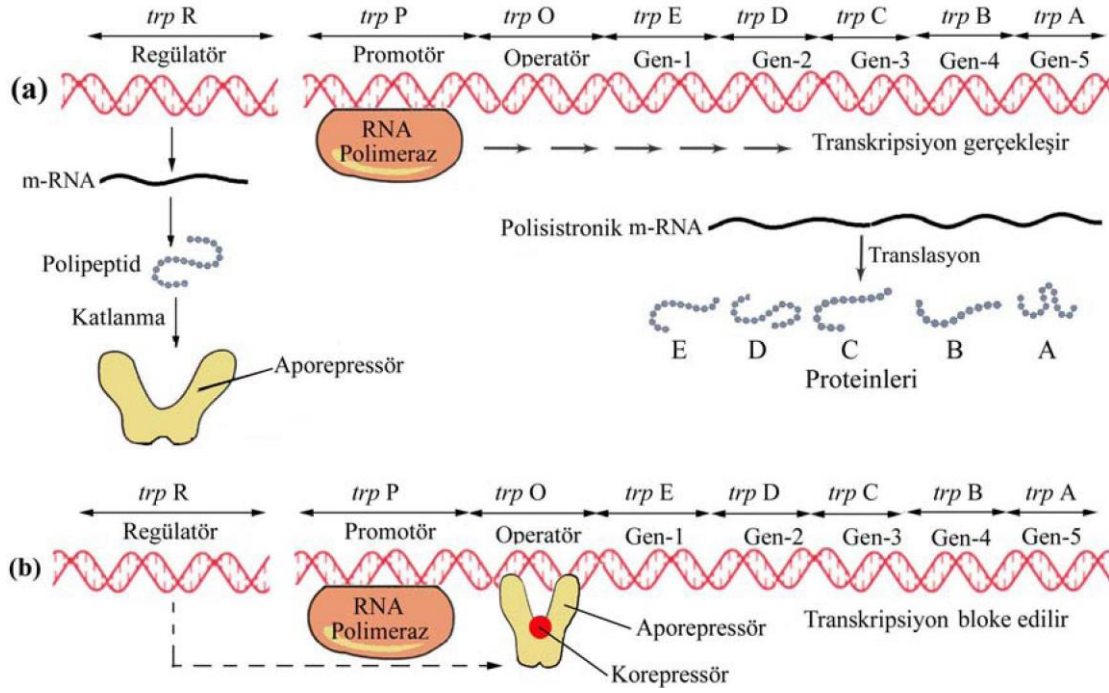
Bakteriler, hücresel fonksiyonlarını yerine getirebilmek için ihtiyaçları olan proteinleri sentezleyebilmek için sürekli olarak, 20 farklı amino aside gereksinim duyarlar. Bu amino asitlerin olmadığı bir ortamda bulunan bakteri hücrelerinde, bunların biyosentezi için gerekli olan bütün enzimler sentezlenmektedir. Bu fonksiyonlarla ilişkili operonlar, indüklenen operonların tersine normalde açıktır ve ekspresyon yaparlar. Ancak amino asit miktarı hücre metabolizması için yeterli düzeye ulaştığında kapanırlar. Bunlara **baskılanabilen (repressibil) operonlar** denir. Bu nedenle, baskılanabilen operonlardan sentezlenen enzimler, çoğunlukla spesifik bir ürünün sentezini katalizleyen enzimlerdir. Bir spesifik ürünün ortamda hazır bulunması durumunda ise bu spesifik ürünün sentezinden sorumlu olan enzimler sentezlenmezler. Örneğin, triptofan amino asitinin sentezinde rol alan enzimler, sadece triptofan amino asitinin kültür ortamında bulunmadığı durumlarda sentezlenirler. Şayet ortamda triptofan var ise eksternal olan bu triptofan, bu amino asitin sentezinde rol alan enzimlerin sentezini baskılar. Şekil 8.13’den de görüldüğü gibi, şayet triptofan, triptofanın bulunmadığı eksponansiyel büyüme fazındaki kültür ortamına eklenirse, büyüme önceki oranda (hızda) devam eder, fakat triptofan sentezinde rol alan enzimlerin sentezi, triptofanın kültür ortamına eklenmesinden kısa bir süre sonra sona erer. Triptofanın kültür ortamına eklenmesinin ise

spesifik bir etki oluşturduğuna dikkat edilmelidir. Çünkü, hücredeki diğer enzimlerin sentezi, kültür ortamına triptofanın eklenmesinden sonra da aynı oranda devam etmektedir.

Baskılanabilir bir enzim regülasyonu örneğinde, korepressör (örneğin, triptofan) hücrede bulunan triptofan repressörü olan ve regülatör gen (*trpR*) tarafından şifrelenen spesifik repressör (**aporepressör**) proteini ile birleşir. Aporepressör ise korepressör madde ile birleştiğinde, konformasyonunda değişiklik olan bir allosterik proteindir. Yapısal değişikliğe uğramış olan bu aporepressör ise DNA üzerinde spesifik bir bölge olan ve genin promotör bölgesine yakın olan, **operatör bölgeye** bağlanır. Aporepressörün operatör bölgeye bağlanması ise RNA-polimerazın sentez işlevini engellediğinden, yapısal triptofan sentez enzimlerinin sentezinde kalıp olarak kullanılan m-RNA sentezini engeller. Bu düzenleme mekanizmasında triptofan bir korepressör gibi davranır ve düzenleyici protein olan aporepressörü aktif duruma geçirir.

**Triptofan (*trp*) operonu**, represyon mekanizmasının işlediği operonların en iyi araştırılmış örneklerinden birisini oluşturmaktadır. İlk kez Monod ve arkadaşları (1953), *E. coli*'de triptofan biyosentezinin, bu organizmanın büyümekte olduğu ortama triptofan ilavesinden sonra durduğunu gözlemişlerdir.

Triptofan amino asiti bir seri biyokimyasal reaksiyonla oluşan bir son-üründür. Bu amino asitin sentezlenmesi ise *trp* operonunda yer alan 5 yapısal gen (*trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB* ve *trpA*) tarafından şifrelenen enzimler aracılığı ile katalizlenir. *Trp* operonunda yapısal genlere ilaveten promotör bölge (*trpP*), operatör bölge (*trpO*) ve regülatör (düzenleyici) gen (*trpR*) bulunmaktadır. Ortamda triptofan yoksa, operonda yer alan yapısal genlerin transkripsiyonu (7 kb m-RNA) sürekli olarak gerçekleştirilir (Şekil 8.14,a). Hücre içerisindeki triptofan belirli bir düzeye ulaştığında ise düzenleyici genin (*trpR*) ürünü olan ve 58 kDa büyüklüğündeki dimerik regülatör protein (aporepressör) ile triptofan birleşerek operatöre bağlanır ve operondan m-RNA sentezini engeller (Şekil 8.14,b). Bu regülasyon mekanizmasında ise triptofan bir korepressör olarak görev yapar ve regülatör protein olan aporepressörü aktif hale getirir.



**Şekil 8.14:** Enzim represyonunun prosesi. **(a)** Repressör protein (aporepressör), operatöre bağlanamadığı için operonun transkripsiyonu gerçekleşir. **(b)** Küçük bir molekül olan korepressörün (bu durumda triptofan), aporepressöre bağlanmasından sonra aporepressör, operatöre bağlanır ve transkripsiyonu bloke eder. Transkripsiyon gerçekleştirilemediği için m-RNA, dolayısı ile de triptofan biyosentezinde rol alan proteinlerin (enzimlerin) sentezi gerçekleştirilemez.

Triptofan yapısal genlerinde meydana gelen mutasyonlar, bu genlerin kodlamış olduğu triptofan enzimlerinin sentezini engellerken, regülatör ve operatör genlerde meydana gelen mutasyonlar ise devamlı enzim sentezine yol açmaktadırlar (de-repressif mutantlar).

Enzim represyonu, bakterilerde çok yaygın bir fenomendir. Bu fenomen ise amino asitlerin, pürinlerin ve pirimidinlerin biyosentezinde rol alan çok sayıdaki enzimin, kontrollü bir şekilde sentezlenmesini sağlamaktadır. Hemen hemen bütün durumlarda, özel bir metabolik biyosentez yolunun sonunda meydana gelen son-ürün, bu metabolik yolda rol alan enzimin represyonunu sağlamaktadır. Bu durumlarda represyon, oldukça spesifik olup proses, genellikle bu metabolik yolda rol alan enzimler dışında, diğer metabolik yollarda rol alan enzimlerin biyosentezini etkilememektedir. Böylece, enzim represyonunun organizasyonu, gerekli olmayan enzimlerin sentezini durdurarak çok kıymetli olan enerjinin boşa harcanmasını önlemektedir.

### Transkripsiyonun Regülasyonu: Pozitif Kontrol

Repressör içeren regülasyon sistemleri çoğunlukla **negatif kontrol** olarak adlandırılan bir regülasyon tipini meydana getirmektedirler (bkz. Laktöz ve Triptofan Operonu). Bu regülasyon



tipinde kontrol elementi olan repressör protein, m-RNA sentezinin baskılanmasına neden olur. Repressör, negatif role sahip olmasına rağmen,  $\beta$ -galaktozidazda olduğu gibi repressörü kullanan bir sistem, enzim indüksiyonunu kontrol edebilmektedir (bkz. kısım 8.4.1.1) Bununla birlikte **pozitif kontrol** olarak tanımlanan diğer tipteki bir kontrol mekanizması daha bulunmaktadır. Pozitif kontrolde ise **apoindüktör** olarak adlandırılan bir regülatör protein, RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasını teşvik ederek, m-RNA sentezinin artırılmasını sağlamaktadır. Burada ise pozitif kontrol mekanizmasını içeren *E. coli*'deki maltoz katabolizmasının regülasyonu üzerinde durulacaktır.

### Maltoz Regülasyonu

*E. coli*'de maltoz şekerinin kullanımını sağlayan enzimlerin sentezi, laktoz şekerinin kullanımını sağlayan enzimlerin sentezinde olduğu gibi sadece organizmanın bulunduğu ortama maltoz ilavesinden sonra gerçekleştirilmektedir. Bu enzimlerin indüksiyon modeli ise Şekil 8.12,b'de görülen  $\beta$ -galaktozidazınkine benzer, fakat bu durumda indüsür olan madde  $\beta$ -galaktozidaz üretiminde olduğu gibi laktoz değil de maltozdur. Maltoz kullanımında rol alan enzimlerin sentezi ise transkripsiyon seviyesinde bir repressör ile değil de bir **aktivatör protein** ile kontrol edilmektedir. Bu kontrol mekanizmasında şayet, **maltoz aktivatör proteini (apoindüktör)** ilk olarak indüsür olan maltoza bağlanmazsa, bu aktivatör protein DNA'ya bağlanamaz. Bu durumda RNA polimeraz da DNA'ya bağlanamadığından maltoz metabolizmasında rol alan enzimlerin sentezi gerçekleştirilemez. Ancak, indüsür ile kompleks oluşturan aktivatör protein DNA'ya bağlandığında, RNA polimeraz transkripsiyonu başlatabilir ve maltoz metabolizmasında rol alan enzimlerin sentezi gerçekleştirilir (Şekil 8.15). Aktivatörler de repressör proteinler gibi, DNA dizisindeki spesifik sekansları tanırlar. Bu durumda, aktivatör proteinin DNA üzerindeki spesifik bağlanma bölgesi ise operatör olarak değil de **aktivatör bağlanma bölgesi (ABB)** olarak adlandırılır. Buna rağmen, bu aktivatör bağlanma bölgesi ile kontrol edilen genler de, bir **operon** olarak adlandırılmaktadır.

Negatif kontrolde repressör protein, operatöre bağlanır ve transkripsiyonu bloke eder. Öyle ise bir aktivatör protein nasıl çalışmaktadır? Pozitif olarak kontrol edilen promotörler, uyum sekansları ile yüksek bir oranda eşleşmeyen nükleotid sekanslarına sahiptirler (bkz. Şekil 5.5). Bu nedenle, doğru sigma faktörüne rağmen RNA polimeraz, bu promotörleri tanımakta zorlanır. Aktivatör proteinin DNA'ya bağlanması ise RNA polimerazın ya promotörü tanımasına ya da transkripsiyonu başlatmasına yardımcı olmaktadır. Aktivatör protein, DNA molekülüne bağlandığında, belki de DNA'nın yapısında bir değişikliğin olmasına neden olmakta ve bu değişiklik, RNA polimerazın DNA ile doğru olarak eşleşmesine yardımcı

olmaktadır (Şekil 8.16). Belki de aktivatör protein, doğrudan doğruya RNA polimeraz ile interaksiyon göstermektedir. Bu ise ya aktivatör bağlanma bölgesi promotöre yakın olduğu zaman (Şekil 8.17, a) ya da promotörden birkaç yüz baz-çifti uzakta olduğu zaman (Şekil 8.17, b) olmaktadır. Maltoz kullanımında ihtiyaç duyulan enzimlerin sentezinden sorumlu olan genler, birkaç operon altında bulunmaktadır. Bu operonların her birisi ise maltoz aktivatör proteinin bağlanmasını sağlayan, birer aktivatör bağlanma bölgesine sahiptirler. Bu nedenle maltoz aktivatör proteini, gerçekte birden fazla operonu kontrol etmektedir. Birden fazla operonun aynı regülatör proteinin kontrolü altında bulunduğu durumda ise bu operonlar, toplu olarak bir **regülön** olarak bilinirler. Bu nedenle, maltoz kullanımında rol alan enzimler **maltoz regülönü** tarafından şifrelenirler. Aynı zamanda, negatif kontrol altındaki operonlarda da regülönlerin varlığı bilinmektedir. Örneğin, arjinin biyosentetik enzimlerinin tümü, arjinin repressör proteininin kontrolü altındaki operonların oluşturduğu **arjinin regülönü** tarafından şifrelenir.

*E. coli*'deki birçok gen, pozitif kontrol altındaki promotörleri içerirken, birçoğu da negatif kontrol altındaki promotörleri içermektedir. Bununla beraber, bilinmekte olan değişik tipteki regülasyon sistemleri de bulunmaktadır. Ayrıca, birçok gen (muhtemelen genlerin çoğu) ya birçok kontrol sistemi tarafından kontrol edilen bir promotöre sahiptir, ya da her biri kendine özgü kontrol sistemine sahip olan, fazla sayıda promotöre sahiptir! Bundan sonraki kısımda ise prokaryotlarda bulunan, transkripsiyon aşamasındaki regülasyonun tipik olarak translasyon ile birleşmiş olduğu regülasyon tipi (attenüasyon) üzerinde durulacaktır. Daha sonra ise dikkatimizi global kontrol ağına çevirerek, belirli çevresel koşullarda prokaryotik hücrelerin çok sayıdaki geni nasıl regüle ettiği incelenecektir.

## Global Kontrol

Bir organizma, çevresinde meydana gelen bir değişikliğe karşı çok sayıdaki farklı genin regülasyonunu sağlamaya ihtiyaç duyar. Örneğin *E. coli*, fosfat olmayan bir ortamda bulunduğu, yeni proteinlerin sentezini sağlayabilmek için 80'den fazla farklı genin transkripsiyonunu gerçekleştirmesi gerekir. Transkript birimlerinin translasyonu sonucunda oluşan bu proteinler ise *E. coli*'nin, fosfat bulunmayan ortama adapte olmasında rol almaktadırlar. *E. coli*'de, özel koşullara karşı yanıt oluşturmak üzere gerekli ürünleri sağlayan bu tipte birkaç tane gen takımı olduğu bilinmektedir (Tablo 8.1). Bu kontrol mekanizmalarının geniş bir hücresel tabanlı operasyona gereksinimi olmasından dolayı, bunlar **global kontrol sistemleri** olarak adlandırılır ve bir veya birden fazla regülönü içerebilmektedirler. Bazı

araştırmacı bilim adamları ise, çevresel bir uyarıya karşı aktif hale gelen bir gen grubunu tanımlamak için **stimülön** terimini kullanmaktadırlar. Bazı araştırmacılar ise global kontrolün, sıklıkla aynı genlerin üzerindeki diğer kontrollerin ayarlanmasını (modülasyonunu) vurgulamak için **modülön** terimini kullanmaktadırlar. Bir organizmanın çevresel bir uyarıya karşı, genlerden oluşan bir ağı aktive ederek yanıt oluşturmalarının yanı sıra global regülasyon, bazı genlerin gereksiz yere yanıt oluşturmalarını önlemek için de kullanılmaktadır. Örneğin, kısım 8.4.1.1 ve 8.4.2.1’de bir bakteriyel kültür ortamına laktoz veya maltozun eklenmesi sonucunda, bu şekerlerin enerji ve karbon kaynağı olarak kullanılması için gerekli olan enzimlerin nasıl indüklendiği incelenmiştir. Buna rağmen, hücreler çok daha verimli bir şekilde kullanabilecekleri bir karbon kaynağı içeren ortamda büyümekte iseler, laktoz ve maltoz kullanımı için gerekli olan enzimlerin indüklenmesi israfa yol açacaktır. Gerçekte ise global regülasyon ağının bir parçası olan ve **katabolit represyon** olarak adlandırılan sistem bu problemi önlemektedir.

### **Katabolit Represyon**

Katabolit represyonda, hücreler glukoz gibi tercih edilen bir enerji kaynağı içeren ortamda büyüdükleri zaman,  $\beta$ -galaktozidaz, galaktokinaz, arabinoz izomeras ve triptofanaz gibi, öncelikle katabolik enzimler olmak üzere, birbiri ile ilişkisi olmayan çok sayıdaki enzimin sentezi inhibe edilmektedir. **Katabolit represyonun** başlatılmasını sağlayan ilk maddenin glukoz olduğunun gösterilmesi nedeni ile bu represyon, **glukoz etkisi** olarak da adlandırılmaktadır. Buna rağmen, bazı organizmalarda glukozun bu formdaki bir enzim represyonuna neden olmadığı da bilinmektedir. Katabolit represyon, glukoz gibi çok daha kolay katabolize edilebilen bir enerji kaynağının yanı sıra, organizmaya diğer katabolize edilebilen enerji kaynaklarının sunulduğu durumlarda meydana gelir.

Katabolit represyonun sonuçlarından birisi, kültür ortamındaki organizmaların **dioksik büyüme** özelliği göstermesine yol açmasıdır. Dioksik büyüme, organizmanın kültür ortamında aynı anda iki farklı enerji kaynağının bulunduğu, fakat bu enerji kaynaklarından birisinin kullanımı için gerekli olan enzimlerin katabolit represyon etkisi altında olduğu zaman meydana gelir. Dioksik büyümede organizma, önce ortamdaki enerji kaynaklarından birisini kullanır ve bu enerji kaynağının tükenmesinden sonra büyüme, geçici olarak bir süre durur, bunu takiben ortamdaki diğer enerji kaynağını kullanarak büyümeye devam eder. Şekil 8.20’de, besiyerinde laktoz ve glukozun karışım halinde bulunduğu bir kültürün, büyüme ve  $\beta$ -galaktozidaz üretimi görülmektedir. Laktoz kullanımını sağlayan  $\beta$ -galaktozidaz enzimi indüklenebilen bir enzimdir fakat, bu enzimin sentezi aynı zamanda katabolit represyona tabidir. Bu nedenle, büyüme

ortamında glukoz bulunduğu sürece  $\beta$ -galaktozidazın sentezi gerçekleştirilmez, organizma sadece glukozu enerji kaynağı olarak kullanır ve laktoza dokunmadan ortamda bırakır. Ortamda ne zaman glukoz tükenirse, katabolit represyon devreden çıkarılır. Bunu takiben, kısa bir duraklama fazından sonra  $\beta$ -galaktozidaz sentezlenir ve ortamdaki laktozun kullanılmasına başlanır. Laktozun kullanılmaya başlanması ile birlikte, kültür ortamındaki organizmaların büyümesi de yeniden hız kazanır. Şekil 8.20’den de görüleceğı gibi hücreler, glukoz üzerinde çok hızlı bir şekilde büyümektedirler. Bu nedenle katabolit represyon, hücrelerin en iyi enerji kaynağını ilk önce kullanmasını garantilemektedir.

Katabolit represyon nasıl işlemektedir? Katabolit represyon, bir aktivatör protein (apoindüktör) aracılığı ile transkripsiyonun kontrol altında tutulmasını içerir. Katabolit represyon ile kontrol edilen enzimlerde, RNA polimerazın bu enzimleri sentezleten gen bölgelerinin promotör bölgelerine bağlanması, ancak DNA üzerine **katabolit aktivatör proteini (CAP)** veya **c-AMP reseptör proteini (CRP)** olarak adlandırılan bir proteinin önceden bağlanması ile mümkündür. *Lac* operonunda, CAP’ın bağlandığı DNA bölgesinin RNA polimerazın bağlandığı promotör bölgeye bitişik olduğu ise nükleaz parçalama deneyleri ile gösterilmiştir. CAP, özellikle DNA üzerindeki *Lac* operonunda -87’den -49’a kadar olan sekansı parçalamaktan korurken, RNA polimeraz ise -48’den +5’e kadar olan diziyi parçalanmaktan korumaktadır. Bunun aksine, *Lac* represör proteini ise -3’ten +21’e kadar olan nükleotidlere bağlanmaktadır. Bu da göstermektedir ki *Lac* represör proteini, RNA polimerazın bağlanacağı bölgeyi kaplamaktadır. Bunun sonucu olarak da *Lac* repressörü, DNA polimerazın promotör bölgeye tutunmasını engellemektedir. CAP ise DNA-bağlama bölgesi ile eşleşen iki-katlı simetri gösteren bir proteindir.



**Şekil 8.20:** Glukoz ve laktoz içeren kültür ortamında dioksik büyüme. Ortamda bulunan glukoz,  $\beta$ -galaktozidaz sentezini baskılar. Ortamdaki glukozun tükenmesinden sonra,  $\beta$ -galaktozidazın sentezlenmesine kadar bir duraklama fazı görülür ve daha sonra büyüme hızı, laktoz kullanımı ile birlikte yeniden hızlanır.

Allosterik bir protein olan ve her bir alt-birimi 22 kDa olan dimer yapıdaki CAP (veya CRP) ise DNA'ya bağlanmadan önce, **siklik adenosin monofosfat (c-AMP)** olarak adlandırılan küçük bir molekül ile birleşmek zorundadır. Dimer yapıdaki CAP proteini ise her bir alt-biriminde birer tane DNA-bağlama ve c-AMP bağlama domainine sahiptir. c-AMP ise sadece bakterilerin değil, yüksek yapıli organizmaların da birçok kontrol sisteminde önemli bir role sahiptir. Örneğin, memeli hücrelerinde c-AMP, glikojen sentezi ve yıkımını kontrol eden proteinler gibi çok sayıdaki hedef proteini fosforile eden protein kinazı stimüle etmektedir. c-AMP, **adenilat siklaz** olarak adlandırılan bir enzim aracılığı ile ATP'den sentezlenmektedir. Glukoz ise c-AMP sentezini inhibe ederken, aynı zamanda bu molekülün hücre dışına transportunu da stimüle etmektedir. Böylece, glukoz hücre içine transport edilirken, hücre içindeki c-AMP konsantrasyonu da düşürülmektedir. Bunun sonucu olarak da RNA polimeraz, promotör bölgeye bağlanamamaktadır. Bu nedenle, katabolit represyon, gerçekte bir c-AMP eksikliğinin sonucudur ve represyonun ortadan kaldırılması için ortama c-AMP ilavesinin yapılması gerekmektedir.

Bu, basit bir pozitif regülatör sistemmiş gibi görünse de, CAP'ın kontrol ettiği her bir operon, aynı zamanda spesifik regülatör proteinin de kontrolü altındadır. Bu nedenle katabolit represyonu, birbiri ile ilişkisi olmayan birkaç regülatör sistemi de modüle eder ve bu nedenle de katabolit represyon, global kontrolün bir örneğini oluşturmaktadır. Kültür ortamında glukoz bulunduğu sürece katabolit represyon, global kontrol altındaki diğer bütün katabolik

operonların ekspresyonunu engellemektedir. Transkripsiyonun gerçekleşmesi için iki koşulun yerine getirilmesi gerekir:

*i.* CAP'ın kendisi için olan bağlanma bölgesine bağlanabilmesi için, hücre içerisindeki c-AMP düzeyinin yeterli olması gerekir.

*ii.* Kültür ortamında laktoz gibi bir indüsrün olması zorunludur. Böylece, laktoz repressörü, operatöre bağlanarak transkripsiyonu bloke etmez.

Katabolit represyonda rol almayan ve aynı zamanda, bazı cıvık mantarlarda hücre agregasyonunun gerçekleşmesi için ekstrasellüler bir sinyal olan c-AMP, ökaryotlarda çok sayıda regülatör role sahiptir.