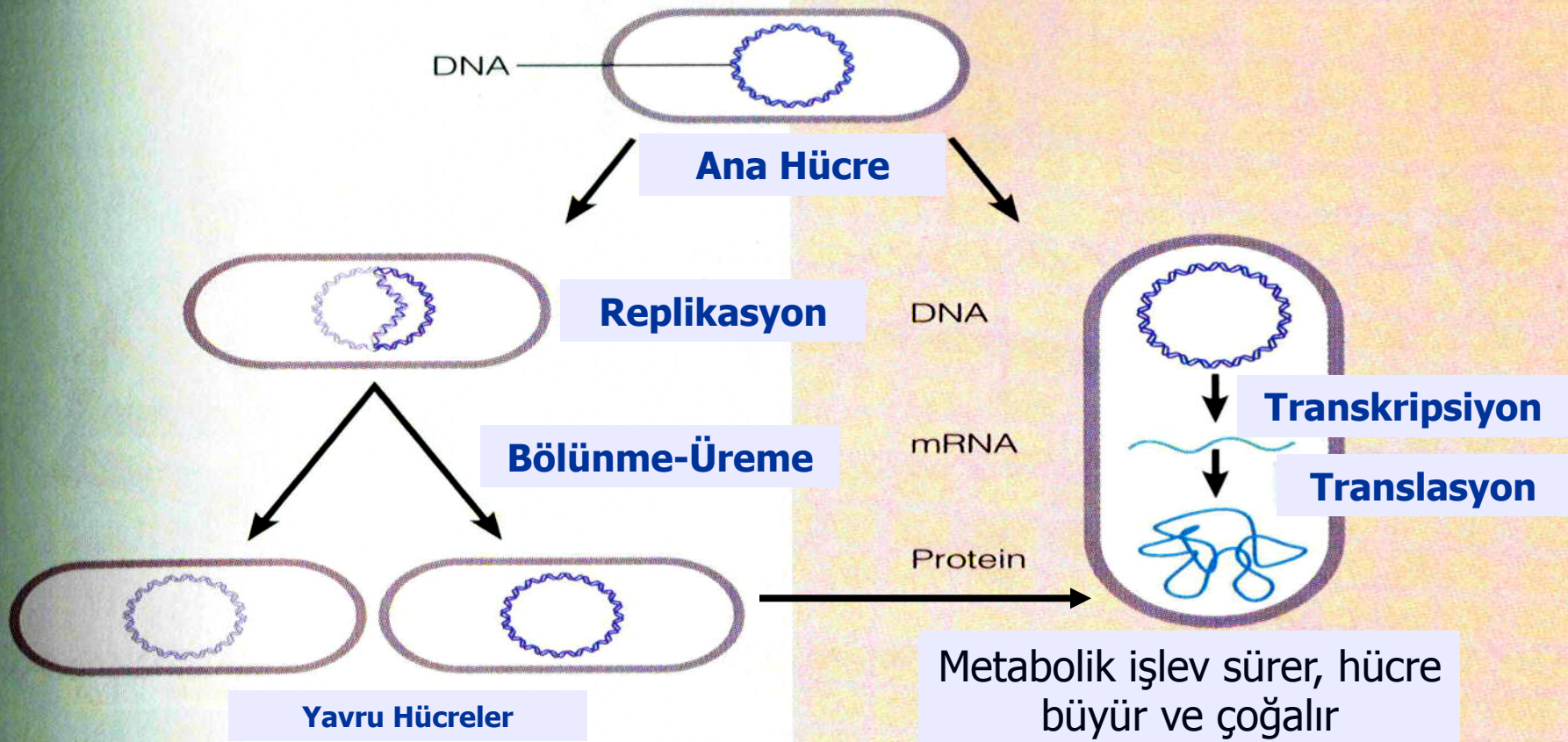


BAKTERİ YAŞAMINDA 4 TEMEL OLGU

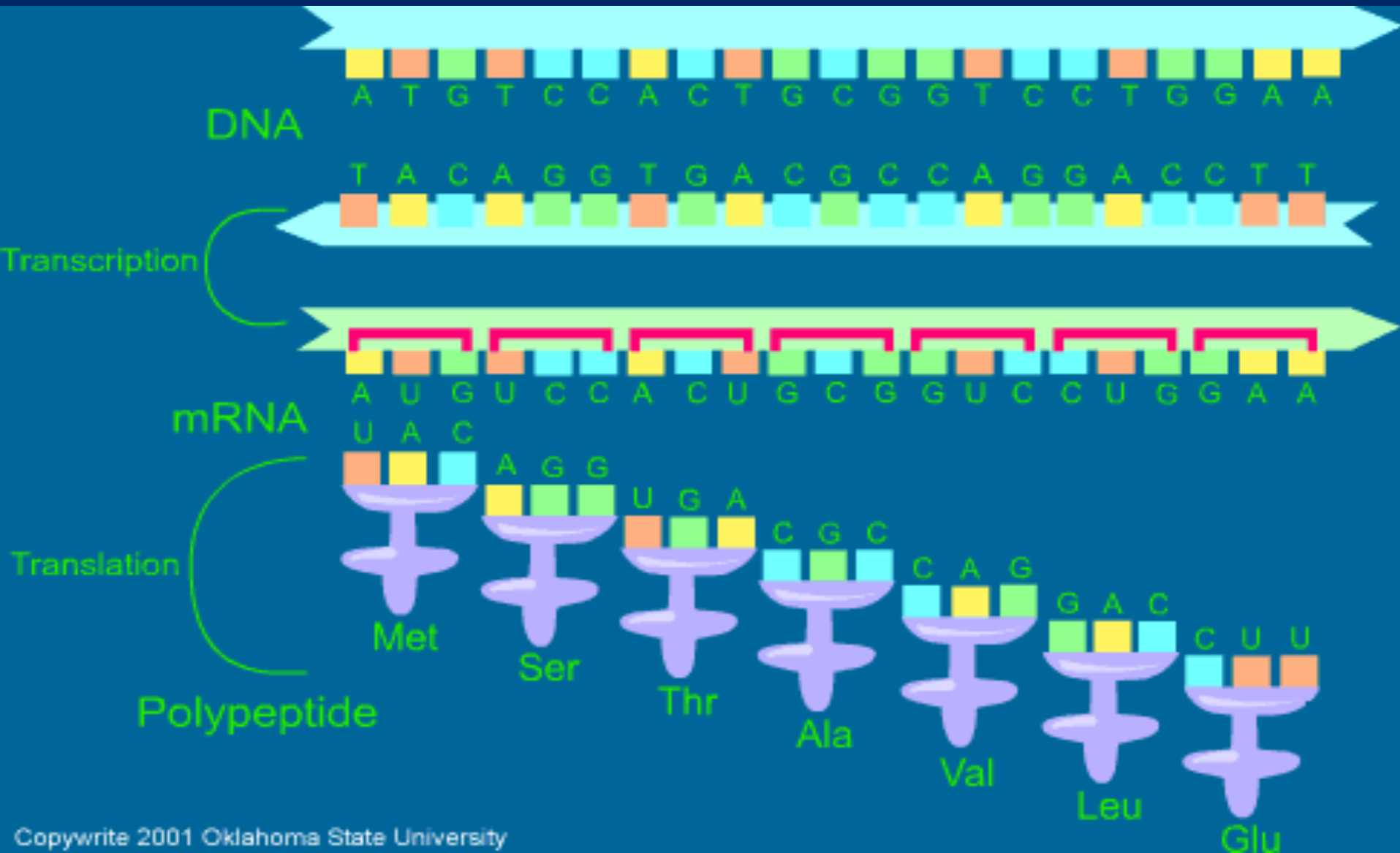
TRANSKRİPSİYON-TRANSLASYON

REPLİKASYON-ÜREME

Ana Hücre metabolik işlevleri sürdürür, gelişir (T-T), Genomu kopyalanır (R) ve bölünerek iki yeni yavru hücre oluşur (Ü)



TRANSKRİPSİYON-TRANSLASYON



PROTEİN SENTEZİ (TRANSKRİPSİYON-TRANSLASYON)

Protein sentezi 2 temel aşamada olur:

- **Transkripsiyon** (DNA----→mRNA),
- **Translasyon** (mRNA---→ Protein)

TRANSKRİPSİYON, DNA'nın mRNA'ya kopyalanma mekanizmasıdır.

TRANSLASYON, mRNA şifresinin çözülüp Protein sentezinin yapılmasıdır.

TRANSKRİPSİYON "Nükleotid dili" kullanır

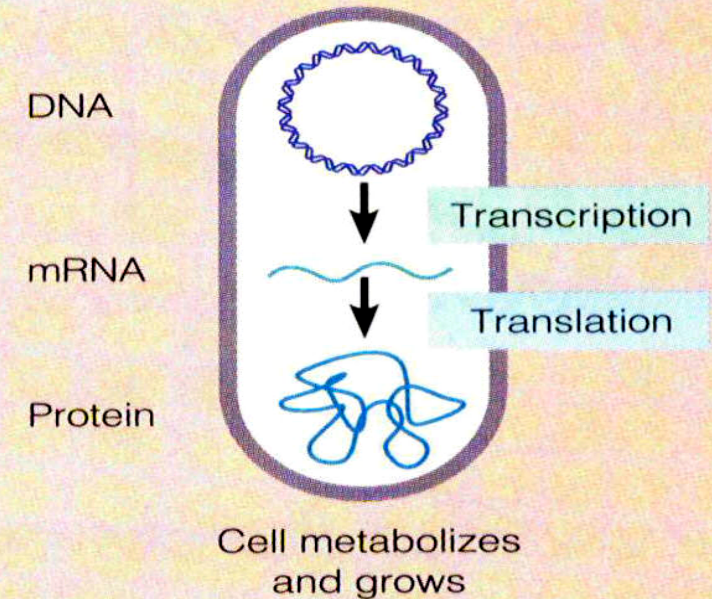
DNA----→RNA dönüşümü (T---→U dönüşümü)

TRANSLASYON "Nükleotid dilinden" "Amino Asit dili"

mRNA--→ Peptid zinciri (PROTEİN)

Bu süreçte, bir "sözlük ihtiyacı" ortaya çıkar.

Bu sözlük--→ GENETİK KOD



Transkripsiyon

- DNA' da taşınan bilginin, protein sentezinde kullanılmak üzere RNA' ya aktarılmasına **transkripsiyon** denir. Tek DNA ipliği kalıp olarak kullanılarak RNA polimeraz enzimi tarafından mRNA sentezlenir.

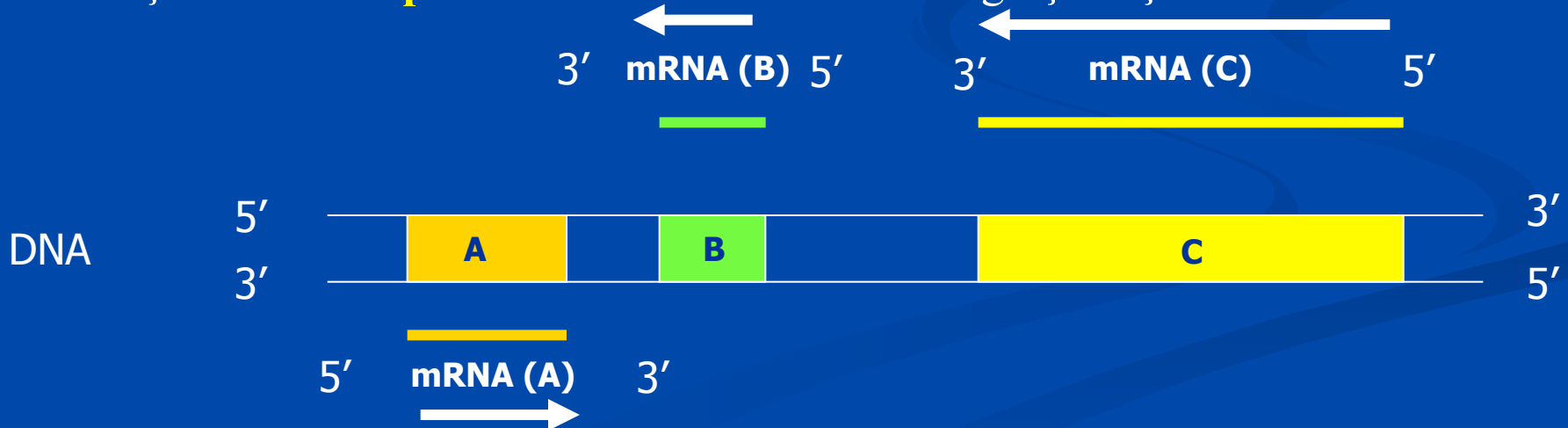
- mRNA tarafından taşınan mesaj, her biri bir a.a.' i şifreleyen üçlü baz grupları (**kodon**) halinde okunur.
- Üç kodon UAA, UAG ve UGA herhangi bir a.a.' i kodlamaz.
- Protein sentezi, her adımda bir a.a. bağlanarak, polipeptid zincirinin NH₂ (amino) ucundan COOH (karboksil) ucuna doğru yürütülür. Hedef proteinin bileşimindeki a.a.' lerin hangi sıra ile dizileceklerini belirler.
- Primer yapı oluşur.

TRANSKRİPSİYON 1

(DNA' nın mRNA' ya DÖNÜŞÜMÜ)

■ mRNA sentezinde sadece GEN kopyalanır:

1. Genomu oluşturan tüm DNA aynı zamanda mRNA'ya dönüştürülmez. Bakteri hücresinin ihtiyacına göre, yalnız bazı DNA parçaları RNA olarak kopyalanır. Bu kopyalanan DNA parçası “**GEN**” olarak adlandırılır.
2. GEN'in **yalnız bir DNA zinciri kopyalanır**. Fakat her zaman bir genin aynı zinciri kopyalanmadığı gibi bazı genlerin bir zinciri bir diğerrinin öbür zinciri kopyalanır.
3. mRNA sentezi 5'---→3' yönünde, anti-paralel ve tamamlayıcı (komplemanter) biçimde “**RNA polimeraz enzimi**” tarafından gerçekleştirilir.



TRANSKRİPSİYON 2

(TRANSKRİPSİYON İÇİN GEREKLİ MOLEKÜLLER)

- **NÜKLEOTİDLER:** 4 Nitrojen Bazı (A, G, C, U) ve RİBOZ. Bu 4 tip nükleotid aktif formda olmalıdır. Yani monofosfat yerine trifosfat nükleotidler gereklidir (ATP, GTP, CTP ve UTP). Trifosfat nükleotidler RNA zinciri sentezi için gerekli olan :
 - monofosfat nükleotidleri oluşturur ve
 - nükleotidler birbirine bağlayan ester bağı enerji ihtiyacını karşılar.
- **KALIP DNA:** Bir mRNA sentezi için bir kalıp DNA (model) zorunludur. mRNA, DNA'nın kopyasıdır. RNA polimeraz enzimi kalıp DNA olmadığı durumda işlev göremez, yani mRNA sentezlenemez (DNA-bağımlı).

■ **RNA POLİMERAZ (transkriptaz)**: Bir çok alt birimden oluşmuş kompleks bir enzimdir.

2 molekül α_2 , 2 ayrı β' ve β'' ve sigma faktörü

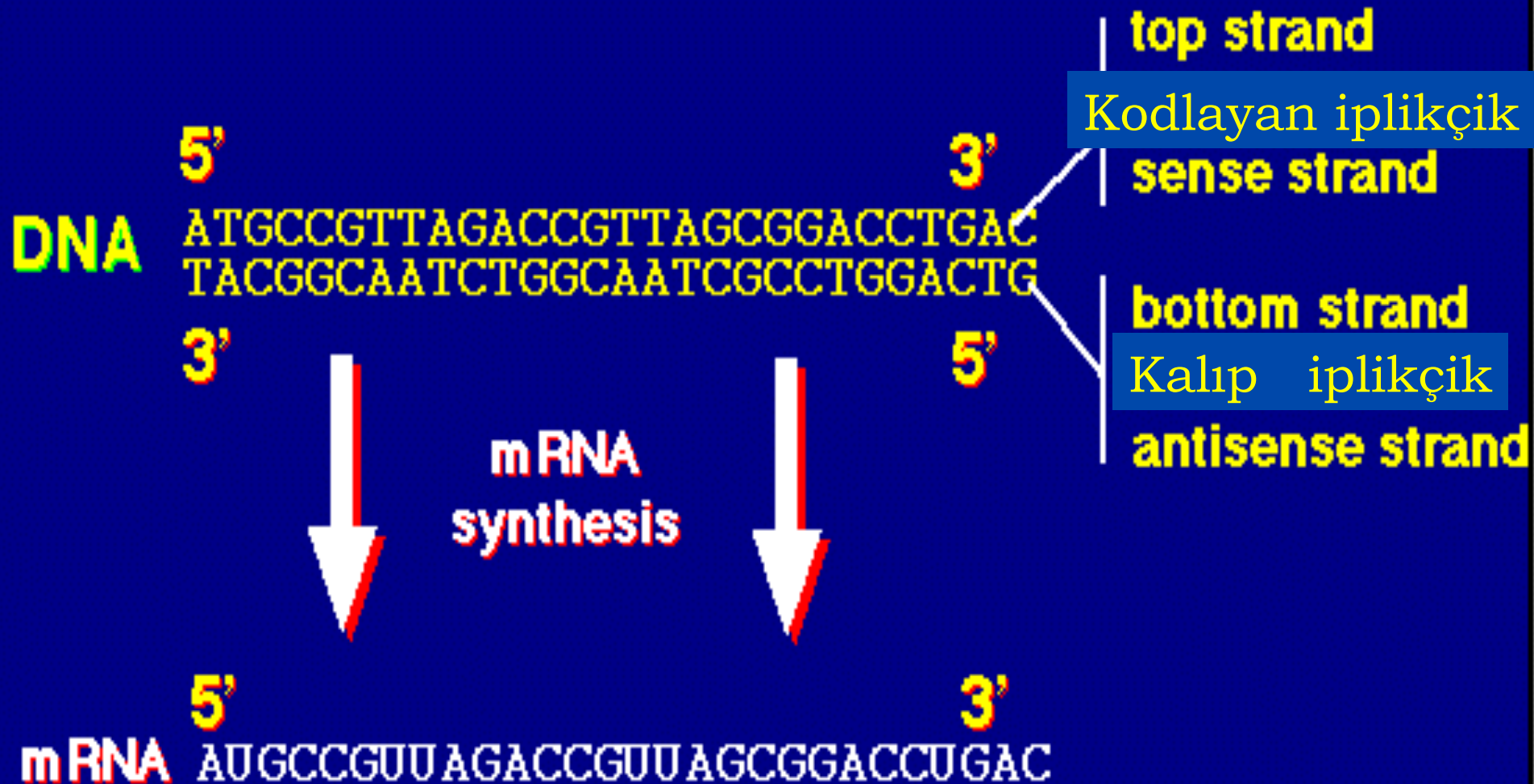
Alt proteinlerden ilk dördü merkez enzim kompleksidir

α faktörleri mRNA zincirinin başlamasında, β' faktörü başlama ve zincirin uzamasında, β'' faktörü DNA'ya bağlanmada

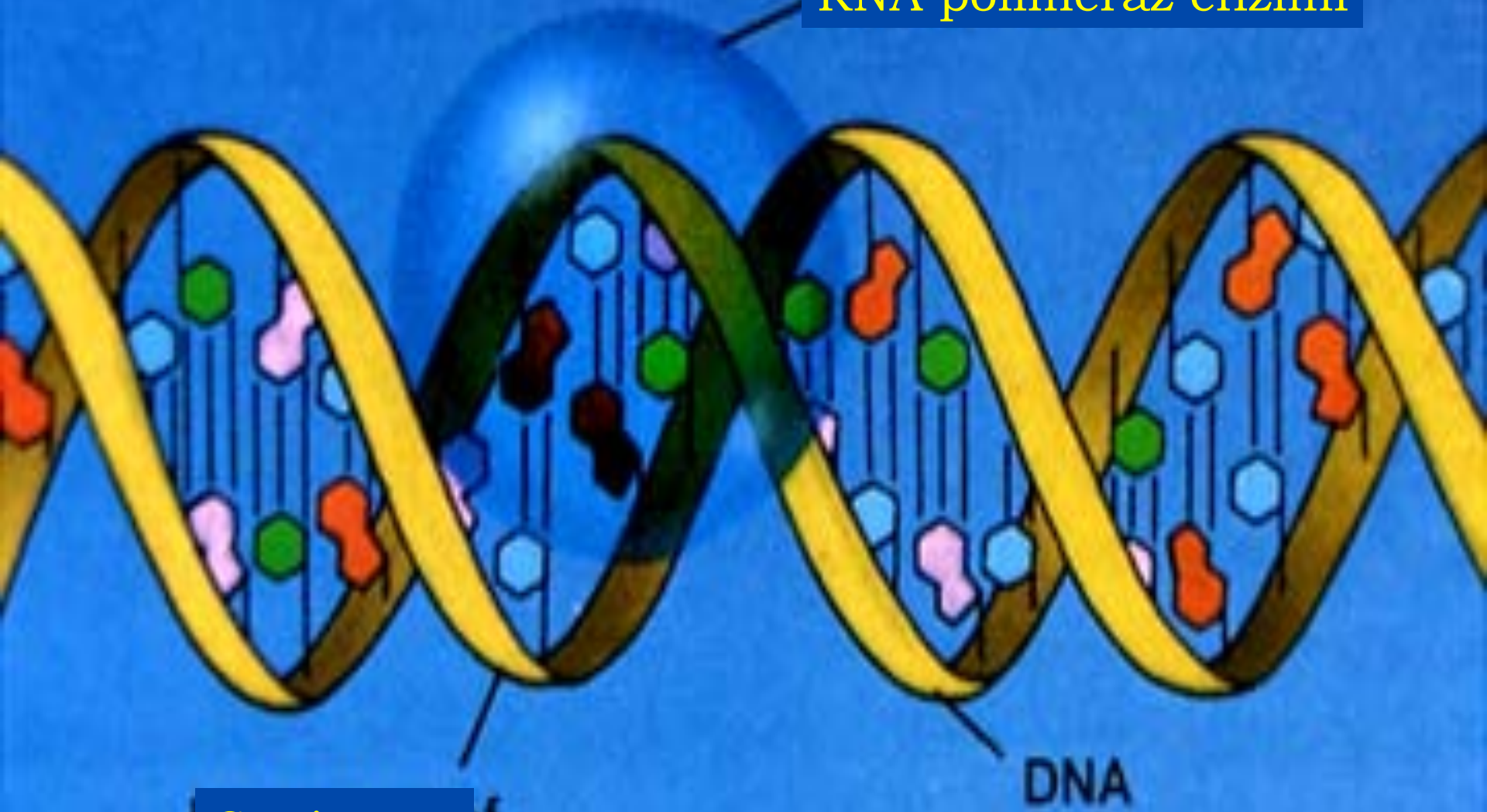
ve sigma faktörü enzim tarafından promotorun tanınmasında görev alır

RNA POLİMERAZ DNA'yı kalıp alarak nükleotidleri sırasıyla birbirine bağlar. Transkripsiyonun başlamasıyla sigma faktörü ayrılır.

TRANSKRİPSİYON



RNA polimeraz enzimi



Genin
başlangıcı

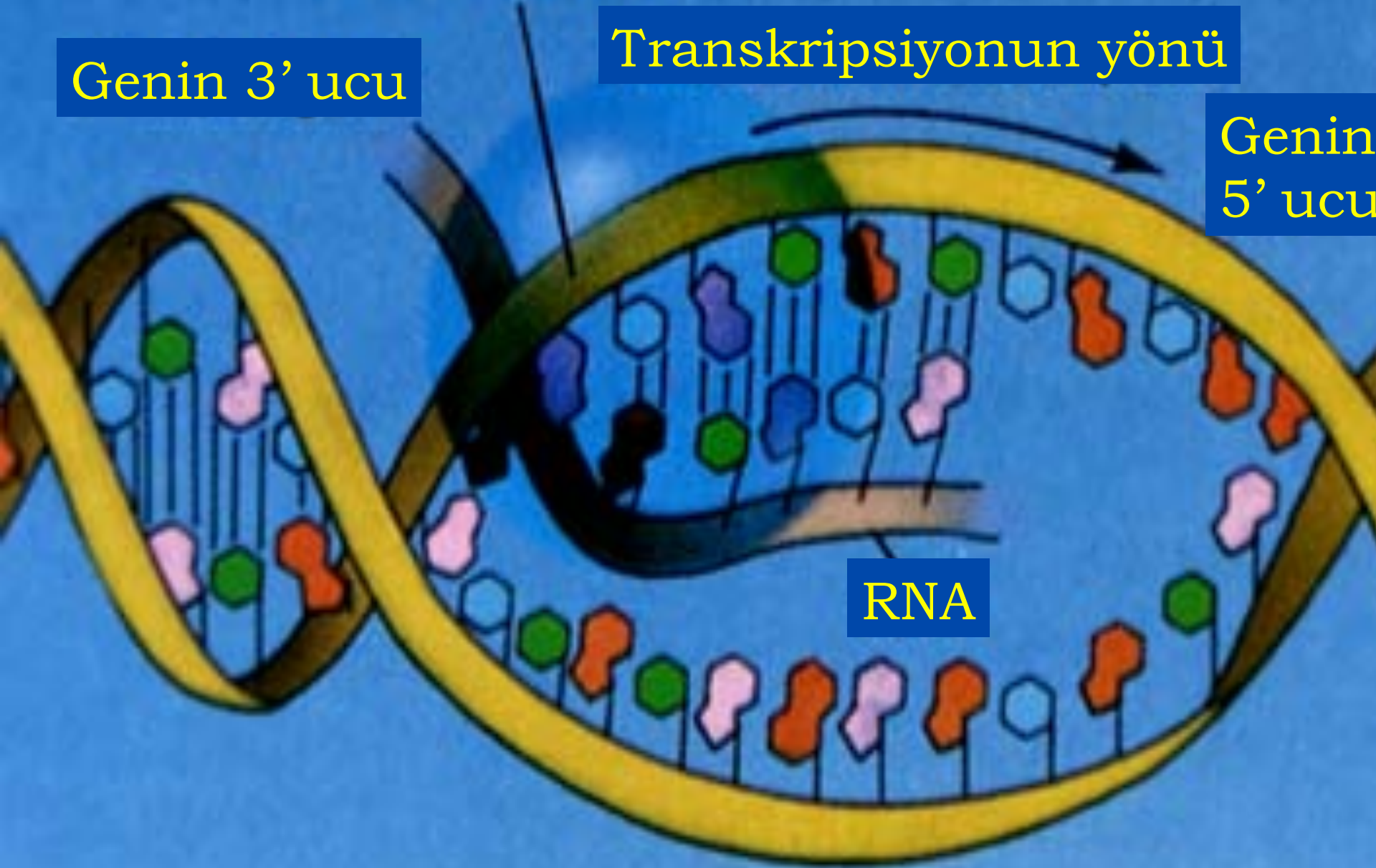
Anlamalı iplikçik

Transkripsiyonun yönü

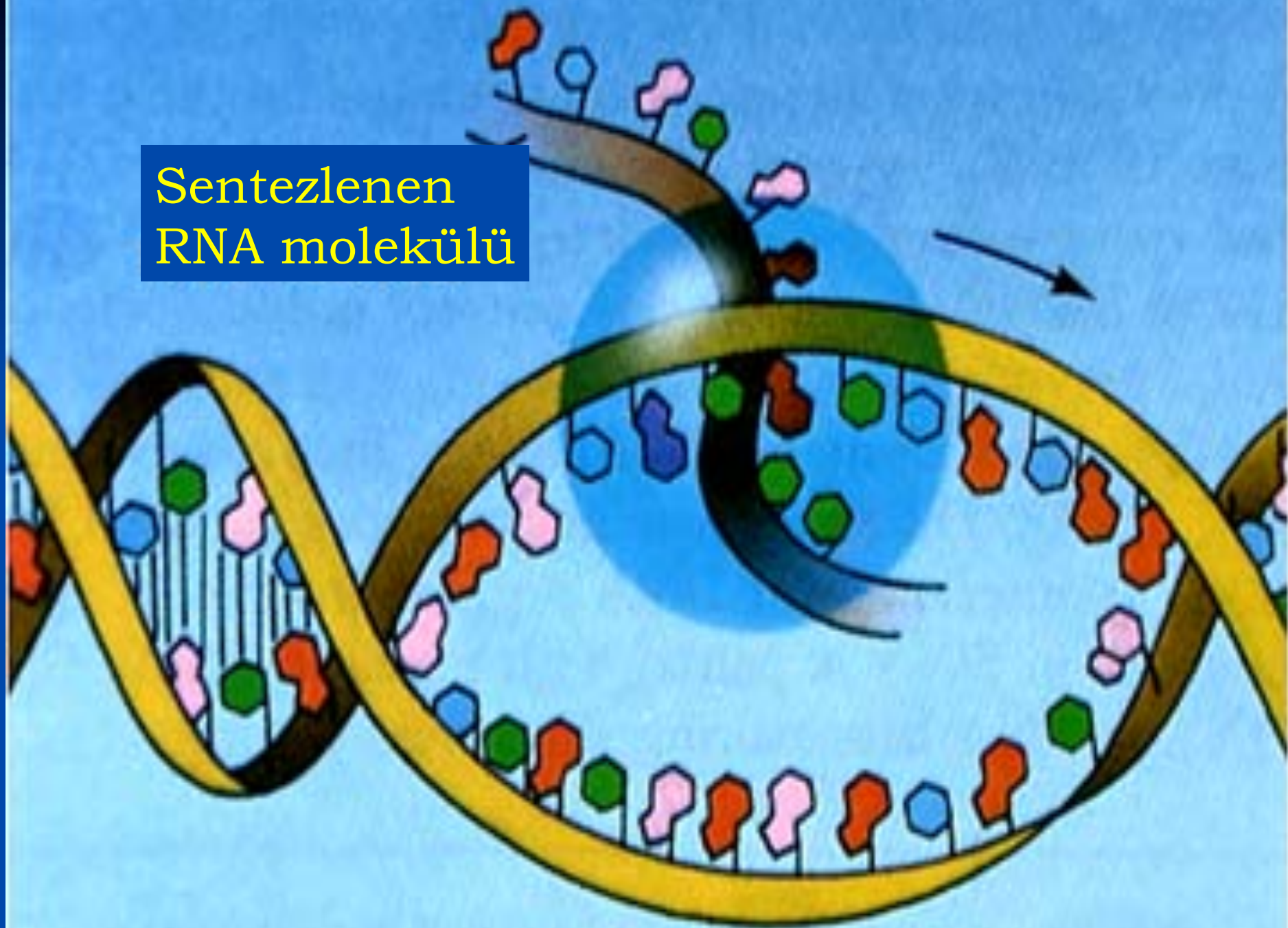
Genin 3' ucu

Genin
5' ucu

RNA

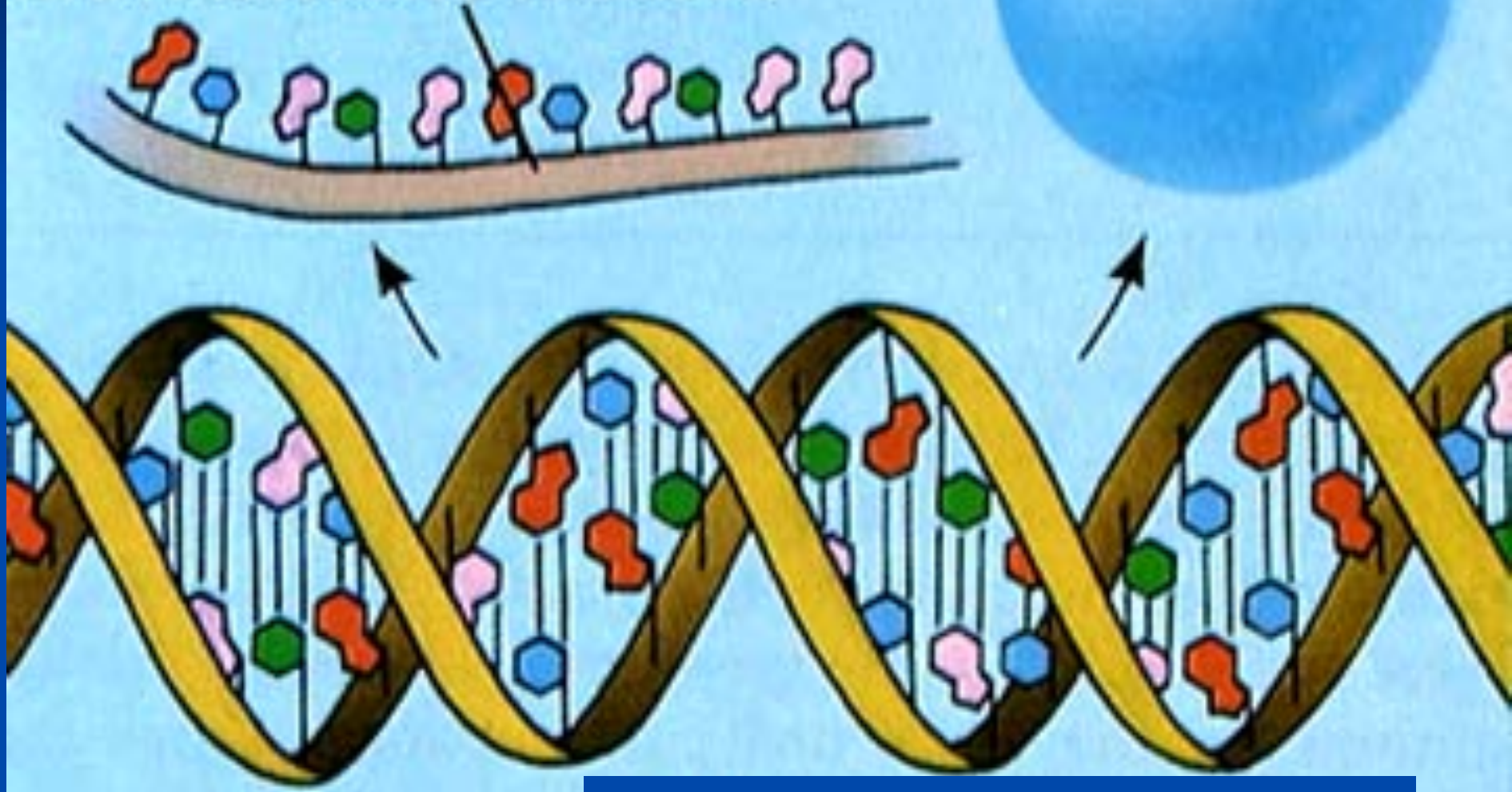


Sentezlenen
RNA molekülü



RNA polimeraz
DNA'dan ayrılır

RNA molekülü serbest kalır



DNA tekrar sarmal haline döner

TRANSKRİPSİYON 3

TEMEL AŞAMALARI

- Transkripsiyon seçici (selektif) bir olgudur. Tüm DNA' dan eşzamanlı olarak mRNA sentezlenmez.
- Selektif transkripsiyon nasıl gerçekleşir ?
 - Bir Gen' in **transkripsiyonunun başlangıcını** veya
 - **Transkripsiyonunun bitişini** ne belirler?
- Transkripsiyon Başlangıcı (Initiation):

Transkripsiyon başlama sinyali **PROMOTOR**' dur. Prokaryotlarda, transkripsiyonun başlayacağı bölgenin hemen öncesinde bulunan ve yaklaşık 40 nükleotidden oluşan bir DNA bölgesidir. E.coli' de 100' den fazla promotor belirlenmiştir.

TRANSKRİPSİYON 4

TEMEL AŞAMALARI

- Promotorlar “**korunmuş dizin**” denilen, birbirlerine çok yakın benzerlikleri olan nükleotid dizileri içerirler. Özellikle, **6 nükleotid çiftinden** oluşmuş kısa dizinlerdir ve birbirlerinden 25 kadar nükleotid çifti dizisiyle ayrılırlar.
- **DİZİN -35**: Transkripsiyonun başlayacağı ilk nükleotid (+1) ve bundan önceki ilk nükleotid ise (-1) olarak kabul edilir. Promotorlarda “korunmuş dizinlerden” biri -35 ile -30 no’lu nükleotidler arasında bulunur. **TTGACA**

TRANSKRİPSİYON 5

TEMEL AŞAMALARI

- **DİZİN -10:** Promotorlarda “korunmuş dizinlerden” ikincisi, transkripsiyon başlama noktasından yaklaşık 10 nükleotid öncesinde bulunur. -12 ile -7 no’lu nükleotidler arasında bulunur **TATATT**
- Bu “korunmuş dizin” (-10 dizini) transkripsiyonu başlatacak olan RNA polimeraz enzimi için “başlama uyarısı” olarak kabul edilir. (Pribnow box)

■ DİZİN -10

DNA' da açılma sinyalinini taşır

■ DİZİN -35

RNA polimerazın bölgeyi tanıma sinyalinini taşır

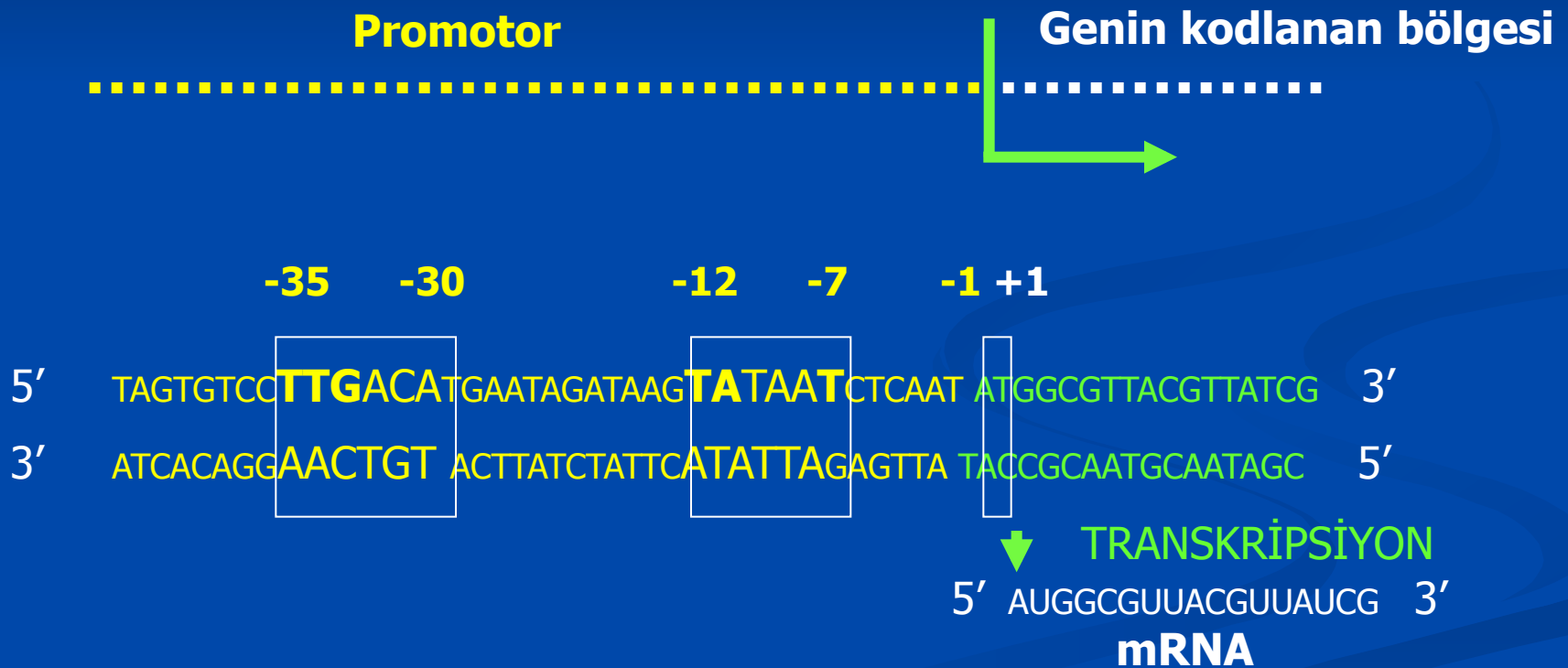
Başlama noktası ile -10 bölgesi arasında bulunan ve yaklaşık 6-7 bazdan oluşan **Shine Dalgarno (SD) sekansları** olarak tanımlanır.

SD sekansları aynen mRNA' ya aktarılır

TRANSKRİPSİYON 6

TEMEL AŞAMALARI

E.coli promotor “korunmuş dizin” örnekleri



TRANSKRİPSİYON 7

TEMEL AŞAMALARI

■ Transkripsiyonun Bitişi (Terminasyon):

Transkripsiyonun bitişi, her şeyden önce 2 sinyal dizini ile düzenlenir:

1. Eksik Simetri Bölgesi: Kodlanan genin transkripsiyonunun bitişine doğru kendi içinde eksik simetrik olan iki DNA dizini bulunur (Eksik Simetri).
2. AT Bölgesi: Eksik simetri bölgesinin hemen bitiminden başlayan A ve T' den zengin kısa bir dizin bulunur. Transkripsiyonda kalıp DNA olarak kullanılacak tek zincir bu bölgede A' dan zengindir.

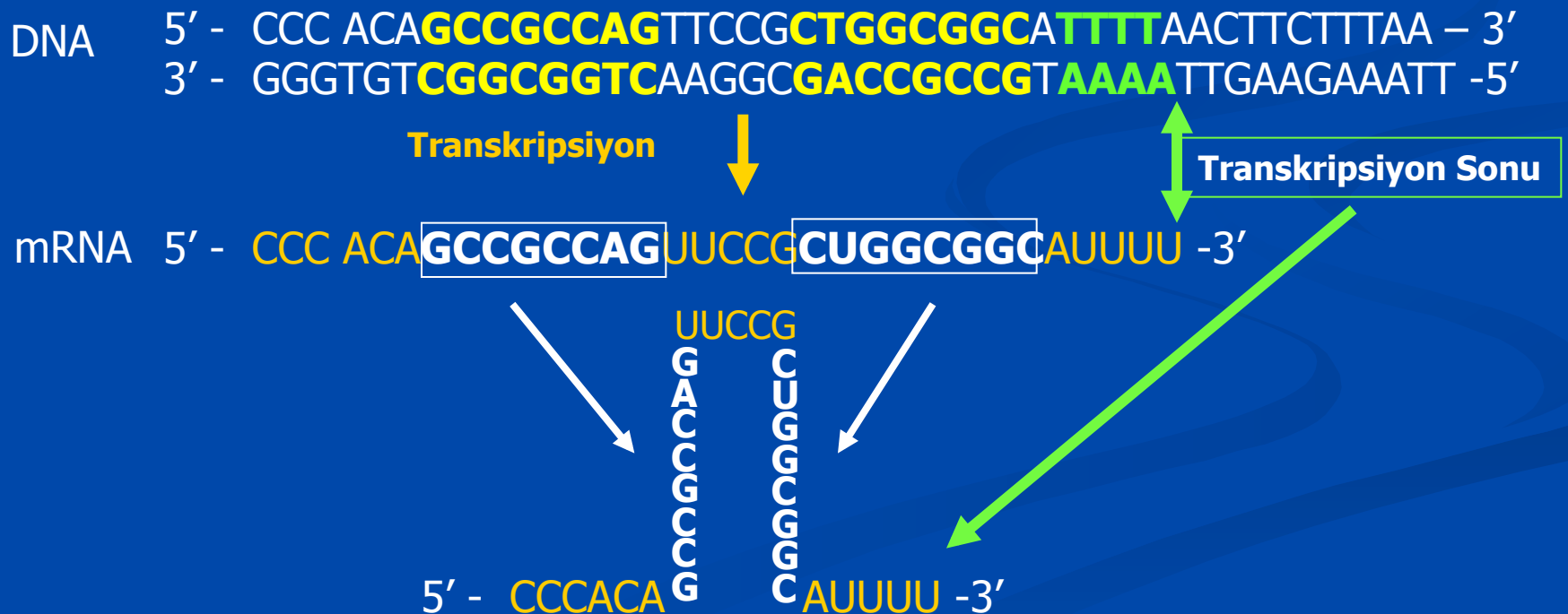
5' - CCC ACA **GCCGCCAG** TTCCG **CTGGCGGC** A **TTTT** AACTTCTTTAA - 3'
3' - GGGTGT **CGGCGGTC** AAGGC **GACCGCCG** T **AAAA** TTGAAGAAATT -5'



Transkripsiyon Sonu

TRANSKRİPSİYON 8

- **Eksik simetri bölgesinin** transkripsiyonu “toka” biçiminde çift zincirli mRNA meydana gelmesine neden olur. **AT bölgesindeki** A ve T bazları arasındaki bağ zayıflığı RNA polimerazın DNA’ dan ayrılmasını sağlar. Böylece, bu iki sinyal transkripsiyonun sona erdiğini işaret eder.



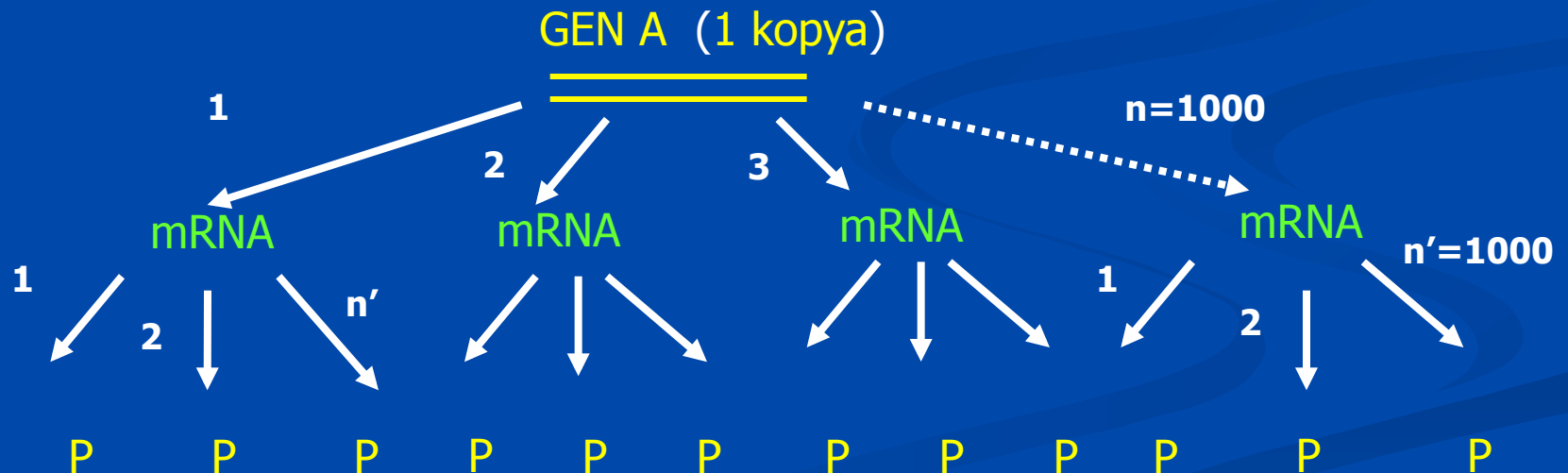
Transkripsiyonun Bitişi (Terminasyon):

- Diğer bir terminasyon GC yönünden zengin sekansın devamında AT bazları yönünden zengin sekansın gelmesi ile gerçekleşir
- **Terminatör faktöre (rho) bağımlı sonlanma**
rho faktörü RNA üzerinde özel bir yere sıkıca bağlanarak ribonükleotid trifosfatları, nükleotid difosfat halinde hidrolize eder. Burada oluşan bir açıklık RNA polimerazın daha ileriye gitmesini engeller ve RNA'nın serbest kalmasına yardımcı olur.
Bundan sonra RNA pol., mRNA ve rho faktörü serbest kalırlar.

TRANSKRİPSİYON 9

- Gen, yalnız tek bir zinciri transkripsiyon-translasyon sürecinde önce mRNA ve devamında Proteine çevrilen DNA parçasıdır.
 - Tek 1 genden (kalıp), aynı bilgiyi içeren çok sayıda mRNA örnekleri oluşumu Transkripsiyonun temel niteliğidir.
- 1 DNA “orijinali” ----→ n sayı RNA “kopyası” (**Amplifikasyon**)
- Amplifikasyon olgusu Translasyon sürecinde de gözlenir ve sonuç olarak:

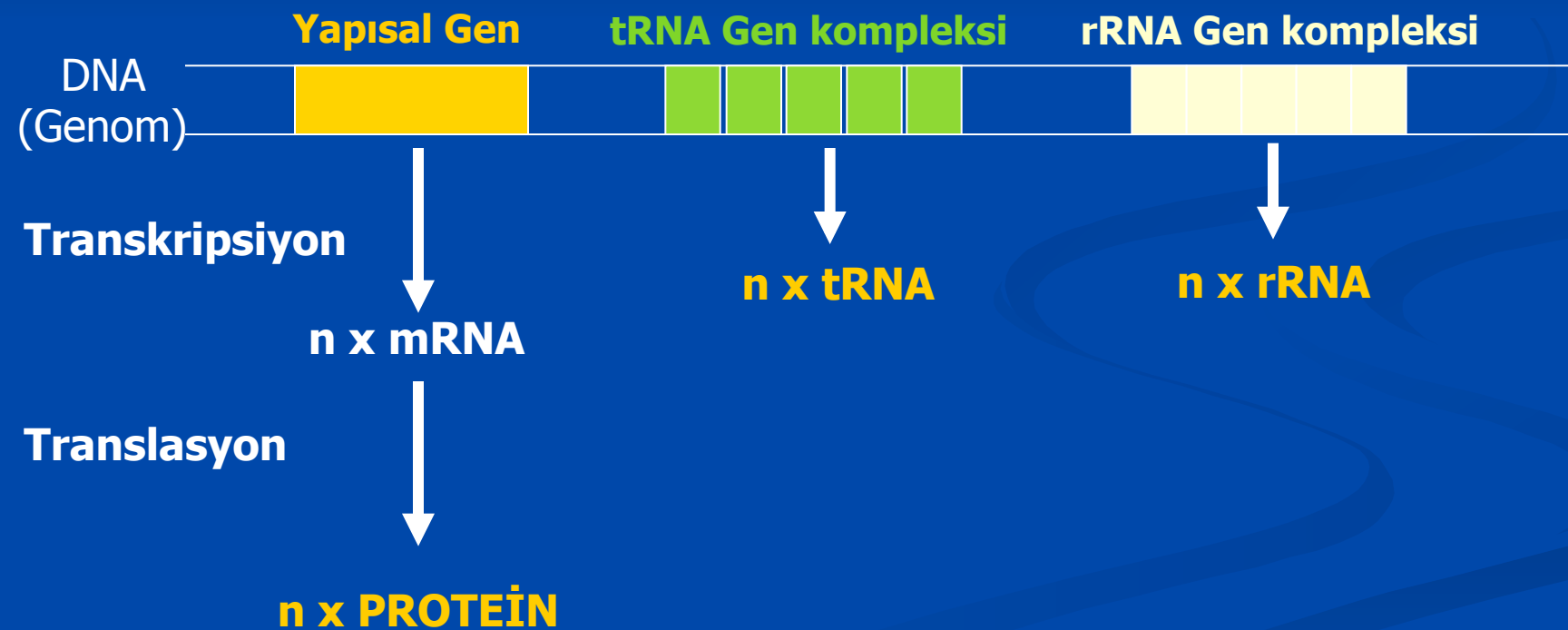
1 GEN ----→ n x n' Protein (aynı özellikte)



TRANSKRİPSİYON 10

TRANSKRİPSİYON “ÜRÜNLERİ”

Bir GEN’ in tek bir DNA zincirinden yalnız mRNA üretilmez.



TRANSLASYON (ÇEVİRİM)

PROTEİN SENTEZİ 2 TEMEL AŞAMA:

Transkripsiyon (**DNA**----→**mRNA**),

Translasyon (**mRNA**---→ **Protein**)

Protein Sentezinde Gerekli Elemanlar

mRNA, tRNA,

RİBOZOM

Amino asitler

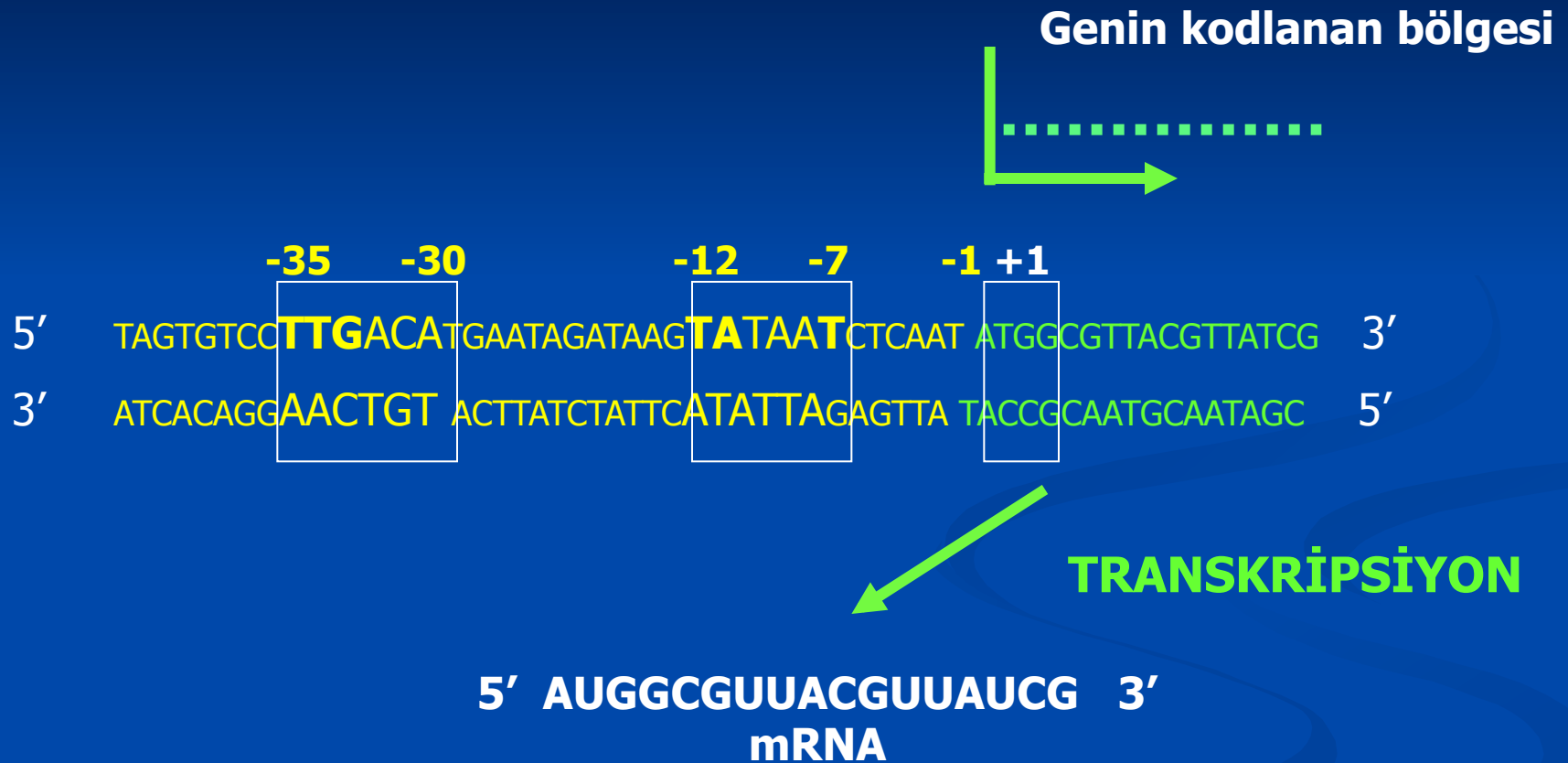
Ribo Nükleik Asitler (RNA)

- rRNA (ribozomal RNA) % 82
- tRNA (transfer RNA) % 16
- mRNA (mesajcı RNA) % 2

mRNA

- mRNA Transkripsiyon ürünüdür. Kendisini kodlayan gen kalıbının tamamlayıcı (komplementer) tek iplikçikli ribonükleotidir.
- mRNA' nın görevi genomdan alınan genetik bilginin (kod) translasyon için ribozoma taşınmasıdır.

TRANSKRİPSİYON



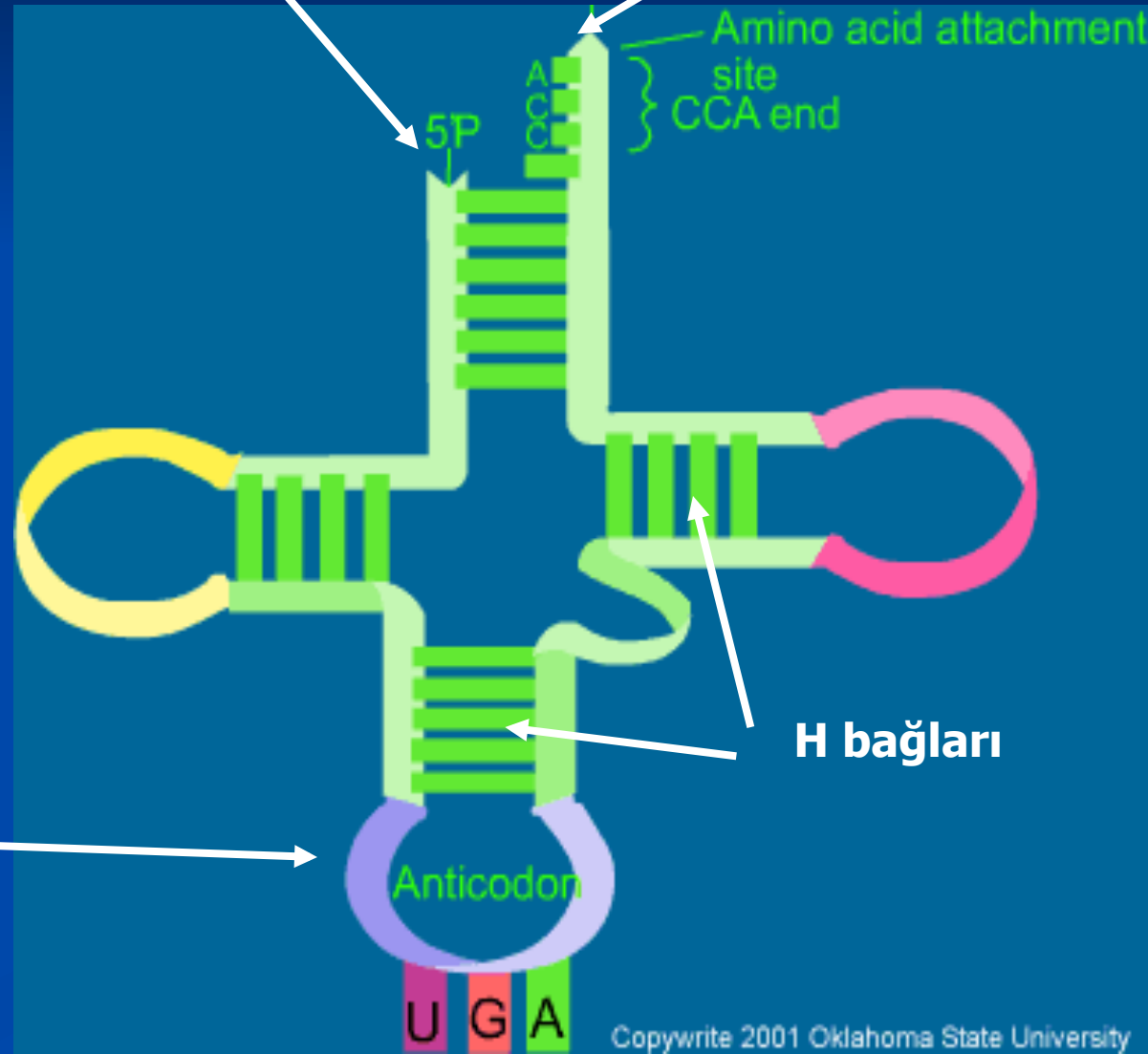
mRNA

- mRNA üçlü nükleotidler (kodon) olarak okunur:
Ör: AUG* AAG CAC UAC dizini 4 kodon,
Kod= Met Lys His Tyr
- Genetik kod sözlüğü 20 AA' den hangisinin kodlanacağını gösterir:
Kodlama sistemi tekrarlar içerir.
 $4^3=64$ olasılık---→20AA
- Leucin 6 farklı kodon tarafından kodlanır
- Genetik kod 3 Stop kodonu içerir
- **AUG** kodonu Metionini kodlar aynı zamanda **START** (Başlangıç) kodonudur.

Transfer RNA (tRNA)

5' ucu

3' ucu



- Yaklaşık 80 nükleotid yonca yaprağı formunda

- 3' uçları CCA bazları içerir (AA taşıyıcı bölge)

- Anti-kodon bölgesi

Second letter

First letter

	U	C	A	G
U	UUU UUC Phenyl- alanine	UCU UCC UCA UCG Serine	UAU UAC Tyrosine	UGU UGC Cysteine
	UUA UUG Leucine		UAA UAG Stop codon Stop codon	UGA Stop codon
			UGG Tryptophan	
C	CUU CUC CUA CUG Leucine	CCU CCC CCA CCG Proline	CAU CAC Histidine	CGU CGC CGA CGG Arginine
			CAA CAG Glutamine	
A	AUU AUC AUA Isoleucine	ACU ACC ACA ACG Threonine	AAU AAC Asparagine	AGU AGC Serine
	AUG Methionine; initiation codon		AAA AAG Lysine	AGA AGG Arginine
G	GUU GUC GUA GUG Valine	GCU GCC GCA GCG Alanine	GAU GAC Aspartic acid	GGU GGC GGA GGG Glycine
			GAA GAG Glutamic acid	

tRNA

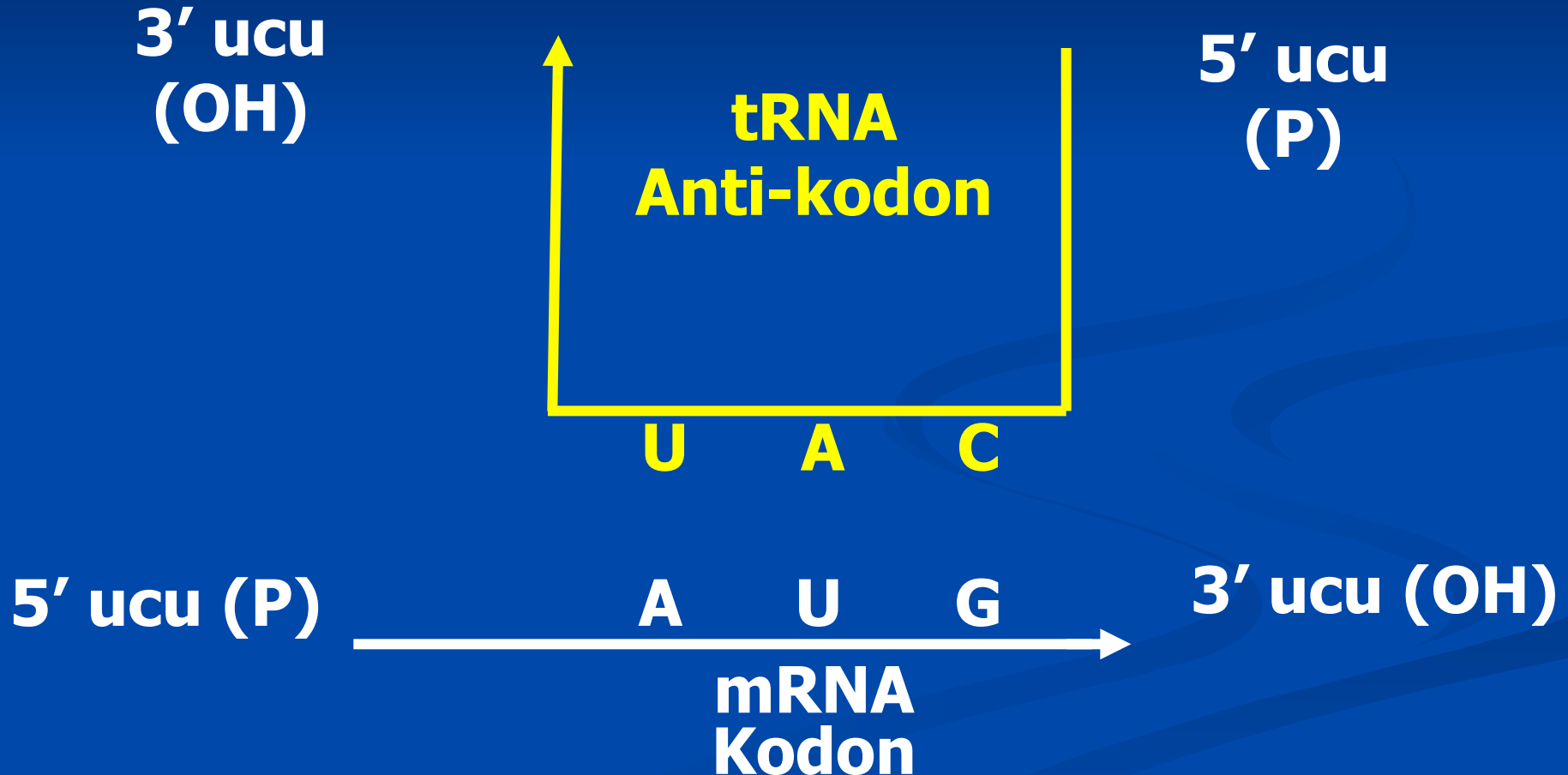
- Nükleik asit ve peptid dizinleri arasında çevirmenlik işlevi görür ve a.a.leri sitoplazmadan taşır ve mRNA' daki dizinle eşleştirir.
- a.a taşıma ve mRNA ile Eşleştirme işlevleri için tRNA' da 2 önemli bölge vardır:
- 1. Kıvrımda 3 ribonükleotidden oluşan anti-kodon
 - Anti-kodon mRNA' daki kodonun tamamlayıcısı, kodonu Tanır/Bağlanır
 - Bazı tRNA' lar 1' den çok kodonu tanır. Bu olgu kodon ve antikodon arasındaki 3. ribonükleotidlerin tamamlayıcılık kuralıyla açıklanır (Wobble hipotezi)

tRNA

- 2. tRNA'nın 3' bitiminde a.a. bağlanma bölgesi vardır
 - Her bir tRNA mRNA'daki kodonun belirlediği 1 a.a. taşır
 - tRNA'ya özgü amino asit, aminoasil-tRNA sentetaz enzimi aracılığıyla bağlanır. Her bir a.a.'e özgü enzim vardır ve bunlar yalnızca özgül tRNA ve a.a. kombinasyonunu tanıyabilir ve sentez yapabilir.

Transfer RNA (tRNA)

Anti-kodon ve mRNA Bağlanması



tRNA – mRNA Etkileşimi

Antikodon (tRNA) - Kodon (mRNA) Eşleşmesi

- Antikodon 3 nükleotidden oluşur (*Triplet*)
- Antikodon, mRNA üzerindeki 3 nükleotidden oluşan kodon' u tanıyarak önemli biyolojik rol oynar.
- Kodon-Antikodon birleşmesi H bağı ile olur.
 - Antiparalel,
 - Tamamlayıcı (komplementer)

tRNA
ANTİKODON

3' U A C 5'

5' A U G 3'

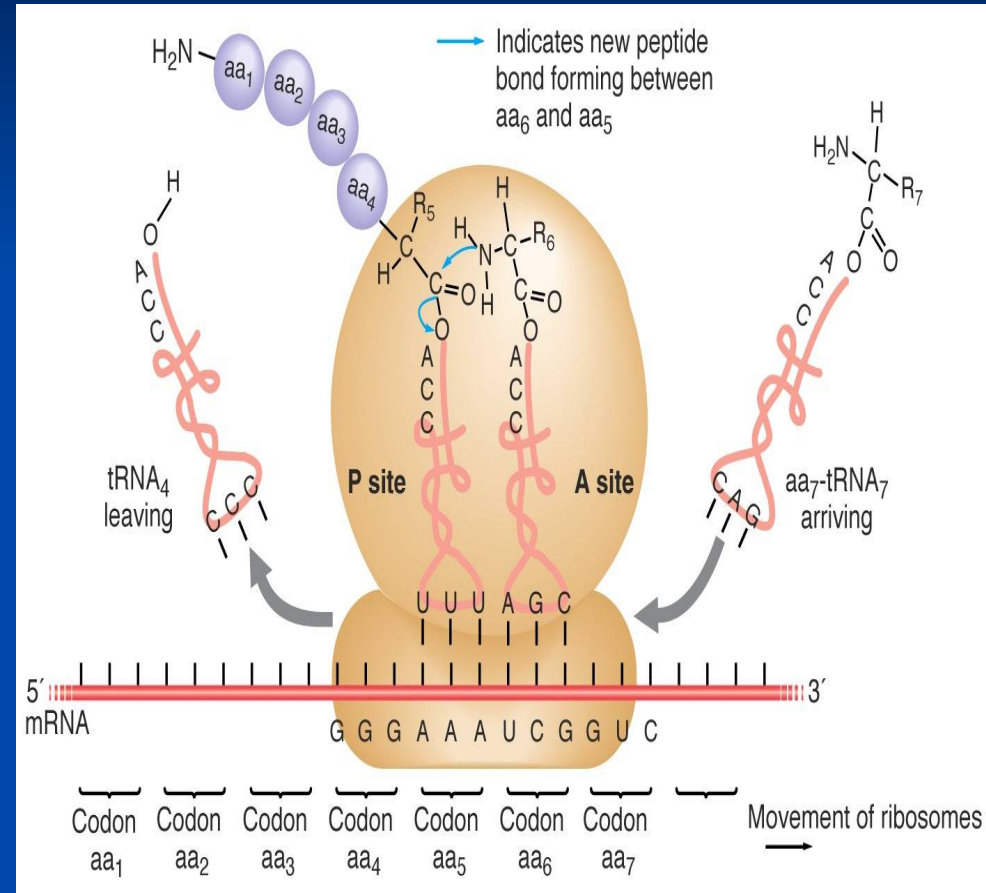
KODON
mRNA

rRNA' nın Temel Biyolojik Rolü

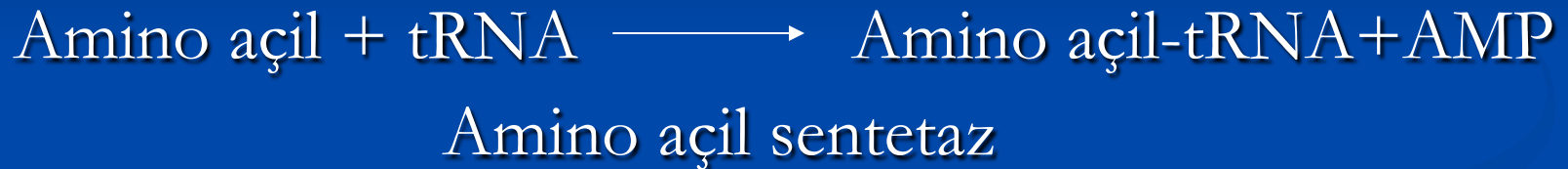
- Ribozoma şekli açıdan yapısal özellik kazandırır (fiziki şekillendirme)
- mRNA' nın ribozoma bağlanmasına katkıda bulunur
- mRNA üzerinde bulunan translasyon başlangıç bölgesinin (AUG) tanınmasını sağlar. ribozomun küçük alt birimindeki rRNA (16S), 3' ucundaki dizin aracılığıyla mRNA' daki AUG kodonundan önceki kısa Shine-Dalgarno dizinine bağlanır
- Kalıp görevi görerek proteini oluşturan Amino Asit dizisinin, GEN' de (DNA) belirtilen enformasyona sadık kalınarak Protein sentezinin gerçekleşmesini sağlar.

1. Ribozom (rRNA+r-protein)

- Ribozomlar, Sitoplazmada yer alan ve yaşam için gerekli olan protein sentezini gerçekleştiren partiküllerdir (fabrikalar)
- Bakteri (E.coli) ribozomları (70S) 2 alt birim içerir:
Büyük alt birim (50S) ve Küçük alt birim (30S)
S= Svedberg ünitesi --> sedimantasyon hızı ölçüm birimi
- Ribozomal alt birimler RNA (rRNA %65) ve r-proteinler



Protein Sentezinin Mekanizması



Amino asitlerin aktive edilmeleri

Özgül tRNA'larına bağlanan ve aktive edilen amino asitler protein sentezine katılır.

- Sentezi gereken proteini şifreleyen genin kopyası, DNA kalıbı üzerinde **RNA polimeraz** enzimi tarafından bir reaksiyonla sentezlenir.
- mRNA (kalıp RNA) sitoplazmik ribozomlarda 30s alt birimlerinin yüzeyindeki oluğa yerleşir.
- SD sekansları mRNA'nın ribozoma bağlanmasında görev alır.

- mRNA' nın 5' ucunda bulunan ribozom bağlama bölgesi (SD sekansları), ribozomun 16S RNA' sının 3' ucu ile komplementerdir.
- Bütün mRNA moleküllerinde ilk kodon methionin için özgül AUG kodonudur.

- Bu ilk mRNA kodonuna yalnızca NH_2 grubundan formillenmiş methionin taşıyan (N-formil methionin) özgül bir tRNA (f-met-tRNA) bağlanabilir.
- Protein sentezinde öncelikle Ribozomal 30s alt birim-mRNA-(f-met-tRNA) kompleksi oluşur.
- IF1, IF2, IF3 proteinleri (IF faktörleri) ve GTP'ye ihtiyaç duyulur.

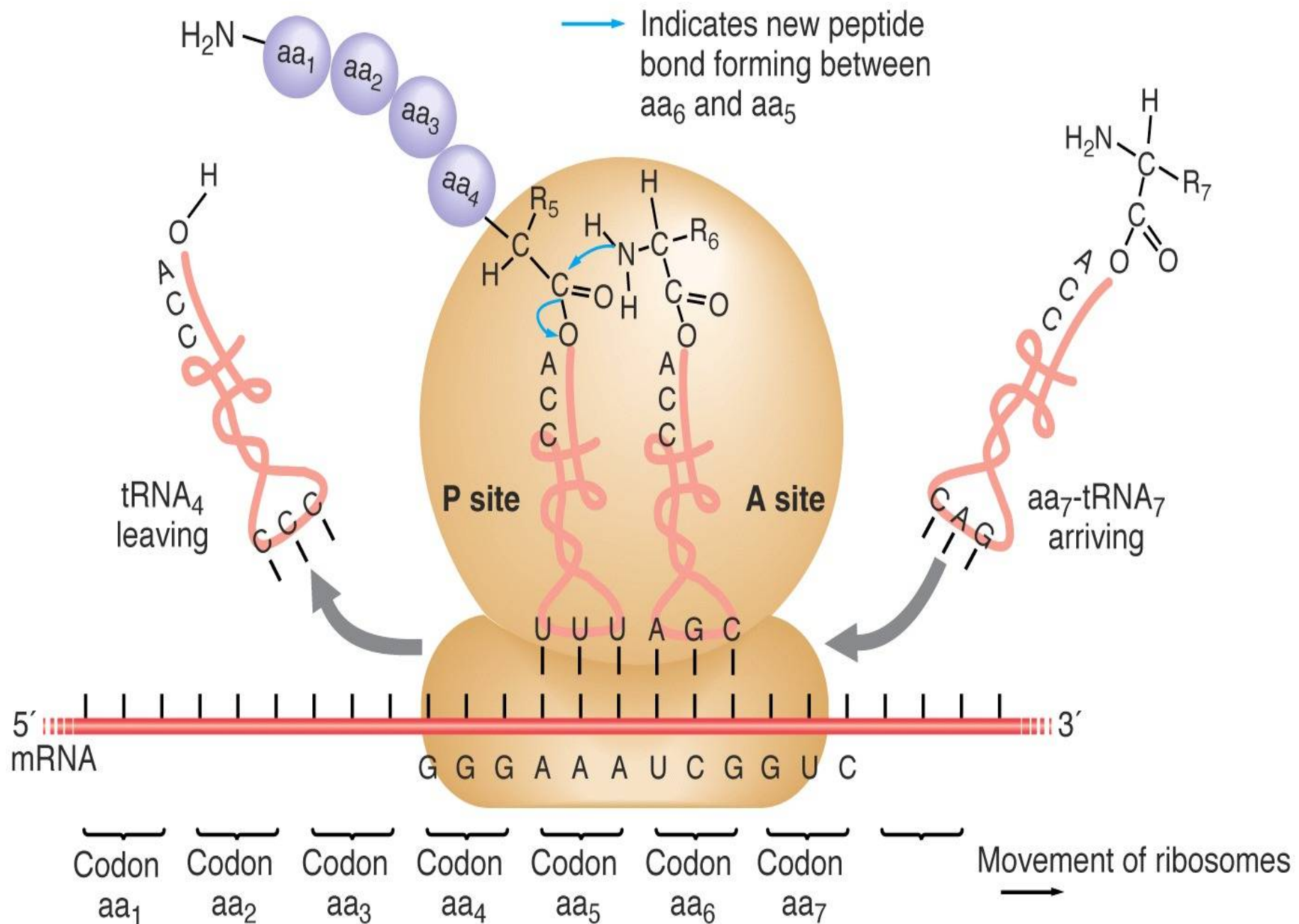
- Diğer ribozomal alt birim de bu komplekse bağlanır.
- 70s Ribozomal alt birim-mRNA-(f-met-tRNA) kompleksi oluşur.
- 70s ribozom üzerinde 2 oluk bulunur.
- Peptidil (P bölgesi) ve Aminoasil (A bölgesi)
- f-met-tRNA P bölgesine bağlanır
- 1. oluk olan A bölgesine mRNA üzerindeki ikinci kodonla şifrelenen a.a.' i taşıyan tRNA yerleşir.

- EF-Tu (Aminoasıl-tRNA nakli) + GTP' ye ihtiyaç vardır.
- tRNA' nın ucundaki antikodon üçlüsü, mRNA üzerindeki kodon üçlüsü ile Hidrojen bağlarıyla bağlanır.

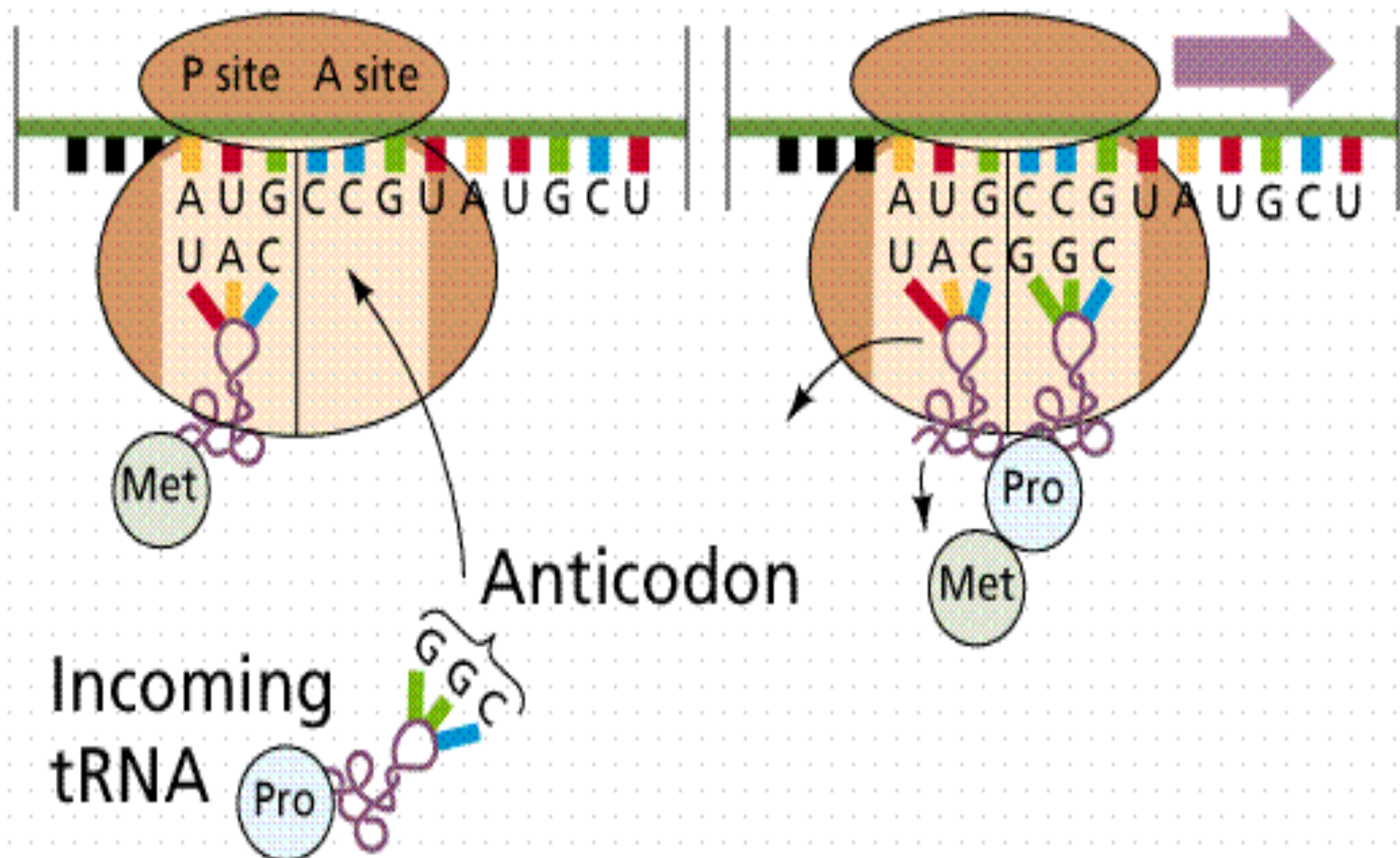
- Peptidil transferaz enzimi P bölgesindeki N-formil methionin–tRNA kompleksinde, a.a. ile tRNA arasındaki bağı kopmasını ve A bölgesindeki tRNA'ya bağlı a.a. ile peptid bağı oluşumunu katalizler(dipeptid).
- EF-G (translokasyon) protein faktör ile mRNA ribozom üzerindeki olukta bir kodon boyu yer değiştirir.

- P bölgesindeki formil methionin-tRNA ribozom dışına çıkar,
- Boşalan P bölgesine A bölgesinde bulunan ve ucunda bir dipeptid bağlı olan tRNA transfer olur.
- Boşalan A bölgesine mRNA üzerindeki üçüncü kodonu tanıyan antikodona sahip tRNA molekülü yerleşir.

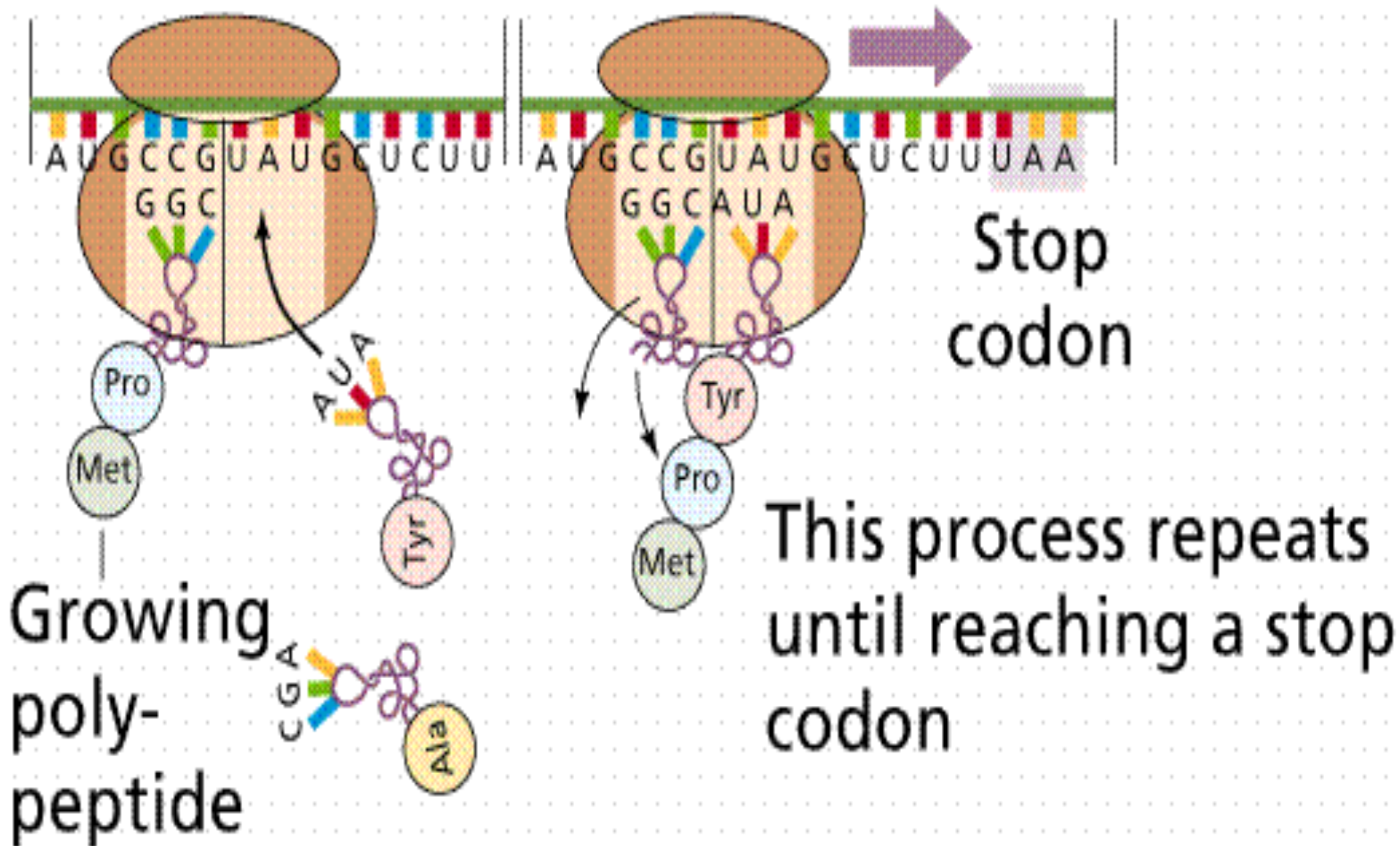
- Aynı şekilde P bölgesindeki tRNA molekülüne bağlı dipeptid bu tRNA' dan ayrılır.
- Serbestleşen COOH ucu ile, A bölgesindeki tRNA' ya bağlı a.a.' in serbest NH₂ ucuna peptid bağı ile bağlanır. Tripeptid
- Protein sentezi UAA, UAG veya UGA kodonlarından biri veya ikisi tarafından sonlandırılır. Terminasyon kodonları + R1 ve R2 bitirme faktörleri



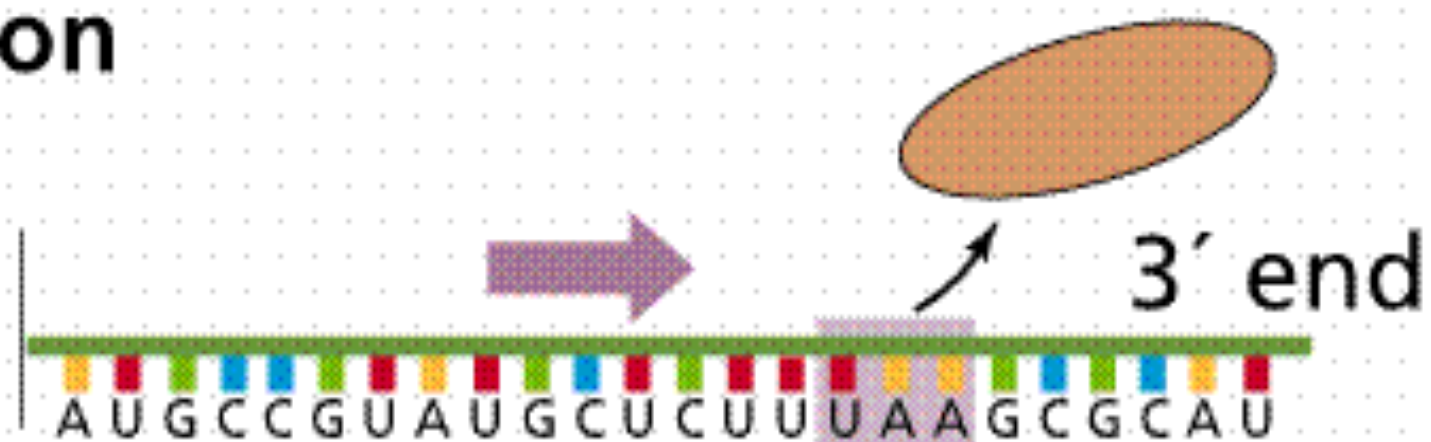
Elongation (translation)



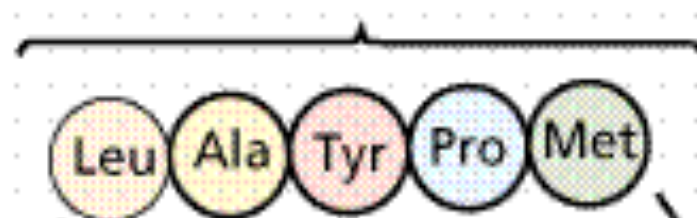
Elongation continues



Termination

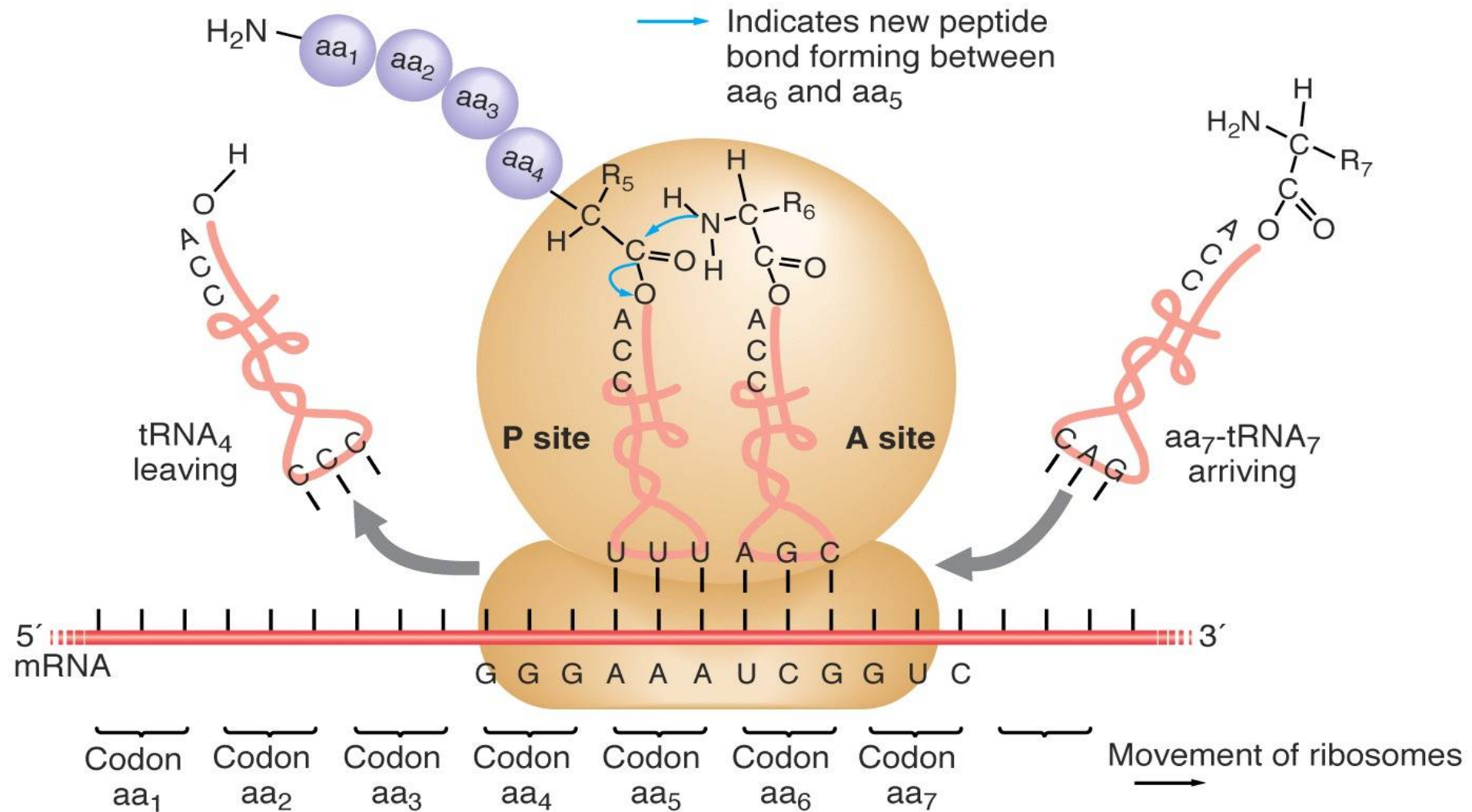


Newly synthesized protein



C-terminus

N-terminus



Large subunit

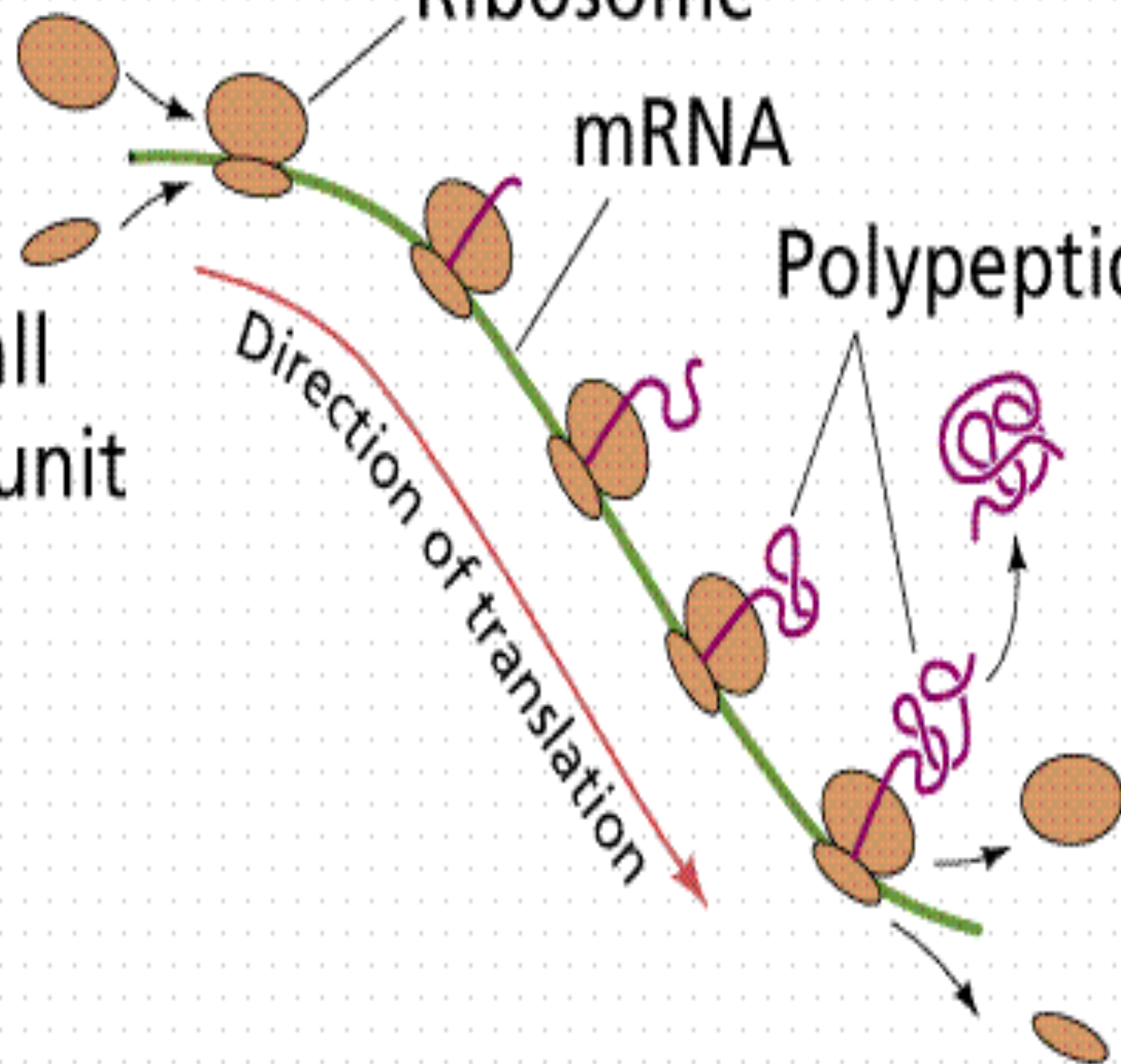
Ribosome

mRNA

Polypeptide chain

Small subunit

Direction of translation



TRANSLASYON

(mRNA--→a.a. Çevirimi)

■ Protein Sentez Adımları:

- **Ribozom küçük alt birimi mRNA molekülüne bağlanır**
 - Aynı zamanda, “initiator tRNA” (f-Met) UAC antikodonu ile mRNA’ daki START kodona (AUG) bağlanır.
- **Ribozom büyük alt birimi bu komplekse bağlanır**
 - “İnitiator tRNA” peptidil bölgeye (P-bölgesi) yerleşir, bu aşamada, aminoaçıl bölgede (A-bölgesi) tRNA bulunmaz.
- **İkinci tRNA² 2. amino asitle yaklaşarak boş olan bölgeyi (a-bölgesi) doldurur**
 - tRNA₂ Antikodonu “a-bölgesi”nde bulunan mRNA’ nın ikinci kodonu ile birleşir.
- **Birinci amino asit (Met) ise 2. amino asite peptid bağı ile bağlanır.**

- P bölgesindeki tRNA ayrılır ve ribozom mRNA üzerinde bir kodon boyu kayar. 2. tRNA P bölgesindedir ve A bölgesi boş kalmıştır.
- 3. bir tRNA yaklaşır ve boş A bölgesine girer.
- Antikodonu A bölgesindeki mRNA kodonuna bağlanır.
- A bölgesindeki yeni a.a. ve gelişen peptid zinciri arasında bir peptid bağı oluşur.
- tRNA P-bölgesinden ayrılır ve ribozom bir kodon ilerler.

- Bu işlem ribozom bir STOP kodona ulaşınca kadar devam eder.
- Ribozom bir stop kodona (UAA, UAG veya UGA), ulaştığında **A bölgesi tRNA yerine RF faktör olarak isimlendirilen bir protein olan serbest bırakma faktörü** kabul eder.
- RF faktör tRNA ve polipeptid arasındaki bağı kırar.
- Polipeptid ve tRNA serbest kalır.
- **Serbest kalan polipeptid proteini oluşturur.**

PROTEIN SYNTHESIS

