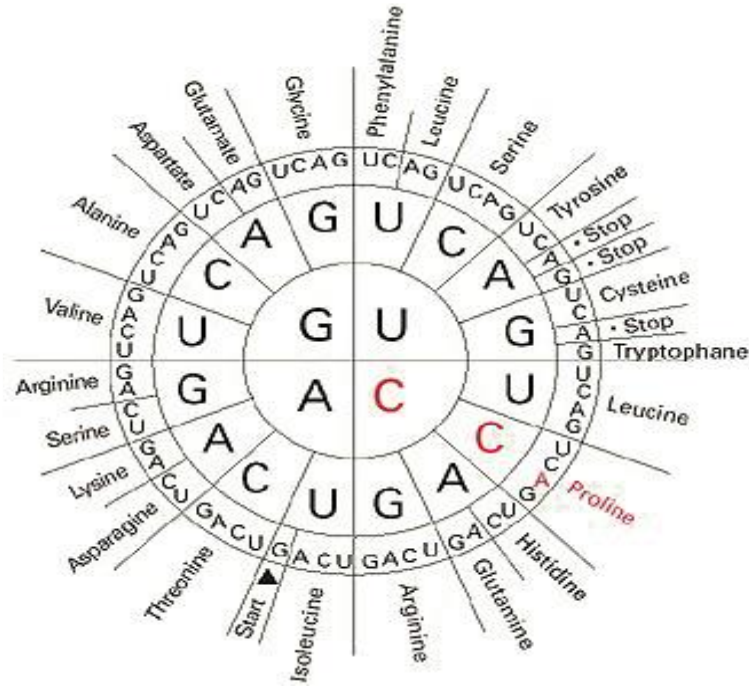


## Transkripsiyon ve RNA Prosesi



DNA, prokaryotik hücrelerde stoplazmada yer alırken ökaryotik hücrelerin nükleusunda bulunur, oysaki hücresel olaylar stoplazmada cereyan eder. Bu nedenle, ökaryotik organizmalarda nükleusta bulunan DNA moleküllerinde (genlerde) yer alan genetik bilginin, stoplazmadaki protein sentezinin gerçekleştirildiği organel olan ribozomlara taşınarak, burada proteinlerin sentezinin gerçekleştirilebilmesi için genel anlamda RNA moleküllerine ve özel anlamda ise m-RNA moleküllerine gereksinim bulunmaktadır. Radyoaktif RNA öncüllerinin kullanılması ile yapılan denemeler sonucu, transkripsiyonla ilgili bazı önemli bulgular elde edilmiştir. Bunlardan birincisi, ökaryotik organizmalarda RNA'nın önce nükleusta sentezlendiği ve daha sonra stoplazmaya geçtiğidir. İkincisi ise, RNA'nın DNA'dan kopyalandığıdır. DNA'daki kalıtsal bilginin RNA'ya aktarılması olayına ise **transkripsiyon** (kopyalama, yazılma) adı verilir. DNA'nın RNA biçiminde transkripsiyonu, polipeptidleri şifreleyen genler ile protein sentezi için gerekli RNA moleküllerinin oluşumundan sorumlu genlerin anlatımlarının (ekspresyonlarının) ilk aşamasını oluşturur.

Yapılan deneysel çalışmalar, transkripsiyonun DNA'nın yalnızca bir zinciri üzerinden gerçekleştirildiğini de kanıtlamıştır. Transkripsiyonun temeli, sentez için seçilen DNA zinciri ile sentezlenen RNA zincirinin bazlarının birbirine komplementer olmasına dayanır. Bu durum,

DNA replikasyonuna benzer ancak, RNA transkripsiyonu sırasında DNA'daki adenin nükleotidinin karşısına timin yerine urasil gelir ve olay **RNA polimeraz** enzimleri aracılığı ile gerçekleştirilir. Bu nedenle, transkripsiyon konusunun incelenmesine RNA polimeraz enzimleri ile başlanacaktır. Bundan sonraki kısımlarda ise, DNA molekülünden RNA molekülünün transkripsiyonu (RNA sentezi) ve transkripsiyon birimlerinin (öncül RNA moleküllerinin) işlenmesi ile ilgili moleküler mekanizmalar incelenecektir.

## **RNA Polimerazlar**

RNA polimerazlar, ilk defa 1959 yılında Samuel Weiss ve bazı araştırmacılar tarafından birbirinden habersiz olarak, rat karaciğerinden izole edilmiştir. DNA molekülünden RNA'nın transkripsiyonunu katalizleyen RNA polimerazlar, dördüncül yapıda, büyük ve karmaşık yapıya birer proteindirler. *RNA polimerazlar, ribonükleotidler arasındaki fosfodiester bağlarının oluşumunu katalizlerler. RNA polimerazın aktivite gösterebilmesi ise kalıp olarak kullanılacak olan DNA molekülünün varlığına bağlıdır. RNA polimeraz enzimleri, DNA polimeraz enzimlerinin aksine bir polimer zincirini sentezini, bir primere ve serbest 3'-OH ucuna gerek duymadan başlatabilmektedirler. Bu nedenle, RNA molekülünde yer alan ilk nükleotid trifosfat formundadır. Ayrıca, RNA molekülünde yer alan ilk nükleotid, ister A ister G olsun her zaman bir pürin bazıdır.*

Bakterilerden, arkelerden ve ökaryotlardan elde edilen RNA polimeraz enzimleri oldukça farklıdır. Takip eden kısımlarda ise öncelikle en basit ve en iyi tanımlanmış olan bakteriyel polimerazlardan bahsedilecektir. Daha sonraki kısımlarda ise farklı organizma gruplarında bulunan RNA polimeraz enzimlerinin farklılıkları üzerinde durulacaktır.

## **Bakteriyel RNA Polimerazlar**

Bakteriyel kaynaklı olan RNA polimeraz enzimlerinin tamamı, kompleks yapıda enzimler olup birbiri ile oldukça benzer olan alt-birimlerden meydana gelmektedirler. *E. coli* 'den elde edilen RNA polimeraz enzimi ise  $\alpha\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\sigma$  ( $\omega$ ) ve  $\delta$  olarak adlandırılan alt-birimlerden oluşur (Şekil 5. 1). *E. coli* RNA polimerazının aktif formu (holoenzim) ise  $\alpha$  'nın birbirinden farklı yapıda 2 protein alt-birimi olmak üzere, beş farklı polipeptitten ( $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ ) oluşmaktadır. Alt-birimler ise aktif bir enzimin (holoenzim) oluşturulmasında birbiri ile interaksiyon gösterirler, fakat  $\delta$  faktörü enzim kompleksine diğer alt-birimler gibi sıkı bir şekilde bağlanmadığı için, kompleks enzim yapısından kolayca ayrılabilir. Daha sonraları yapılan

araştırmalar ise *E. coli* ve *B. subtilis* 'te farklı sigma faktörlerinin bulunduğunu da göstermiştir. Sigma faktörü, RNA polimerazın **çekirdek (core) enzim** olarak adlandırılan ( $\alpha_2\beta\beta'$ ) enzimini oluşmasını sağlamaktadır. Çekirdek enzim ise tek başına RNA oluşumunu katalizleyebilmekte, fakat başlatamamaktadır. Sigma faktörünün görevi ise RNA sentezinin başlatılabilmesini sağlamak amacı ile DNA molekülü üzerindeki uygun bölgenin (promotör) tanınmasını sağlamaktır. Holoenzimin DNA üzerinde promotör bölgeyi tanıması ise çok hızlı bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Bunun ise iki nedeni vardır:

i. RNA polimeraz, DNA molekülü üzerinde hareket ederken her defasında bu moleküle bağlanıp yeniden ayrılmaktan ziyade kayarak hareket etmektedir. RNA polimerazın DNA üzerinde kayarak hareket etmesi ise her defasında DNA'ya bağlanıp yeniden ayrılarak hareket etmesine oranla 100 defa daha hızlı gerçekleşmektedir. Bu nedenle, kayarak hareket etmenin sonucu olarak promotör bölgelerin bulunması daha hızlı gerçekleştirilmektedir.

ii. RNA polimeraz, çift-zincirli DNA heliksinin açılmasına gereksinim duymadan promotör bölgelerin -10 ve -35 sekanslarını tanıyabilmektedir.

Sigma faktörü bulunmadığı zaman çekirdek enzim, genin herhangi bir zincirine ve gelişigüzel bir noktaya bağlanmakta ve sonuçta kusurlu RNA ürünleri meydana gelmektedir. RNA polimerazın yapısında yer alan  $\beta'$  alt-birimi, enzimin DNA kalıbına bağlanmasını sağlarken,  $\beta$  alt-birimi ribonükleosid trifosfatları bağlamakta ve bu nükleosidler arasındaki fosfodiester bağlarını oluşturmaktadır. RNA polimeraz ve sigma faktörünün rol aldığı RNA sentezinin mekanizması ise Şekil 5.3'de verilmektedir.

RNA polimeraz enzimi oldukça büyük, protein yapıdaki bir enzim olup, DNA molekülü üzerinde çok sayıdaki baz ile aynı anda kontak kurabilmektedir. Daha önceki kısımlarda da belirtildiği gibi proteinler, DNA molekülünün büyük oluklarında yer alan baz-çiftlerinin dışarıya doğru olan grupları aracılığı ile interaksiyon gösterbilmektedirler. RNA sentezinin doğru yerden başlatılabilmesi için, öncelikle RNA polimeraz enziminin DNA molekülü üzerindeki doğru bölgeyi tanıması gerekmektedir. DNA molekülü üzerinde bulunan ve RNA polimeraz enziminin spesifik olarak bağlanmasını sağlayan bu bölgeler ise **promotör** olarak adlandırılmaktadır.

RNA sentezi sırasında, RNA polimeraz enzimi çok sayıda fonksiyonu yerine getirmektedir. RNA polimerazın bu fonksiyonları ise kısaca:

i. RNA polimeraz, DNA molekülü üzerindeki transkripsiyon başlangıç bölgeleri olan promotörleri arar. *E. coli* 4,6 x 10<sup>6</sup> bp'den oluşan genomik DNA'sında yaklaşık olarak 2000 promotör bölge içermektedir.

ii. RNA polimeraz, çift-zincirli DNA'nın kısa bir bölgesini açarak tek-zincirli DNA kalıbını oluşturur ve bu kalıp bölgeye uygun olarak RNA sentezini yürütür.

iii. Kalıp diziye uygun olarak, doğru nükleotid trifosfatları seçer ve bunlar arasındaki fosfodiester bağıını kurar. RNA polimeraz, DNA kalıbı üzerinde tek yönlü olarak ilerlerken bu reaksiyonlar defalarca tekrarlanır. Başlangıç noktasından bitiş noktasına kadar olan transkripsiyon, tek bir RNA polimeraz enzimi tarafından yürütülür.

iv. RNA polimeraz, transkripsiyonun sonlandırılmasını sağlayan terminasyon sinyalinin tanır.

v. RNA polimeraz, transkripsiyonun hızını etkileyen aktivatör ve repressör proteinler ile interaksiyon gösterir. Gen ekspresyonu ise genellikle transkripsiyon düzeyinde regüle edilmektedir.

Çift-zincirli DNA molekülünün ise her bir defasında, ancak bir dizisi transkribe olmaktadır. Hangi dizinin transkribe olacağı ise promotör bölgenin yönüne bağlı olarak belirlenmektedir. RNA'nın kopyalanması sırasında, DNA'nın bir zincirinin kalıp olarak kullanıldığı yukarıda belirtilmişti. Ancak bu durum, kromozom üzerindeki herhangi bir gen bölgesi için geçerlidir. Yani, bir kromozom üzerinde bulunan çok sayıdaki yapısal genden bir tanesinde DNA'nın iki zincirinden biri RNA sentezi için kalıplık ederken, bir başka gen bölgesinde DNA'nın diğer zinciri kalıp olarak kullanılabilir. Hatta bazı araştırmacılara göre, organizmanın hayat döngüsünün herhangi bir safhasında, bir gen bölgesinde bir zincir RNA sentezine kalıplık ederken, bir başka safhasında diğer zincir kalıplık edebilmektedir.

### **Ökaryotik RNA Polimerazlar**

Ökaryotik organizmaların nükleuslarında, her birisi farklı tipteki RNA molekülünün sentezinden sorumlu olan, yapıları, yerleşimleri, inhibitörlere ( $\alpha$ -amanitin) olan duyarlılıkları ve fonksiyonları farklılık gösteren 3 RNA polimeraz (I, II ve III) enzimi bulunmaktadır. Ökaryotik organizmalardaki bu üç tip RNA polimeraz da, bakteriyal RNA polimerazlara oranla daha kompleks yapıda olup, çok sayıda farklı alt-birimlerden oluşmaktadırlar. Ökaryotik hücrelerdeki transkripsiyon aktivitesinin önemli bir kısmını gerçekleştiren RNA polimeraz **I**,

nükleolusta bulunur ve r-RNA moleküllerinin çoğunun (18S, 5,8S ve 28S) sentezini gerçekleştirir. RNA polimeraz I tarafından transkripsiyonu yapılan genlere **I. sınıf genler** adı verilmektedir. Nükleoplazmada bulunan RNA polimeraz **II** ise, **II. sınıf genlerin** transkripsiyonlarını katalizleyerek m-RNA moleküllerinin oluşmasını sağlarlar. RNA polimeraz **II**, aynı zamanda ayırma olayında rol alan U1 ve snRNA gibi küçük moleküllerin sentezini de sağlamaktadır. Nükleoplazmadaki diğer bir polimeraz olan RNA polimeraz **III** ise, hücrelerde oldukça düşük aktiviteye sahiptir ve t-RNA moleküllerini (ve sadece 5S r-RNA molekülünü) sentezlemektedir. RNA polimeraz **III** tarafından transkripsiyonu yapılan genlere ise **III. sınıf genler** adı verilmektedir. Bu enzimlerin her birinin, spesifik olarak farklı RNA moleküllerini sentezlemelerinin nedeni ise her bir RNA polimerazın sadece bu moleküllerin sentezlendiği bölgelerdeki promotörleri tanımasından ileri gelmektedir. Bakterilerde, bir proteini kodlayan genin promotör bölgesi, bir t-RNA molekülünü kodlayan gen bölgesinin promotörü ile aynı olabilir. Ökaryotlarda ise protein kodlayan genin promotör bölgesi ile t-RNA kodlayan genin promotör bölgeleri aynı değildir. Bakterilerde olduğu gibi ökaryotlarda da DNA molekülünün içerdiği genlerin çok büyük bir oranı proteinlerin kodlanmasını sağlamaktadır ve bu nedenle, ökaryotlarda genlerin büyük bir kısmının transkripsiyonu **RNA polimeraz II** tarafından gerçekleştirilmektedir.

Ökaryotik RNA polimerazlar da prokaryotik RNA polimerazlar gibi, RNA sentezini başlatmak için bir primere gereksinme duymazlar ve sentezin yönü **5'→3'** olarak gerçekleşir. Ayrıca, RNA polimerazlar nükleaz aktivitesine sahip olmadıkları için RNA sentezi esnasında, sentezlenmekte olan RNA molekülünde meydana gelen yanlış baz eşleşmelerini düzeltemezler.

Ökaryotlardaki RNA polimeraz enzimleri ise promotör bölgedeki baz sekansları ile spesifik olarak interaksiyon göstermek durumundadırlar. Buna rağmen, ökaryotlardaki RNA polimeraz enzimleri ile promotör bölgeler arasındaki interaksiyonun bakterilerdekine oranla çok daha kompleks olduğu ve bu interaksiyonda çok sayıda proteinin de rol aldığı görülmektedir. Ökaryotik RNA polimerazlar, bakterilerdeki  $\beta$ ,  $\beta'$  alt-birimlerine homolog olan ikisi büyük, diğerleri ise daha küçük olan 6-10 alt-birimden oluşmaktadırlar.

Ökaryotik hücrelerde bulunan mitokondri ve kloroplast DNA'larının transkripsiyonu ise farklı bir RNA polimeraz tarafından yapılmaktadır. Mitokondriyal RNA polimeraz, tek polipeptidden meydana gelen oldukça basit bir moleküldür. Örneğin, *Neurospora crassa* mitokondrilerinden izole edilen RNA polimeraz, moleküler kütlesi 64 kDa olan bir polimeraz olup, bilinen en küçük RNA polimerazdır. Ökaryotik hücrelerin mitokondri ve

kloroplastlarında bulunan RNA polimerazlar, yapı ve işlev bakımından daha çok bakterilerdeki RNA polimerazlara benzerler.

### **RNA Polimeraz Aktivitesinin Spesifik İnhibitörleri**

Çok sayıda antibiyotiğin ve sentetik kimyasalların, RNA sentezini inhibe ettiği yapılan deneysel çalışmalar ile belirlenmiştir. Örneğin, Aktinomisetlerden elde edilen **aktinomisin** ve **rifamisin**, transkripsiyonu oldukça farklı yollardan inhibe eden iki antibiyotiktir. *Streptomyces*'den elde edilen rifamisin ile bu antibiyotiğin yarı-sentetik bir türevi olan **rifampisin**, özellikle RNA sentezinin başlangıç safhasını inhibe etmektedir. Rifampisin, RNA polimerazın DNA kalıbına bağlanmasını bloke etmemesine rağmen, sentezlenecek olan RNA zincirindeki ilk fosfodiester bağının kurulmasını inhibe etmektedir. Bunun aksine, zincirin uzaması ise bu antibiyotikten etkilenmemektedir. Rifampisinin oldukça yüksek derecedeki bu seçiciliği ise bu antibiyotiğin, iyi bir araştırma aracı olarak kullanılmasına yol açmıştır. Örneğin rifampisin, sentezi önceden başlatılmış olan RNA zincirlerini etkilemediği halde, yeni RNA zincirlerinin sentezinin başlatılmasını inhibe etmesi medeni ile araştırmalarda kullanılmaktadır. Rifamisin ve rifampisin, RNA polimeraz enzimlerinin  $\beta$  alt-birimlerine bağlanarak RNA sentezinin başlamasını engellemektedirler.

*Streptomyces*'in farklı bir suşundan elde edilen ve polipeptid içeren bir antibiyotik olan **aktinomisin D** ise transkripsiyonu tamamı ile farklı bir mekanizma ile inhibe etmektedir. Aktinomisin D, sıkı bir şekilde ve spesifik olarak, çift-zincirli DNA molekülüne bağlanarak bu molekülün RNA sentezinde kalıp olarak kullanılmasını engellemektedir. Aktinomisin D, tekzincirli DNA, RNA, çift-zincirli RNA ya da RNA-DNA hibrit moleküllerine bağlanmamaktadır. Aktinomisin D, özellikle DNA molekülünün GC bp'lerine kuvvetli olarak bağlanmakta ve RNA sentezinin gerçekleştiği bölgelerdeki DNA molekülünün büyük olukları içerisine yerleşmektedir. Düşük konsantrasyonlardaki aktinomisin D, DNA replikasyonunu veya protein sentezini önemli oranda etkilemeksizin transkripsiyonu inhibe etmektedir. Bu nedenle aktinomisin D, hem prokaryotik hem de ökaryotik hücrelerde yeni RNA moleküllerinin sentezini inhibe etmek için oldukça spesifik bir inhibitör olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

## m-RNA'ların İşlenmesi

Prokaryotik genomlarda gen bölgeleri kesintisizdir. Biryandan DNA'dan mRNA sentezlenirken mRNA üzerindeki ribozom bağlanma bölgesinden (Shine dalgarno dizisi) ribozomlar mRNA'ya bağlanarak protein sentezi gerçekleşir.

Olgun ökaryotik m-RNA moleküllerinin oluşması için, öncül m-RNA moleküllerindeki intron bölgelerin uzaklaştırılmasından önce, iki mükemmel adım daha bulunmaktadır. Bu adımlar ise m-RNA'ların her iki ucuna özel nükleotid dizilerinin eklenmesidir. Bu olaylardan birincisi, **başlıklandırma** (capping) olarak adlandırılmakta olup, aslında transkripsiyon tamamlanmadan önce gerçekleşir. İkinci olay ise transkript biriminin 3' ucunun kısaltılarak, buraya yaklaşık olarak 200 kadar AMP molekülünden oluşan bir **poli-A kuyruğu**'nun takılmasıdır. Bu proses ise **kuyruklama** olarak adlandırılmakta olup, terminasyon esnasında meydana gelebilir. Ökaryotik organizmalar ve bunların bazı virüslerine özgü olan parçalı genlerin transkripsiyonu sonucunda oluşan öncül m-RNA moleküllerinde meydana gelen üçüncü olay ise öncül transkript birimlerine aktarılmış olan intron dizilerinin kesilip çıkarılmasıdır. Bu özel işlem ise **RNA'nın ayrılması-kırpılması** (splicing) olarak adlandırılmaktadır. Öncül transkript birimlerinin olgunlaştırılmasını sağlayan bu olayların hepsi de olgun m-RNA molekülünün sitoplazmaya gönderilmesinden önce, nükleus içerisinde gerçekleşmektedir.

*i. Başlıklandırma:* Başlıklandırma olayı, **başlık-şapka (cap)** olarak adlandırılan ve transkript biriminin 5'-fosfat ucuna, metillenmiş guanin nükleotidlerinin eklenmesinden ibarettir (Şekil 5.5). Aynı zamanda, transkripsiyon sonrası m-RNA molekülünde bulunan bazların bir kısmı ile riboz şekerde yer alan 2'-OH grubu da genellikle metillendirilmektedir. Tüm ökaryotik m-RNA'lar, 5' uçlarında metillenmiş bir başlık yapısına sahiptirler. Bu yapı ise **guanozin başlığı oluşumu** ve **metillenme** olmak üzere iki tip modifikasyonla meydana gelmektedir.

Transkripsiyon, genellikle bir purin (pppA veya pppG) içeren nükleotid trifosfat ile başladığından, m-RNA'nın 5' ucunun 5'pppA (veya pppG)p Np Np Np biçiminde olması gerekir. Fakat, m-RNA'ların *in vitro* koşullarda enzimatik olarak baz sekansları belirlendiğinde, 5' uçta 5'-5'-trifosfat bağlantısı gösteren ve metil grupları taşıyan 2 nükleotidin bulunduğu belirlenmiştir. En uçta yer alan bazın ise daima G olduğu ve bu bazın 5' uca eklenmesini ise **guanilil transferazın** katalizlediği bilinmektedir. Bu enzimin gerçekleştirdiği reaksiyon ise transkripsiyonun başlamasından hemen sonra meydana gelen, GTP ile orijinal 5'-trifosfat ucu arasında bir koordinasyondur. Öncül m-RNA'nın 5'-trifosfat grubunun uçtaki fosfatının yerine

GTP'nin guanil grubu geçer ve 5'-5'-trifosfat bağlantısı oluşur. Bu yapıya **m-RNA başlığı (cap)** denir.

*ii. Poli-A kuyruğunun eklenmesi (kuyruklama):* Ökaryotlarda, transkripsiyondan sonra olgunlaşmamış m-RNA molekülünün geçirdiği diğer bir değişiklik ise transkript biriminin 3' ucunun kısaltılarak, buraya yaklaşık olarak 200 kadar AMP molekülünden oluşan bir **poli-A kuyruğu**'nun takılmasıdır. Bu proses ise **kuyruklama** olarak adlandırılmakta olup, terminasyon esnasında meydana gelebilir. m-RNA moleküllerinin 3' ucunda yer alan bu poli-A kuyrukları ise DNA tarafından kodlanmamaktadır. Gerçekte ise poli-A kuyruğundan hemen önce yer alan nükleotid, DNA tarafından kodlanan, yani RNA polimeraz tarafından transkribe edilen son nükleotid değildir. Nükleusta gerçekleşen kuyruklama işlemi, **poli-A polimeraz** enzimi tarafından m-RNA'nın 3'-OH ucuna, A nükleotidlerinin eklenmesi ile gerçekleştirilir. m-RNA molekülünün 3' ucuna eklenen A'ler ise ATP'den sağlanmaktadır.

Prokaryotlarda olduğu gibi tüm genleri kapsamasa da, bazı ökaryotik yapısal genlerde de transkripsiyonun tamamlanmasına ilişkin işaret dizilerinin varlığı bilinmektedir. Bununla birlikte, böyle özel bir dizinin bulunup bulunmamasına bağlı olmaksızın ökaryotlarda transkripsiyon, poliadenilizasyona ait işaret dizilerini geçerek sonlanır. Yani RNA polimeraz II, m-RNA'nın gerçek 3' ucundan yaklaşık birkaç yüz (bazen birkaç bin) nükleotid ötede transkripsiyonu sonlandırır. Daha sonra, öncül m-RNA molekülü poliadenilizasyon için gerçek 3' uç oluşturacak şekilde aktivite gösteren bir **endonükleaz** ile kesilir (Şekil 5.6). Kesilmenin gerçekleştirildiği noktanın gerisindeki 5'-AAUAAA-3' dizisi ise poliadenilizasyon için kesilme işaretidir. Şayet, öncül RNA moleküllerinin 3' ucuna yakın olarak yer alan bu kesilme işaretlerinin veya 20 kadar nükleotidi içeren bir bölgenin delesyonu gerçekleştirilirse, öncül m-RNA'ların endonükleazlar tarafından spesifik olarak kesilmesi gerçekleştirilememektedir. Bu işaret bölgesinin tanınmasında, yaklaşık birkaç **snRNA (küçük nüklear RNA = small nuclear RNA)** ve bir proteinden oluşan kompleks rol oynamaktadır. Kesilme sonucu oluşturulan gerçek 3'-OH ucuna poli-A kuyruğu eklenir.

*iii. İntronların kesilmesi:* Ökaryotik m-RNA genlerinden parçalı yapı gösterenlere ait transkripsiyon birimlerinde, başlıklandırma ve poli-A kuyruğunun eklenmesine ilaveten meydana gelen üçüncü işlem ise, intron bölgelerin kesilerek yok edilmesi ve ekson bölgelerin yeniden birleştirilmesi sonucunda fonksiyonel, olgun m-RNA'nın elde edilmesidir. DNA moleküllerindeki bir gen bölgesinin, bilgi içermeyen ara sekanslarla bölünmüş olabileceği ise ancak 1970'li yılların ortalarında anlaşılmıştır. Bu yıllarda adenovirüslerin gen yapıları araştırılırken, ökaryotik hücrelerin genlerinde o zamana kadar bilinmeyen farklı bir özellik



belirlenmiştir. Bu özellik ise ökaryotik kromozomların gen bölgelerindeki sekansların, olgun m-RNA moleküllerinde birebir karşılığının bulunmadığıdır. Bunun üzerine Walter Gilbert, gen sekanslarında yer aldığı halde olgun m-RNA üzerinde bulunmayan bu ara sekanslar için **intron**, m-RNA üzerinde karşılığı olan ve bu nedenle ekspresyonları yapılan gen sekansları için ise **ekson** terimlerini kullanmıştır.

Ökaryotik genlerin organizasyonundaki bu parçalı gen özelliğinin (birkaç prokaryotta da bu özellik görülmektedir) keşfedilmesinden hemen sonra araştırmalar, öncül m-RNA transkriptlerinin fonksiyonel m-RNA moleküllerine nasıl dönüştüğünün mekanizmasını, başka bir deyişle öncül m-RNA moleküllerindeki intronların nasıl uzaklaştırıldığını araştırmaya yoğunlaşmıştır.

m-RNA öncüllerinde yer alan intronlar, çok hassas bir şekilde kesilerek uzaklaştırılmalıdır. İtronların kesilmesi esnasında yapılacak tek bir nükleotidlik yanlış kesim dahi, m-RNA molekülü üzerindeki okuma çerçevesinin baştan sona tamamen değişmesine yol açacaktır. Bunun sonucunda ise olması gerekenden tamamı ile farklı bir polipeptidin sentezlenmesi gerçekleşebilir. Bu durumda ayırma mekanizması, ekson ve intron bölgelerini tam olarak kesilmesi gerektiği noktalardan nasıl kesebilmektedir?

İntron içeren öncül m-RNA moleküllerindeki ekson-intron birleşme noktalarında bulunan yüzlerce bazın sekansı bilinmektedir ve bunlardan bazıları Tablo 5.1’de gösterilmektedir. Mayalardan memelilere kadar olan tüm ökaryotlarda, bu sekanslar ortak bir yapısal özelliğe sahiptirler: *bir intronun baz sekansı GU ile başlar ve AG ile sonlanır* (Tablo 5.1). Vertebrat intronlarının 5’ ucundaki **sinyal (uyum) sekansı** ise AG/GUAAGU’dur (Şekil 5.7). İtronların 3’ ucundaki uyum sekansı ise 9 primidinden (U veya C) oluşan bir diziyi takiben, herhangi bir bazdan sonra yer alan AG sekansından oluşmaktadır (Şekil 5.7). İtronlar aynı zamanda, 3’-ayırma bölgesinden 20-50 baz geride yer alan önemli bir internal bölgeye sahiptirler. Bu internal bölge ise **dallanma bölgesi** olarak adlandırılmaktadır.

Hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda intron içeren birkaç tipte gen bulunmasına rağmen, ökaryotik öncül m-RNA molekülünden intron bölgelerin çıkarılmasını sağlayan ayırma mekanizması, emsalsiz bir mekanizmadır. Bu proses, **splisozom (spliceosome)** olarak adlandırılan, farklı birkaç ribonükleoprotein (her birisi hem küçük bir RNA molekülü hem de birkaç protein içermektedir) yer aldığı kompleks bir prostestir. Splisozom ise oldukça kompleks bir yapı olup, öncül m-RNA’daki intron bölgeleri uzaklaştırarak, komşu olan ekson bölgeleri birbirine ekleyebilmektedir (Şek. 5.20).